

- Pharm*, 2013, 39(5): 770-779.
- [ 5 ] 金珊珊, 马晓星, 隋小宇, 等. 穿膜肽修饰葫芦素 B 纳米结构脂质载体的制备及体外评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(4): 253-258; 288.
- [ 6 ] 万 露, 肖云芝, 程 玲, 等. 葫芦素 B 磷脂复合物制备、表征及体外抗肿瘤活性研究[J]. 中草药, 2015, 46(1): 48-54.
- [ 7 ] 魏永鸽, 徐 凯. 青藤碱磷脂复合物的制备、表征及体外透皮研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(8): 1449-1453.
- [ 8 ] 刘蒸生, 郝海军, 马进安. 高乌甲素磷脂复合物及其固体分散体在大鼠体内的药理学[J]. 医药导报, 2018, 37(4): 449-452.
- [ 9 ] 郝海军, 张红芹, 贾幼智, 等. 采用制剂新技术提高中药磷脂复合物的溶出度和生物利用度研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(17): 2474-2479.
- [10] 杨金枝, 孙文霞, 王姣姣, 等. 白杨素固体脂质纳米粒的制备及其药理学行为[J]. 中成药, 2018, 40(1): 76-80.
- [11] 徐 凯, 魏永鸽. 高乌甲素磷脂复合物纳米粒的制备、表征及药理学研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(5): 870-874.
- [12] 袁 菱, 周 蕾, 陈 彦, 等. 雷公藤红素纳米结构脂质载体的制备及其体外透皮研究[J]. 中草药, 2012, 43(8): 1514-1518.
- [13] 崔晓鸽, 曹伶俐, 侯佳威, 等. 白杨素磷脂复合物的制备及其药理学行为[J]. 中成药, 2017, 39(5): 934-939.
- [14] Das S, Chaudhury A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(1): 62-76.
- [15] Iqbal M A, Md S, Sahni J K, et al. Nanostructured lipid carriers system; recent advances in drug delivery [J]. *J Drug Target*, 2012, 20(10): 813-830.
- [16] 郑 娟, 沈成英, 庞建云, 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 纳米结构脂质载体的体外评价及其对 HaCaT 细胞增殖的影响[J]. 中草药, 2016, 47(24): 4340-4344.
- [17] 吴先闯, 郝海军, 张永州, 等. 姜黄素磷脂复合物不同制剂对 SD 大鼠口服生物利用度的影响[J]. 中成药, 2015, 37(10): 2163-2166.
- [18] 邱立朋, 杨 磊, 龙苗苗, 等. 注射用奥沙利铂纳米结构脂质载体冻干制剂的工艺优选[J]. 医药导报, 2012, 31(11): 1471-1473.

## 肉苁蓉高压蒸制工艺的优化

刘博男, 史 辑\*, 贾天柱, 吕彤彤, 李 喆  
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

**摘要:** 目的 优化肉苁蓉高压蒸制工艺。方法 在单因素试验基础上, 以闷润时间、加酒量、蒸制时间、蒸制压力为影响因素, 松果菊苷、毛蕊花糖苷、异类叶升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷含有量的综合评分为评价指标, 正交试验优化高压蒸制工艺。结果 最佳条件为肉苁蓉加 30% 黄酒闷润 4 h 后, 于 0.025 MPa 压力下蒸制 3 h, 松果菊苷、毛蕊花糖苷、异类叶升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷含有量分别为 0.995 5%、0.285 9%、0.907 1%、0.258 1%, 综合评分为 98.45。结论 该方法稳定可行, 易于控制, 可为酒苁蓉饮片的工业化生产提供理论依据。

**关键词:** 肉苁蓉; 高压蒸制工艺; 正交试验

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)11-2576-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.005

## Optimization of high-pressure steaming process for *Cistanches Herba*

LIU Bo-nan, SHI Ji\*, JIA Tian-zhu, LÜ Tong-tong, LI Zhe

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**KEY WORDS:** *Cistanches Herba*; high-pressure steaming process; orthogonal test

收稿日期: 2018-12-18

基金项目: 国家自然科学基金 (81874345)

作者简介: 刘博男 (1994—), 女, 硕士生, 研究方向为中药炮制。Tel: (0411) 85890157, E-mail: 849183015@qq.com

\* 通信作者: 史 辑 (1977—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药炮制。Tel: (0411) 85890146, E-mail: lnshiji@163.com

肉苁蓉为列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 或管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 干燥带鳞叶的肉质茎, 具有补肾阳、益精血、润肠通便的功效<sup>[1-2]</sup>, 主要用于抗疲劳、抗衰老、调节免疫等, 对帕金森病、阿尔茨海默病等神经退行性疾病有显著疗效<sup>[3]</sup>, 主要成分为苯乙醇苷、生物碱等<sup>[4]</sup>。肉苁蓉炮制历史悠久, 最早见于南北朝的《雷公炮炙论》, 之后历代文献记载的炮制方法以酒制为主, 包括酒洗、酒炒、酒蒸焙、酒浸、酒焙干等<sup>[5-6]</sup>, 《中国药典》规定为酒炖和酒蒸, 但两者既耗费时间人力, 又会使有效成分损失严重, 而高压蒸制法由于其操作简便可控, 成为近年来研究热点<sup>[7]</sup>, 但主要影响因素及评价指标缺乏系统考察, 故对其进行优化以确保饮片质量与临床疗效很有必要<sup>[8]</sup>。本实验采用正交试验优化肉苁蓉高压蒸制工艺, 为建立该药材省时高效的炮制方法提供理论依据。

## 1 材料

1.1 仪器 Acquity H-Class UPLC 色谱仪 (美国 Waters 公司); KQ-250DB 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); AE240 电子分析天平 (十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); YXQ-LS-18 S1 不锈钢手提式压力蒸汽灭菌器<sup>[9]</sup>。

1.2 试药 肉苁蓉购自内蒙古王爷地苁蓉有限公司, 经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 干燥带鳞叶的肉质茎。松果菊苷 (批号 MUST-13080801, 含有量 $\geq 98\%$ )、异类叶升麻苷 (批号 MUST-15081001, 含有量 $\geq 99.77\%$ ) 对照品由成都曼斯特生物有限公司提供; 毛蕊花糖苷 (批号 O0618AS, 含有量 $\geq 98\%$ )、2'-乙酰基毛蕊花糖苷 (批号 M0601AS, 含有量 $\geq 98\%$ ) 对照品由美仑生物有限公司提供。甲醇为色谱纯; 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 含有量测定

2.1.1 对照品溶液制备<sup>[2]</sup> 精密称定对照品松果菊苷 4.90 mg、毛蕊花糖苷 4.70 mg、异类叶升麻苷 5.05 mg、2'-乙酰基毛蕊花糖苷 4.85 mg, 置于

5 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 即得。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取不同炮制方法制成的药材粉末 (过 4 号筛) 各 1 g, 置于 100 mL 棕色量瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定质量, 浸泡 30 min 后超声 40 min, 冷却至室温, 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取上清液, 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 即得<sup>[2]</sup>。

2.1.3 色谱条件<sup>[10]</sup> ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm  $\times$  50 mm 1.7  $\mu\text{m}$ ); 体积流量 0.4 mL/min; 流动相甲醇 (A) -0.1% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 3.5 min, 10% ~ 25% A; 3.5 ~ 7.5 min, 25% ~ 35% A; 7.5 ~ 11.5 min, 35% ~ 38% A; 11.5 ~ 12 min, 38% ~ 100% A; 12 ~ 14 min, 100% A); 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。色谱图见图 1。

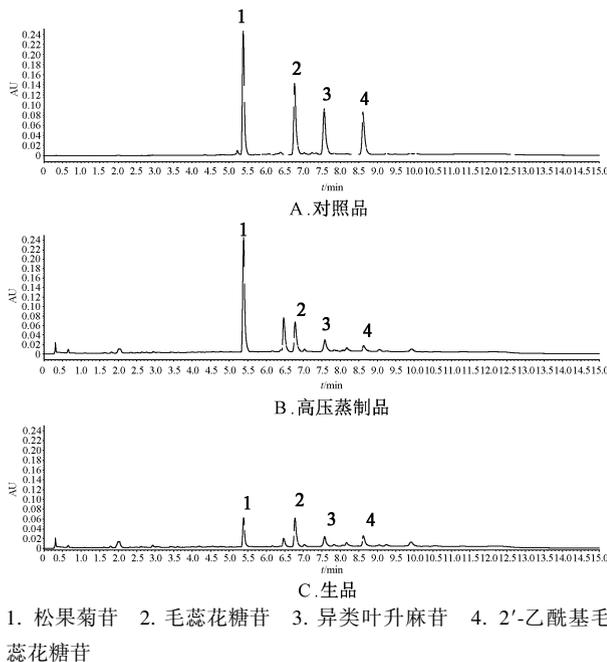


图 1 各成分 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of various constituents

2.1.4 线性关系考察 取对照品溶液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0  $\mu\text{L}$ , 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X) 进行回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
松果菊苷	$Y=3\times 10^6 X-9\ 354.8$	0.999 9	0.019 6~0.392 0
毛蕊花糖苷	$Y=5\times 10^6 X-15\ 330$	1.000 0	0.018 8~0.376 0
异类叶升麻苷	$Y=1\times 10^6 X-4\ 336.1$	1.000 0	0.020 2~0.404 0
2'-乙酰基毛蕊花糖苷	$Y=2\times 10^6 X-4\ 431$	1.000 0	0.019 4~0.388 0

2.1.5 精密度試驗 精密吸取對照品溶液，在“2.1.3”項色譜條件下進樣測定6次，測得松果菊苷、毛蕊花糖苷、異類葉升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷峰面積RSD分別為0.18%、0.20%、0.30%、0.46%，表明儀器精密度良好。

2.1.6 穩定性試驗 精密吸取同一供試品溶液，於0、2、4、6、8、10、12、24 h在“2.1.3”項色譜條件下進樣，測得松果菊苷、毛蕊花糖苷、異類葉升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷峰面積RSD分別為0.15%、0.24%、0.41%、1.42%，表明供試品溶液在24 h內穩定性良好。

2.1.7 重復性試驗 精密稱取同一批藥材6份，每份1 g，按“2.1.2”項下方法製備供試品溶液，在“2.1.3”項色譜條件下進樣，測得松果菊苷、毛蕊花糖苷、異類葉升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷峰面積RSD分別為1.78%、0.83%、1.47%、2.95%，表明該方法重復性良好。

2.1.8 加樣回收率試驗 精密稱取含有量已知的藥材細粉6份，每份1 g，按照1:1比例加入對照品溶液，按“2.1.2”項下方法製備供試品溶液，在“2.1.3”項色譜條件下進樣，計算回收率。結果，松果菊苷、毛蕊花糖苷、異類葉升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷平均加樣回收率分別為100.1%、100.3%、99.9%、99.8%，RSD分別為0.3%、1.2%、0.2%、1.1%。

## 2.2 單因素試驗

2.2.1 评价指标確定 2015年版《中國藥典》中肉苁蓉指標成分為松果菊苷和毛蕊花糖苷，而且炮制後前者含有量約為後者4倍；課題組前期發現，異類葉升麻苷炮制後含有量明顯升高，並且毛蕊花糖苷和2'-乙酰基毛蕊花糖苷有轉換關係。因此，本實驗以綜合評分OD值(Y)為评价指标( $Y = 0.4A/A_{max} + 0.1B/B_{max} + 0.4C/C_{max} + 0.1D/D_{max}$ ，其中A~D分別為松果菊苷、毛蕊花糖苷、異類葉升麻苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷含有量， $A_{max} \sim D_{max}$ 分別為各成分對應的最高含有量)。

2.2.2 悶潤時間 取藥材6份，按1:1比例加黃酒悶潤3、4、5、6、7、8 h，在0.15 MPa壓力下蒸制4 h，取出後70℃下烘乾，重復3次，取平均值，結果見圖2，可知悶潤時間6 h時OD值最高。

2.2.3 加酒量 取藥材5份，按1:0.3、1:0.5、1:0.7、1:0.9、1:1.1比例加黃酒悶潤6 h，在0.15 MPa壓力下蒸制4 h，取出後70℃下烘乾，重復3次，取平均值，結果見圖3，可知加

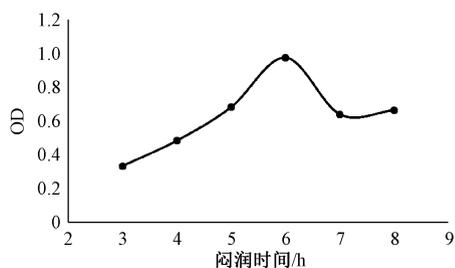


圖2 悶潤時間對OD值的影响

Fig. 2 Effect of moistening time on OD value

酒量1:0.5時OD值最高。

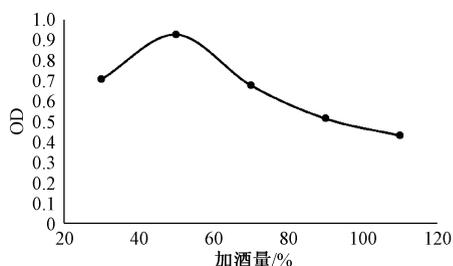


圖3 加酒量對OD值的影响

Fig. 3 Effect of wine addition on OD value

2.2.4 乾燥溫度 取藥材5份，按1:1比例加黃酒悶潤6 h，在0.15 MPa壓力下蒸制4 h，取出後40、50、60、70、80℃下烘乾，重復3次，取平均值，結果見圖4，可知乾燥溫度對OD值無明顯影响。

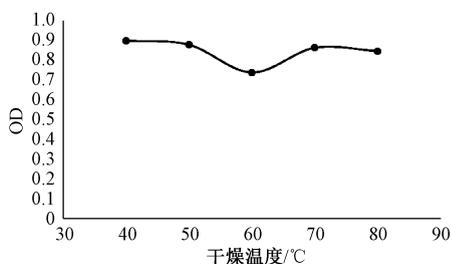


圖4 乾燥溫度對OD值的影响

Fig. 4 Effect of drying temperature on OD value

2.2.5 蒸制時間 取藥材5份，按1:1比例加黃酒悶潤6 h，在0.15 MPa壓力下蒸制2、3、4、5、6 h，取出後70℃下烘乾，重復3次，取平均值，結果見圖5，可知蒸制時間4 h時OD值最高。

2.2.6 蒸制壓力 取藥材3份，按1:1比例加黃酒悶潤6 h，在0.05、0.10、0.15 MPa壓力下蒸制4 h，取出後70℃下烘乾，重復3次，取平均值，結果見圖6，可知蒸制壓力0.05時OD值最高。

2.3 正交試驗 取等量、大小均勻的藥材9份，在單因素試驗基礎上，選擇悶潤時間(A)、加酒量(B)、蒸制時間(C)、蒸制壓力(D)作為影

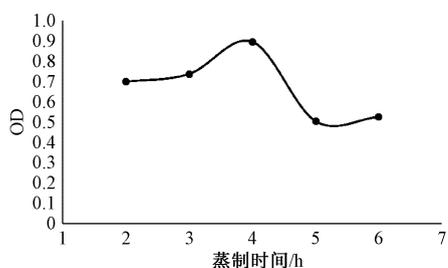


图 5 蒸制时间对 OD 值的影响

Fig. 5 Effect of steaming time on OD value

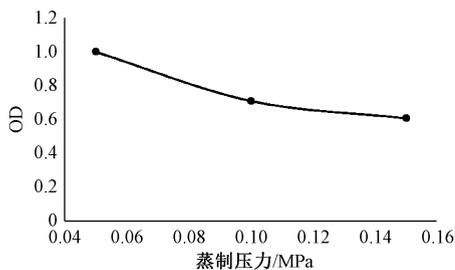


图 6 蒸制压力对 OD 值的影响

Fig. 6 Effect of steaming pressure on OD value

响因素, OD 值作为评价指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交表设计试验, 因素水平见表 2, 结果见表 3, 方差分析见表 4, 可知蒸制压力 (D) 具有显著影响 ( $P < 0.05$ )。由此确定, 最优工艺为  $A_1B_1C_1D_1$ , 即药材加 30% 黄酒闷润 4 h 后, 在 0.025 MPa 压力下蒸制 3 h。

表 2 因素水平

Tab. 2 Factors and levels

试验号	A 闷润时间/ h	B 加酒量/ mL	C 蒸制时间/ h	D 蒸制压力/ MPa
1	4	6	3	0.025
2	4	10	4	0.050
3	4	14	5	0.100
4	6	6	4	0.100
5	6	10	5	0.025
6	6	14	3	0.050
7	8	6	5	0.050
8	8	10	3	0.100
9	8	14	4	0.025

表 3 试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of tests

因素	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	89.55
2	1	2	2	2	49.48
3	1	3	3	3	49.00
4	2	1	2	3	58.60
5	2	2	3	1	64.73
6	2	3	1	2	64.75
7	3	1	3	2	59.90
8	3	2	1	3	69.10
9	3	3	2	1	70.29
1	62.677	69.350	74.467	74.857	—
2	62.693	61.103	59.457	58.043	—
3	66.430	61.347	57.877	58.900	—
极差	3.753	8.247	16.590	16.590	—

表 4 方差分析

Tab. 4 Analysis of variance

因素	离均差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P 值
A	28.050	2	1.000	19.000	>0.05
B	132.120	2	4.710	19.000	>0.05
C	503.025	2	17.933	19.000	>0.05
D	538.037	2	19.181	19.000	<0.05
E(误差)	28.050	2	—	—	—

然后, 取 3 份药材, 每份 30 g, 按优化工艺进行 3 批验证试验。药材打粉后按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.3”项色谱条件下进

样测定, 结果见表 5, 可知工艺稳定可行 (RSD=0.97%)。

表 5 验证试验结果 (n=3)

Tab. 5 Results of verification tests (n=3)

试验号	松果菊苷/%	毛蕊花糖苷/%	异类叶升麻苷/%	2'-乙酰基毛蕊花糖苷/%	综合评分
1	0.978 2	0.288 8	0.903 4	0.257 5	97.69
2	0.984 3	0.279 8	0.912 3	0.260 8	98.13
3	1.024 0	0.289 0	0.905 7	0.255 9	99.52
平均值	0.995 5	0.285 9	0.907 1	0.258 1	98.45

### 3 讨论

肉苁蓉中主要含有苯乙醇苷、生物碱等活性成分,其中前者具有提高机体免疫<sup>[11]</sup>、保护神经元<sup>[12]</sup>、减少自由基生成、抗脂质过氧化作用<sup>[13]</sup>。2015年版《中国药典》中肉苁蓉指标成分分为松果菊苷和毛蕊花糖苷;课题组前期发现,异类叶升麻苷炮制后含有量有所升高,毛蕊花糖苷、2'-乙酰基毛蕊花糖苷有转换关系,故本实验选择这4种成分含有量作为评价指标。

肉苁蓉传统炮制方法耗时耗能,一般闷润8h后常压蒸制15h;本实验优化其高压蒸制工艺,只需加30%黄酒闷润4h后于0.025 MPa压力下蒸制3h即可,大大缩短了工时,并且避免该药材长时间蒸制时有效成分的流失。另外,验证试验结果显示该工艺重复性较好,具有一定的可行性。

### 参考文献:

[1] 范亚楠, 黄玉秋, 贾天柱, 等. 星点设计-效应面法优化肉苁蓉软化切制工艺[J]. 中药材, 2017, 40(3): 656-659.  
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 135-136.  
[3] 安春娜, 张宏宁, 蒲小平. 肉苁蓉的神经药理学研究进展

[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(12): 887-890.  
[4] 李 媛, 宋媛媛, 张洪泉. 肉苁蓉的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(1): 7-11.  
[5] 甄汉深. 肉苁蓉炮制历史沿革的研究[J]. 中药材, 1992, 15(3): 30-33.  
[6] 张 勇, 吴 焕. 肉苁蓉炮制历史的沿革[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(4): 213-214.  
[7] 方 莉, 林 华, 邓广海, 等. 正交试验法优选附子高压蒸制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 20-24.  
[8] 范亚楠, 黄玉秋, 贾天柱, 等. 肉苁蓉炮制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(6): 737-741.  
[9] 邓广海, 林 华. 川乌高压蒸制工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 21-24.  
[10] 王力伟, 曹 瑞, 房永雨, 等. UPLC-QQQMS法测定肉苁蓉中有效成分的含量[J]. 中药材, 2017, 40(2): 295-300.  
[11] 玄国东, 刘春泉. 肉苁蓉苯乙醇苷对D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗衰老作用研究[J]. 中药材, 2008, 31(9): 1385-1388.  
[12] 吴 煜, 许桂林, 楼 敏, 等. 松果菊苷对大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2008, 17(5): 410-412.  
[13] 罗 兰, 王晓雯, 刘凤霞, 等. 肉苁蓉总苷对三氯化铝致小鼠学习记忆障碍的保护作用[J]. 中国新药与临床杂志, 2007, 26(1): 33-36.