

从拟合的 6 个处方方程发现, HPMC 的用量为 10% (占全片重 3.33%) 药物释放符合一级动力学模型, 大于等于 15% (占全片重 5%) 则符合零级动力学模型释放。认为 HPMC 的用量在 3.33%~5% 药物的释放速率和特征有一个突变。有文献报道其他 HPMC 水凝胶骨架片, 如布洛芬 HPMC 水凝胶骨架片也存在此现象^[7]。因此在选择考察范围时应注意突变点的情况。

4.3 关于制备工艺: 考虑到挥发油稳定以及分布均匀的要求, 处方以挥发油- β -CD 包合物投料, 但造成混合粉末黏度大, 流动性差, 因此采用湿法制颗粒, 选择适当的润湿剂可以很好解决流动性和黏冲问题, 得到理想的压片颗粒。将 SRL 与 FRL 压制双层片后, 与 SRL 相比, 双层片累积释放率在释放初期有所降低, 释放后期逐渐与单独 SRL 的释放一致。这种现象是由于释放初期 FRL 的存在, 减少了 SRL 与介质接触的面积, 导致释放率在释放初期降低较明显。

References:

- [1] Sun W J, Sheng J F. *Brachylogy Handbook of Nature Active Constituents* (天然活性成分简明手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1998.
- [2] Yang Z H, Wu C, Song C J. Pharmacokinetics of α -asarone in health volunteers. [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1993, 13 (1): 7.
- [3] Dong F Y. *Novel and Applied Dosage Form and Technology of Modern Chinese Materia Medica* (现代实用中药新剂型新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.
- [4] Zhao Y, Jiang X H, Zhou T J, et al. Application of uniform design method to the preparation of sustained release tablet of water soluble drug [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2000, 15 (5): 352.
- [5] Fu G Y, Li S M, Wang Q F, et al. Preparation of hydrophilic gel matrices sustained-release tablets of Benproperine phosphate [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17 (5): 321-323.
- [6] Ping Q N. *Modern Pharmaceutics* (现代药剂学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1998.
- [7] Lu B, Xu G J, Zhang R H. Study on deviation as an index for formulation optimization of sustained or controlled release dosage forms [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 1999, 30 (8): 348-352.

何首乌的提取工艺研究

赵声兰, 赵荣华*, 解凤江, 尉红梅

(云南中医学院中药学院, 云南 昆明 650200)

摘要:目的 研究不同提取工艺对何首乌浸膏中二苯乙烯苷和总糖的影响, 优选制备何首乌浸膏的提取工艺。方法 以蒸制何首乌为原料, 何首乌中二苯乙烯苷和总糖的提取量为指标, 采用旋转响应表面实验设计对何首乌浸膏制备过程中的水提取工艺进行研究。结果 最佳的提取工艺为何首乌饮片与水比例 1:10.5, 每次加热提取 1.5 h, 提取 3 次, 此条件下何首乌中二苯乙烯苷提取量达 2.70%, 总糖提取量达 6.23%。结论 该方法适用于何首乌的提取。

关键词:何首乌; 旋转试验设计; 二苯乙烯苷

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)10-1496-04

Optimization of extracting technology of *Polygonum multiflorum*

ZHAO Sheng-lan, ZHAO Rong-hua, XIE Feng-jiang, WEI Hong-mei

(College of Chinese Materia Medica, Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China)

Key words: *Polygonum multiflorum* Thunb.; rotatory response surface design; stibene glucoside

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 具有养血滋阴、补肝肾、乌须发、强筋骨等功效^[1]。何首乌含有二苯乙烯苷类、蒽醌类、磷脂类、糖类、多种氨基酸、多种维生

素及微量元素, 具有降血脂、抗衰老、增强免疫功能等作用^[2]。二苯乙烯苷类是何首乌降血脂的主要有效成分。《中国药典》2005 年版一部规定何首乌药材中二苯乙烯苷不得少于 1.0%。研究表明何首乌炮

收稿日期: 2005-12-27

基金项目: 云南省中药现代化科技产业专项基金资助项目 (2002ZY-11)

作者简介: 赵声兰 (1962—), 女, 云南人, 副教授, 硕士, 主要从事食品及生物资源开发的教学和科研工作, 在国内外学术期刊发表相关论文 60 余篇。 Tel: (0871) 6788307 E-mail: zhaoshenglan@163.com

* 通讯作者 赵荣华

制前后,二苯乙烯苷的量相差达 2~3 倍^[3],且随炮制温度升高,二苯乙烯苷的量降低,尤其是在溶液状态,温度对二苯乙烯苷的稳定性产生较大影响^[4]。制何首乌多糖可明显拮抗 D-半乳糖所致衰老小鼠血 SOD、CAT、GSH-Px 活力的降低及血浆、脑匀浆及肝匀浆 LPO 水平的升高,制何首乌多糖类成分可能为其抗衰老的主要活性成分之一^[5]。为制何首乌浸膏制备过程中合理的水加热提取工艺,本实验以制何首乌中二苯乙烯苷和总糖提取量为指标,采用旋转响应表面实验设计对制何首乌的水加热提取工艺进行研究,为何首乌颗粒剂饮片的良好生产工艺提供依据。

1 仪器与材料

Waters 液相色谱仪,1525 泵,2487 双波长紫外检测器,Waters Exsil ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。电子天平;分光光度计;电热恒温水浴锅。

何首乌药材来自云南省绿劝县,经云南中医学院中药鉴定教研室廖心荣教授鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb. 的块根。制何首乌饮片由云南中医学院炮制实验室提供。二苯乙烯苷对照品购于中国药品生物制品检定所(批号 0844-20003)。乙腈为色谱纯,其他均为国产分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 二苯乙烯苷的测定:采用高效液相色谱法^[6,7]。柱温:30℃,以乙腈-水(25:75)为流动相,体积流量 1 mL/min,检测波长 320 nm,进样量 10 μL。

2.2 总糖的测定:采用硫酸-苯酚法^[8]。

2.3 浸膏的制备:分别称取 60 g 制首乌,按实验设计方案进行加热回流提取,合并提取液并浓缩至 60 mL 得制何首乌浸膏。

2.4 实验设计:为了分析何首乌浸膏制备过程中制何首乌的提取次数、时间和加水量对二苯乙烯苷和总糖提取量的影响,本实验以制何首乌为原料,采用 2³ 旋转响应表面实验^[9] 设计进行研究,影响因子为加水量、每次提取时间和提取次数,结果指标为二苯乙烯苷提取量和总糖提取量。各因子水平见表 1。

2.5 结果及数据处理:按 2³ 旋转响应表面实验设计进行的 16 组试验,其结果见表 2。

用 Statgraphics 软件对试验数据进行回归分析,分别得到以制首乌中的二苯乙烯苷提取量和总糖提取量为指标,各影响因素为变量的两个二次回归方程及其方差分析结果,见表 3 和表 4。

由表 3 可知,二苯乙烯苷提取量回归方程的相

表 1 因子与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 子		
	X ₁ 加水量(制首乌:水)	X ₂ 每次提取时间/h	X ₃ 提取次数/次
-1.414	1: 6.636	0.659	1
-1	1: 8	1	2
0	1: 10	1.5	3
1	1: 12	2	4
1.414	1: 13.364	2.341	5

表 2 2³ 旋转响应表面试验设计及其结果

Table 2 Test design and results of 2³ rotatory response surface

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	二苯乙烯苷/%	总糖/%
1	10.0	1.5	3.0	2.51	6.143
2	8.0	1.0	2.0	2.13	1.713
3	12.0	1.0	2.0	2.28	2.055
4	8.0	2.0	2.0	2.09	1.956
5	12.0	2.0	2.0	2.02	2.163
6	8.0	1.0	4.0	2.37	2.432
7	12.0	1.0	4.0	2.42	2.261
8	8.0	2.0	4.0	2.29	2.091
9	12.0	2.0	4.0	2.46	3.438
10	6.636 4	1.5	3.0	2.40	1.372
11	13.363 6	1.5	3.0	2.24	5.110
12	10.0	0.659 1	3.0	2.25	3.636
13	10.0	2.340 9	3.0	2.19	2.630
14	10.0	1.5	1.318 2	1.80	1.291
15	10.0	1.5	4.681 8	2.34	1.534
16	10.0	1.5	3.0	2.51	6.143

表 3 影响二苯乙烯苷提取量的回归分析及方差分析结果

Table 3 Analysis of regression and variance for extracting yield of stilbene glucoside from *P. multiflorum*

	系数	SS	f	MS	F	P 值
常数	-0.740 9					
X ₁	0.244 7	0.000 069 98	1	0.000 069 98	0.01	0.936 5
X ₂	0.892 4	0.014 44	1	0.014 44	1.40	0.281 1
X ₃	0.787 9	0.272 2	1	0.272 22	26.82	0.002 1
X ₁ ²	-0.012 56	0.023 37	1	0.023 37	2.30	0.180 0
X ₂ ²	-0.342 3	0.067 85	1	0.067 85	6.68	0.041 5
X ₃ ²	-0.138 6	0.178 0	1	0.178 0	17.53	0.058 0
X ₁ X ₂	-0.012 5	0.001 25	1	0.001 25	0.12	0.737 7
X ₁ X ₃	0.008 75	0.002 45	1	0.002 45	0.24	0.640 7
X ₂ X ₃	0.065	0.008 45	1	0.008 45	0.83	0.396 8
Model		0.488 3	9	0.055 54	5.34	0.027 1
Error		0.060 91	6	0.010 25		

关系数为 0.942 9,标准误差 0.100 8,在 α=0.05 水平上对二苯乙烯苷提取量影响显著的因素是 X₃ 的一次作用,X₂ 的二次作用,说明何首乌浸膏制备过程中,提取次数 X₃ 和每次提取时间 X₂ 显著性地影响着二苯乙烯苷的提取。

何首乌浸膏制备中,X₁、X₂ 和 X₃ 诸因素的一次作用、二次作用、交互作用对二苯乙烯苷提取影响数学模型为 Y=-0.740 8+0.244 7 X₁+0.892 4 X₂

表 4 影响总糖提取的回归分析及方差分析结果
Table 4 Analysis of regression and variance for total sugar extract from *P. multiflorum*

	系数	SS	f	MS	F	P 值
常数	-44.405 5					
X ₁	5.182 4	4.699 9	1	4.699 9	7.29	0.035 7
X ₂	10.930 1	0.018 67	1	0.018 67	0.03	0.870 5
X ₃	9.825 2	0.551 2	1	0.551 2	0.86	0.390 7
X ₁ ²	-0.263 3	10.275 9	1	10.275 9	15.95	0.007 2
X ₂ ²	-4.365 5	11.034 5	1	11.034 5	17.12	0.006 1
X ₃ ²	-1.699 7	26.762 8	1	26.762 8	41.53	0.000 7
X ₁ X ₂	0.172 9	0.239 1	1	0.239 1	0.37	0.564 8
X ₁ X ₃	0.039 2	0.049 14	1	0.049 14	0.08	0.791 7
X ₂ X ₃	0.121 3	0.029 40	1	0.029 40	0.05	0.837 9
Model		34.572 7	9	3.841 41	5.96	0.020 8
Error		3.866 6	6	0.644 4		

$0.787\ 9\ X_3 - 0.012\ 56\ X_1^2 - 0.342\ 3\ X_2^2 - 0.138\ 6\ X_3^2 - 0.012\ 5\ X_1X_2 + 0.008\ 75\ X_1X_3 + 0.065\ X_2X_3$, 该数学模型的方差分析结果显著, 可用于预测适宜的首乌浸膏制备工艺条件。根据得到的数学模型得:

$$\frac{\partial Y}{\partial X_1} = 0.244\ 7 - 0.025\ 12\ X_1 - 0.012\ 5\ X_2 + 0.008\ 75\ X_3 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_2} = 0.892\ 4 - 0.684\ 6\ X_2 - 0.012\ 5\ X_1 + 0.065\ X_3 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_3} = 0.787\ 9 - 0.277\ 2\ X_3 + 0.008\ 75\ X_1 + 0.065\ X_2 = 0$$

解上述方程组可预测得到二苯乙烯苷提取较高的适宜制备工艺条件为: X_1 : 10.240 8 倍, X_2 : 1.449 2 h, X_3 : 3.504 9 次。各因素对二苯乙烯苷提取的表面应答见图 1。

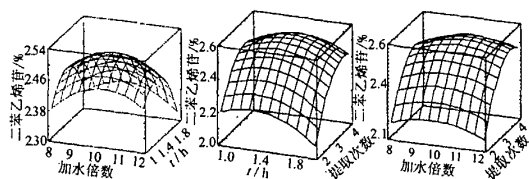


图 1 各提取因素对二苯乙烯苷提取量的表面应答图

Fig. 1 Response surface of processing factors for extracting yield of stilbene glucoside from *P. multiflorum*

由图 1 可见, 在提取 3 次的条件下, 二苯乙烯苷的提取开始随加水量及提取时间的增加而增加, 当加水量大于 10.5 倍和提取时间大于 1.5 h 后, 二苯乙烯苷的提取则随加水量及提取时间的增加而减少; 在加水量为 10 倍的条件下, 二苯乙烯苷的提取开始随提取次数及提取时间的增加而增加, 提取时间达 1.5 h, 提取 3 次时, 二苯乙烯苷的提取达到最

大, 之后随提取次数及提取时间的增加而减少; 在提取时间为 1.5 h 的条件下, 二苯乙烯苷的提取开始随提取次数的增加而增加, 当提取次数大于 3 次和加水量大于 10 倍后, 则随提取次数及加水量的增加而减少。

由表 4 可知, 制何首乌中总糖提取回归方程的相关系数为 0.948 4, 标准误差 0.802 8, 在 $\alpha=0.05$ 水平上对总糖提取影响显著的因素是 X_1 的一次作用及 X_1 、 X_2 、 X_3 的二次作用, 其中 X_3 的二次作用影响最为显著, 其次是 X_1 、 X_2 的二次作用和 X_1 的一次作用, 各因素的交互作用及 X_2 、 X_3 的一次作用影响不显著。加水量 X_1 、提取时间 X_2 和提取次数 X_3 诸因素的一次作用、二次作用、交互作用对首乌浸膏制备过程中总糖提取影响的数学模型为: $Y = -44.405\ 5 + 5.182\ 4\ X_1 + 10.930\ 1\ X_2 + 9.825\ 2\ X_3 - 0.263\ 3\ X_1^2 - 4.365\ 5\ X_2^2 - 1.699\ 7\ X_3^2 + 0.172\ 9\ X_1X_2 + 0.039\ 2\ X_1X_3 + 0.121\ 1\ X_2X_3$, 该数学模型的方差分析结果高度显著, 可用于预测适宜的首乌浸膏制备工艺条件。根据得到的数学模型得:

$$\frac{\partial Y}{\partial X_1} = 5.182\ 4 - 0.526\ 6\ X_1 + 0.172\ 9\ X_2 + 0.039\ 2\ X_3 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_2} = 10.930\ 1 - 0.172\ 9\ X_1 - 8.731\ X_2 + 0.121\ 1\ X_3 = 0$$

$$\frac{\partial Y}{\partial X_3} = 9.825\ 2 + 0.039\ 2\ X_1 + 0.121\ 1\ X_2 - 3.399\ 4\ X_3 = 0$$

解上述方程组预测得到总糖提取较高的适宜制备工艺条件为: X_1 : 10.563 0 倍, X_2 : 1.503 6 h, X_3 : 3.065 6 次。各因素对总糖提取的表面应答见图 2。

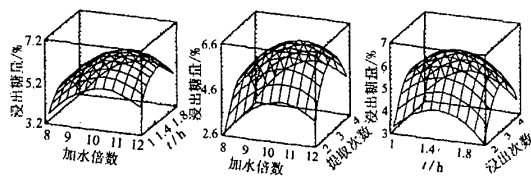


图 2 各因素对总糖提取的表面应答图

Fig. 2 Response surface of processing factors for total sugar extracting

由图 2 可见, 在提取 3 次的条件下, 总糖的提取开始随加水量及提取时间的增加而增加, 当加水量大于 10.5 倍、提取时间大于 1.5 h 后, 总糖的提取则随加水量及提取时间的增加而减少; 在提取时间为 1.5 h 的条件下, 总糖的提取开始随提取次数及加水量的增加而增加, 当提取次数大于 3 次和加水

量大于 10 倍后,则随提取次数及加水量的增加而减少;在加水量为 10 倍的条件下,总糖的提取开始随提取次数及提取时间的增加而增加,提取时间达 1.5 h,提取 3 次,总糖的提取达到最大,之后随提取次数及提取时间的增加而减少。

2.6 单因素的影响:将回归方程进行中心化处理,得到单因素对何首乌浸膏制备过程中二苯乙烯苷及总糖提取量影响的关系图(图 3)。

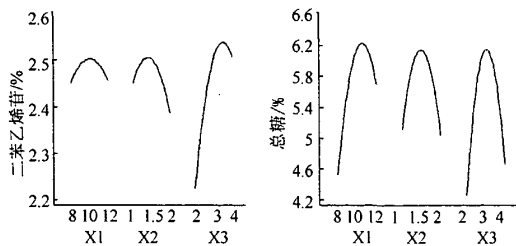


图 3 工艺各单因子对二苯乙烯苷和总糖提取的影响
Fig. 3 Effect of processing factors on extracting of stilbene glucoside and total sugar

由图 3 可见,加水量为 6.6~10 倍增加时,二苯乙烯苷的提取随之增加,加水量超过 10 倍后,二苯乙烯苷的提取随加水量的增加而减少,原因可能是加水量过高,得到的提取液浓度较低,长时间的加热浓缩导致部分二苯乙烯苷破坏,较适宜的加水量为何首乌的 10 倍。每次提取时间在 0.6~1.5 h 增加时,二苯乙烯苷的提取随之增加,提取时间超过 1.5 h 后,二苯乙烯苷的提取随提取时间的增加而减少,部分原因是温度对二苯乙烯苷的稳定性产生较大影响,随提取时间延长,提取的二苯乙烯苷部分被破坏。提取次数在 1~3 次增加时,二苯乙烯苷的提取随之增加,提取次数超过 3 次后,二苯乙烯苷的提取随之减少,原因是提取次数超过 3 次后,随提取次数的增加,溶出少量二苯乙烯苷的同时,提取液的浓度迅速降低,蒸发浓缩时间大大增加,液体状态下二苯乙烯苷对温度较敏感,长时间的加热浓缩破坏了部分二苯乙烯苷,导致提取次数超过 3 次后,随提取次数的增加,二苯乙烯苷的提取减少,较适宜的提取次数为 3 次。由图 4 可见,加水量为何首乌的 6.6~10 倍增加或每次提取时间在 0.6~1.5 h 增加或提取

次数在 1~3 次增加时,总糖的提取均随之增加。

综合考虑二苯乙烯苷提取量和总糖提取量及可操作性,实际应用中,较好的制备工艺条件为:提取 3 次,每次水用量均为何首乌的 10.5 倍,每次提取 1.5 h,根据方程此时二苯乙烯苷理论提取量 2.7%,总糖 6.23%。利用该优化工艺条件进行验证实验提取,结果二苯乙烯苷提取量 2.61%,总糖提取量 6.22%,表明优化所得的工艺条件及其数学模型是可靠的,可用于指导生产实践。

3 结论

通过用 2^3 旋转响应表面实验设计研究提取次数、提取时间及加水量对何首乌浸膏制备过程中二苯乙烯苷提取量和总糖提取量的影响,发现提取次数的一次作用、二次作用及提取时间的二次作用、提取时间和提取次数的交互作用对二苯乙烯苷的提取产生显著影响;加水量的二次作用及提取次数、提取时间的二次作用对总糖的提取产生显著影响。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Su W, Guo Q. Current pharmacology of *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (2): 119-121.
- [3] Qi A D. Optimum for extract processing of stilbene glucoside from *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (7): 609-611.
- [4] Liu Z, Song Z. Determination of content and stability of stilbene glucoside in prepared *Radix Polygoni Multiflori* from different areas [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24 (9): 684-685.
- [5] Miao M, Fang X. Antioxidation of polysaccharoside of *Polygonum multiflorum* for decrepit mice [J]. *Pharmacol Clin Chin Med* (中药药理与临床), 2002, 18 (5): 23-24.
- [6] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [7] Rao G, Xie F, Wang W, et al. HPLC Determination tetra-hydroxy stilbene glucoside of *Polygonum multiflorum* from different districts of Yunnan [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2004, 27 (3): 15-16.
- [8] Su X, Liu C. Sugar analyses of aconitum and it's processing products [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1991, 16 (4): 215-217.
- [9] Zhu W. *Application of Optimum Design for Industry* (工业优化设计应用) [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1993.