

银菊解毒口服液的水提工艺研究[△]

杨秀青^{1*}, 谷江华¹, 石征蓉¹, 袁强华², 宋英^{2#}, 何成诗² (1. 成都中医药大学药学院, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院药剂科, 成都 610072)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)25-3557-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.25.27

摘要 目的: 对银菊解毒口服液水提工艺进行优化, 为该制剂的工业化生产提供参考。方法: 通过对银菊解毒方中的绿原酸提取时间-提取率曲线及川银花与方中其他药味配伍合煎后绿原酸的提取率进行考察, 确定川银花的煎煮方式及时间; 以蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素+异补骨脂素含量及干膏率的综合评分为指标, 以加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 优化川银花药渣与其余药味的提取工艺并进行验证试验。结果: 最优水提工艺为川银花加8倍量水先煎30 min, 留存药液; 药渣与其余药味加8倍量水煎煮3次, 每次1 h; 所有药液合并。验证试验中绿原酸、蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素+异补骨脂素含量平均值依次为34.51、10.31、1.97、0.21、9.79 mg/g (RSD分别为1.24%、1.19%、1.40%、1.71%、1.28%, $n=3$), 干膏率平均值为25.4% (RSD=1.64%, $n=3$), 绿原酸平均提取率为78.95% (RSD=1.24%, $n=3$)。结论: 优化的水提工艺中绿原酸的提取率及其他药效成分的含量均较高, 且工艺稳定、可行。

关键词 银菊解毒口服液; 绿原酸; 提取时间; 提取率; 配伍合煎; 正交试验; 水提工艺

Study on Water Extraction Technology of Yinju Jiedu Oral Liquid

YANG Xiuqing¹, GU Jianghua¹, SHI Zhengrong¹, YUAN Qianghua², SONG Ying², HE Chengshi² (1. School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 2. Dept. of Pharmacy, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the water extraction technology of Yinju jiedu oral liquid, and provide reference for the industrial production of the preparation. METHODS: According to the investigation of extraction time-extraction rate curves of chlorogenic acid of Yinju jiedu formula and extraction rate of chlorogenic acid in *Lonicera japonica* and other combined medicinal materials in the formula, decoction methods and time of *L. japonica* were determined. Using the comprehensive scores of linarin, harpagoside, (R, S)-epigallocatechin gallate, psoralen+angelicin contents and dry extraction yield as indexes, $L_9(3^4)$ orthogonal test was designed to detect the effects of adding water amount, decoction time times and optimize the extraction technology of the residues and other medicinal materials. Verification test was conducted. RESULTS: The optimal technology was *L. japonica* decocted first for 30 min with 8-fold water; the residues and other medicinal materials were decocted with 8-fold water for 3 times, 1 h each time; combining all the syrups. In verification test, the average contents of chlorogenic acid, linarin, harpagoside, (R, S)-epigallocatechin gallate, psoralen+angelicin were respectively 34.51, 10.31, 1.97, 0.21, 9.79 mg/g (RSD=1.24%, 1.19%, 1.40%, 1.71%, 1.28%, $n=3$); average dry extraction yield was 25.4% (RSD=1.64%, $n=3$); average extraction rate of chlorogenic acid was 78.95% (RSD=1.24%, $n=3$). CONCLUSIONS: In the optimized water extraction technology, both the extraction rate of chlorogenic acid and contents of other ingredients are relatively high. The technology is stable and feasible.

KEYWORDS Yinju jiedu oral liquid; Chlorogenic acid; Extraction time; Extraction rate; Compatibility decoction; Orthogonal test; Water extraction technology

银菊解毒口服液为在研中药新制剂, 源自成都中医药大学附属医院治疗牙龈炎、牙周炎应用了二十余年的临床经验方。全方由川银花、野菊花等5种药味组成。方中川银花具有清热解暑、疏散风热作用, 为方中君药; 野菊花与板蓝根协助川银花加强清热解暑作用, 为臣药; 玄参具有养阴清热作用, 为佐药; 补骨脂具有补肾固

齿、引药入肾作用, 为使药; 诸药合用, 共奏清热泄火、养阴补肾之效^[1]。为便于本方在临床使用, 基于本方药效成分在水溶液中具有较好的稳定性的特点, 拟将本方开发成口服液体制剂。

相关文献研究表明, 含绿原酸的药味在单煎及合煎时, 绿原酸提取率均达到80%以上^[2-3]。本课题组在前期的试验中, 将川银花与其他药味合煎, 结果测得合煎液中绿原酸提取率不到60%, 这与绿原酸的强水溶性特性不符^[4]。为了充分利用处方中各药材的有效成分进而更好地发挥该方的药效, 本试验首先对绿原酸在本方中的煎

[△] 基金项目: 四川省科技计划项目(No.2014SZ0140)

* 硕士研究生。研究方向: 中药新制剂。E-mail: 471331315@qq.com

通信作者: 主任中药师, 硕士生导师。研究方向: 中药新制剂、新工艺和新技术。E-mail: 806380106@qq.com

出情况进行考察,进而确定将川银花先煎,再以野菊花药效成分蒙花苷、玄参药效成分哈巴俄苷、板蓝根药效成分(R,S)-告依春、补骨脂药效成分补骨脂素和异补骨脂素的含量和干膏率为指标,通过正交试验优化川银花药渣与其余药味合煎的提取工艺,进而确定银菊解毒口服液的水提工艺,为其后续的开发利用提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);BP211D 电子分析天平(德国 Satorius 公司,精度:十万分之一)。

1.2 药材、对照品与试剂

川银花、野菊花、玄参、板蓝根、补骨脂[购自四川省新荷花中药饮片有限公司,批号分别为:1411028、1410028、1409036、1404087、1407119,经成都中医药大学附属医院药剂科副主任药师盛蓉鉴定,均符合2015年版《中国药典》(一部)及相关地方标准的规定];绿原酸、蒙花苷、(R,S)-告依春、哈巴俄苷、补骨脂素、异补骨脂素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为:110753-201314、111528-201308、111753-201304、111730-201307、110739-201115、110738-201313,纯度分别为:96.6%、95.1%、99.9%、97.1%、99.3%、100.0%);甲醇、乙腈为色谱纯,水为自制超纯水,甲醇、磷酸等其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Inert Sustain C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);乙腈为流动相 A, 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱(0~18 min, 95% B; 18~24 min, 90% B; 24~42 min, 78% B; 42~57 min, 76% B; 57~63 min, 70% B; 63~70 min, 45% B);检测波长分别为 240 nm[0~20 min, 检测(R,S)-告依春]、327 nm(20~43 min, 检测绿原酸)、334 nm(43~51 min, 检测蒙花苷)、280 nm(51~67 min, 检测哈巴俄苷、补骨脂素、异补骨脂素);柱温为 30 ℃;流速为 1.0 mL/min;进样量为 5 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 7.66 mg、蒙花苷对照品 2.56 mg、(R,S)-告依春对照品 4.10 mg、哈巴俄苷对照品 2.00 mg、补骨脂素对照品 2.00 mg、异补骨脂素对照品 2.10 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇溶解定容至刻度,摇匀;再分别精密吸取 6 种对照品溶液各 1 mL 置于同一 10 mL 量瓶,用 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,作为初始的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 按处方比例称取药味(共 90 g),其中川银花加 160 mL 水煎煮 2 次,每次 45 min,药液留存;药渣与其余药味加 560 mL 水煎煮 2 次,每次 45 min;所有药液合并,减压浓缩至 1 000 mL。精密吸取浓缩液 2 mL,置于 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法分别制备缺川银花阴性对照浓缩液、缺野菊花阴性对照浓缩液、缺川银花和野菊花阴性对照浓缩液、缺玄参阴性对照浓缩液、缺板蓝根阴性对照浓缩液、缺补骨脂阴性对照浓缩液。精密吸取上述浓缩液各 2 mL,置于 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.3 方法学考察

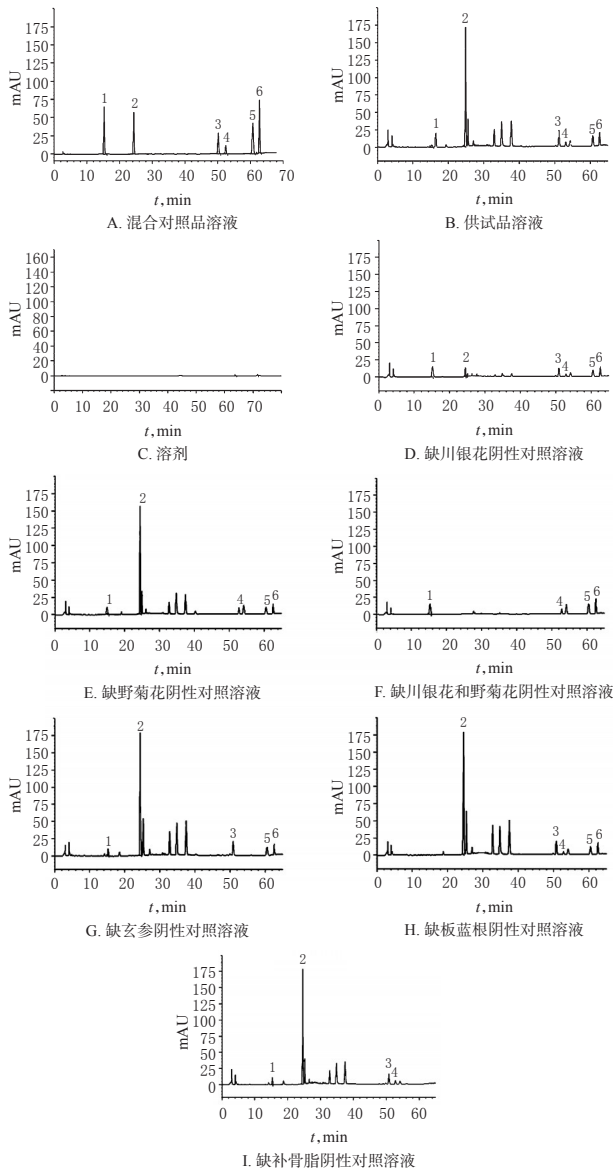
2.3.1 专属性试验 取混合对照品溶液、供试品溶液、溶剂(50% 甲醇)及各阴性对照溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后进样分析,记录色谱图。结果,6 种活性成分与其相邻色谱峰的分度均大于 1.5,且各组分互不干扰,理论板数均符合要求;缺川银花和野菊花阴性对照溶液、缺玄参阴性对照溶液、缺板蓝根阴性对照溶液、缺补骨脂阴性对照溶液在相应位置上未见相应色谱峰。这表明采用本方法,蒙花苷、(R,S)-告依春、哈巴俄苷、补骨脂素和异补骨脂素专属性良好。色谱图见图 1。

2.3.2 标准曲线的制备 取“2.2.1”项下初始的混合对照品溶液为原液,用甲醇定量稀释成含绿原酸 7.18、14.36、28.73、57.45、114.9、229.8 μg/mL,含蒙花苷 2.4、4.8、9.6、19.2、38.4、76.8 μg/mL,含哈巴俄苷 1.88、3.75、7.5、15、30、60 μg/mL,含(R,S)-告依春 3.84、7.69、15.37、30.75、61.5、123 μg/mL,含补骨脂素 1.88、3.75、7.5、15、30、60 μg/mL,异补骨脂素 1.97、3.94、7.88、15.75、31.5、63 μg/mL 的系列混合对照品溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。精密吸取续滤液 5 μL,注入色谱仪,以峰面积为纵坐标(y)、对照品质量浓度为横坐标(x)绘制标准曲线,经线性回归,得各成分标准曲线方程分别为: $y=9.092 6x-12.53(r=0.999 9)$ 、 $y=5.167 3x-1.037 7(r=0.999 8)$ 、 $y=2.012 9x+10.044(r=0.999 8)$ 、 $y=19.533x-13.672(r=0.999 9)$ 、 $y=18.289x+2.897 1(r=0.999 9)$ 、 $y=18.796x-8.128(r=0.999 9)$ 。检测质量浓度线性范围分别为 7.18~229.8、2.4~76.8、1.88~60、3.84~123、1.88~60、1.97~63 μg/mL,检测限分别为 7.18、2.4、1.88、3.84、1.88、1.97 μg/mL。

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下各对照品原液连续进样 6 次,记录色谱图,测定每次进样的峰面积。结果,绿原酸、蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素、异补骨脂素峰面积的 RSD 分别为 0.45%、1.9%、0.64%、0.75%、1.14%、1.27% (n=6),表明该方法精密度良好。

2.3.4 重复性试验 按“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后注入色谱仪,测定峰面积,计算含量及 RSD。结果,绿原酸、蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素和异补骨脂素含量的 RSD 分别为 0.75%、0.89%、1.46%、0.87%、1.09%、0.71% (n=6),表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液,于室温放置 0、3、6、12、18、24 h,用 0.45 μm 微孔滤膜滤后进



注: 1. (R,S)-告依春; 2. 绿原酸; 3. 蒙花苷; 4. 哈巴俄苷; 5. 补骨脂素; 6. 异补骨脂素

Note: 1. (R,S)-epigallocatechin gallate; 2. chlorogenic acid; 3. linarin; 4. harpagoside; 5. psoralen; 6. angelicin

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

样分析,考察溶液稳定性。结果,绿原酸、蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素和异补骨脂素 24 h 内峰面积RSD分别为1.06%、0.65%、0.23%、1.14%、0.46%、1.27% ($n=6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

2.3.6 加样回收试验 精密称取已知含量的供试品药液 6 份,置于 100 mL 量瓶中,分别加入绿原酸(0.076 6 mg/mL)、蒙花苷(0.025 6 mg/mL)、哈巴俄苷(0.02 mg/mL)、(R,S)-告依春(0.041 mg/mL)、补骨脂素(0.02 mg/mL)、异补骨脂素(0.021 mg/mL)的对照品溶液各 5 mL,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。精密吸取续滤液 5 μL ,注入液相色谱仪,记录峰面积,计算加样回收率。结果,绿原酸、蒙花苷、哈巴俄

苷、(R,S)-告依春、补骨脂素和异补骨脂素的平均加样回收率分别为 100.81%、98.06%、99.45%、98.55%、99.13%、99.34%,RSD 分别为 1.73%、1.6%、1.38%、0.93%、1.11%、2.03% ($n=6$)。

2.4 绿原酸的提取时间-提取率曲线考察

2.4.1 复方中绿原酸的提取时间-提取率曲线考察 按处方比例称取药味(川银花、野菊花各 40 g,共 180 g),加 8 倍量水(1 440 mL),浸泡透心,回流提取(总时长 120 min)。沸腾后开始取样,间隔时间为 10 min,每次 10 mL,同时加同温介质 10 mL。取出药液过滤,放冷,分别精密取样 2 mL 置于 25 mL 量瓶中,用 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。取续滤液作为供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件测定绿原酸含量,并绘制提取时间(min)-提取率(%)曲线[提取率=药液中绿原酸的含量(mg/g)/川银花、野菊花药材中绿原酸的总含量(mg/g) $\times 100\%$],详见图 2。

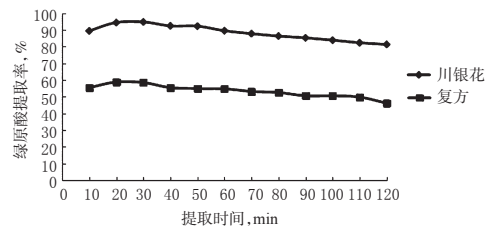


图2 川银花单煎与复方中的绿原酸提取率比较

Fig 2 Comparison of the extraction rate of chlorogenic acid in *L. japonica* alone and mixed formula

2.4.2 川银花中绿原酸的提取时间-提取率曲线考察 称取川银花 40 g,加 8 倍量水(320 mL),其他同“2.4.1”项下复方中绿原酸的提取时间-提取率曲线考察方法,绘制单煎提取时间(min)-提取率(%)曲线,详见图 2。

2.4.3 测定结果 由图 2 可知,在沸腾后的 20 min 内,复方溶液和单煎溶液中的绿原酸提取率均随煎煮时间呈上升趋势,而在 20~30 min 时趋于稳定;此后,随着煎煮时间的延长,提取率呈下降趋势,与文献报道^[5-6]一致。各时间点复方溶液中绿原酸提取率较单煎溶液提取率均低 30% 左右。由此确定川银花不宜与方中药味共煎,且其煎煮时长以 30 min 为宜。

2.5 方中绿原酸相关药材与其他药材配伍合煎考察

2.5.1 川银花与其他药材配伍合煎考察 配伍合煎方案设计见表 1。

方案 A,称取 2 倍处方量的药味,加 720 mL 的水煎煮 3 次(120 mL $\times 3$),第 1 次煎煮 30 min,第 2 次、第 3 次煎煮 45 min,滤液分装,放冷;精密吸取第 1 次的水煎液 2 mL、第 2 次和第 3 次的水煎液各 5 mL,分别置于同一 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀。经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件测定计算各组合中绿原酸提取率,绘制绿原酸提取率柱状图,详见图 3。

表1 配伍合煎方案设计

Tab 1 Design of compatibility decoction

方案A编号	药材组合	方案B编号	药材组合
A-1	川银花	B-1	川银花+野菊花
A-2	川银花+玄参	B-2	川银花+野菊花+玄参
A-3	川银花+板蓝根	B-3	川银花+野菊花+板蓝根
A-4	川银花+补骨脂	B-4	川银花+野菊花+补骨脂
A-5	川银花+玄参+板蓝根	B-5	川银花+野菊花+玄参+板蓝根
A-6	川银花+玄参+补骨脂	B-6	川银花+野菊花+玄参+补骨脂
A-7	川银花+板蓝根+补骨脂	B-7	川银花+野菊花+板蓝根+补骨脂
A-8	川银花+玄参+板蓝根+补骨脂	B-8	川银花+野菊花+玄参+板蓝根+补骨脂

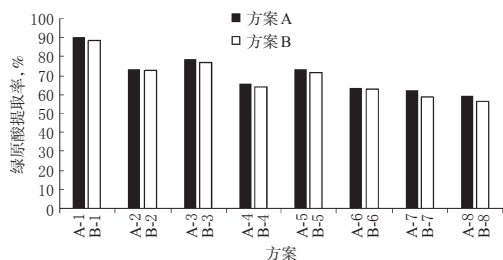


图3 绿原酸相关药材与其他药材配伍合煎后提取率柱状图

Fig 3 Histogram of the extraction rate of chlorogenic acid-related medicinal materials and other medicinal materials after compatibility decoction

2.5.2 川银花、野菊花与其他药材配伍合煎考察 按表1方案B称取药味,其他操作同“2.5.1”项,柱状图见图3。

2.5.3 测定结果 由图3可知,川银花与方中其他药味配伍合煎后,每味药对绿原酸的提取率均有一定程度的影响。川银花、野菊花与其他药物组合中绿原酸提取率大多低于川银花与其他药味组合,其中含补骨脂的药味组合受到的影响最为明显。基于本次试验结果,为保证绿原酸的提取率,川银花应单独先煎,煎液留存,药渣再与其他药味进行合煎。

2.6 干膏率的测定

精密吸取各样品溶液 50 mL,置于已干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 干燥 3 h,取出;置于干燥器中冷却 30 min,迅速称量,即为干膏质量。计算干膏率,干膏率(%) = 干膏质量(g)/药材质量(g) × 100%。

2.7 水提工艺正交试验

根据预试验结果,按处方比例称取药味9份(每份药材量 90 g),其中川银花加8倍量水先煎 30 min,药液留存,药渣再与其他药味合煎。选择加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,以蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素+异补骨脂素含量等各药效评价的法定指标以及评价中药提取效果的参考指标干膏率的综合评分为指标,进行综合加权评分,考察各因素对川银花药渣与其他药味合煎工艺的影响。本研究采用经验性权重法,根据评价指标的重要性确定权重系数,因此选择权重系数:蒙花苷含量为22、哈巴俄苷含量为22、(R,S)-告依春含量为22、补骨脂素+异补骨脂素含量为11、干膏率为23。综合评分=(提取液中蒙花苷含量/原药材

中蒙花苷含量)×22+(提取液中哈巴俄苷含量/原药材中哈巴俄苷含量)×22+[提取液中(R,S)-告依春含量/原药材中(R,S)-告依春含量]×22+(提取液中补骨脂素+异补骨脂素含量/原药材中补骨脂素+异补骨脂素含量)×11+(干膏率/干膏率最大值)×23。正交试验因素与水平见表2,试验安排与结果见表3,方差分析结果见表4。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素			
	A(加水量,倍)	B(煎煮时间),h	C(煎煮次数)	D(空白)
1	8	1	1	1
2	11	1.5	2	2
3	14	2	3	3

表3 试验安排与结果

Tab 3 Arrangement and results of orthogonal test

试验号	A(加水量,倍)	B(煎煮时间),h	C(煎煮次数)	D(空白)	蒙花苷含量,mg/g	哈巴俄苷含量,mg/g	(R,S)-告依春含量,mg/g	补骨脂素+异补骨脂素含量,mg/g	干膏率, %	综合评分
1	8	1	1	1	3.39	1.01	0.15	4.78	16.82	32.32
2	8	1.5	2	1	7.68	1.12	0.17	6.98	22.31	44.29
3	8	2	3	1	10.24	1.89	0.21	9.86	25.78	62.55
4	11	1	2	2	8.48	1.57	0.23	7.46	22.37	55.65
5	11	1.5	3	2	11.05	2.09	0.28	10.12	25.83	70.69
6	11	2	1	2	5.36	1.35	0.19	4.56	17.82	41.27
7	14	1	3	3	11.83	2.15	0.27	9.66	25.55	71.50
8	14	1.5	1	3	6.06	1.37	0.16	4.53	17.82	40.56
9	14	2	2	3	11.29	1.79	0.19	7.38	23.87	59.43
K ₁	139.18	159.49	114.16	162.46						
K ₂	167.62	155.55	159.38	157.07						
K ₃	171.50	163.27	204.76	158.77						
R	10.78	2.57	30.20	1.80						

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

误差来源	离均差平方和	自由度	均方差	F	P
A	207.71	2	103.85	3.49	>0.05
B	9.93	2	4.96	0.17	>0.05
C	1367.84	2	683.92	22.97	<0.05
D(误差)	59.56	2	29.78		

注: F_{0.01}(2,2)=99, F_{0.05}(2,2)=19

Note: F_{0.01}(2,2)=99, F_{0.05}(2,2)=19

由直观分析可知,影响提取效果的因素顺序为C>A>B,最优提取工艺为A₃B₃C₃;方差分析结果显示,因素C对提取工艺的影响显著,因素A、B则无显著影响。在保证提取效果的前提下,综合考虑,最终确定最优工艺组合为A₁B₁C₃,即加8倍量水煎煮3次,每次1h。银菊解毒方的完整水提工艺确定为:川银花加8倍量水先煎30 min,药液留存;药渣再与其他药味加8倍量水煎煮3次,每次1h;所有药液合并。

2.8 验证试验

按处方比例称取3份药材(每份540g),以最优工艺提取,结果见表5。

由表5计算可知,3次验证试验中绿原酸、蒙花苷、哈巴俄苷、(R,S)-告依春、补骨脂素和异补骨脂素平均

含量依次为34.51、10.31、1.79、0.21、9.79 mg/g,干膏率平均值为25.4%,绿原酸平均提取率为78.95% (RSD均小于2%, $n=3$),表明该工艺稳定、可行。

表5 验证试验结果($n=3$)

Tab 5 Results of verification test($n=3$)

试验号	蒙花苷含量,mg/g	哈巴俄苷含量,mg/g	(R,S)-告依春含量,mg/g	补骨脂素+异补骨脂素含量,mg/g	绿原酸含量,mg/g	绿原酸提取率,%	干膏率,%
1	10.26	1.77	0.22	9.66	34.98	80.02	25.56
2	10.45	1.82	0.21	9.91	34.14	78.11	24.93
3	10.22	1.79	0.21	9.81	34.41	78.72	25.72
RSD,%	1.19	1.40	1.71	1.28	1.24	1.24	1.64

3 讨论

3.1 本方的安全性

绿原酸为本方抗炎、抗菌的主要药效成分,其可抑制炎症因子的表达,产生的一系列氮化合物和活性氧等物质可抑制口腔细菌的滋生,预防牙周炎、牙槽脓肿等口腔疾病,维护口腔环境的健康^[7]。目前绿原酸的不良反应仅在注射液中有报道^[8-9],口服类制剂尚未见不良反应报道,而本工艺中其含量在已知的安全范围内。为提高药效,应保证有效成分最大程度地被提取出来,本试验优化了提取工艺。结果表明,与本课题组在前期试验中采用的传统合煎提取工艺相比,此工艺绿原酸的提取率提高了20%左右(60% vs. 80%),而其他药效成分含量的改变相差不大,皆在安全有效范围内。

3.2 绿原酸提取率低的原因探讨

单味中药的化学成分繁多且复杂,中药复方的化学成分更为复杂,复方中成分并不是各单味组成成分的简单相加,在煎煮过程中可能会发生酸碱中和、取代、水解、聚合、缩合、氧化、变性等化学反应,群药合煎是一个极其复杂的过程,方药单煎合并使用不完全等效于方药的合煎使用^[10]。本试验通过提取时间-提取率曲线动态地观察煎煮过程中绿原酸含量的变化规律^[5],通过复方与单味药药液中绿原酸提取率的对比和川银花与方中其他药味配伍合煎后的绿原酸提取率的测定确认对绿原酸产生影响的具体药味,并初步探讨产生影响的原因。绿原酸结构中因含有酯键、不饱和双键及酚羟基等结构,因而在高温、强光及长时间加热的提取条件下,其易被氧化、异构化,表现出不稳定性;同时,在碱性条件下,绿原酸可水解为绿色醌类^[11]。在前期试验中,川银花与其他药味合煎时绿原酸提取率均低于60%,其可能原因如下:(1)煎煮时间过长致绿原酸发生分解;(2)绿原酸与其他药材中成分配伍后发生化学反应^[12];(3)复方水提液的pH值为5.14,在此条件下绿原酸水解加速。而本试验优化的工艺,既避免了以上问题的发生,同时也保证了其他成分的有效提取。此种提取方法可为绿原酸类不稳定、易分解成分的提取提供参考,对生产亦有重要参考意义。

3.3 色谱条件选择

笔者在前期摸索条件时参考了2015年版《中国药

典》^[13]及相关文献^[14-16],对流动相、波长进行了选择,最终确定流动相系统采用乙腈-0.2%磷酸水溶液;检测波长采用多波长(即240、327、334、280 nm)对6个待测成分进行测定。另外对不同的梯度洗脱条件下待测成分色谱峰的分离度、对称性、拖尾因子、出峰时间以及色谱峰纯度等多方面进行了综合比较,最终选出本试验中所用的梯度洗脱程序。

综上,优化的水提工艺中绿原酸的提取率及其他药效成分的含量均较高,且工艺稳定、可行。

参考文献

- [1] 左渝陵,李必泽,赵娟.玄菊解毒凝胶治疗妊娠期龈炎的临床观察[J].中国计划生育和妇产科,2015,7(4):57-60.
- [2] 崔景朝,赵自明.中药配方颗粒研究进展:II:中药单煎与合煎对比研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(4):240-245.
- [3] 章运典,陈玉海.金银花中绿原酸提取工艺研究[J].中成药,2013,35(7):1564-1566.
- [4] 吴卫华,康桢,欧阳冬生,等.绿原酸的药理学研究进展[J].天然产物研究与开发,2006,18(4):691-694.
- [5] 方文忠,葛尔宁,盛振华.茵陈蒿汤中主要有效成分绿原酸的溶出规律研究[J].云南中医学院学报,2013,36(2):24-26.
- [6] 尹智慧.不同产地药用菊花有效成分溶出规律研究[D].杭州:浙江中医药大学,2015.
- [7] 王丽萍,郭栋,王果,等.中药绿原酸的研究进展[J].时珍国医国药,2011,22(4):961-963.
- [8] 李钦,张信岳,陈国神.含绿原酸的清热解毒类中药注射剂不良反应及其机理探讨[J].中国现代应用药学,2009,26(7):555-558.
- [9] 林明宝.中药引发过敏反应的危险因素及中成药致敏成分研究[D].杭州:浙江大学,2013.
- [10] 陶丽华,王亚微.中药的“群药合煎”与“单味分煎”[J].通化师范学院学报,2004,25(8):30-32.
- [11] 刘颖,郭明晔,白根本.绿原酸的研究进展[J].中药材,2012,35(7):1180-1185.
- [12] 李晶晶,冯芳.栀子大黄汤不同配伍对绿原酸溶出的影响[J].广州化工,2015,43(6):51-53.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:117-118、187-189、205-206、221-222、313-315.
- [14] 张宗林.HPLC法测定银菊散结口服液中绿原酸含量[J].齐鲁药事,2006,25(9):532-533.
- [15] 张建伟,赵倩,何希荣,等.UPLC测定银黄颗粒中绿原酸、咖啡酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素6种成分[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):50-53.
- [16] 陈国宝,郑艳萍,严国俊,等.HPLC法同时测定小儿感冒颗粒中4种成分的含量[J].中国药房,2016,27(27):3836-3838.

(收稿日期:2016-12-10 修回日期:2017-02-14)

(编辑:刘萍)