

正交试验优选蒸制菟丝子饼的炮制工艺

孙笑宇¹, 程序¹, 贾天柱^{2*}

(1. 山西药科职业学院, 山西 太原 030031; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 优选蒸制菟丝子饼的炮制工艺。方法: 以金丝桃苷、槲皮素和山奈酚含量为综合评价指标, 选择加水量、闷润时间和蒸制时间为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计优选菟丝子饼的炮制工艺。采用 HPLC 测定指标成分含量, 色谱条件为 Kromasil C_{18} 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μ m), 流动相甲醇 (A) -0.15% 磷酸溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 60% A; 10 ~ 20 min, 45% A; 20 ~ 30 min, 60% A), 检测波长 365 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 进样量 15 μ L。结果: 蒸制菟丝子饼的最佳炮制工艺为 20 g 菟丝子生品加 40 mL 水闷润 10 h, 蒸制 2 h。结论: 优选的炮制工艺合理可行。

[关键词] 菟丝子饼; 蒸制; 金丝桃苷; 槲皮素; 山奈酚; 正交试验

[中图分类号] R283.3 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0027-03

[doi] 10.11653/syfyj2013200027

Optimization of Steaming Technology for
Cuscutae Semen Pie by Orthogonal Test

SUN Xiao-yu¹, CHEN Xu¹, JIA Tian-zhu^{2*}

(1. Shanxi College of Pharmaceutical Vocational, Taiyuan 030031, China;
2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize steaming technology of Cuscutae Semen pie by orthogonal test. **Method:** With contents of hyperoside, quercetin and kaempferol as indexes, the amount of water, moistening time and steaming time as factors, orthogonal design was used to optimize processing technology of Cuscutae Semen pie. Contents of index components were determined by HPLC, chromatographic conditional were: Kromasil C_{18} column (4.6 mm × 200 mm), mobile phase of methanol (A) -0.15% phosphoric acid solution (B) with gradient elution program (0-10 min, 60% A; 10-20 min, 45% A; 20-30 min, 60% A), detection wavelength 365 nm, flow rate 1.0 mL · min⁻¹, injection volume 15 μ L. **Result:** Optimum steaming technology of Cuscutae Semen pie was: weighed 20 g Cuscutae Semen crude product, moistened 10 h with 40 mL water, steamed 2 h. **Conclusion:** This optimized processing technology was stable and feasible.

[Key words] Cuscutae Semen pie; steaming; hyperoside; quercetin; kaempferol; orthogonal design

菟丝子具有补肾益精、养肝明目、固胎止泄等功效^[1-2], 其历代炮制方法众多。制饼作为菟丝子重要炮制方法之一, 各地尚无统一标准, 质量亦难以控制, 因此亟待对制饼炮制工艺参数进行系统研究。

本实验以金丝桃苷、山奈酚、槲皮素含量为评价指标, 采用正交试验优选蒸制菟丝子饼的炮制工艺, 为菟丝子饼质量标准的制定提供科学依据。

1 材料

LC-2010A HT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司), METTLER AE240 型 1/10 万电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司), FA1004B 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司)。

生品菟丝子 (购于亳州药材市场, 经山西药科职业学院中药鉴定教研室裴慧荣副教授鉴定为旋花

[收稿日期] 20130320(022)

[第一作者] 孙笑宇, 硕士, 助教, 从事中药炮制研究, Tel: 13653651001, E-mail: samor_s58160@163.com

[通讯作者] * 贾天柱, 教授, 从事中药炮制研究, Tel: 0411-87586499, E-mail: jiatianzhu51@ yahoo.com.cn

科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子), 金丝桃苷、槲皮素、山奈酚对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 111521-200303, 100081-200406, 110861-200808), 甲醇为色谱纯, 水为蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

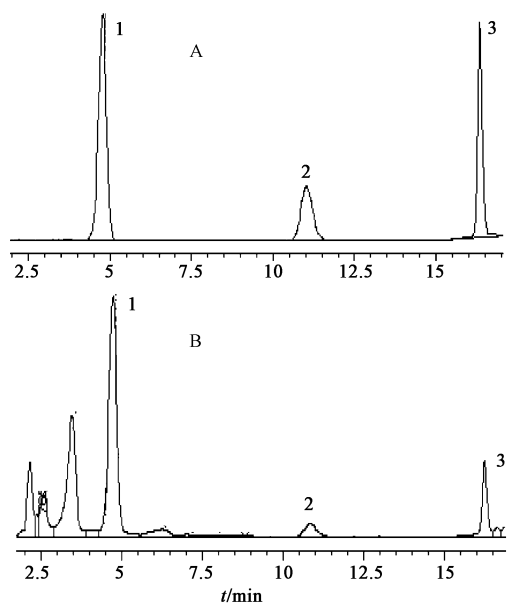
2 方法与结果

2.1 丝桃苷、山奈酚、槲皮素的含量测定^[3-5]

2.1.1 对照品溶液的制备 分别称取金丝桃苷、槲皮素、山奈酚对照品 0.816, 0.16, 0.176 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取菟丝子 100 g, 粉碎, 过 4 号筛(过 65 目), 备用。取菟丝子粉末 1 g, 精密称定, 精密加入 90% 甲醇 20 mL, 于 30 ℃ 超声提取 30 min, 放冷, 过滤, 至 25 mL 量瓶中, 加 90% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.3 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-0.15% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 60% A; 10~20 min, 45% A; 20~30 min, 60% A), 检测波长 365 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 15 μL, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 金丝桃苷;
2. 槲皮素; 3. 山奈酚

图 1 菟丝子 HPLC

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 3, 6, 9, 12, 15 μL, 按 2.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得回归方程 $Y_{\text{金丝桃苷}} = 2.180 \times 10^6 X + 32\,423$ ($r = 0.999\,6$), $Y_{\text{槲皮素}} = 3.569 \times 10^6 X + 967$ ($r = 0.999\,9$), $Y_{\text{山奈酚}} =$

$4.799 \times 10^6 X + 98\,243$ ($r = 0.999\,7$), 线性范围分别为 0.244 8 ~ 1.224, 0.048 ~ 0.24, 0.052 8 ~ 0.264 μg。

2.1.5 精密度试验 分别精密吸取混合对照品溶液适量, 按 2.1.3 项下色谱条件进样 6 次, 计算金丝桃苷、槲皮素、山奈酚峰面积的 RSD 分别为 1.35%, 1.21%, 1.67%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一供试品溶液 6 份, 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 结果金丝桃苷、槲皮素、山奈酚峰面积的 RSD 分别为 1.51%, 1.50%, 1.39%, 表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 进行测定, 结果金丝桃苷、槲皮素、山奈酚峰面积的 RSD 分别为 1.57%, 1.89%, 1.66%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份, 精密加入对照品适量, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 计算金丝桃苷、槲皮素、山奈酚加样回收率分别为 100.61%, 99.50%, 99.81%, RSD 分别为 1.76%, 0.91%, 1.79%。

2.2 炮制工艺优选 以加水量、浸润时间、蒸制时间为考察因素, 每个因素取 3 个水平, 以金丝桃苷、槲皮素、山奈酚含量为综合评价指标, 权重系数分别为 50, 25, 25, 采用正交试验优选菟丝子制饼工艺, 因素水平见表 1。将菟丝子 20 g 置于密闭容器中, 加水浸润, 至蒸锅中蒸至吐丝, 取出, 趁热捣烂, 制饼, 干燥, 备用。综合评分 = 50 × 金丝桃苷质量分数/最大金丝桃苷质量分数 + 25 × 槲皮素质量分数/最大槲皮素质量分数 + 25 × 山奈酚质量分数/最大山奈酚质量分数, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 菟丝子制饼炮制工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/mL	B 浸润时间/h	C 蒸制时间/h
1	30	6	2
2	40	8	3
3	50	10	4

由直观分析可知, 各因素对菟丝子饼炮制工艺的影响顺序为 $C > A > B$, 方差分析表明各因素对金丝桃苷、槲皮素、山奈酚含量均无显著性影响, 结合生产实际考虑, 确定最佳炮制工艺 $A_2B_3C_1$, 即 20 g 生品菟丝子加 40 mL 水浸润 10 h, 蒸制 2 h。

2.3 验证试验 称取菟丝子样品 3 份, 按最佳工艺方法蒸制菟丝子饼, 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 结

果金丝桃苷质量分数分别为 0.237 5% ,0.243% , 0.009 6% ,山奈酚依次为 0.032% ,0.035 1% , 0.238 3% ,槲皮素分别为 0.011 5% ,0.009% , 0.034 9% ,说明优选的炮制工艺稳定可行。

表 2 菟丝子制饼炮制工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	金丝桃苷/%	槲皮素/%	山奈酚/%	综合评分
1	1	1	1	1	0.233 5	0.008 5	0.034 3	98.85
2	1	2	2	2	0.239 0	0.008 1	0.026 6	93.21
3	1	3	3	3	0.185 8	0.007 3	0.023 1	78.09
4	2	1	3	2	0.215 1	0.007 4	0.020 9	83.06
5	2	2	1	3	0.235 5	0.007 7	0.025 3	91.52
6	2	3	2	1	0.228 6	0.007 5	0.027 1	90.76
7	3	1	2	3	0.209 1	0.007 4	0.026 2	85.64
8	3	2	3	1	0.195 0	0.007 6	0.023 4	81.16
9	3	3	1	2	0.226 1	0.007 8	0.031 6	94.39
K_1	90.050	89.183	94.920	90.257				
K_2	88.447	88.630	89.870	90.220				
K_3	87.063	87.747	80.770	85.083				
R	1.603	0.553	9.100	0.037				

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	13.404	2	0.504	>0.05
B	3.150	2	0.119	>0.05
C	53.150	2	1.000	>0.05
D(误差)	308.535	2	11.610	

注： $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

3 讨论

蒸法炮制菟丝子饼始载于《银海精微》^[6],后世多沿用酒蒸之法,现代逐步出现水蒸法^[7]。据文献报道,菟丝子中含有黄酮类、多糖类、生物碱类、萜类、甾体类、挥发油及木质素等成分,其中总黄酮为主要有效成分,包含山奈酚、槲皮素、金丝桃苷、紫云英苷等活性成分^[8-9],故选择金丝桃苷、槲皮素、山奈酚为指标进行含量测定。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:290.

[2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 第6卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:500.

[3] 郑一敏,胥秀英,杨艳红,等. HPLC 测定菟丝子中金丝桃苷与槲皮苷的含量[J]. 华西药学杂志,2005,20(3):261.

[4] 杨水新,蒋国强,朱丽华. 高效液相色谱法测定菟丝子中芦丁、槲皮素及山萘酚的含量[J]. 浙江中医学院学报,2001,25(4):65.

[5] 阎超,辛力,艾力·肉孜,等. 新疆和田菟丝子中槲皮素和山萘酚的含量测定[J]. 新疆医科大学学报,2003,26(3):261.

[6] 孙思邈. 银海精微[M]. 上海:上海人民出版社,2005:9.

[7] 中医研究院中药研究所,北京药品生物制品检定所. 中药炮制经验集成[M]. 北京:人民卫生出版社,1974:219.

[8] 叶敏,阎玉凝,乔梁,等. 中药菟丝子化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(2):115.

[9] 金晓,李家实,阎文玫. 菟丝子黄酮类成分的研究[J]. 中国中药杂志,1992,17(5):292.

[责任编辑 仝燕]