

正交设计法优选祖师麻软化切制工艺

张超*

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 优选祖师麻的软化切制工艺。方法: 以祖师麻甲素、伞形花内酯、总香豆素、紫丁香苷提取量为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验考察加水量、润制时间和饮片切制厚度对软化切制工艺的影响。采用 HPLC 测定祖师麻甲素、伞形花内酯及紫丁香苷含量, 利用 UV 测定总香豆素含量。结果: 最佳软化工艺组合为加水 0.8 倍量润制 0.5 h, 切丝 5 mm; 祖师麻甲素、伞形花内酯、紫丁香苷、总香豆素提取量分别为 1.058, 0.669, 5.793, 3.640 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论: 优选的工艺条件稳定可行, 为祖师麻的工业化生产和质量控制提供工艺参数。

[关键词] 祖师麻; 软化切制工艺; 祖师麻甲素; 伞形花内酯; 总香豆素; 紫丁香苷

[中图分类号] R283.3 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)09-0026-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20140900026

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000044.html>

[网络出版时间] 2014-02-25 11:22

Optimization of Softening Cutting Process of *Daphne giraldii* by Orthogonal Design

ZHANG Chao*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize softening cutting process of *Daphne giraldii*. **Method:** With extraction amounts of daphnetin, umbelliferone, total coumarins and syringin as indexes, effects of adding water content, softening time and cutting thickness on softening cutting process were investigated by orthogonal design. Contents of daphnetin, umbelliferone and syringin were determined by HPLC, but the content of total coumarins was determined by UV. **Result:** The best softening cutting process was as follows: adding water amount 0.8 times, softening time 0.5 h and cutting thickness 5 mm; Extraction amounts of daphnetin, umbelliferone, syringin and total coumarins were 1.058, 0.669, 5.793, 3.640 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** This optimized process was stable and feasible, which could provide process parameters for industrial production and quality control of *D. giraldii*.

[Key words] *Daphne giraldii*; softening cutting process; daphnetin; umbelliferone; total coumarins; syringin

祖师麻收载于 1977 年版《中国药典》一部, 具有祛风湿、活血止痛的作用, 临床用于治疗风湿痹痛、关节炎、类风湿性关节痛, 化学成分包括香豆素苷元及其苷类、黄酮类、木脂素类、二萜类及对羟基苯甲酸、紫丁香苷等^[1-6]。其主要有效成分为祖师麻甲素等香豆素类, 紫丁香苷亦有一定抗炎^[7]、镇痛^[8]作用, 这些成分均具备一定水溶性, 但水溶液稳定性差, 故软化切制过程中任何一个环节操作不当, 都可能会造成有效成分流失, 但目前有关祖师麻软化切制方面的研究尚未见报道。皮类药物一般切丝, 2010 年版《中国药典》仅规定细丝宽度 2~3

[收稿日期] 20130814(012)

[基金项目] 济南市高校院所自主创新科技计划项目 (201102017)

[通讯作者] * 张超, 讲师, 从事中药新制剂新技术和中药炮制研究, Tel: 0531-89628590, E-mail: zhangchaotcm@126.com

mm,粗丝宽度 5 ~ 10 mm,祖师麻的软化切制还缺乏客观的工艺参数。本实验拟通过正交试验优选祖师麻的软化切制工艺,为祖师麻饮片的加工生产和质量控制提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(G1312A 型二元泵, G1315B 型紫外检测器, G1316A 型柱温箱,美国安捷伦科技公司), AE240 型 1/10 万电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。祖师麻采自甘肃省陇南市康县,经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche 的茎皮和根皮;祖师麻甲素、伞形花内酯、紫丁香苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110900-200405, 111739-200501, 111574-200502), 甲醇、乙腈均为色谱纯,水为高纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 祖师麻甲素和伞形花内酯的含量测定

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取正交试验各样品 0.25 g,分别置于具塞锥形瓶中,各精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.2 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸水(15:85),检测波长 326 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。

2.1.3 线性关系考察 制备不同质量浓度的混合对照品溶液,按 2.1.2 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得祖师麻甲素、伞形花内酯回归方程分别为 $Y = 78.991X + 0.757$, ($r = 0.999\ 6$), $Y = 78.729X + 0.841$ ($r = 0.999\ 8$,线性范围 0.544 ~ 27.20, 0.488 ~ 24.40 mg·L⁻¹。二者的含量测定经方法学考察均符合测定要求。

2.2 紫丁香苷的含量测定

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取正交试验各样品 0.25 g,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,称定质量,加 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸水(15:85),检测波长 265 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。

2.2.3 线性关系考察 制备不同质量浓度的紫丁香苷对照品溶液,按 2.2.2 项下色谱条件测定,以质

量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 22.345X - 0.517$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围 3.64 ~ 72.80 mg·L⁻¹。紫丁香苷的含量测定经方法学考察符合测定要求。

2.3 总香豆素的含量测定 制备不同质量浓度的祖师麻甲素对照品溶液,于 326 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 0.077X - 0.015$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围 1.64 ~ 26.24 mg·L⁻¹。精密度、回收率等方法学考察均符合紫外分光光度法含量测定的要求。

2.4 软化工艺优选 在预试验基础上,确定以药材软化时加水量、润制时间和饮片切制厚度为考察因素,以祖师麻甲素、伞形花内酯、紫丁香苷和总香豆素的提取量为评价指标,因素水平见表 1。选用大小均一的祖师麻茎皮和根皮部位,称取原药材 300 g,共 9 份,按 L₉(3⁴) 正交表分别置玻璃缸内,整齐堆放,一次性均匀喷淋清水,润制,切制成相应规格,于 35 ℃ 真空干燥 8 h,取各成品 100 g 分别粉碎,使通过二号筛,按上述色谱条件进行测定,试验安排、结果及直观分析见表 2,3。

表 1 祖师麻软化切制工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 润制时间/h	C 切制厚度/mm
1	0.5	0.5	3
2	0.8	1.0	5
3	1.2	1.5	8

由直观分析可知,按祖师麻甲素、伞形花内酯、紫丁香苷和总香豆素 4 个指标得到的最佳软化条件分别为 A₂B₃C₁, A₁B₁C₁, A₂B₁C₂, A₃B₁C₁。A 因素对祖师麻甲素和紫丁香苷提取量均具有显著性影响,对另 2 个指标则无显著性影响,故主要考察祖师麻甲素和紫丁香苷时,可确定软化工艺中最佳用水量为 0.8 倍。B 因素对 4 个指标均无显著性影响,祖师麻甲素指标以 B₃ 为最佳,另 3 个指标均提示 B₁ 最佳,而且随着润制时间延长,含量呈下降趋势,在保证能润透情况下,应尽可能缩短润制时间,故确定最佳润制时间 0.5 h。C 因素对紫丁香苷提取量具有显著性影响(C₂ 为最佳),另 3 个指标显示祖师麻切丝越细越好,但方差分析无显著影响(C₁ 为最佳),结合生产实际和临床用药情况分析,确定祖师麻以切丝 5 mm 为宜。综合考虑,确定祖师麻最佳软化工艺组合为 A₂B₁C₂,即加水 0.8 倍量润制 0.5 h,切丝 5 mm。称取祖师麻药材 300 g,各 3 份,

表 2 祖师麻软化切制工艺正交试验安排 mg·g⁻¹

No.	A	B	C	祖师麻甲素	伞形花内酯	紫丁香苷	总香豆素
1	1	1	1	0.512	0.922	5.831	3.573
2	1	2	2	0.272	0.220	7.829	3.326
3	1	3	3	0.287	0.156	4.054	2.757
4	2	1	2	0.515	0.480	10.477	3.282
5	2	2	3	0.731	0.194	7.457	3.267
6	2	3	1	0.977	0.619	7.696	2.904
7	3	1	3	0.493	0.249	7.340	3.588
8	3	2	1	0.363	0.418	6.980	3.722
9	3	3	2	0.351	0.428	8.246	3.429

表 3 祖师麻软化切制工艺正交试验直观分析

祖师麻甲素	K_1	0.357	0.507	0.617
	K_2	0.741	0.455	0.379
	K_3	0.402	0.538	0.504
	R	0.384	0.083	0.238
伞形花内酯	K_1	0.433	0.550	0.653
	K_2	0.431	0.277	0.376
	K_3	0.365	0.401	0.200
	R	0.068	0.273	0.453
紫丁香苷	K_1	5.905	7.883	6.836
	K_2	8.543	7.422	8.851
	K_3	7.522	6.665	6.284
	R	2.638	1.218	2.567
总香豆素	K_1	3.219	3.481	3.400
	K_2	3.151	3.438	3.346
	K_3	3.580	3.030	3.204
	R	0.429	0.451	0.196

按优选的工艺组合进行软化,结果提取量祖师麻甲素分别为 1.089,1.054,1.032 mg·g⁻¹,伞形花内酯依次为 0.672,0.691,0.643 mg·g⁻¹,紫丁香苷分别为 5.834,6.027,5.519 mg·g⁻¹,总香豆素依次为 3.626,3.718,3.575 mg·g⁻¹,表明优选的软化工艺稳定可行。

3 讨论

曾采用单因素试验考察润制温度对各指标成分提取量的影响,结果发现润制温度过高,香豆素类成分明显降低,于 35℃润制时,祖师麻甲素含量已降低了约 80%,室温(20~25℃)润制时,香豆素类成分在前 2 h 相对较稳定,之后随润制时间延长呈下降趋势。考虑到祖师麻完全润透时间≤2 h,大生产

中润制温度多为 GMP 车间温度(该生产温度不会影响各指标成分),正交试验时未考察润制温度,但预试验结果已足以提示祖师麻润制温度不可过高,如夏季非 GMP 车间的室温润制会很容易造成香豆素类成分的损失。

通过对不同厂家祖师麻饮片进行香豆素类成分分析时,发现不同批次个别饮片中祖师麻甲素含量很低,一方面可能与祖师麻的贮存时间有关^[9-10],另一方面可能是软化切制不当影响了饮片质量。利用正交试验明确了祖师麻软化切制的工艺参数,为祖师麻饮片的加工生产和质量保证提供了实验依据。

【参考文献】

[1] 王明时,于明,张元君. 祖师麻化学成分的研究[J]. 中草药通讯,1976,7(10):13.
[2] 王明时,玛莱娜·戈加泽. 祖师麻化学成分的研究(第二报)[J]. 中草药,1980,11(2):49.
[3] 李书慧. 祖师麻化学成分及其原植物黄瑞香细胞培养的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005.
[4] 潘莉. 唐古特瑞香和大果大戟的化学成分研究[D]. 成都:成都生物研究所,2006.
[5] 苏娟. 黄瑞香活性成分的研究[D]. 上海:第二军医大学,2007.
[6] 扈晓佳. 四种药用植物的化学成分及活性研究[D]. 上海:上海交通大学,2009.
[7] 宋媛媛,李媛,张洪泉. 丁香苷抗炎镇痛作用及部分机制研究[J]. 中国野生植物资源,2010,29(4):27.
[8] 陈日道. 天山雪莲培养物的化学成分及紫丁香苷含量研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2009.
[9] 蒋以号,杨武亮,陈海芳,等. HPLC 测定不同基源及不同产地祖师麻中祖师麻甲素[J]. 中草药,2008,39(7):1096.
[10] 任燕冬,杨武亮,宋宏杉,等. 祖师麻质量控制研究[J]. 中成药,2009,31(6):950.

[责任编辑 刘德文]