

健脑益智胶囊水提部位精制工艺研究*

郭东艳¹ 覃鸿恩¹ 赵晓平² 吕杨¹ 何萌萌¹

(1. 陕西中医学院药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医学院附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘要: 目的 考察健脑益智胶囊水提部位的醇沉工艺条件。方法 以药液浓度、醇沉浓度和醇沉时间为考察因素, 采用 Box - Behnken 中心组合试验设计, 响应面分析法, 以葛根素转移率为评价指标, 确定醇沉的最佳工艺条件。结果 最佳工艺条件为: 药液浓度为 0.72 g/mL, 醇沉浓度为 60%, 醇沉时间为 36 h, 葛根素转移率可达到 99% 以上。结论 采用醇沉工艺精制健脑益智胶囊水提液部分, 具有较好的可行性和有效性, 可节约成本并提高产品质量。

关键词: 健脑益智; 水提液; 醇沉; 响应面分析

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1002 - 168X(2014)04 - 0066 - 04

Study on Water Extraction of Refining Jiannaoyizhi Capsule

Guo Dongyan¹, Tan Hong'en¹, Zhao Xiaoping², Lv Yang¹, He Mengmeng¹

(1. School of medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine Xianyang, Shaanxi 712046;

2. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000)

Abstract: **Objective** to investigate the Jiannaoyizhi capsules water extract alcohol precipitation process. **Method** for liquid concentration, the concentration of alcohol precipitation and precipitation time as factors, the combination test design of Box - Behnken center, the method of response surface analysis, the transfer rate of Puerarin as index, the optimum process conditions were determined and alcohol precipitation. **Results** the optimum conditions: the concentration of 0.72g/mL, alcohol concentration of 60%, ethanol precipitation time 36h, puerarin transfer rate can reach above 99%. **Conclusion** the sinking process of refining Jiannaoyizhi capsules water extract by alcohol, and is feasible and effective, and can save cost and improve product quality.

Keywords: Jiannaoyizhi; Water - extraction; alcohol - precipitation; response surface analysis

中药水煎煮在提取出有效成分的同时,常伴随有大量杂质的出现,为了提高中药复方产品的质量,降低服用剂量,改善中药的外观性状,进行水提液的精制工艺研究尤为必要。目前中药复方水提液常用的精制方法有醇沉法、絮凝澄清法及膜分离技术等,其中醇沉法是在中药水提取液中加入一定量的乙醇,利用部分有效成分既溶于醇又溶于水的性质,沉淀不溶于乙醇的杂质成分,如多糖、蛋白质和鞣质等。以达到精制的目的。

种方法^[1]。采用醇沉法在中药精制工艺中已有广泛应用^[2-3]。

健脑益智胶囊是由水蛭、葛根、白茅根等中药组成,具有豁痰开窍、活血化瘀、通脉益智的功效,临床实践及实验证明,其在预防和治疗外部颅脑损伤、缺血性脑损伤、脑震荡及脑水肿等脑部疾病具有良好的疗效,对高血压亦有一定的预防作用,更兼定心安神之效^[4-7]。本实验是在前期提取工艺研究的基础上^[8],运用醇沉技术,考察醇沉对健

* 基金项目: 陕西省科技厅资助项目(2011KTCL03 - 02)

脑益智胶囊水提部分精制前后有效成分的转移率,探讨合理可行的精制工艺方法,为该制剂产业化提供参考依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Agilent 1260,安捷伦科技中国有限公司);管式分离机(GQ76,上海市离心机械研究所有限公司);电子天平(PFT-A500,福州华志科学仪器有限公司)。

1.2 试剂 葛根、白茅根、郁金、石菖蒲均购自西安盛兴中药饮片有限责任公司,由陕西中医学院药学院王继涛老师鉴定,分别为:葛根为葛根豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根,白茅根为禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* eauv. Var. major (Nees) C. E. Hubb. 的干燥根茎,郁金为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥块根,石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎;葛根素对照品(供含量测定用,批号为:110752-201313;中国食品药品检定研究院提供)。

2 方法与结果

2.1 水提液的制备 按照处方比例,取石菖蒲,白茅根,郁金,葛根适量,石菖蒲与郁金加8倍量水水蒸气蒸馏6h,提取挥发油,药渣与白茅根、葛根混合加10倍量水煎煮3次,每次2h,煎液滤过,滤液合并,浓缩至含生药量为0.25g/mL,作为原药液,备用。

2.2 葛根素含量的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Ameritech Accurasil C18 柱(250×4.6mm),流动相为: 甲醇-水,梯度洗脱,流动相比例: 甲醇-水(25:75),检测波长: 250nm,柱温: 30℃,流速: 1mL/min,进样量: 10μL; 阴性无干扰。

2.2.2 对照品溶液的制备 取葛根素对照品适量,精密称定,加30%乙醇制成每1mL含87.2μg的溶液,即得葛根素对照品溶液。

2.2.3 取水提液适量,微孔滤膜(0.45μm)过滤,即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线 精密吸取葛根素对照品溶液($C_{标} = 87.2 \mu\text{g/mL}$) 2、4、6、8、10、12 μL,按上述色谱条件注入色谱仪,测定峰面积。以峰面积 A 为纵坐标,葛根素含量 C(μg) 为横坐标绘制标准曲

线。计算得回归方程为: $Y = 11377X + 6.8305$, 相关系数 $R^2 = 0.9997$, 结果表明,葛根素在 $0.1163 \mu\text{g} \sim 0.6976 \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

2.2.5 样品含量测定 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,按 2.2.1 项下色谱条件进行测定,记录峰面积,计算葛根素含量。

2.3 Box - Behnken 实验设计响应面分析优化工艺条件

2.3.1 实验设计方案与实验结果 查阅相关文献资料,并通过预实验确定各因素的水平取值,采用软件 Design - Expert 8.0.5 中的 Box - Behnken 中心组合试验设计原理及响应面分析法对健脑益智水提部位精制工艺进行优选。取水提液,以药液浓度 A、乙醇浓度 B、醇沉时间 C 作为考察因素,每个自变量的低中高水平分别以 -1、0、1 进行编码,以葛根素转移率(T) 作为评价指标。因素与水平见表 1。分别取水提液 300 mL,按照表 2 的响应面分析方案进行醇沉试验。并按照葛根素含量测定方法进行测定,计算各试验组葛根素转移率。

表 1 响应面因素水平表

水平	药液浓度	含醇量	醇沉时间
Levels	A(g/m)	B(%)	C(h)
-1	0.50	40	12
0	0.75	60	24
1	1.00	80	36

表 2 响应面试验方案与结果

实验组	药液浓度	含醇量	醇沉时间	葛根素转移率
Group	A(g/m)	B(%)	C(h)	T(%)
1	1.00	60	36	93.88
2	0.75	60	24	94.72
3	0.50	60	36	96.69
4	0.50	60	12	93.29
5	0.50	40	24	77.81
6	1.00	40	24	77.74
7	0.75	60	24	55.79
8	1.00	80	24	97.46
9	0.75	40	12	95.21
10	0.75	80	36	67.41
11	0.75	40	36	91.47
12	0.75	80	12	78.46
13	0.75	60	24	96.17
14	1.00	60	12	90.94
15	0.75	60	24	77.81
16	0.75	60	24	84.41
17	0.50	80	24	96.39

2.3.2 模型的建立及显著性检验 用 ANOVA 分

析响应面的回归参数,以葛根素转移率为响应值的方差分析见表3,可知,一次项B和C均达到极显著水平 $A < 0.05$,各因素对响应值T的线性关系显著;二次项 A^2 、 B^2 对响应值T的曲面效应极显著。利用 Design - Expert8.0.5 软件对表2 数据进行多元回归拟合 得到响应值T对药液浓度(A)、

醇沉浓度(B)、醇沉时间(C)的二次多项回归模型: 葛根素转移率(T) = $97.83 - 0.44A + 4.87B + 0.89C - 0.29AB - 0.27AC - 0.91BC - 3.22A^2 - 13.72B^2 + 0.26C^2$ 。该方程的相关系数 $R = 0.9994$ 。相对于线性拟合模型有显著提高,表明该方程有较大可信度。

表3 方差分析

	SS	f	MS	F	P	
Model	1061.43	9	117.94	1242.27	<0.0001	significant
A	1.57	1	1.57	16.50	0.0048	
B	189.44	1	189.44	1995.47	<0.0001	
C	6.39	1	6.39	67.31	<0.0001	
AB	0.34	1	0.34	3.54	0.1018	
AC	0.28	1	0.28	2.96	0.1291	
BC	3.29	1	3.29	34.70	0.0006	
A^2	43.60	1	43.60	459.21	<0.0001	
B^2	792.61	1	792.61	8348.87	<0.0001	
C^2	0.28	1	0.28	2.99	0.1273	
Residual	0.66	7	0.095			
Lack of Fit	0.51	3	0.17	4.51	0.0899	not significant
Pure Error	0.15	4	0.038			
Cor Total	1062.09	16				

$P < 0.05$, Significant difference; $P < 0.001$, Extremely significant difference

由表3可知,该模型达到极显著水平 ($P < 0.001$) 表明该二次方程的模型比较显著,该模型的变异系数(CV)为0.34% 属于正常范围内。

2.3.3 响应面分析与优化 采用 Design - Expert 软件,以2.3.2项下拟合的数据模型为基础,绘制出相应的等高线图和自变量对因变量的三维曲线图,见图1-图3。经过分析和预算得出最优醇沉精制工艺参数为:药液浓度为0.72 g/mL,醇沉浓度为62.90%,醇沉时间为36 h。该精制工艺的葛根素转移率为99.3107%。结合实际可操作性,最终确定最佳精制工艺为:药液浓度为0.72 g/mL,醇沉浓度为60% 醇沉时间为36 h。

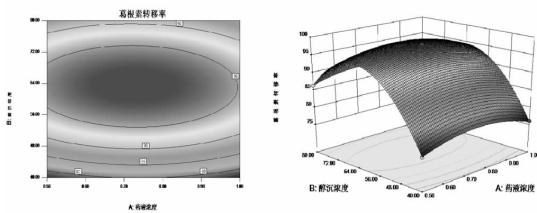


图1 A和B二维图及响应面

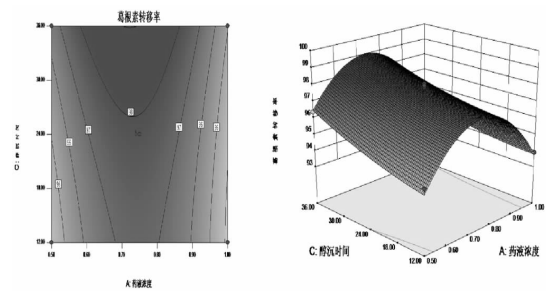


图2 A和C二维图及响应面

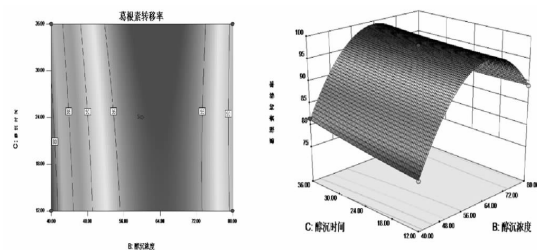


图3 B和C二维图及响应面

2.4 最优醇沉工艺验证试验 按响应面分析得到最佳醇沉工艺,即:药液浓度为0.72 g/mL,醇沉浓度为60% 醇沉时间为36 h,平行3次试验。按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,再按照

色谱条件测定葛根素含量,计算转移率,并计算固形物保留率。结果见表4。

表4 最佳醇沉工艺验证试验结果(n=3)

试验号	1	2	3	平均值	RSD(%)
葛根素转移率(%)	99.00	99.80	99.51	99.44	0.41
固形物保留率(%)	17.64	17.03	16.90	17.19	2.30

由表4可知,在最佳工艺条件下葛根素转移率可达到99%以上,固形物保留率可降低至17%,其重现性较好。

3 讨论

对于中药复方水提液的精制工艺研究中,目前生产上仍以醇沉法应用较为广泛。本实验是在前期单因素实验的基础上,对于影响醇沉工艺的主要因素药液浓度、醇沉浓度、醇沉温度采用中心组合实验设计响应面分析法,优化最佳工艺条件。在评价指标的选择中,以水提部位的主要活性成分葛根素转移率为主要评价指标,同时结合固形物转移率进行综合评价,结果表明在最佳工艺醇沉条件下葛根素转移率可达到99%以上,固形物保留率明显降低(原药液为35%)。由此可见,采用醇沉工艺可最大限度保留活性成分,同时尽可能除去杂质。但是醇沉工艺是否为健脑益智胶囊水提部位的最佳工艺条件,还有待于进一步结合

化学指纹图谱、物理吸湿性及主要药效学指标综合评价方可确定。

参考文献

- [1] 彭平建. 水醇法应用的若干问题[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18(6): 279-280.
- [2] 戴平, 黄凤香, 曾建红, 等. 不同醇沉浓度对广西莪术多糖含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(10): 2436-2437.
- [3] 宋伟. 正交设计优化中药麻黄复方制剂醇沉工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 836-837.
- [4] 张宝丽, 范小璇, 赵晓平. 健脑益智胶囊对基底节区脑出血术后的疗效观察[J]. 陕西中医学院学报, 2007, 30(5): 10-11
- [5] 周振国, 范小璇, 赵晓平, 等. 健脑益智胶囊对颅脑损伤大鼠血浆 NPY 含量的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(31): 3437-3439
- [6] 范小璇, 赵晓平, 梁格婷. 健脑益智胶囊对外伤性脑出血患 IgG - CSF 的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(10): 1552-1554.
- [7] 畅涛, 赵晓平, 周振国. 健脑益智胶囊治疗脑震荡疗效观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(11): 120-121.
- [8] 赵晓平, 吕杨, 范小璇, 等. 健脑益智胶囊提取工艺研究[J]. 陕西中医学院学报, 2013, 36(5): 83-85.

(收稿日期: 2014-06-09 编辑: 文颖娟)

医学论文写作中常见错别字正(误)

综合征(症、证)	体征(证)	征(证)象	特征(证)	妊高征(证)
适应证(症)	禁忌证(症)	循证(症)医学	合并症(证)	并发症(证)
症(征)状	成像(象)	摄像(象)	图像(象)	分裂象(像)
征象(像)	成分(份)	部分(份)	年份(分)	身份(分)
其他(它)	气候(侯)	石蜡(腊)	石棉(绵)	海绵(棉)
横膈(隔)	纵隔(膈)	膈(隔)肌	急躁(燥)	烦躁(燥)
惟(唯)一	辐(幅)射	覆(复)盖	幅(辐)度	多普(谱)勒
啰(罗)音	发热(烧)	骨骼(络)	水肿(浮肿)	脉搏(博)
荧(莹)光屏	预(愈)后	血流(液)动力学	卒中(中风)	心肌梗死(梗塞)
难辨(辨)	辩(辨)论	辩(辩)证论治	艾(爱)滋病	弥(迷)漫
萎(痿)靡	蔓(漫)延	阿司(斯)匹林	传导(道)	即(既)使
即(既)便	瓣(办)膜	解(介)剖	符(附)合	亲和(合)力
转换(化)酶	黏(粘)膜	黏(粘)液		

注: 括号中为错误用法