

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.02.004

牛蒡子配方颗粒制备与牛蒡子 苷元质量分数测定研究^①

曾 珍, 李 玲, 杨 帆,
郑一敏, 吉光见稚代, 胥秀英

重庆理工大学 药学与生物工程学院, 重庆 400054

摘要: 对牛蒡子配方颗粒制备工艺筛选及牛蒡子苷元质量分数进行测定, 采用正交优化方法进行处方筛选, HPLC 法测定牛蒡子苷元质量分数. 色谱条件: 色谱柱: Dionex C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇与水的比例为 40:60; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 室温. 结果表明, 牛蒡子颗粒的最佳制备工艺: 物料比即牛蒡子提取物、糊精、淀粉比例为 3:6:1, 润湿剂: 85%乙醇, 干燥温度: 65℃. 在上述色谱条件下牛蒡子苷元在 1.41 μg~7.05 μg 范围内线性关系良好, $r=0.9999$, 方法回收率 100.09%, RSD 为 2.19%. 该方法可为牛蒡子相关制剂的开发和质量研究提供参考.

关键词: 牛蒡子; 配方颗粒; 正交实验; 牛蒡子苷元

中图分类号: Q949.783.5; R283.6

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)02-0017-06

牛蒡子是菊科植物牛蒡(*Arctium lappa* L.)的干燥成熟果实, 又名恶实、大力子等, 具有疏散风热、透疹解毒的功效, 为我国传统中药^[1]. 现代药理研究表明, 牛蒡子具有抗肿瘤、降血糖、抗菌、抗病毒等活性^[2]. 牛蒡子化学成分主要有木脂素、挥发油、油脂等, 其中木脂素类成分能抑制血小板活化因子对血小板的结合作用^[3-5]. 王宁、胥秀英等分别对牛蒡子中木脂素类和咖啡酰奎宁酸类化合物分离纯化与质量分数测定进行了系统研究^[6-13]. 在此基础上, 本实验以牛蒡子配方颗粒合格率为指标, 采用正交优化实验进行了牛蒡子配方颗粒处方筛选及牛蒡子苷元的质量分数测定研究.

1 材 料

1.1 试药与仪器

试剂: 牛蒡子购于重庆市中药材市场; 糊精、淀粉、乙醇为药用规格; 牛蒡子苷元对照品购于成都普菲德生物技术有限公司(纯度≥98%); 三氯甲烷, 甲醇等为市售分析纯.

仪器: HPLC 仪, 岛津 SPD20A.

① 收稿日期: 2018-09-14

基金项目: 重庆市科委重点项目(CSTC2014zjkcxxyBX0034).

作者简介: 曾 珍(1993-), 女, 硕士研究生, 主要从事天然药物的研究.

通信作者: 胥秀英, 教授.

2 方法与结果

2.1 牛蒡子提取物的制备

取市售牛蒡子于 60 ℃ 干燥 3h, 称取 500 g 3 份, 分别加入 8 倍、5 倍、3 倍量的水, 在 80~90 ℃ 加热提取 1 h, 收集 3 次提取液, 冷至室温, 再上预先处理好的 D101 大孔吸附树脂柱, 用 75% 乙醇洗脱, 收集洗脱液浓缩干燥得牛蒡子提取物, 备用.

2.2 颗粒剂的制备

精密称取不同比例的牛蒡子提取物粉末和辅料过 100 目筛, 加入相应浓度的润湿剂(乙醇)制成软材, 挤压过 12 目筛, 湿颗粒在相应温度下恒温干燥 30 min. 得到干燥的牛蒡子颗粒.

2.3 评价指标

以牛蒡子颗粒的合格率为指标, 即可通过 1 号筛与不过 5 号筛的颗粒占颗粒总质量的百分比.

2.4 正交实验设计

以原辅料比例、润湿剂的浓度、干燥温度为影响因素, 每个因素 3 个水平, 采用正交实验设计 $L_9(3^4)$, 筛选牛蒡子颗粒制剂的最优工艺. 正交实验因素水平及实验结果见表 1 与表 2.

表 1 因素水平设计

水平	因 素			
	A(牛蒡子、糊精、淀粉)	B 乙醇浓度/%	C 干燥温度/℃	D(空白)
1	3 : 4 : 3	75	55	0
2	3 : 5 : 2	80	60	0
3	3 : 6 : 1	85	65	0

取牛蒡子提取物按表 2 加入辅料, 混合, 加入润湿剂, 搅拌, 制软材, 制粒, 干燥. 计算颗粒合格率, 筛选最佳制粒工艺, 结果见表 2.

表 2 正交实验结果

实验号	因 素				指标 颗粒合格率/%
	A	B	C	D	
实验 1	1	1	1	1	86
实验 2	1	2	2	2	97
实验 3	1	3	3	3	98
实验 4	2	1	2	3	91
实验 5	2	2	3	1	98
实验 6	2	3	1	2	97
实验 7	3	1	3	2	94
实验 8	3	2	1	3	96
实验 9	3	3	2	1	97
K1	93.7	90.3	93.0		
K2	95.3	97.0	95.0		
K3	95.7	97.3	96.7		
极差 R	2.0	7.0	3.7		

结果表明: 根据综合评分结果, 由直观分析可以得出影响牛蒡子颗粒的因素大小依次为 $B > C > A$, 结合直观分析, $A_3 > A_2 > A_1$, 选择 A_3 ; $B_3 > B_2 > B_1$, 选择 B_3 ; $C_3 > C_2 > C_1$, 选择 C_3 ; 所以, 最佳工艺参数为 $A_3 B_3 C_3$. 即牛蒡子提取物、糊精、淀粉比例为 3 : 6 : 1, 加入润湿剂乙醇的浓度为 85%, 恒温干燥的

温度为 65 ℃。并且润湿剂的浓度对牛蒡子颗粒成型影响显著, 牛蒡子与辅料的物料比对牛蒡子颗粒制剂成型的影响相对较小。结合方差分析(表 3)可知, B 因素即乙醇浓度对结果影响有统计学意义, 而物料比与干燥温度对结果影响无统计学意义。

表 3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	P 显著性
A	6.889	2	0.838	3.000	>0.25
B	93.556	2	11.378	9.000	<0.05
C	20.222	2	2.459	3.000	>0.25
误差	8.222	2	—	—	—

2.5 正交设计验证实验

按牛蒡子提取物、糊精、淀粉比例为 3 : 6 : 1, 加入润湿剂乙醇的浓度为 85%, 恒温干燥的温度为 65 ℃, 按“2.1”的制备方法制备 3 批供试品, 测定颗粒合格率, 结果表明该工艺稳定(表 4)。

表 4 验证实验结果

编号	颗粒合格率/%	编号	颗粒合格率/%
1	95	3	97
2	97		

2.6 牛蒡子配方颗粒中牛蒡子苷元质量分数测定研究

2.6.1 色谱条件

色谱柱: Dionex C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇—水(40 : 60); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 室温。

2.6.2 对照品溶液的制备

精密称定牛蒡苷元对照品一定量, 加入甲醇溶液溶解制成浓度为 0.705 mg/mL 的溶液, 即得。

2.6.3 供试品溶液的制备

取牛蒡子配方颗粒适量, 研磨成细粉, 精密称取 0.2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 20 min, 冷至室温, 用甲醇补足减失质量, 混匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.6.4 阴性对照溶液的制备

取缺牛蒡子的阴性样品 0.2g, 按“2.6.3”项下的方法制备, 即得阴性对照溶液。

2.6.5 专属性实验

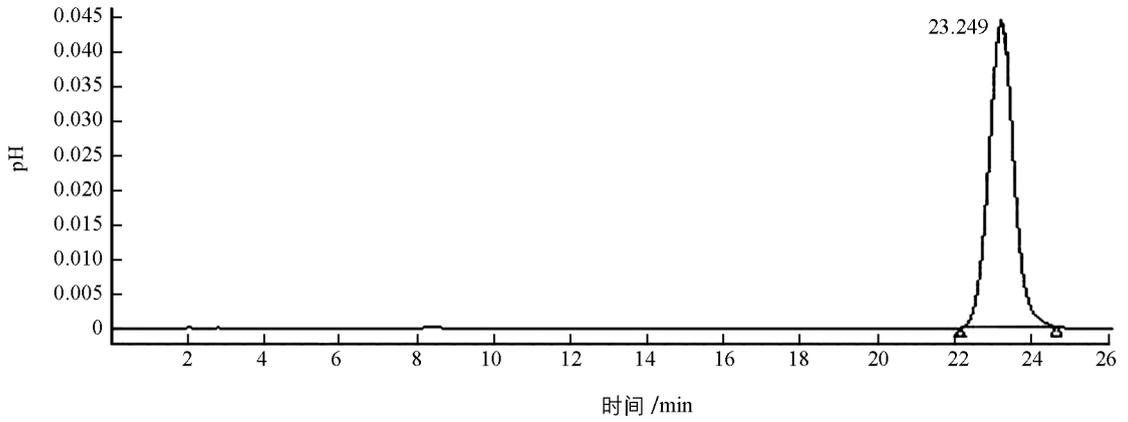
取“2.6.2”项下的对照品溶液, “2.6.3”项下的供试品溶液, “2.6.4”项下的阴性对照溶液各 10 μL, 按“2.6.1”项下的色谱条件测定, 记录色谱图, 结果见图 1。分离效果好, 阴性样品无干扰。

2.6.6 线性关系考察

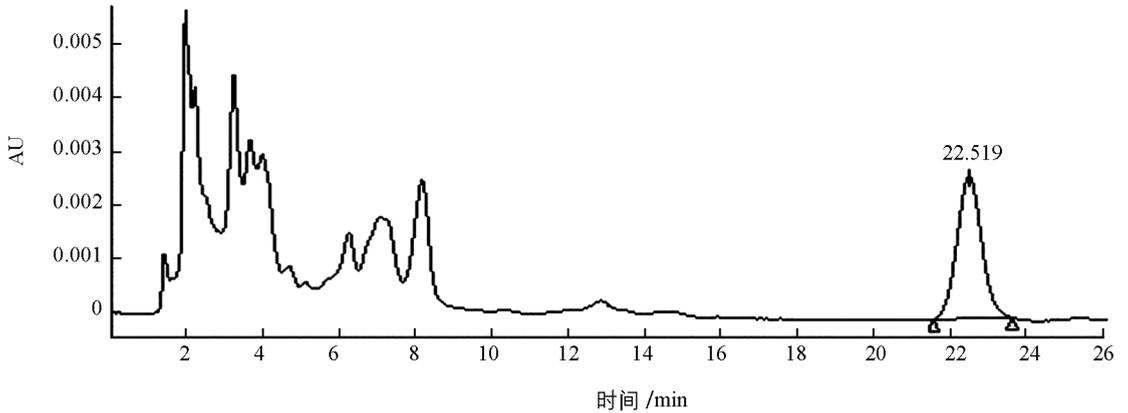
精密吸取“2.6.2”项下对照品溶液 2 μL, 4 μL, 6 μL, 8 μL, 10 μL, 按“2.6.1”项下的色谱条件测定。以牛蒡子苷元的进样量(x , μg)为横坐标, 以峰面积(y)为纵坐标, 进行线性回归, 得线性范围为 1.41 μg~7.05 μg, 回归方程为 $y = 3 \times 10^8 x - 139\ 413$, 相关系数 $r = 0.999\ 9$ 。

2.6.7 精密度实验

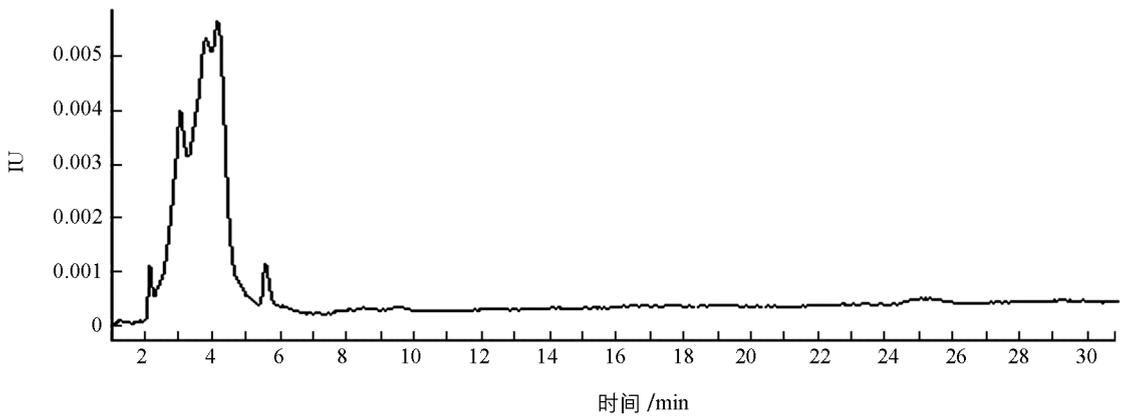
取“2.6.2”项下对照品溶液适量, 按“2.6.1”项下色谱条件连续进样 6 次测定。结果牛蒡苷元峰面积的 RSD 为 0.85%, 表明仪器的精密度较好。



(a) 牛蒡子苷元对照品



(b) 供试品



(c) 阴性样品

图 1 对照品、供试品和阴性样品 HPLC 图

2.6.8 稳定性实验

取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 后进样测定。结果牛蒡苷元峰面积的 RSD 为 1.06%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.9 重复性实验

取同一样品 6 份, 按“2.6.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.6.1”项下色谱条件测定。结果牛蒡苷元质量分数的 RSD 为 0.74%, 表明该方法的重复性比较好。

2.6.10 加样回收率

实验取牛蒡子样品 3 份, 分别精密加入一定量牛蒡子苷元的对照品, 按“2.6.3”项下的方法制备牛蒡子

供试品溶液, 再按“2.6.1”项下的色谱条件进样并且计算加样回收率为 2.19%(表 5).

表 5 加样回收率结果

编号	样品质量分数/ μg	标准品 加入量/ μg	测得量/ μg	加样回收率/ %	平均加样 回收率/%	RSD/ %
1	2.572	3.065	5.616	99.31	100.09	2.19
2	2.572	3.065	5.523	96.28		
3	2.572	3.065	5.669	101.04		
4	3.550	3.065	6.602	99.58		
5	3.550	3.065	6.611	99.87		
6	3.550	3.065	6.658	101.40		
7	3.681	3.065	6.713	98.92		
8	3.681	3.065	6.745	99.97		
9	3.681	3.065	6.883	104.46		

2.6.11 样品质量分数测定

取 3 批次牛蒡子配方颗粒适量, 分别按“2.6.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.6.1”项下的色谱条件进样测定并计算其质量分数(表 6), 结果表明通过该方法制备的样品牛蒡子苷元质量分数基本稳定.

表 6 样品质量分数测定结果($n=3$)

编号	牛蒡子苷元质量分数/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	编号	牛蒡子苷元质量分数/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
1	20.76	3	21.82
2	21.61		

3 结 论

本实验是笔者团队在牛蒡子系统研究的基础上, 采用水煮法结合大孔树脂精制牛蒡子提取物, 并对牛蒡子配方颗粒的制备工艺进行了正交优化实验, 筛选出牛蒡子配方颗粒的最优制备工艺: 物料比即牛蒡子提取物、糊精、淀粉比例为 3:6:1, 乙醇的浓度为 85%, 干燥温度为 65℃. 并采用 HPLC 法对牛蒡子颗粒剂中牛蒡子苷元进行质量分数方法学研究及样品质量分数测定, 结果表明, 通过大孔树脂精制处理, 可以大大提高牛蒡子配方颗粒中有效成分牛蒡子苷元的质量分数. 该结果以期为牛蒡子的制剂开发提供思路.

参考文献:

- [1] 马英华, 张晓娟. 牛蒡子药物应用的研究进展 [J]. 中医药信息, 2017, 34(2): 116-119.
- [2] 张兴德, 张彩琴, 刘启迪, 等. 牛蒡子抗肿瘤活性成分及作用机制研究进展 [J]. 中国现代中药, 2012, 14(12): 12-17.
- [3] 陶凯奇, 王 红, 周宗宝, 等. 木脂素类化合物的结构及生物活性研究进展 [J]. 中南药学, 2017, 15(1): 70-74.
- [4] 杨桢楠, 黄小英, 王 尉, 等. 牛蒡子中一个新木脂素类化合物 [J]. 药学学报, 2017, 52(5): 779-784.
- [5] 李雪利, 高 杰, 郝 磊, 等. 牛蒡子配方颗粒制备工艺优化 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(11): 29-30.
- [6] 王 宁, 林海珠, 刘 红, 等. 牛蒡子木脂素类化合物的分离与制备 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2013, 38(8): 104-107.
- [7] 胥秀英, 陈海芹, 郑一敏, 等. 牛蒡子提取物中咖啡酰奎宁酸类化合物的分离与结构确证 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(11): 172-176.
- [8] 郑一敏, 胥秀英, 蔡绍哲, 等. 牛蒡子苷对血瘀大鼠血液流变学的影响 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(6):

443-446.

- [9] 陈海芹, 胥秀英, 张心蕊, 等. HPLC 法测定牛蒡子提取物中咖啡酰奎宁酸类化合物的含量 [J]. 北方药学 2014, 11(8): 12-13.
- [10] 郑一敏, 蔡绍哲, 胥秀英, 等. 牛蒡子总木脂素代谢化学及其动态研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(6): 1287-1289.
- [11] 郑一敏, 蔡绍哲, 胥秀英, 等. 牛蒡子苷代谢动力学与分布研究 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(4): 265-267.
- [12] 胥秀英, 郑一敏, 傅善权, 等. 牛蒡子苷在小鼠体内的分布状态及药代动力学研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 698-699.
- [13] 杨艳红, 蔡绍哲, 郑一敏, 等. 两步法制备牛蒡子苷元 [J]. 精细化工, 2007, 24(9): 885-889.

Study on Preparation of *Fructus arctii* Formulated Granules and Determination of Arctigenin in Them

ZENG Zhen, LI Ling, YANG Fan, ZHENG Yi-min,
YOSHIMITSU Michiyo, XU Xiu-ying

College of Pharmaceutical and Biological Engineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China

Abstract: To screen for the optimal preparation process of *Fructus arctii* formulated granules and to determine the arctigenin content in them. The orthogonal optimization method was used to screen the prescriptions and HPLC was performed to determine the arctigenin content. Analysis was carried out with Dionex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was CH₃OH-H₂O (40 : 60), the flow rate was 1.0 mL/min, the wave length was 280 nm and the temperature was room temperature. The optimal preparation process of *F. arctii* granules was as follows: The ratio of *F. arctii* extract : dextrin : starch was 3 : 6 : 1, the wetting agent was 85% ethanol and the temperature was 65 °C. Under these conditions, it had a good linear relationship, the average recovery of arctigenin was 100.09%, and RSD was 2.19%. The method described above can be used for the development and quality control of *F. arctii* preparations.

Key words: *Fructus arctii*; formulated granule; orthogonal optimization; arctigenin

责任编辑 周仁惠