

[饮片炮制]

## 正交设计法优化炒牛蒡子的炮制工艺

王平<sup>1</sup>, 韩丽妹<sup>2\*</sup>, 王建新<sup>2</sup>

(1. 上海德华国药制品有限公司, 上海 201400; 2. 复旦大学药学院, 上海 201203)

关键词: 炒牛蒡子; 炮制工艺; 正交设计; 牛蒡苷; 牛蒡苷元; 高效液相色谱

摘要: 目的: 采用正交试验优化炒牛蒡子的炮制工艺。方法: 建立了同时测定牛蒡苷和牛蒡苷元的高效液相色谱法; 以牛蒡苷和牛蒡苷元含量为指标, 采用两因素三水平正交设计优选炒牛蒡子炮制工艺。结果: 随着炒制温度的升高和炒制时间的延长, 牛蒡苷的含量下降, 牛蒡苷元的含量增加。优化得到的炮制工艺为: 加热至 300 °C 清炒 4 ~ 5 min。结论: 该炮制工艺稳定可行, 可用于炒牛蒡子的生产。

中图分类号: R283

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2010)04-0607-04

## Processing for *Arctium Lappa* with orthogonal test

WANG Ping<sup>1</sup>, HAN Li-mei<sup>2\*</sup>, WANG Jian-xin<sup>2</sup>

(1. Shanghai Dehua Chinese Materia Medica Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201400, China; 2. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

**KEY WORDS:** *Arctium Lappa*; processing; orthogonal test; arctiin; arctigenin; HPLC

**ABSTRACT:** **AIM:** To optimize the parameters of processing for *Arctium Lappa*. **METHODS:** The contents of arctiin and arctigenin in *Arctium Lappa* were determined with HPLC, and the total yields of them were chosen as index. The orthogonal test was adopted to acquire the optimum technology for processing *Arctium Lappa*. **RESULTS:** The study showed that the best processing parameters for *Arctium Lappa* consisted of 300 °C of the drying temperature and 4 - 5 minutes of processing time. **CONCLUSION:** The processing method is reasonable, stable and reliable, and can be used in commercial production.

牛蒡子, 又名大力子、鼠黏子、蝙蝠刺等, 为菊科植物牛蒡 *Arctium Lappa* L. 的干燥成熟果实, 味辛苦、性凉, 归肺胃经, 具有疏散风热、宣肺透疹、解毒利咽的功能, 常用于风热感冒、咳嗽痰多、麻疹、风疹、咽喉肿痛、疔腮、丹毒、疮毒、乳痈等症。历代文献中关于牛蒡子的炮制方法较多, 但只有炒制法一直沿用至今。牛蒡子为历版《中国药典》收载品种, 在炮制项下收载有净制和炒制两种炮制方法。各地炮制规范基本也都收载了清炒的炮制方法, 但炮制工艺条件和指标不尽相同, 影响了牛蒡子炮制品的质量和临床疗效的统一, 因此本试验建立了同时测定牛蒡子有效成分牛蒡苷和牛蒡苷元的高效液相色谱方法, 以二者的含量作为指标, 采用正交设计优选牛蒡子炮制工艺, 为建立科学合理的牛蒡子炮制工

艺提供依据。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 紫外检测器, Agilent 色谱工作站 (美国 Agilent 有限公司); BP211D 型电子天平 (十万分之一, 德国 Sartorius 公司); SK5200LH 型超声仪 (上海科导超声仪器有限公司); CYJB-700 型滚筒式燃油炒药机 (上海凯旋中药机械有限公司)。

牛蒡子原药材由上海华宇药业有限公司提供; 牛蒡苷对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号: 110819-200404); 牛蒡苷元对照品为自制, 经 HPLC 纯度检验为 99.11%; 甲醇为色谱纯 (德国 Merck 公司), 水为去离子水 (美国 Millipore 公司)。

### 2 方法与结果

收稿日期: 2009-04-20

作者简介: 王平 (1963 - ) 男, 主管中药师, 从事中药炮制工艺与生产研究。Tel: (021) 57420926 E-mail: dehua1008@163.com

\* 通讯作者: 韩丽妹 (1978 - ) 女, 讲师, 博士, 从事中药新制剂研究。Tel: (021) 51980087 E-mail: lmhan@fudan.edu.cn

## 2.1 牛蒡苷和牛蒡苷元的含量测定方法

### 2.1.1 色谱条件

色谱柱:Hypersil BDS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm 5 μm);流动相:甲醇-水(1:1.1);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:30 °C;进样量:10 μL。理论塔板数以牛蒡苷计,不得低于3 000。

在此条件下,牛蒡苷及牛蒡苷元峰形尖锐、对称,分离度良好,样品中的其他成分对牛蒡苷及牛蒡苷元的测定无干扰。对照品与样品的色谱图分别见图1~图3,牛蒡苷的保留时间约为6.5 min,牛蒡苷元的保留时间约为17.4 min。

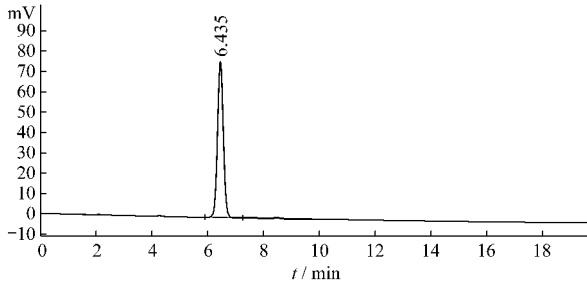


图1 牛蒡苷对照品 HPLC 色谱图

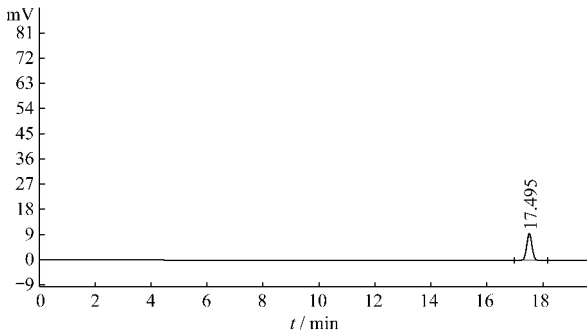


图2 牛蒡苷元对照品 HPLC 色谱图

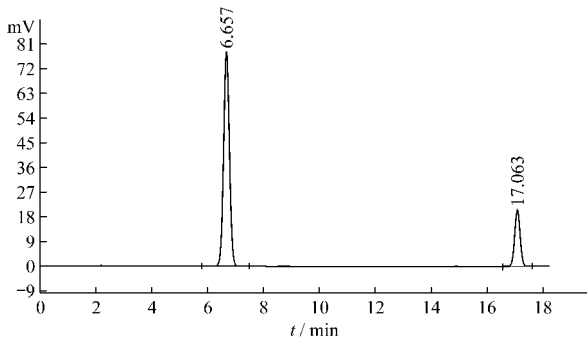


图3 牛蒡子炮制样品色谱图

### 2.1.2 对照品溶液的制备

分别精密称取干燥至恒重的牛蒡苷对照品 6.17 mg及牛蒡子苷元对照品 4.70 mg,分别置 10 mL 和 50 mL 量瓶中,加甲醇振摇、溶解并定容至刻度,即得浓度分别为 617 μg/mL 和 94 μg/mL 的牛蒡

苷和牛蒡苷元对照品溶液。

### 2.1.3 供试品溶液的制备

取牛蒡子原药材或炮制后的样品,粉碎,过三号筛,取粉末约 0.5 g,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇约 45 mL,超声处理 20 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.1.4 线性关系考察

精密吸取浓度为 617 μg/mL 牛蒡苷对照品溶液适量,加甲醇稀释至适当浓度,分别注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件,测定峰面积。以进样浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,计算回归方程为: $A = 3\ 850C - 48\ 791$ ,  $r = 0.999\ 9$ ,测定结果见表 1。

表1 牛蒡苷线性范围考察

进样浓度 (μg/mL)	61.7	123.4	246.8	370.2	617.0
峰面积	143 709	336 209	914 746	1 392 892	1 877 248

结果表明:牛蒡苷进样浓度在 61.7 ~ 617.0 μg/mL 范围内,线性关系良好。

精密吸取浓度为 94 μg/mL 牛蒡苷元对照品溶液适量,加甲醇稀释至适当浓度,分别注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件,测定峰面积。以进样浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,计算回归方程为: $A = 892.86C - 502.75$ ,  $r = 0.999\ 9$ ,测定结果见表 2。

表2 牛蒡苷元线性范围考察

进样浓度 (μg/mL)	4.7	9.4	18.8	37.6	56.4	94.0
峰面积	3 887	8 425	17 332	35 395	53 053	70 857

结果表明:牛蒡苷元进样浓度在 4.7 ~ 94.0 μg/mL 范围内,线性关系良好。

### 2.1.5 精密度试验

上述色谱条件下,取供试品溶液,连续进样 5 次,每次 10 μL,记录峰面积,计算精密度,结果见表 3。牛蒡苷的精密度 RSD 为 0.72%,牛蒡苷元的精密度 RSD 为 0.45%,故本方法的精密度良好。

表3 牛蒡苷和牛蒡苷元的精密度试验

序号	1	2	3	4	5	RSD /%
牛蒡苷 峰面积	1 063 690	1 060 456	1 048 517	1 050 504	1 064 957	0.72
牛蒡苷元 峰面积	10 783	10 822	10 986	10 951	10 864	0.79

### 2.1.6 重复性试验

取同一供试样品,按含量测定方法操作,进行 5 次平行实验,结果见表 4。牛蒡苷和牛蒡苷元峰面积的 RSD 分别为 0.79% 和 1.0%,表明含量测定方

法重现性良好。

表4 牛蒡苷和牛蒡苷元的重复性试验

序号						RSD
	1	2	3	4	5	/%
牛蒡苷 峰面积	1 145 0931	158 6951	150 5041	164 9571	186 803	1.40
牛蒡苷元 峰面积	99 803	100 756	100 044	101 301	102 200	0.96

### 2.1.7 稳定性试验

在室温条件下,精密吸取同一供试品溶液,按样品测定方法分别在0、2、4、6、8、10 h内测定峰面积,结果见表5。结果表明,牛蒡苷、牛蒡苷元色谱峰峰

表5 样品溶液的稳定性试验

时间/h	0	2	4	6	8	10	RSD/%
牛蒡苷峰面积	1 063 690	1 064 524	1 060 215	1 063 674	1 066 224	1 065 320	0.19
牛蒡苷元峰面积	10 783	10 822	10 856	10 821	10 834	10 813	0.22

表6 牛蒡苷及牛蒡苷元的加样回收率试验结果

序号	样品称重 /g	样品中含量		加入对照品量		测定总量		回收率	
		牛蒡苷	牛蒡苷元	牛蒡苷	牛蒡苷元	牛蒡苷	牛蒡苷元	牛蒡苷	牛蒡苷元
		/mg	/mg	/mg	/mg	/mg	/mg	/mg	/mg
1	0.230 9	18.59	0.73	17.2	0.73	35.19	1.43	96.77	95.89
2	0.228 9	18.31	0.76	17.2	0.73	34.89	1.47	96.61	97.37
3	0.231 2	18.38	0.79	17.2	0.73	35.21	1.49	97.99	96.20
4	0.234 7	18.89	0.85	17.2	0.73	35.76	1.57	98.25	98.82
5	0.235 4	18.94	0.83	17.2	0.73	35.82	1.52	98.31	95.18
								97.59	96.69
SD								0.83	1.43

### 2.1.9 样品含量测定

取牛蒡子原药材按2.1.3项下处理方法制备供试品溶液,精密吸取样品溶液10 μL,注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件分析,测定牛蒡苷及牛蒡苷元的色谱峰面积,结果显示原药材中牛蒡苷和牛蒡苷元的含量分别为6.55%和0.41%。

## 2.2 正交法优化炮制工艺条件

### 2.2.1 牛蒡子炮制工艺流程

取原药材,除去杂质及灰屑,淘净,取出,干燥。取净牛蒡子置热锅中,清炒至略鼓起,微有香气,并具焦斑,筛去灰屑,即得。

### 2.2.2 正交法优化牛蒡子的炮制工艺条件

预试验结果显示,影响清炒法制备牛蒡子饮片的主要炮制工艺条件为清炒温度和清炒时间,因此,采用正交设计法对这两个影响因素进行考察和优化,投料量为20 kg/批,因素水平表见表7。

按正交表设计方案进行试验,以牛蒡苷和牛蒡苷元含量为评价指标,试验结果见表8。

试验结果表明,与牛蒡子药材相比,炒牛蒡子饮

形及峰面积在10 h内均没有显著变化,说明供试品中牛蒡苷和牛蒡苷元在10 h内稳定。

### 2.1.8 加样回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的牛蒡子样品(含牛蒡苷8.10%,牛蒡苷元0.38%),分别加入牛蒡苷对照品溶液10 mL(1.72 mg/mL)及牛蒡苷元对照品溶液2 mL(0.365 mg/mL),按样品测定方法进行测定,计算回收率,结果见表6。结果显示,牛蒡苷的平均回收率为98.74% ± 0.42% (n = 5);牛蒡苷元的平均回收率为98.54%,RSD为1.95% (n = 5),表明本方法的回收率良好。

表7 正交法优化牛蒡子的炮制工艺条件因素水平表

水平	因 素	
	清炒温度/℃	清炒时间/min
1	200	1~2
2	300	4~5
3	400	7~8

表8 牛蒡子炮制工艺优化结果

序号	因 素		牛蒡苷含 量/%	牛蒡苷元 含量/%	总含量 /%
	清炒温度 /℃	清炒时间 /min			
1	200	1~2	6.02	0.49	6.51
2	200	4~5	6.16	0.44	6.60
3	200	7~8	6.17	0.53	6.70
4	300	1~2	5.79	0.68	6.47
5	300	4~5	5.41	0.76	6.17
6	300	7~8	3.77	0.95	4.72
7	400	1~2	4.73	0.7	5.43
8	400	4~5	1.75	0.81	2.56
9	400	7~8	nd	0.74	0.74
K1	19.81	18.41			
K2	17.36	15.33			
K3	8.73	12.16			
R	11.08	6.25			

片中牛蒡苷的含量均有较大程度降低,并且随着清炒温度的升高和时间的延长,牛蒡苷含量显著下降,说明炒制加热会使牛蒡苷受到不同程度的破坏。而与此同时,牛蒡苷元的含量则随着清炒温度的升高和清炒时间的延长有所增加。如何掌握炮制的程度对炒牛蒡子饮片的质量非常重要。根据试验结果的直观分析,应选择 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>,即 200℃炒 1~2 min 为佳,但在此条件下制得的饮片性状不符合药典的规定。而在 300℃炒制 4~5 min 条件下制得的饮片性状符合规定,且有效成分的含量与上述条件没有显著差异(P>0.05)。因此,综合考虑实际生产成本、效率及正交试验结果等因素,确定选定炒牛蒡子的最佳炮制工艺为:将药材除去杂质及灰屑,淘净,取出,干燥后于炒药机中 300℃清炒 4~5 min。

### 2.2.3 最佳炮制工艺验证试验

按上述优化的最佳条件,炒牛蒡子制备 3 批样品,每批 50 kg,并按质量标准进行检测。结果见表 9。

表 9 3 批炒牛蒡子中试试验结果

批号	总灰分	酸不溶性	牛蒡苷	牛蒡苷元
	1%	灰分 1%	1%	1%
浙江 2007031515	5.22	1.24	6.39	0.69
浙江 2007042102	5.65	1.13	6.59	0.75
浙江 2007050802	5.31	1.37	6.35	0.73

以上结果表明,炒牛蒡子的炮制工艺稳定可行。

## 3 讨论

牛蒡子为菊科植物牛蒡的干燥成熟果实,富含木脂素类化合物,其中牛蒡苷和牛蒡苷元是主要的活性成分,牛蒡苷元是牛蒡苷分解后的产物。现代药理研究结果表明<sup>[4]</sup>,牛蒡子在各药理研究中起作用的主要成分是牛蒡苷元。牛蒡苷在进行动物体内试验(尤其是口服时)表现出活性,主要是由于牛蒡子苷在消化道中,在肠菌的作用下转变为苷元的脱甲基化物,此脱甲基化物在肝脏中的儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)的作用下恢复为苷元,苷元被血液输送到各个器官而发挥作用。所以,可以认为牛蒡苷元是牛蒡子中的直接有效成分,而牛蒡子苷是前体物质。牛蒡苷元可增强免疫系统活性,通过调节

免疫应答来对活性巨噬细胞、淋巴细胞包括 TNF- $\alpha$ 、NO 产生及淋巴细胞增殖起作用,是牛蒡子中促进小鼠 M1 细胞分化作用最强的化合物<sup>[5]</sup>。牛蒡苷元在体外有直接抑制流感病毒复制的作用,是牛蒡子解表功能的主要有效成分<sup>[6]</sup>。因此,在进行牛蒡子的炮制工艺及质量研究时,如仅以牛蒡苷的含量为指标,难以全面反映药材或饮片的质量,应同时对牛蒡苷元的含量进行检测和考察。基于以上考虑,本试验在炒牛蒡子炮制工艺考察时,同时以二者的含量为指标,以得出更为合理的炮制工艺条件。

与牛蒡子药材相比,饮片中牛蒡苷的含量均有较大降低,说明炒制加热会使牛蒡苷受到不同程度的破坏。牛蒡苷可能是牛蒡子起寒凉作用的主要有效成分,通过炮制,可以降低其含量,缓和药性,从而突出其他方面的作用。而牛蒡苷元的含量均相应增加,推测可能是受热使部分牛蒡苷的糖苷键发生断裂,脱去糖变为牛蒡苷元。但由于牛蒡苷熔点较低,温度过高、加热时间过长,可能会使其破坏损失。所以,炮制温度与时间对牛蒡苷及苷元的含量影响很大,掌握适当的炮制程度对于牛蒡子饮片质量很重要。本试验综合传统经验方法和《中国药典》中对牛蒡子质量判断的依据和牛蒡苷与牛蒡苷元两种有效成分的含量,确定了炒牛蒡子的最佳炮制工艺。中试试验结果表明,工艺合理可行,饮片质量稳定。

### 参考文献:

- [1] 刘彬彬,康廷国. 牛蒡子现代炮制工艺研究[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(10): 1076-1077.
- [2] 张涛. 牛蒡子不同炮制品中牛蒡苷含量的 HPLC 测定[J]. 中草药, 2004, 35(4): 406-407.
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2005: 48-49.
- [4] 龚又明,刘利根,宋科峰,等. 牛蒡子的研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 17(4): 1-4.
- [5] 任常胜,朱庆龄. 牛蒡子的研究概况[J]. 中国民族医药杂志, 2003, 12(增刊): 36-39.
- [6] 高阳,董雪,康廷国,等. 牛蒡苷元体外抗流感病毒活性[J]. 中草药, 2002, 33(8): 724-726.