

基于提取温度控制的土茯苓配方颗粒溶化性改善策略研究

葛春丽¹, 张定堃¹, 黄梓鹏², 宋 娇¹, 廖 维¹, 宋奕辰², 廖嘉宝^{2*}, 韩 丽^{1*}

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 华润三九现代中药制药有限公司, 广东 深圳 518110

摘要: **目的** 通过降低提取温度改善土茯苓 *Smilacis Glabrae Rhizoma* 提取物及其配方颗粒的溶化性。**方法** 分别采用回流提取、煮开后 80 °C 水浴浸提、直接 80 °C 水浴浸提、煮开后 70 °C 水浴浸提、直接 70 °C 水浴浸提 5 种方法制备土茯苓提取物并对各提取物的溶化性进行分析, 同时考察 5 种提取方法对土茯苓提取物的特征图谱、多糖与淀粉含量、出膏率、落新妇苷含量及转移率的影响。**结果** 上述 5 种方法制备的提取物中不溶物含量分别为 34.93%、26.67%、24.48%、29.65%、4.03%, 与回流提取相比其余 4 种提取方法均能改善土茯苓提取物的溶化性, 其中直接 70 °C 水浴浸提对溶化性改善最明显。不同提取方法制备的土茯苓提取物的特征图谱无明显差异, 表明其质量稳定。相比于回流提取, 直接 70 °C 水浴浸提的土茯苓提取物的淀粉含量降低了 11.74%; 落新妇苷含量 (38.6 mg/g) 及其转移率最高 (60.95%)。**结论** 采用 70 °C 水浴浸提法可显著改善土茯苓配方颗粒的溶化性。

关键词: 土茯苓; 配方颗粒; 提取工艺; 溶化性; 特征图谱; 多糖; 淀粉; 出膏率; 新落新妇苷; 落新妇苷; 新异落新妇苷; 异落新妇苷; 黄杞苷; 转移率

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)09-2785-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.09.011

Research on improvement strategy for solubility of *Smilacis Glabrae Rhizoma* formula granules based on extraction temperature controll

GE Chun-li¹, ZHANG Ding-kun¹, HUANG Zi-peng², SONG Jiao¹, LIAO Wei¹, SONG Yi-chen², LIAO Jia-bao², HAN Li¹

1. State Key Laboratory of Southwest Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. China Resources Sanjiu Modern Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China

Abstract: Objective To improve the solubility of *Smilacis Glabrae Rhizoma* (SGR) extract and its formulation granules by lowering the extraction temperature. **Methods** Reflux extraction, 80 °C water bath extraction after boiling, 80 °C water bath extraction, 70 °C water bath extraction after boiling, and 70 °C water bath extraction were used to prepare the extract of SGR, and the solubility of each extract was analyzed. At the same time, the effects of five extraction methods on the characteristic chromatograms, polysaccharide and starch contents, paste yield, content and transfer rate of astilbin were investigated. **Results** The contents of insoluble matter in the extracts prepared by the above five methods was 34.93%, 26.67%, 24.48%, 29.65%, and 4.03%, respectively. The solubility of SGR extract could be improved by using the other four extraction methods compared to reflux extraction, with 70 °C water bath extraction showing the most obvious improvement. There was no significant difference in the characteristic chromatograms of the extracts prepared by different extraction methods, indicating that their quality was stable. Compared to reflux extraction, 70 °C water bath extraction showed an 11.74% reduction in starch content; astilbin content (38.6 mg/g) and its transfer rate (60.95%) were the highest. **Conclusion** The solubility of SGR formulation granules can be significantly improved by the method of 70 °C water bath extraction.

收稿日期: 2022-11-02

基金项目: 国家中医药多学科交叉创新团队项目 (ZYXCXTD-D-202209); 华润三九现代中药制药有限公司-成都中医药大学企业委托横向课题 (3010210586)

作者简介: 葛春丽, 硕士研究生, 从事中药制剂新剂型、新技术与炮制研究。E-mail: 1185593862@qq.com

*通信作者: 韩 丽, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药制剂新技术。E-mail: hanliy@163.com

廖嘉宝, 主管中药师, 从事中药配方颗粒制备工艺研究。E-mail: xdliaojb@999.com.cn

Key words: *Smilacis Glabrae Rhizoma*; formula granules; extraction process; solubility; characteristic chromatogram; polysaccharides; starch; paste yield; neoastilbin; astilbin; neoisoastilbin; isoastilbin; engeletin; transfer rate

土茯苓 *Smilacis Glabrae Rhizoma* (SGR) 为百合科植物光叶菝葜 *Smilax glabra* Roxb. 的干燥根茎, 其性味甘、淡、平, 归肝、胃、脾经, 具有解毒、除湿、通利关节的功效, 可用于梅毒及汞中毒所致的肢体拘挛、筋骨疼痛、湿热淋浊、带下、痈肿、瘰疬、疥癣等症^[1-2]。临床上常用土茯苓治疗高尿酸血症和痛风^[3-4]。现代研究表明, 土茯苓还具有抗炎、镇痛、抗肿瘤、抗氧化、免疫调节、保肝、利尿、抗菌等诸多药理活性^[5-6]。

土茯苓配方颗粒是土茯苓饮片经水提取、分离、浓缩、干燥、制粒等工艺而制成的颗粒^[7]。与传统汤剂相比, 其具有调剂方便、生产使用方便、剂量准确、便于携带、随证加减的优点^[8]。但课题组前期调研发现, 部分市售土茯苓配方颗粒加入 200 mL 热水搅拌 5 min 后, 仍存在大量未溶颗粒 (图 1), 且 3 个不同来源厂家的土茯苓配方颗粒均存在类似问题, 不符合《中国药典》2020 年版规定的颗粒剂质量要求。

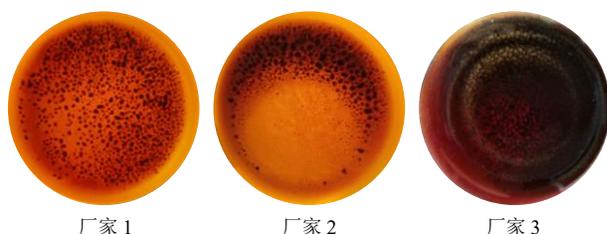


图 1 不同厂家土茯苓配方颗粒溶化情况

Fig. 1 Dissolution of SGR formula granules from different manufacturers

大量不溶物的存在会降低患者的接受度和服用顺应性, 导致产品的市场竞争力下降。为改善土茯苓配方颗粒的溶化性, 课题组前期拟通过辅料及生产工艺改进来改善溶化性, 但效果不佳。究其原因, 土茯苓为根茎类药材, 粉性较大, 采用回流水提取的制备工艺, 淀粉、多糖等均被大量提取, 且长时间的高温煎煮可能会使淀粉糊化变性^[9-11], 使土茯苓提取物的溶化性降低。因此, 高温煎煮可能是导致土茯苓配方颗粒溶化性差的首要原因。

为验证上述猜想, 本实验拟研究降低温度提取改善土茯苓配方颗粒溶化性的可行性。因此, 本研究分别采用回流提取、煮开后 80 °C 水浴浸提、直接 80 °C 水浴浸提、煮开后 70 °C 水浴浸提、直接

70 °C 水浴浸提 5 种方法制备土茯苓提取物, 并考察对土茯苓提取物溶化性、特征图谱、多糖与淀粉含量、出膏率、落新妇苷含量及其转移率的影响, 筛选土茯苓最优提取工艺, 以期为土茯苓配方颗粒溶化性的改善提供依据, 同时为其市场竞争力提升提供技术支撑。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BSA 224SA 型万分之一分析天平和 BT25S 型十万分之一分析天平, 德国 Sartorius 公司; DZKW-4 型电子恒温水浴锅, 北京中兴伟业仪器有限公司; MH-1000 调温型电热套, 北京科伟永兴仪器有限公司; UPR-II-5T 超纯水器, 四川优普超纯科技有限公司; DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海凯郎仪器设备厂; KQ-500DE 型超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司; L550 型台式低速离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; Scientz-10N/C 型冷冻干燥器, 宁波新芝冻干设备有限公司; Turbiscan Lab 型稳定性分析仪, 法国 Formulacion 公司; Ultimate 3000 UPLC 型高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2 材料

土茯苓对照药材 (批号 121439-201803) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品落新妇苷 (批号 DST201015-054)、黄杞苷 (批号 DST210604-045)、D-(+)-无水葡萄糖 (批号 DSTW000501) 均购自成都德思特生物技术有限公司, 质量分数均 ≥ 98%; A148-1-1 淀粉含量测试盒, 南京建成生物工程研究所有限公司; 冰醋酸, 色谱纯, 成都市科隆化学有限公司; 乙腈, 色谱纯, 安徽天地高纯溶剂有限公司; 甲醇, 色谱纯, 西格玛奥德里奇贸易有限公司; 水为超纯水; 其他试剂为分析纯。4 批土茯苓饮片分别购自广西、湖南、贵州、四川, 经成都中医药大学药学院许润春副教授鉴定为百合科菝葜属植物光叶菝葜 *S. glabra* Roxb. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 提取方法

取土茯苓饮片 2 kg, 加入一定量的水, 采用回流提取法 (方法 1)、煮开后 80 °C 水浴浸提法 (方法 2)、直接 80 °C 水浴浸提法 (方法 3)、煮开后

70 °C水浴浸提法(方法4)、直接70 °C水浴浸提法(方法5)分别提取一定时间和次数,滤过得到土茯苓提取液。将提取液浓缩至适量,干燥成粉末(提取物)备用。

2.2 溶化性考察

2.2.1 基于多重光散射技术分析溶化性 由于土茯苓提取物加入热水搅拌5 min后仍有沉淀产生,肉眼观察难以定量分析沉淀量及溶化性情况。采用抽滤并干燥沉淀后计算不溶物占比的方法虽可对其进行定量分析,但耗时较长、过程繁琐。而Turbiscan Lab型稳定性分析仪可以通过土茯苓提取物溶化过程中光强度的变化情况来快速、准确、定量反应样品的溶化性及沉淀情况^[12],因此,本研究采用Turbiscan Lab型稳定性分析仪来定量分析提取物的溶化性。

Turbiscan Lab型稳定性分析仪基于多重光散射原理,采用脉冲近红外光源($\lambda=880\text{ nm}$)和透射光、背散射光2个同步光学探测器,对处于圆柱形玻璃测试瓶中的待测样品进行自下而上地垂直扫描。透射光探测器接收透过样品的透射光(T ,与入射角成 0°),用于研究清澈透明的样品;背散射光探测器接收被样品反射的反射光(BS ,与入射角成 135°),用于研究浓度可高达95%的不透光样品^[13-14]。探测器沿样品高度(最高55 mm)扫描,每40 μm 高度采集1次透射光和背散射光数据,数据采集时间可根据样品的变化速率设定,最低可每0.1秒采集1次。扫描得到的曲线给出了在不同时间点的透射光和背散射光随样品高度的变化关系,可直观、快速、准确地反映出样品中粒径大小的变化和粒子上浮、沉淀、聚集/絮凝等动态变化。

此外,Turbiscan Lab型稳定性分析仪还能通过Turbiscan Easysoft软件进行数据处理,得到稳定性指数(Turbiscan stability index, TSI)、峰厚度等参数^[15-16]。当溶液中存在粒子的迁移、沉淀等现象时,透射光与背散射光随粒子迁移速度变化,TSI值也会随之升高,TSI越高溶液越不稳定;峰厚度也随沉淀层厚度的增加而增加^[16]。

2.2.2 溶化性测定 土茯苓提取物溶液为透明液体,因此,选择透射光强度(T)进行分析。

取供试品1 g,加热水200 mL,搅拌5 min,立即倒入玻璃测试瓶中,再放入Turbiscan Lab型稳定性分析仪扫描池内。沿垂直方向每30秒扫描1次,扫描10 min,得到透射光变化曲线图谱^[14,17],通过

Turbiscan Easysoft软件计算TSI、底部和顶部光强平均值、峰厚度,结果见图2。

如图2-a所示,方法1~4样品溶液的 T 随时间的增加而逐渐增强,样品瓶底部(0~10 mm)的 T 较低,中部(10~30 mm)和顶部(30~40 mm)的 T 均高于底部,且呈梯度式递增,表明方法1~4制备的样品在瓶底部出现沉淀,且在静置的10 min内溶液中的粒子不断沉降,使中部至顶部的溶液逐渐澄清。而图2-a方法5的整体 T 变化较小,说明采用方法5制备的样品较稳定,无明显沉淀出现。

图2-b为5个样品的TSI值随时间变化趋势图,可以看出5个样品的TSI值均随时间的延长逐渐升高,但采用方法5制备的样品TSI值变化最小,表明其稳定性最好。

图2-c为5个样品在第10分钟时的整体TSI值、瓶顶部和底部的的光强平均值与峰厚度,其可准确、定量反映各溶液的变化情况。图中方法1~4制备的样品顶部光强平均值均大于15%,底部光强平均值均小于0,顶部光强平均值明显高于底部;而方法5制备的样品顶部和底部光强平均值均约为2%,相差较小,进一步说明方法1~4制备的样品有沉淀出现,溶化性较差。峰厚度反映了溶液在分层过程中水相的高度,峰厚度越厚,沉淀的厚度越厚。从图2-c中溶液的底部峰厚度平均值可以看出,采用提取方法1~4制备的样品溶液的峰厚度平均值均大于2 mm,且方法1>方法4>方法2>方法3,而采用方法5制备的样品溶液的峰厚度平均值几乎为0,说明采用方法5制备的样品沉淀极少或几乎无沉淀,采用方法1~4制备的样品沉淀较多,沉淀最多的为方法1制备的样品,其次为方法4、方法2和方法3。

使用Turbiscan Lab型稳定性分析仪扫描完成后使用手机拍摄瓶底部和侧面,记录土茯苓提取物的溶化情况,并用定量滤纸将样品滤过,干燥,结果见图3。土茯苓提取物于热水中搅拌5 min后的溶化情况所示,5种提取方法制备的土茯苓提取物溶于热水后底部均有不同量的沉淀,其中方法5制备的样品溶化后沉淀物最少。

计算5种提取方法(方法1~5)制备的土茯苓提取物溶于热水后不溶物占比分别为34.93%、6.67%、24.48%、29.65%、4.03%,可以发现采用方法1制备的样品不溶物含量最高,为34.93%,降低提取温度后不溶物含量均减少,而采用方法5制备

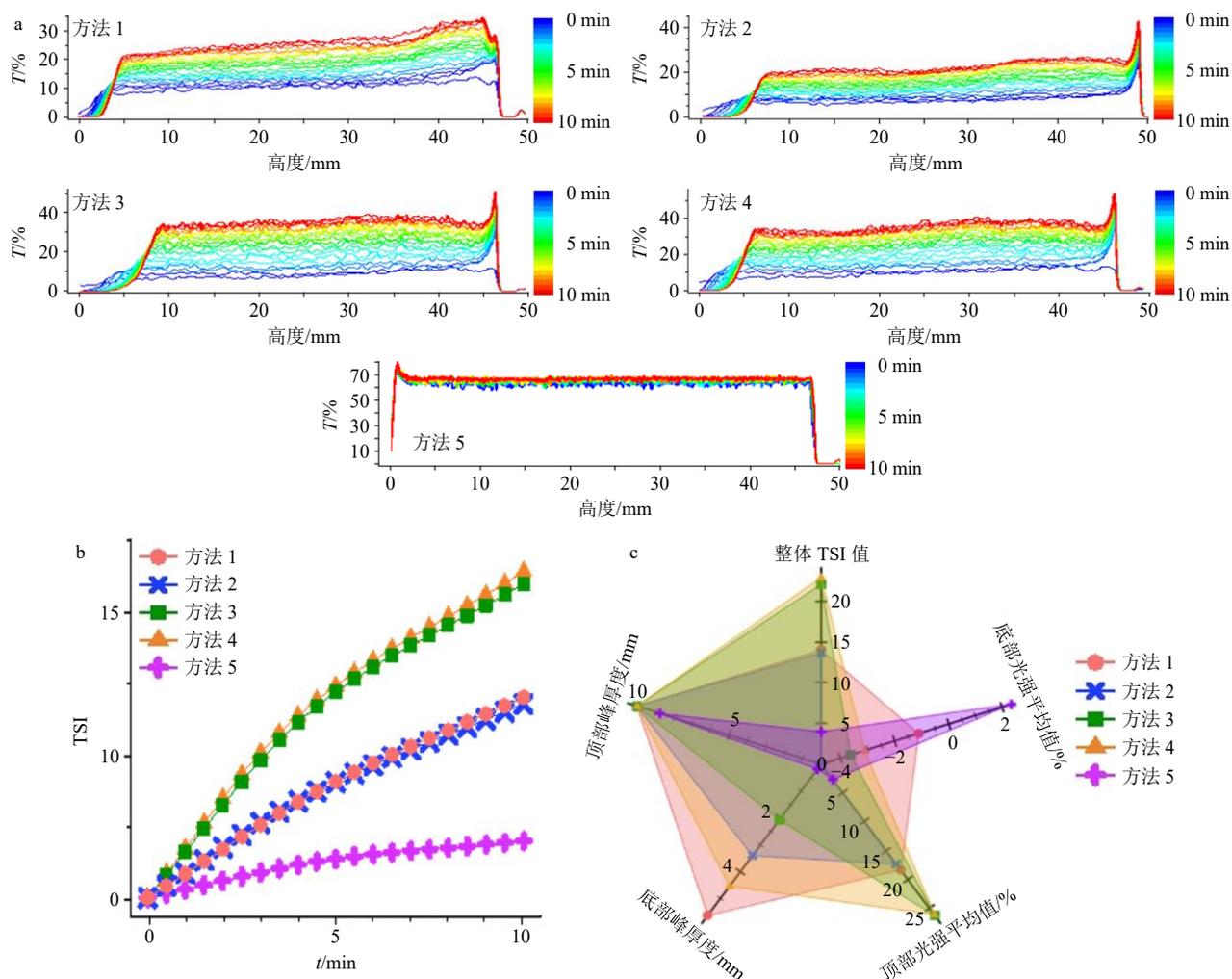


图 2 5 种提取方法 (方法 1~5) 制备的土茯苓提取物溶液的透射光变化曲线图 (a)、TSI 变化趋势图 (b) 以及溶液的整体 TSI 值、底部和顶部透射光强平均值、顶部和底部峰厚度平均值的雷达图 (c)

Fig. 2 Plots of transmitted light variation (a), trend of TSI variation (b), and radar plots of overall TSI values, mean values of bottom and top transmitted light intensities, and mean values of top and bottom peak thicknesses (c) of solutions of *Smilax glabra* rhizome extracts prepared by the five extraction methods (methods 1—5)

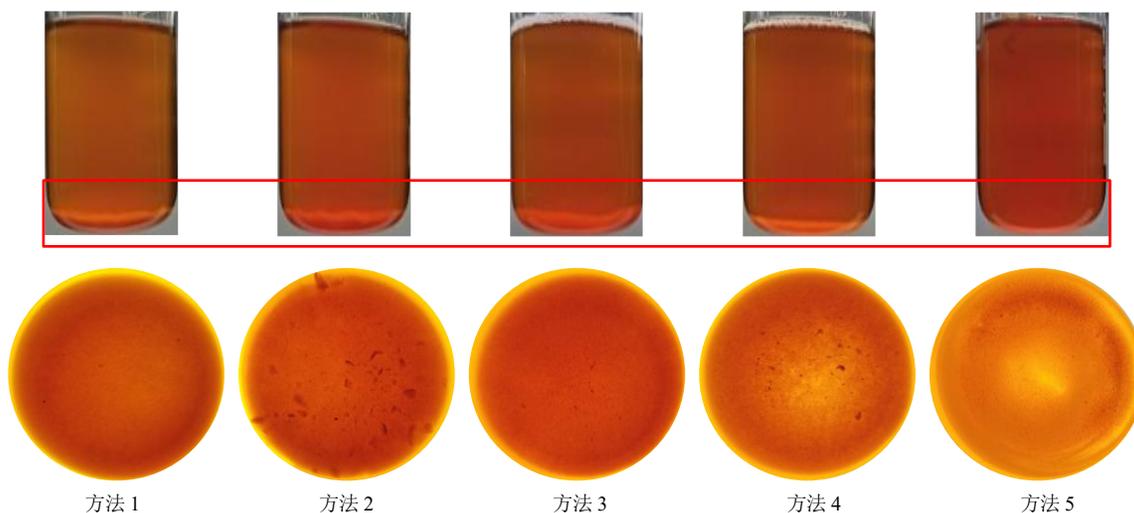


图 3 5 种提取方法制备的土茯苓提取物溶化情况

Fig. 3 Solubility of insoluble matter of SGR extract prepared by five extraction methods

的样品沉淀含量仅为 4.03%，溶性最佳。

综合上述指标可以看出，降低提取温度可以改善土茯苓提取物的溶性，其中提取方法 5 对土茯苓提取物的溶性改善最明显。

2.3 特征图谱考察

2.3.1 色谱条件 Acquity UPLC HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为乙腈-0.2%冰醋酸水溶液; 梯度洗脱条件: 0~2 min, 13%乙腈; 2~5 min, 13%~17%乙腈; 5~14 min, 17%~23%乙腈; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 291 nm; 进样量 1 μL^[18]。

2.3.2 对照药材溶液的制备 取土茯苓对照药材 0.801 0 g, 置具塞锥形瓶中, 加入 60%甲醇 100 mL, 加热回流 60 min, 取出放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为对照药材溶液。

2.3.3 混合对照品溶液的制备 取落新妇苷、黄杞苷对照品适量, 精密称定, 加 60%甲醇制成含落新妇苷 50.00 μg/mL、黄杞苷 51.25 μg/mL 的混合对照品溶液。

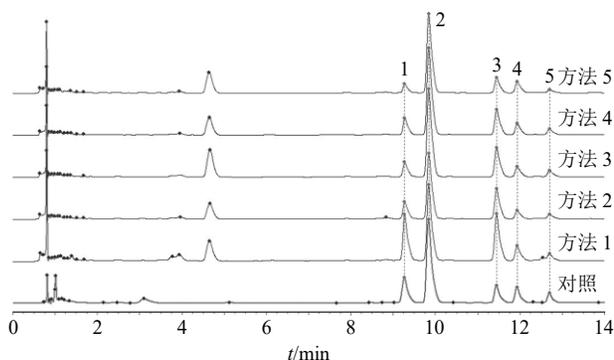
2.3.4 供试品溶液的制备 取“2.1”项下供试品约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入 70%乙醇 100 mL, 超声处理 (功率 300 W、频率 45 kHz) 40 min, 取出放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.3.5 特征图谱测定 分别吸取对照药材溶液、混合对照品溶液和供试品溶液适量, 按“2.3.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图与保留时间。通过对照品、质量标准文件^[18]指认出主要的峰, 使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012A 版”对色谱图进行匹配, 并以土茯苓对照药材图谱 (对照) 为参照, 计算各提取物的 UPLC 色谱图与参照图谱的相似度。结果如图 4 所示, 5 种提取方法制备的土茯苓提取物的 UPLC 特征图谱与对照药材参照物色谱均检出新落新妇苷、落新妇苷、新异落新妇苷、异落新妇苷和黄杞苷 5 个特征共有峰, 色谱图相似度均大于 0.96。说明各土茯苓提取物的成分无明显变化, 降低提取温度对成分无影响。

2.4 多糖的含量测定^[19-21]

2.4.1 对照品溶液的制备 取无水葡萄糖对照品适量, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 溶解, 摇匀, 制成含无水葡萄糖 101.2 μg/mL 的对照品溶液。

2.4.2 线性关系考察 取对照品溶液 0.4、0.6、0.8、



对照-土茯苓对照药材 1-新落新妇苷 2-落新妇苷 3-新异落新妇苷 4-异落新妇苷 5-黄杞苷
control-SGR reference medicinal material 1-neoastilbin 2-astilbin 3-neoisoastilbin 4-isoastilbin 5-engeletin

图 4 5 种提取方法制备的土茯苓提取物的 UPLC 特征图谱
Fig. 4 UPLC characteristic chromatograms of SGR extracts prepared by five extraction methods

1.0、1.2、1.4 mL, 置 10 mL 具塞试管中, 加蒸馏水至 2 mL, 摇匀, 分别加 5%苯酚溶液 1 mL, 98%硫酸 5 mL, 混匀, 于 40 °C 水浴中保温 30 min, 取出, 放入冰水浴中 5 min, 取出后恢复至室温备用, 在 490 nm 波长处测定吸光度 (A)。以 A 值为纵坐标 (Y), 葡萄糖质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=8.5432X-0.0141$, $R^2=0.999$, 表明葡萄糖在 30.36~70.84 μg/mL 呈良好线性关系。

2.4.3 供试品溶液的制备 称取“2.1”项下供试品 0.2 g, 精密称定, 于 50 mL 离心管内, 加入 10 mL 蒸馏水, 摇匀, 超声提取 (功率 300 W、频率 45 kHz) 30 min。提取结束后, 于 4000 r/min 离心 (离心半径 81 mm) 10 min, 弃去沉淀。上清液加 40 mL 无水乙醇, 置于 4 °C 冰箱中静置 24 h。将静置 24 h 的溶液离心, 弃去上清液, 沉淀加水溶解, 转移置 50 mL 量瓶中, 定容至刻度线, 得到供试品溶液。取 1 mL 供试品溶液, 加蒸馏水至 2 mL, 按照“2.4.2”项下方法测定 A 值, 计算各样品中多糖含量, 结果见表 1。

2.5 淀粉的含量测定

按照 A148-1-1 淀粉含量测试盒说明书测定总淀粉含量^[22]。测定原理: 利用 80%乙醇把样品中可溶性糖与淀粉分开, 淀粉在 95 °C 水浴中糊化后, 进一步采用酸水解法分解淀粉为葡萄糖, 再用蒽酮比色法对葡萄糖进行定量, 从而计算出相关淀粉的含量。淀粉含量测定结果见表 1。如表 1 结果所示, 方法 1 与其余 4 种方法制备的土茯苓提取物的多糖、

表 1 5 种提取方法下土茯苓提取物的多糖、淀粉含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Contents of polysaccharide and starch of SGR extracts prepared by the five extraction methods ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	多糖/%	淀粉/%
方法 1	8.53±0.22	17.41±0.77
方法 2	8.45±0.28*	15.91±0.69*
方法 3	7.23±0.17*	15.11±0.61*
方法 4	6.08±0.11*	13.89±0.52*
方法 5	7.07±0.32*	5.98±0.16*

与方法 1 比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs method 1

淀粉含量存在显著差异 ($P < 0.05$), 随着提取温度的降低, 土茯苓配方颗粒中的淀粉含量明显降低, 多糖含量略有降低。通过对土茯苓提取物中不溶物的定性定量分析发现, 土茯苓提取物中的不溶物由大量的淀粉、多糖组成, 降低提取温度会减少多糖和淀粉的溶出, 同时避免大量淀粉在高温煎煮下糊化, 从而有效减少不溶物的产生。

2.6 出膏率的测定

按照“2.1”项下方法提取, 合并滤液后浓缩至 1.8 L, 将浓缩液干燥成粉末, 根据干燥后粉末质量计算出膏率, 结果见表 2。

2.7 落新妇苷的含量测定

2.7.1 色谱条件 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为甲醇-0.1%冰醋酸水溶液; 洗脱条件: 0~10 min, 30%甲醇; 体积流量 0.4 mL/mL; 柱温 30 °C; 检测波长 291 nm; 进样量 2 μL^[18]。

2.7.2 对照品溶液的制备 取落新妇苷对照品适量, 表 2 5 种提取方法下土茯苓的出膏率、落新妇苷含量及其转移率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Extraction rate, astilbin content and its transfer rate of SGR extracts prepared by five extraction methods ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	出膏率/%	落新妇苷/(mg·g ⁻¹)	转移率/%
土茯苓饮片	—	8.14±0.03	—
方法 1	19.68±0.65	19.7±0.11	47.64
方法 2	16.13±0.56*	26.1±0.00*	51.73
方法 3	14.64±0.48*	21.4±0.01*	38.50
方法 4	13.92±0.85*	34.0±0.05*	58.16
方法 5	13.50±0.42*	38.6±0.10*	60.95

与方法 1 比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs method 1

精密称定, 加 60% 甲醇制成含落新妇苷 53.00 μg/mL 的对照品溶液。

2.7.3 供试品溶液的制备 取“2.1”项下供试品 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 100 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 300 W、频率 45 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用 60% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 滤膜, 即得供试品溶液。

2.7.4 样品测定 分别吸取对照品溶液和供试品溶液适量, 按“2.7.1”项下色谱条件进行含量测定, 结果见表 2。如表 2 结果所示, 随着提取温度降低, 土茯苓饮片出膏率明显降低, 但指标成分落新妇苷含量及其转移率明显增加。研究表明^[23], 落新妇苷具有异构性和热不稳定性, 在 40 °C 时, 落新妇苷主要被异构化为新异落新妇苷, 异落新妇苷被异构化为新落新妇苷。而在较高的温度下落新妇苷的分解和异构化速度变快, 并会转化成新落新妇苷 (图 5)^[24-25]。结合图谱中落新妇苷与其 3 种异构体峰面积的变化趋势 (表 3) 发现, 落新妇苷和异落新妇苷的峰面积随提取温度的降低而升高, 新落新妇苷和新异落新妇苷的峰面积随提取温度的降低而降低, 且 4 种黄酮的总峰面积随提取温度的降低略有增加。这表明降低提取温度会减慢落新妇苷异构化的速度, 使落新妇苷含量明显增加, 同时也降低了黄酮类化合物在高温煎煮下的分解速度。因此, 降低提取温度不会使土茯苓提取物的有效成分含量降低, 反而使其指标成分的含量升高。

2.8 提取工艺验证

采用提取方法 5 制备的土茯苓提取物溶化性最好, 且落新妇苷含量及其转移率较高, 因此, 选择提取方法 5 作为提取优化后方法, 并在另外 3 批不同产地的土茯苓饮片中验证该方法是否优于方法 1 (原工艺)。

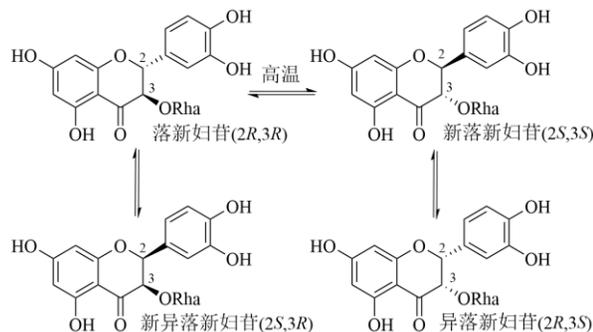


图 5 落新妇苷与其异构体的转化规律

Fig. 5 Transformation pattern of astilbin and its isomers

表 3 5 种提取方法下落新妇苷与其异构体的峰面积变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Peak area changes of astilbin and its isomers by five extraction methods ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	峰面积变化				总黄酮
	落新妇苷	新异落新妇苷	异落新妇苷	新落新妇苷	
方法 1	1.101	0.705	0.193	0.499	2.50
方法 2	1.480	0.749	0.193	0.408	2.83
方法 3	1.264	0.570	0.165	0.303	2.30
方法 4	1.547	0.508	0.209	0.216	2.48
方法 5	2.190	0.419	0.427	0.313	3.35

总黄酮峰面积 = 新落新妇苷峰面积 + 落新妇苷峰面积 + 新异落新妇苷峰面积 + 异落新妇苷峰面积

peak area of total flavonoids = peak area of neoastilbin + peak area of astilbin + peak area of neoisoastilbin + peak area of isoastilbin

表 4 不同批次土茯苓提取物出膏率、落新妇苷含量及其转移率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Extraction rate, astilbin content and transfer rate of different batches of SGR extract ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	出膏率/%		落新妇苷/(mg·g ⁻¹)		转移率/%		不溶物占比/%	
	方法 1	方法 5	方法 1	方法 5	方法 1	方法 5	方法 1	方法 5
S2	23.90 ± 0.43	17.09 ± 0.28	32.39 ± 0.70	47.16 ± 0.29	48.28	50.28	20.3	6.9
S3	17.34 ± 0.95	14.01 ± 0.56	30.91 ± 0.89	48.98 ± 1.54	26.41	30.00	11.4	6.9
S4	20.21 ± 0.62	14.70 ± 0.60	20.68 ± 0.06	23.40 ± 0.02	35.55	40.90	30.8	6.4

温度是一个重要的参数，温度过低，提取效率低，而温度过高又会影响到药材成分的特性。研究表明，淀粉要完成整个糊化过程需要经过淀粉颗粒不可逆溶胀、颗粒解体、颗粒完全解体 3 个阶段^[26]，而淀粉的起始糊化阶段温度在 60~80 °C，停止糊化阶段温度在 80~100 °C^[27]。

为避免淀粉在高温条件下糊化，同时保障有效成分的溶出，本研究考察了 5 种不同温度的提取方法对土茯苓提取物的溶化性、特征图谱、多糖与淀粉含量、出膏率、落新妇苷含量及其转移率的影响。溶化性结果表明，采用原工艺回流提取法制备的土茯苓提取物溶化性最差，沉淀最多。降低提取温度后土茯苓提取物的溶化性均有不同程度地改善，其中 70 °C 水浴浸提法明显减少了提取物中淀粉沉淀的形成，对溶化性的改善效果最显著。煮开后 80、70 °C 浸提与直接 80 °C 浸提对土茯苓提取物溶化性改善不显著可能归因于淀粉糊化过程中与温度阈值相关的时间和温度依赖特性^[26]。

大部分淀粉的糊化峰值温度和糊化终止温度在 80~100 °C^[27]，煮开是个快速升温的过程，可以使

按照“2.1”项下提取方法 1 和 5 制备 S2~S4 批次土茯苓提取物，并测其出膏率、落新妇苷含量和转移率以及溶化性，结果如表 4 所示，相比于方法 1 制备的样品，采用方法 5 制备的不同批次土茯苓提取物均能在 1 min 内全部溶于热水中，溶化性较好，且落新妇苷含量及其转移率均较高，说明该提取方法可以有效改善不同产地、批次土茯苓提取物的溶化性，且不会对土茯苓有效成分的含量造成影响，还可增加指标性成分的含量。

3 结论

土茯苓为根茎类药材，粉性较大，土茯苓配方颗粒提取工艺主要采用回流提取法，经过长时间的高温煎煮不仅使土茯苓中淀粉、多糖等成分被大量提取，且高温条件下易使淀粉糊化，导致其溶化性较差，降低患者服用顺应性^[7]。在中药提取过程中，

淀粉在短时间内完成糊化。不同的淀粉糊化阶段具有不同的温度阈值，70 °C 可能为淀粉初始糊化阶段的溶胀温度阈值，当温度不超过该值时，长时间的提取也不会发生淀粉糊化；而 80 °C 可能超过了淀粉颗粒解体的温度阈值，长时间的 80 °C 提取也会使淀粉颗粒全部解体，而完成糊化^[26]。

落新妇苷含量及其转移率结果表明，降低提取温度后落新妇苷含量及其转移率增大，且 70 °C 水浴浸提得到的落新妇苷含量最高，这与降低温度会减慢落新妇苷异构化速度有关^[23]。特征图谱测定结果表明，降低提取温度对土茯苓提取物的成分无影响。因此，选择 70 °C 水浴浸提法作为土茯苓配方颗粒的最佳提取方法，并在 3 批土茯苓饮片中进行验证试验，结果表明该法具有普适性，均能有效改善土茯苓提取物的溶化性。此外，本研究还将 70 °C 水浴浸提法用于具有同样溶化性问题的山药配方颗粒中，结果表明该法也可以改善山药配方颗粒溶化性，但在有效成分溶出方面具有差异，这可能与药材厚度和质量等有关。综上，本研究可为土茯苓配方颗粒溶化性的改善提供理论依据，为其提取工艺

的改进提供数据支撑, 对其市场竞争力的提升具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨洁, 乔娟娟, 陆耕宇, 等. 土茯苓的本草考证 [J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(4): 98-102.
- [2] 程双, 彭财英, 潘玲玲, 等. 中药土茯苓的现代研究进展 [J]. 江西中医药, 2021, 52(3): 69-76.
- [3] 徐梦琪, 徐德平. 土茯苓降尿酸活性成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(11): 1860-1865.
- [4] Liang G Y, Nie Y C, Chang Y B, *et al.* Protective effects of *Rhizoma Smilacis Glabrae* extracts on potassium oxonate- and monosodium urate-induced hyperuricemia and gout in mice [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152772.
- [5] 张海宇, 邸莎, 田卫卫. 土茯苓的临床应用及其用量探究 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(3): 386-389.
- [6] 范九梅, 马卓. 土茯苓药理学研究概述 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(8): 36-37.
- [7] 徐婧. 国家药监局明确中药配方颗粒品种备案管理 [J]. 中医药管理杂志, 2021, 29(3): 42.
- [8] 董力嘉, 傅舒. 中药配方颗粒现状研究 [J]. 中药与临床, 2021, 12(4): 85-89.
- [9] Yang X, Dai J, Guo D F, *et al.* Changes in the properties of *Radix Aconiti Lateralis Preparata* (Fuzi, processed aconite roots) starch during processing [J]. *J Food Sci Technol*, 2019, 56(1): 24-29.
- [10] 陈龙, 王谊, 程昊, 等. 水相高温处理对淀粉结构与性质的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(11): 1-11.
- [11] 于婷婷, 雷鸣, 刘宁, 等. 部分糊化马铃薯淀粉颗粒及老化特性影响研究 [J]. 中国调味品, 2022, 47(11): 24-28.
- [12] Yang F, Yang J C, Qiu S, *et al.* Tannic acid enhanced the physical and oxidative stability of chitin particles stabilized oil in water emulsion [J]. *Food Chem*, 2021, 346: 128762.
- [13] 胡丽霞, 朱卫丰, 李荣苗, 等. 近红外分散稳定性分析仪的应用概况 [J]. 江西中医药大学学报, 2015, 27(4): 104-107.
- [14] 刘雪梅, 贺亚男, 王芳, 等. 基于水试过程定量刻画的青黛质量快检方法的建立与应用 [J]. 药学学报, 2022, 57(11): 3411-3418.
- [15] 黄浩洲, 林俊芝, 魏夕川, 等. 中药口服液中鞣花酸分子稳定储存的制剂学机制与调控策略 [J]. 药学学报, 2019, 54(4): 737-745.
- [16] Huang H Z, Zhao S Y, Ke X M, *et al.* Study on the stability control strategy of *Triphala* solution based on the balance of physical stability and chemical stabilities [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 158: 247-256.
- [17] 郑玉, 谢兴亮, 刘俊, 等. 基于 pH 调控多酚-唾液蛋白结合作用的三果汤含片涩味掩蔽方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3953-3961.
- [18] 中药配方颗粒国家药品标准(第一批) [S]. 2021: 123.
- [19] 许海燕, 杨义芳, 黄春跃. 微波提取黄芪中多糖的工艺研究 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1496-1499.
- [20] 高倩, 刘风华, 史雅然, 等. 一种基于酶标仪检测天然植物复方多糖中多糖含量的方法 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(2): 922-929.
- [21] 李承浩, 郑富香, 游广娇, 等. 17 种中药多糖提取物的理化性质研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(5): 621-627.
- [22] 黄琴, 冀晓龙, 闫溢哲, 等. 不同品种山药淀粉理化特征及消化性能研究 [J]. 食品科技, 2021, 46(10): 227-233.
- [23] Zheng D, Zhang L, Zhang Q F. Isomerization of astilbin and its application for preparation of the four stereoisomers from *Rhizoma Smilacis Glabrae* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 155: 202-209.
- [24] Zheng D, Ruan Y T, Yin Z P, *et al.* A comparison of solubility, stability, and bioavailability between astilbin and neoastilbin isolated from *Smilax Glabra Rhizoma* [J]. *Molecules*, 2020, 25(20): 4728.
- [25] Zhang Q F, Fu Y J, Huang Z W, *et al.* Aqueous stability of astilbin: Effects of pH, temperature, and solvent [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(49): 12085-12091.
- [26] 邢俊杰, 李栋, 郭晓娜, 等. 湿热处理淀粉的糊化特性及糊化机制 [J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 19-24.
- [27] 张义平, 刘德阳, 池承灯, 等. 淀粉水热稳定性的影响因素及其调控研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 438-447.

[责任编辑 郑礼胜]