

正交试验优选丹参饮口服液的水提取工艺研究

蒲清荣, 陈玉兰, 黄 锐, 赵 剑, 颜章龙, 唐定宏

泸州医学院附属中医医院, 四川 泸州 646000

摘 要: **目的** 探索丹参饮口服液的最佳水提工艺。**方法** 以水提取物中有效成分丹参素钠为指标, 采用高效液相色谱法测定丹参素钠含量, 运用正交设计法对丹参饮口服液水提取工艺进行优选。**结果** 丹参饮口服液最佳水提取工艺为按 5 倍量处方比例称取粗碎药材, 浸泡 0.5 h, 加入 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h。**结论** 采用该水提工艺提取, 水提取物中丹参素钠的收率较高且稳定。

关键词: 丹参饮口服液; 水提取工艺; 正交设计; 丹参素钠; 高效液相色谱法

中图分类号: R943 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2012)04-0270-03

Study on water extraction process of Danshen Decoction Oral Liquid

PU Qing-rong, CHEN Yu-lan, HUANG Rui, ZHAO Jian, YAN Zhang-long, TANG Ding-hong

The Affiliated TCM Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

Abstract: Objective To optimize the water extracting process for Selection of Danshen Decoction Oral Liquid. **Methods** Taking sodium Danshensu as an indicator, HPLC was used to detect the content of sodium Danshensu and orthogonal design to optimize the water extraction process of Danshen Decoction Oral Liquid. **Results** The optimal extraction process of Danshen Decoction Oral Liquid as follow: The crushed crude traditional Chinese medicinal materials were weighed in a five-fold volume ratio of prescription with soaking for 0.5 h, decocting for three times by ten-fold water, once for 1.5 h. **Conclusion** Using the water extract process, the yield in the water extract of sodium Danshensu is high and stable.

Key words: Danshen Decoction Oral Liquid; water extracting process; orthogonal design; sodium Danshensu; HPLC

丹参饮处方来源于《时方歌括》卷下, 由丹参、砂仁、檀香组成, 主要有抑菌, 抗炎, 镇静、镇痛, 抗凝, 扩冠等作用, 对预防和治疗心脑血管疾病十分有效^[1-2]。处方中药材的有效成分易溶于水溶液, 所以采用煎煮法提取。丹参为方中君药, 丹参素钠为其主要水溶性有效成分^[3], 因此以丹参素钠的收率为指标, 采用正交设计法优选最佳提水取工艺。

1 方法与结果

1.1 仪器与材料

LC—20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); 丹参素钠对照品 (批号 110855-200809, 供含量测定用, 中国食品药品检定研究院); 丹参、砂仁、檀香购自泸州百草堂中药饮片有限公司, 经课题组鉴定分别为唇形科植物丹参 *Savia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎、姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour 的干燥成熟果实、檀香科植物檀香 *Santalum*

album L. 树干的干燥心材。

1.2 丹参素钠的含量测定

1.2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱为 Inertsil ODS-SP C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-1%冰乙酸 (13:87); 体积流量 1 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 40 °C, 理论塔板数按丹参素钠计算应不低于 3 000^[5], 色谱图见图 1。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参素钠对照品 8.3 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加入蒸馏水溶解并定容, 即得 0.332 mg/mL 的对照品溶液贮备液。

1.2.3 供试品溶液的制备 按处方药材配比, 准确称取药材 40 g, 按正交试验优选工艺提取, 合并提取液, 浓缩蒸干, 浸膏经 105 °C 烘至质量恒定, 取干浸膏 0.5 g, 精密称定, 加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 40 min, 取出, 放冷, 补足质量, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

收稿日期: 2012-04-05

基金项目: 泸州市科技局课题 (LSCQ《2010》41 号)

作者简介: 蒲清荣, 男, 四川广元人, 泸州医学院附属中医医院副主任中医师, 主要从事中药制剂开发与研究。Tel: (0830)3162253

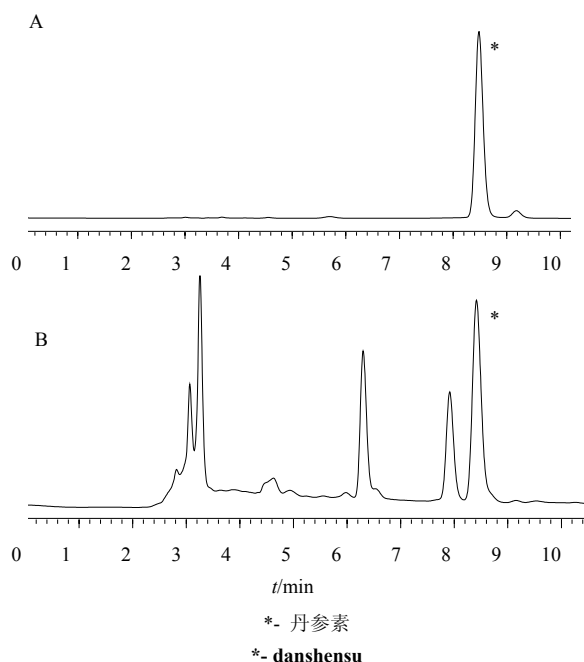


图1 丹参素钠对照品(A)和供试品(B)高效液相色谱图
Fig. 1 HPLC chromatogram of sodium Danshensu reference substance (A) and test samples (B)

1.2.4 标准曲线的绘制 取丹参素钠对照品贮备液用蒸馏水稀释, 制得质量浓度分别为 16.6、33.2、66.4、132.8、265.6 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 依次吸取 10 μL 注入液相色谱仪, 测定。以峰面积为纵坐标, 丹参素钠的质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程: $Y=8 \times 10^6 X - 8971.2$, $R^2=0.9999$ 。

1.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 连续重复进样 5 次, 每次进样 10 μL 进行测定, 结果 RSD 为 1.32%。表明该方法、该仪器测定丹参素钠精密度符合要求。

1.2.6 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 10 μL , 每隔 30 min 进样一次, 测定各峰面积, 共测定 5 次, 其 RSD 为 1.56% ($n=5$)。表明丹参素钠用该方法在该仪器上 3.5 h 内测定结果较稳定, 符合要求。

1.2.7 重复性试验 取同一批样品稠膏, 依法重复提取并测定 5 次, 结果峰面积 RSD 为 1.18% ($n=5$), 表明该方法重复性试验符合要求。

1.2.8 加样回收率试验 精密称取已知丹参素钠含量的样品 0.5 g, 共 6 份, 分别精密加入 3 mg 的丹参素钠对照品, 按 1.2.3 项下制备供试品溶液, 各取 10 μL 进样测定, 计算加样回收率。结果平均加样回收率为 98.71, RSD 为 1.37%。

1.3 正交试验设计

1.3.1 因素水平表 经过预实验, 多方考虑影响传

统中药煎煮水煎煮的因素, 选择加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数为主要考察因素^[4], 选用 $L_9(3^4)$ 因素水平表安排正交试验。各因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	加水量(A)/倍	浸泡时间(B)/h	煎煮时间(C)/h	煎煮次数(D)/次
1	8	0.5	0.5	1
2	10	1	1	2
3	12	1.5	1.5	3

1.3.2 样品制备 按 5 倍量处方药材的配比, 准确称取 9 份样品, 每份 40 g, 按表 1 中 9 种工艺条件组合进行水提取法提取, 提取液浓缩成稠浸膏备用。

1.3.3 干浸膏收率的测定 取正交试验稠浸膏, 水浴蒸干, 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘至质量恒定, 精密称定, 计算干浸膏收率, 结果见表 3。

1.3.4 丹参素钠的测定 取正交试验稠浸膏, 依法制备供试品溶液。按上述色谱条件, 进样 10 μL , 测定峰面积, 计算含量。结果见表 3。

由表 3 直观分析可以看出因素 D 对浸膏提取量和丹参素钠含量都有显著影响, 且对丹参素钠收率影响因素顺序为 $D>C>A>B$, 以 $D_3C_3A_2B_1$ 为佳, 故确定最佳水提工艺为: 加 10 倍量水浸泡 0.5 h, 煎煮 3 次, 每次煎煮 1.5 h。

2 验证试验

由于丹参饮口服液水提工艺的最佳方案没有在正交试验因素表内, 因此课题组按最佳水提工艺进行了 6 批验证。结果见表 4。

3 讨论

本实验采用高效液相色谱法测定丹参素钠含量, 分离效果好, 操作简便, 稳定性好, 为优选丹参饮口服液水提取工艺提供参考依据。丹参饮是我国著名古方, 由丹参、檀香、砂仁 3 味药组成, 丹参为方中主药, 其质量优劣直接决定着该口服液的临床疗效。

丹参饮口服液中丹参素钠含量测得值偏高于前人所测^[6-7], 且最佳水提工艺 $D_3C_3A_2B_1$ 的丹参素钠收率微高于正交试验 4 号, 两者之间的差别在于前者煎煮时间为 1.5 h, 而后者煎煮时间为 1.0 h, 可能是在煎煮过程中由丹参中其他醇溶性成分转化而来, 有待于进一步探讨。

表3 正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test

试验号		因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	干浸膏收率/%	丹参素钠收率/(mg·g ⁻¹)
1		1	1	1	1	17.91	7.68
2		1	2	2	2	34.44	10.71
3		1	3	3	3	39.33	16.54
4		2	1	2	3	45.55	18.45
5		2	2	3	1	19.06	11.96
6		2	3	1	2	40.02	11.67
7		3	1	3	2	40.75	14.58
8		3	2	1	3	43.10	13.98
9		3	3	2	1	29.73	10.70
干浸膏 收率	I	91.68	104.21	101.03	66.7		
	II	104.63	96.6	109.72	115.21		
	III	113.58	109.08	99.14	127.98		
	S	80.82	26.38	21.22	696.84		
	R	21.9	12.48	10.58	61.28		
丹参素钠 收率	I	34.93	40.71	33.33	30.32		
	II	42.08	36.65	39.86	36.97		
	III	39.26	38.91	43.08	48.97		
	S	8.74	2.71	16.57	59.59		
	R	7.15	4.06	9.75	18.65		

表4 验证试验结果

Table 4 Verification test

批号	丹参素钠收率/%
20120302	19.10
20120303	19.16
20120304	19.19
20120305	19.04
20120306	19.12
20120307	19.24

参考文献

[1] 柳 丽, 张洪泉. 丹参饮对大鼠胃溃疡边缘黏膜细胞凋亡和部分生长因子表达的影响 [J]. 中成药, 2006, 28(3): 394-397.

[2] 韦 薇, 高天荣, 叶 源. 中药传统方剂“丹参饮”口服液的紫外光谱研究 [J]. 楚雄师范学院学报, 2002, 17(3): 53-56.

[3] 王 梅, 杨 华. HPLC 法测定防癰丸中丹参素钠的含量 [J]. 中医研究, 2010, 23(8): 21-23.

[4] 吴 宣, 孟宪生, 曹爱民. 基于正交设计法对九味丹参胶囊水提工艺的研究 [J]. 辽宁中医学报, 2008, 10(4): 145-146.

[5] 黄衍民, 黄炳亮, 张亚斌, 等. 高效液相色谱法测定丹红注射液中丹参素钠的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(11): 1618-1619.

[6] 安 睿, 王新宏, 唐 莹. 不同产地丹参药材中水溶性成分分析 [J]. 中成药, 2005, 27(7): 812-815.

[7] 杨树声, 宋平顺, 赵建邦. HPLC 法同时测定丹参类药材中水溶性活性成分的含量 [J]. 甘肃中医学院学报, 2008, 25(6): 42-4