

· 中蒙医药论坛 ·

大黄-3颗粒水提工艺的优化

都丽娜, 孟永梅*

(内蒙古医科大学 蒙医药学院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

摘要:目的:通过单因素实验优化大黄-3颗粒的水提工艺。方法:以饮片粉碎粒度、浸泡时间、液固比以及提取时间为影响因素,总蒽醌含量(包括芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚与大黄素甲醚)和干浸膏得率为评价指标,以单因素实验的方法优化大黄-3颗粒的提取工艺。结果:得出最佳条件为大黄-3粉末过10目筛,加16倍水,浸泡0.5 h,回流提取10 min。在此条件下总蒽醌含量为 $2.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (芦荟大黄素 $0.33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、大黄酸 $0.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、大黄素 $0.11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、大黄酚 $1.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 与大黄素甲醚 $0.23 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),干浸膏得率为76.99%。结论:该方法稳定、合理、可行,可用于制备大黄-3颗粒。

关键词:蒙药;大黄-3颗粒;单因素实验;总蒽醌

中图分类号: R913

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2021)06-0570-05

大黄-3为传统蒙药方剂,由大黄、诃子、天然碱组成,临床用于治疗大肠燥结、胃胀、腹痛、闭经等^[1]。本方临床应用的剂型为水煎汤剂,存在质量难控、使用与运输不便等缺点^[2-3],故应在传统汤剂的基础上研制颗粒剂等新剂型,以便更好地服务于临床。颗粒剂系原料药物与适宜的辅料混合制成具有一定粒度的干燥颗粒状制剂^[4],是现代民族药物发展的一种常用剂型,成品质量稳定,具有剂量小,便于储存、携带、运输等特点^[5]。与传统饮片相比,中药配方颗粒管理方式具有较多的优势^[6],且中药配方颗粒内部调剂出错率与发药出错率均低于传统中药饮片^[7]。中药配方颗粒克服了传统中药汤剂煎煮过程繁琐、量大难喝、质量难控等诸多缺点的同时,一定程度上保证了中药辩证施治的特色,使中药疗效得到充分的发挥^[8]。有相关研究指出,其治疗有效率与患者满意程度显著优于传统饮片^[9]。蒙药汤剂的制备与用药方式与中药汤剂十分相似,有部分研究者也将蒙药汤剂制成了颗粒剂^[10-12],故本实验综合考虑各剂型的优缺点,选择将蒙药大黄-3汤改制为颗粒剂。

方中大黄的主要活性成分蒽醌类化合物已被证实具有多种生物活性,如抗炎、抗肿瘤、抗纤维化

等作用,对心脑血管、肺、肝、脑等多个器官组织具有保护作用^[13,14]。且本方的泄下作用与蒽醌类化合物息息相关^[15-18]。本实验为了使其制备方式接近于临床,用水为溶剂对药材进行了提取^[19]。大黄味苦、酸,性凉、稀、轻、动,主要有泻下、抗菌与抗病毒、促进伤口愈合^[20]、止血、抗癌^[21]、抗炎、抗氧化^[22]等药理作用。方中诃子为“蒙药之王”,味涩,性平,具有祛邪、解毒、调理体素等作用,主治赫依病,协日病,巴达干病,赫依、希拉、巴达干合并症和聚合症等。方中碱花为咸水湖边生成主含碳酸钠的分枝状结晶,质较轻,无臭,味咸、苦、微甘,有消食、消滞、导泄、驱虫、防腐、解毒、祛巴达干作用。

为了保证该制剂的质量及临床疗效,本实验通过考察饮片粉碎过筛粒度、浸泡时间、液料比以及提取时间对该制剂总蒽醌含量与干浸膏得率的影响,对其进行优化以得到大黄-3颗粒的最佳水提工艺。

1 材料与仪器

1.1 仪器

ACCHROM S6000 高效液相色谱仪(中国华谱有限公司);SECURA225D-1CN 型电子天平(1·10-5

收稿日期: 2021-10-06; 修回日期: 2021-11-29

基金项目: 内蒙古医科大学一流学科项目“大黄-3颗粒的工艺研究”(myxylxk201932);内蒙古自治区财政厅项目(20170527);内蒙古自治区自然科学基金项目(2018MS08083)

作者简介: 都丽娜(1996-),女,内蒙古医科大学蒙医药学院2021级在读博士研究生。

通讯作者: 孟永梅,教授,博士生导师,E-mail:yymmeng@immu.edu.cn 内蒙古医科大学蒙医药学院,010059

电子天平,中国赛多利斯科学仪器有限公司);SE-CURA224-1CN型电子天平(1·10⁻⁴电子天平,中国赛多利斯科学仪器有限公司);RE-2000A型旋转蒸发仪(上海亚荣公司);BRANSONIC-5800型超声波清洗机(美国必能信公司);DHG-9420A型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);LYOQuest软件冻干机(西班牙泰事达公司);98-1-B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);Milli-Q Di-tect超纯水系统(北京博奥恒信生物有限公司)。

1.2 试剂

芦荟大黄素(批号:110795-201710,纯度98.3%)、大黄酸(批号:110757-201607,纯度99.3%)、大黄素(批号:110756-201512,纯度98.7%)、大黄酚(批号:110795-201712,纯度98.4%)、大黄素甲醚(批号:110758-201616,纯度99.0%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;甲醇(美国Fisher公司,色谱纯);磷酸、三氯甲烷、盐酸为分析纯。

1.3 药材

大黄(批号:190501030,河北济鑫堂药业有限公司)、诃子(批号:1910010113,河北联康药业有限公司)、碱面(批号:20140461,东营百佳益中药饮片有限公司)经内蒙古医科大学药学院渠弼教授鉴定为正品,均符合2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)一部相关要求。

2 方法

2.1 总蒽醌含量测定方法

2.1.1 色谱条件 总蒽醌含量测定方法采用2020版《中国药典》waters色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μM);以甲醇:0.1%磷酸溶液(85:15)为流动相;检测波长为254 nm;柱温30 ℃;体积流量1 mL·min⁻¹;进样量为10 μL。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取本品粉末(大黄:诃子:碱面=1:1:1,过四号筛)约0.30 g,置锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定重量,加热回流1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密移取续滤液5 mL,置烧瓶中,挥去溶剂,加8%盐酸溶液10 mL,超声处理2 min,再加三氯甲烷10 mL,加热回流1 h,放冷,置分液漏斗中。用少量三氯甲烷洗涤容器,并加入分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液再用三氯甲烷提取3次,每次10 mL,合并三氯甲烷液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇

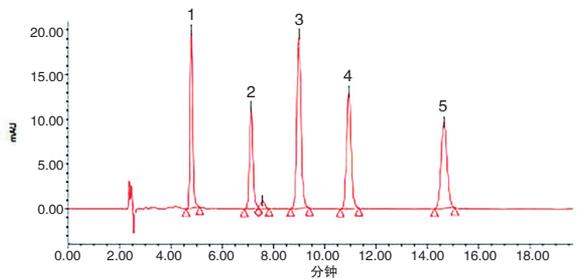
匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量,加入甲醇制成芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚质量浓度分别为1.4 μg·mL⁻¹、2.75 μg·mL⁻¹、0.5 μg·mL⁻¹、5.5 μg·mL⁻¹和3.5 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

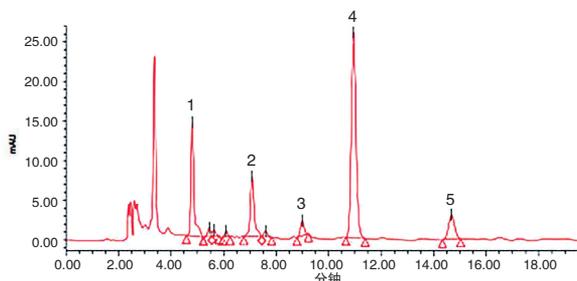
2.1.4 阴性对照品溶液的制备 按处方比例去除大黄-3汤中的大黄,按“2.1.2”项下的方法制备阴性对照品溶液。

2.1.5 方法学考察

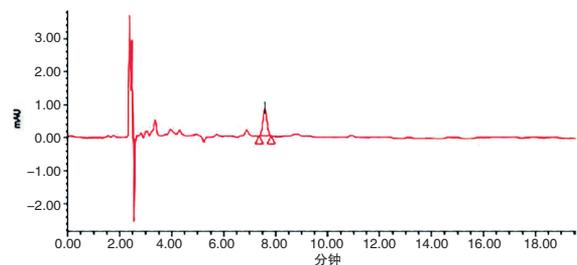
2.1.5.1 专属性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液,使用“2.1.1”项下的实验方法进行测定,记录色谱峰,详见图1。由图1可知,在混合对照品溶液和供试品溶液色谱图上有相同保留时间的色谱峰,该方法专属性良好。



A 对照品



B 供试品



C 阴性对照品

图1 各成分HPLC色谱图

1. 芦荟大黄素 2. 大黄酸 3. 大黄素 4. 大黄酚 5. 大黄素甲醚

2.1.5.2 线性关系考察 取“2.1.3”项中所制对照品溶液,使用“2.1.1”项下的实验方法进行测定。以溶液质量浓度为横坐标(X)、峰面积积分为纵坐标(Y)进行回归,得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的方程分别为 $Y = 4782603.175X - 4510.3556$ ($r = 0.9995$)、 $Y = 2280531.75X + 660.7399$ ($r = 0.9998$)、 $Y = 2741113.471X - 232.834$ ($r = 0.9998$)、 $Y = 3401413.952X - 3878.0111$ ($r = 0.9999$)、 $Y = 4667871.938X - 18,203.0823$ ($r = 0.9994$)。分别在 $0.25 \sim 0.37 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.14 \sim 0.504 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.16 \sim 0.304 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.38 \sim 0.57 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.75 \sim 0.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

2.1.5.3 精密度试验 取上述供试品(取大黄、河子、碱面三味药粉,过10目筛,加入10倍超纯水,浸泡12 h,回流提取10 min,提取2次过筛,合并滤液,再将滤液冻干72 h所得。)在“2.1.1”项色谱条件下各进样测定6次,测得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚峰面积RSD分别为0.48%、1.26%、1.29%、1.30%、1.75%,仪器精密度良好。

2.1.5.4 重复性试验 取同一批供试品,按“2.1.2”项下方法制备6份供试品溶液,使用“2.1.1”项下的实验方法进行测定,测得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚含有量RSD分别为1.71%、1.61%、1.72%、1.04%、0.82%,该方法重复性良好。

2.1.5.5 稳定性试验 取同一批供试品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,使用“2.1.1”项下的实验方法,于0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h进样测定,测得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚含有量RSD分别为0.97%、1.64%、1.47%、1.76%、1.77%,表明溶液在12 h内稳定性良好。

2.1.5.6 加样回收率实验 分别取同一批供试品0.3 g,加入相当于提取粉中成分含有量50%、100%、150%的对照品后,按“2.1.2”项下方法制备,使用“2.1.1”项下的实验方法进行测定,计算回收

率。结果测得芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚平均加样回收率在95.68%~103.49%范围,RSD均低于0.95%。

2.2 单因素试验方法

使用单因素试验方法,以总蒽醌含量及干浸膏率为评价指标,对饮片粉碎粒度、浸泡时间、液料比以及提取时间等4个方面对大黄-3的水提工艺进行考察筛选。

2.2.1 饮片粉碎粒度 取3份大黄-3粉各30 g,分别过10目、40目、60目筛,置于300 mL超纯水中,浸泡10 h,回流提取30 min后放冷。将放冷的药物以两层纱布过滤后,将滤液放入-80℃冰箱中冷冻过夜,第二天进行冷冻干燥。再测定提取物的干浸膏率与总蒽醌含量。

2.2.2 浸泡时间 取6份大黄-3粉各15 g,均过10目筛,置于150 mL超纯水中,分别浸泡0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h及8 h后回流提取30 min,放冷。按“2.2.1”项下的方法,测定提取物的干浸膏率与总蒽醌含量。

2.2.3 液固比 取5份大黄-3粉各15 g,过10目筛,分别置于60 mL、90 mL、120 mL、180 mL及240 mL超纯水中,浸泡30 min后回流提取30 min,放冷。按“2.2.1”项下的方法,测定提取物的干浸膏率与总蒽醌含量。

2.2.4 提取时间 取5份大黄-3粉各15 g,过10目筛,分别置于240 mL超纯水中,浸泡30 min后,分别回流提取10 min、20 min、30 min、60 min、90 min及120 min,放冷。按“2.2.1”项下的方法,测定提取物的干浸膏率与总蒽醌含量。

3 结果

3.1 饮片粉碎粒度的考察

中药饮片粉碎后过10目筛后的粉末所提取出的药物干浸膏率与总蒽醌含量最高(见表1)。

表1 饮片粉碎粒度的考察结果

粒度(目)	芦荟大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酸 (mg·g ⁻¹)	大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酚 (mg·g ⁻¹)	大黄素甲醚 (mg·g ⁻¹)	总蒽醌含量 (mg·g ⁻¹)	干浸膏率 (%)
10	0.21	0.35	0.20	0.76	0.18	1.69	70.23
40	0.16	0.27	0.12	0.77	0.19	1.50	60.30
60	0.14	0.25	0.10	0.56	0.13	1.18	57.70

3.2 浸泡时间的考察

药物浸泡0.5 h时所提取出的药物干浸膏率最高,浸泡1 h时总蒽醌含量最高,本实验优先考虑了

药物干浸膏率,且浸泡时间为0.5 h时提取工艺更加简便易操作,故本实验选取浸泡0.5 h进行下一步实验。(见表2)。

表2 对浸泡时间的考察结果

浸泡时间 (h)	芦荟大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酸 (mg·g ⁻¹)	大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酚 (mg·g ⁻¹)	大黄素甲醚 (mg·g ⁻¹)	总蒽醌含量 (mg·g ⁻¹)	干浸膏率 (%)
0.5	0.15	0.25	0.11	0.61	0.12	1.24	52.71
1	0.19	0.28	0.06	0.80	0.16	1.50	50.29
2	0.16	0.24	0.09	0.63	0.12	1.25	51.25
4	0.14	0.26	0.09	0.59	0.12	1.21	51.73
6	0.14	0.24	0.05	0.62	0.12	1.18	39.48
8	0.18	0.36	0.07	0.78	0.14	1.52	44.53

3.3 对液固比(溶剂倍数)的考察

膏率与总蒽醌含量最高(见表3)。

将药物浸泡于16倍水时所提取出的药物干浸

表3 对液固比(溶剂倍数)的考察结果

溶剂倍数 (倍)	芦荟大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酸 (mg·g ⁻¹)	大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酚 (mg·g ⁻¹)	大黄素甲醚 (mg·g ⁻¹)	总蒽醌含量 (mg·g ⁻¹)	干膏率 (%)
4	0.04	0.11	0.00	0.21	0.05	0.40	42.57
6	0.12	0.35	0.04	0.54	0.12	1.18	52.47
8	0.17	0.37	0.06	0.67	0.15	1.42	60.76
12	0.17	0.32	0.02	0.68	0.13	1.31	70.93
16	0.19	0.36	0.03	0.69	0.14	1.42	72.97

3.4 对提取时间的考察

醌含量最高,虽干膏率不是最高的,但提取时间短,操作更方便(见表4)。

药物回流提取10 min时所提取出的药物总蒽

表4 对提取时间的考察结果

提取时间 (min)	芦荟大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酸 (mg·g ⁻¹)	大黄素 (mg·g ⁻¹)	大黄酚 (mg·g ⁻¹)	大黄素甲醚 (mg·g ⁻¹)	总蒽醌含量 (mg·g ⁻¹)	干膏率 (%)
10	0.33	0.35	0.11	1.02	0.23	2.03	77.69
20	0.22	0.31	0.05	0.77	0.16	1.51	70.29
30	0.21	0.30	0.03	0.67	0.15	1.36	72.89
60	0.25	0.35	0.06	0.79	0.16	1.61	77.16
90	0.11	0.12	0.03	0.51	0.09	0.86	82.80
120	0.06	0.08	0.02	0.36	0.07	0.58	87.21

3.5 样品含有量测定及检验试验结果

取3批提取物,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,平行3份,使用“2.1.1”项下的实验方法进行测定,初步确定在家条件下,芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚与大黄素甲醚含有量分别为0.33 mg·g⁻¹、0.35 mg·g⁻¹、0.11 mg·g⁻¹、1.02 mg·g⁻¹与0.23 mg·g⁻¹。且3批提取物中各成分含量检测结果满足RSD值小于2%,表明该提取方法稳定可行。以平均值-20%为下限,确定含有量分别不得低于芦荟大黄素0.26 mg·g⁻¹、大黄酸0.28 mg·g⁻¹、大黄素0.09 mg·g⁻¹、大黄酚0.82 mg·g⁻¹与大黄素甲醚0.18 mg·g⁻¹,总蒽醌含量不得低于1.63 mg·g⁻¹。实验结果为大黄-3中总

蒽醌的开发利用提供了参考依据,单因素筛选水提工艺具有一定的参考意义。

4 讨论

汤剂为中医(蒙医)临床用药的传统剂型^[23],多以为水为溶剂进行煎煮。大黄-3汤的传统剂型也为汤剂,但其煎煮方法较多的依靠经验判断,无明确规定,且目前对大黄-3汤的提取工艺研究甚少,故本实验以蒙药大黄-3提取物的干浸膏率与提取物中所含总蒽醌含量为依据,从四个方面对蒙药大黄-3颗粒的水提工艺进行了单因素(下转第579页)

- [33]刘玢清,彭莲,旦增尼玛,等.藏药喜马拉雅紫茉莉化学成分研究[J].中药材,2020(12):2920-2922
- [34]曹瑞珍,魏永春,张国文,等.蒙药塔本文都苏油丸对衰老小鼠皮层MDA、NO、SOD水平变化的影响[J].现代预防医学,2009;36(04):737-738
- [35]曹瑞珍.蒙药塔本文都苏各组方的研究进展[J].中国医药科学,2013;3(23):44-45+54
- [36]曹瑞珍,白靓,狄建军,等.塔本文都苏提取液对衰老小鼠脑组织端粒酶表达的影响[J].时珍国医国药,2015;26(1):51-52
- [37]朝鲁,陈红梅,王秀兰,等.蒙药五根油剂对D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠的抗衰老作用研究[J].中医药导报,2017;23(20):57-58+61
- [38]巴·吉格木德.蒙医学史[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:7-9

(上接第573页)

试验筛选,最终确定最佳工艺为大黄-3粉末过10目筛,加16倍水,浸泡0.5h,回流提取10min。该工艺操作简单,节约时间,稳定性好,具有广阔的发展前景,可为蒙药大黄-3的有效成分研究及相关制剂开发提供参考。

但是本实验的实验方法比较简单,不能明确这4个因素对实验结果的影响程度以及各个实验因素之间的相互影响作用,应在此实验的基础上开展进一步的实验,寻找更科学的提取工艺。

参考文献

- [1]桂利斯,孟永梅.蒙成药给喜古纳-3汤对肥胖小鼠的影响[J].中国民族医药杂志,2017;23(02):61-64
- [2]孟璐,丁琮洋,徐帅师,等.四物汤传统饮片汤剂与配方颗粒汤剂有效成分比较[J].中成药,2020;42(02):397-401
- [3]李学林,王柯涵,康欢,等.基于HPLC指纹图谱的黄柏配方颗粒汤剂与标准汤剂、传统汤剂对比研究[J].中草药,2020;51(01):91-100
- [4]中国药典委员会.中华人民共和国药典(三部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:407
- [5]梁启超.中药颗粒剂研究进展与应用前景分析[J].中外女性健康研究,2019(07):27-28+49
- [6]杨自然,牛雅祺,王坤.中药调剂管理中中药配方颗粒与中药饮片应用对比分析[J].新中医,2020;52(06):203-205
- [7]朱艳.中药配方颗粒与传统中药饮片调剂方式的应用效果比较[J].临床合理用药杂志,2020;13(05):106-107
- [8]曾云好,肖健,杨贤芳.中药剂型改革的探讨[J].中医药管理杂志,2020;28(02):225-226
- [9]吴焯.中药配方颗粒与传统中药饮片临床疗效对比研究[J].中西医结合心血管病电子杂志,2019;7(36):177181
- [10]屈晓原,阿拉腾其木格.蒙药协日嘎-4颗粒剂药理学实验研究[J].中国民族医药杂志,2018;24(07):62-63
- [11]恩和苏仁.蒙药三根颗粒免疫调节作用机制研究[D].通辽内蒙古民族大学,2018
- [12]哈斯,韩志强.蒙药如宁颗粒最佳提取工艺研究[J].中国中医药科技,2017;24(01):46-48
- [13]王亦君,冯舒涵,程锦堂,等.大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018;24(13):227-234
- [14]张红阳,李波,钟国跃,等.土大黄提取物及其有效成分药理活性研究进展[J].中药新药与临床药理,2018;29(02):240-246
- [15]纪晓萍,张炯丰,方东生.大黄提取物中游离蒽醌对实验性便秘小鼠的泻下作用[J].黑龙江中医药,2019;48(06):336-337
- [16]王健,朱甲婧,孙嘉翊,等.芦荟大黄素对便秘小鼠结肠肌电表达的影响[J].中国疗养医学,2020;29(01):1-5
- [17]计树灵,韩佳瑞,贺璐璐,等.大黄素对洛哌丁胺致小鼠便秘的治疗作用[J].中国病理生理杂志,2019;35(12):2262-2268
- [18]姜洪波,孙莉莉,刘伯语,等.大黄酸对便秘小鼠肠道传输功能和结肠肌电及结肠黏膜水通道蛋白3表达的影响[J].中国老年学杂志,2017;37(17):4169-4172
- [19]陈士林,刘昌孝,张铁军,等.基于中药质量标志物和传统用法的中药饮片标准汤剂传承发展研究思路与建议[J].中草药,2019;50(19):4519-4528
- [20]Wan TY,Chun YK,Wen TW,et al.Antimicrobial and anti-inflammatory potential of Angelica dahurica and Rheum officinale extract accelerates wound healing in Staphylococcus aureus-infected wounds[J].Scientific Reports Volume, 2020; 10(1): 5596-5596
- [21]Deepika S, Lalita L, Tarang M, et al. Biosynthesis of hematite nanoparticles using rheum emodi and their antimicrobial and anticancerous effects in vitro[J]. Journal of Photochemistry & Photobiology, Biology, 2020;206:59-63
- [22]Baek SY, Lee EH, Tae W, et al. Network pharmacology-based approaches of rheum undulatum linne and glycyrriza uralensis fischer imply their regulation of liver failure with hepatic encephalopathy in mice[J].Biomol Ecules, 2020, 3(10):e437
- [23]杨蓉,李玲,杨骏,等.经典方玉女煎汤剂的水提工艺研究[J].上海中医药大学学报,2019;33(06):70-75