

(1): 130-133.

[15] 郭梦鸿, 孙雨琦, 刘 影, 等. Plackett-Burman 联合星点设计优化甜瓜蒂中葫芦素的提取工艺[J]. 中药材, 2015, 37(9): 1937-1941.

[16] 常星洁, 刘汉清, 邹建荣, 等. 响应面法优化女贞子有效成分的提取工艺[J]. 中成药, 2012, 34(5): 839-842.

[17] 钟 葵, 吴继红, 廖小军, 等. 高压脉冲电场对植物乳杆菌的杀菌效果及三种模型的比较分析[J]. 农业工程学报, 2006, 22(11): 238-243.

[18] 董庆利, 郭黎洋, 屠 康, 等. 不同试验条件下生孢梭菌孢子生长预测方程的建立[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2007, 33(2): 162-168.

[19] 王占一, 戴 博, 王玉海, 等. 石榴皮多糖提取过程的动力学分析[J]. 中成药, 2015, 37(5): 971-977.

[20] 赵 鹏, 张丽华. 款冬花多糖提取过程的动力学模型[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(18): 1434-1437.

[21] 郭庆启, 张 娜, 孙 瑶, 等. 超声波辅助提取落叶松树皮多酚的动力学和热力学研究[J]. 北京林业大学学报, 2014, 36(3): 115-120.

[22] 曹 渊, 徐彦芹, 夏之宁, 等. 超声复合酶法提取天冬多糖[J]. 中药材, 2009, 31(4): 622-625.

[23] 杨皓明, 齐 葳, 何志敏, 等. 复合酶法提取丹参中丹参素[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1161-1164.

维生素 E 增加仁术脐贴 3 种成分的热稳定性

王 超¹, 侯伟元², 叶炳皇², 梁土亮¹, 刘 宇¹, 张 军^{1*}
(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510006; 2. 中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528306)

摘要: **目的** 考察仁术脐贴 3 种成分的热稳定化方法。**方法** 提取砂仁、苍术、肉桂、丁香挥发油, 加入羊毛脂中制备贴膏剂。HPLC 法测定苍术素、桂皮醛、丁香酚含有量, 以其保留率为指标, 恒温加速试验比较抗氧化剂维生素 E (VE)、叔丁基对羟基茴香醚 (BHA)、2, 6-二叔丁基对甲酚 (BHT) 对这 3 种成分受热稳定性的保护作用。**结果** 维生素 E 对仁术脐贴中苍术素、桂皮醛、丁香酚的保护作用均优于其他两种抗氧化剂, 其适宜用量为 0.15% ~ 0.30%。**结论** 维生素 E 可增加仁术脐贴的热稳定性。

关键词: 仁术脐贴; 苍术素; 桂皮醛; 丁香酚; 热稳定性; 抗氧化剂; HPLC; 恒温加速试验

中图分类号: R927.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)12-2581-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.12.011

Vitamine E increases the thermal stability of three constituents in Renzhu Umbilical Paste

WANG Chao¹, HOU Wei-yuan², YE Bing-huang², LIANG Tu-liang¹, LIU Yu¹, ZHANG Jun^{1*}
(1. Research and Development Center for New Chinese Drugs, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Huangpu People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528306, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the thermal stabilizing approaches for three constituents in Renzhu Umbilical Paste. **METHODS** The volatile oils extracted from *Amomi Fructus*, *Atractlodis Rhizoma*, *Cinnamomi Cortex* and *Caryophulli Flos*, were added into lanolin for preparing the paste. The contents of atractylodin, cinnamaldehyde and eugenol were determined by HPLC, whose retention rates were taken as indices in the investigation of the protective effects of antioxidants, including vitamine E (VE), butylated hydroxyanisole (BHA) and 2, 6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), on their thermal stability with reference to the constant temperature accelerated test.

收稿日期: 2015-12-28
基金项目: 广东省省部产学研结合项目 (2013B090500119); 2015 年高水平大学建设专项资金 (2050205)
作者简介: 王 超 (1991—), 男, 硕士生, 从事中药新药研究与开发。Tel: (020) 39358519, E-mail: wangchao102408@163.com
* **通信作者:** 张 军 (1971—), 男, 研究员, 博士生导师, 从事中药新药研究与开发。Tel: (020) 39358519, E-mail: zhjxsh@aliyun.com

RESULTS Vitamine E displayed a stronger protective effect on cinnamic aldehyde, eugenol and atractylodis than another two antioxidants at 0.15% – 0.30% suitable dosages. **CONCLUSION** Vitamine E can increase the thermal stability of Renzhu Umbilical Paste.

KEY WORDS: Renzhu Umbilical Paste; cinnamic aldehyde; eugenol; atractylodis; thermal stability; antioxidants; HPLC; constant temperature accelerated test

小儿腹泻是婴幼儿期常见病和多发病,属中医泄泻范畴,按病程分小儿急性腹泻、迁延性腹泻、慢性腹泻^[1],对儿童健康危害极大,是造成小儿营养不良、生长发育障碍及死亡的重要原因之一^[2]。中药敷脐疗法(即脐疗)是祖国医学的瑰宝,在民间广泛流传,它利用脐部局部皮肤的吸收作用和穴位的刺激作用,可避免肝脏的“首过效应”和胃肠道的破坏^[3],使药力直达病所,还可使药性通过皮毛腠理由表入里,循经络传至脏腑,以调节气血阴阳,扶正祛邪,从而治愈泄泻疾病。仁术脐贴是挖掘并优化临床经验组方的中药挥发油有效部位新制剂,主要由砂仁、苍术、肉桂、丁香挥发油组成,对治疗小儿腹泻具有独特的优势。

仁术脐贴中的有效成分苍术素、桂皮醛、丁香酚均有稳定性不佳的报道^[4-6],课题组前期研究结果表明,三者光、热条件下显著降解,故制剂中挥发油的稳定性是成药性关键之一。据报道,β-CD 包合挥发油是常用的制剂稳定化方法^[7-11],但其包合在不同基质中时,对上述指标成分的保护效果有限。由于制剂中加入抗氧化剂的稳定化方法具有较理想的效果,故本实验以仁术脐贴上述 3 种成分的保留率为指标,考察抗氧化剂种类、用量对挥发油稳定性的影响。

1 仪器与材料

1.1 仪器 LC-20A 高效液相色谱仪,配置 UV 检测器、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、Labsolution 色谱工作站(日本岛津公司);AB204-N(万分之一)、CP225D(十万分之一)电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);KQ-400KDE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);挥发油提取器。

1.2 试剂与药品 苍术采自江苏茅山;肉桂、丁香均购自广东和翔制药有限公司(批号分别为 110801、111201、120601);砂仁购自玉林市华济中药饮片有限公司(批号 11070035),以上药材均由广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定为正品。苍术素(批号 111924-201102,含量 >99%)、桂皮醛(批号 110710-201016,含量

>99%)、丁香酚(批号 110725-201112,含量 >99%)对照品均购自中国食品药品检定研究院。丁桂儿脐贴(20 贴,批号 121003,主要成分为丁香、肉桂、荜茇)购自亚宝药业集团股份有限公司。甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 中药处方挥发油 取砂仁、苍术、肉桂、丁香粉末,加入适量水浸泡 30 min,加热回流提取 4 h,挥发油提取器收集挥发油(每 5 min 更换收油管的水或收取挥发油,避免受热降解),密封避光保存,即得。分别精密称取 4 种挥发油 56.0、57.0、48.0、78.0 g,置于 500 mL 棕色量瓶中,超声处理 5 min,摇匀,放冷。

2.1.2 抗氧化剂贴膏 称取羊毛脂 45.0 g(熔点 45~60℃),置于 60℃水浴锅中,水浴至熔融状态,取出,冷却至适宜温度。取“2.1.1”项下挥发油 3 份,每份约 5.0 g,分别加入维生素 E(VE,0.5 mg/mg)0.2 g、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)0.1 g、叔丁基对羟基茴香醚(BHA)0.1 g,与羊毛脂基质混合均匀,放冷。取上述膏剂各 1.5 g,填于空白贴片中,密封,用纯铝袋包装,即得分别含 0.2% 维生素 E、0.2% 2,6-二叔丁基对甲酚、0.2% 叔丁基对羟基茴香醚的贴膏。

2.1.3 不同用量维生素 E 贴膏 称取羊毛脂 45.0 g(熔点 45~60℃),置于 60℃水浴锅中,水浴至熔融状态,取出,冷却至适宜温度。取“2.1.1”项下挥发油 10 份,每份约 5.0 g,加入维生素 E 0.01、0.05、0.10、0.15、0.2、0.3、0.6、1.0、1.5、2.0 g,与羊毛脂基质混合均匀,放冷,取 1.5 g 填于空白贴片中,密封,纯铝袋包装,即得含 0.01%、0.05%、0.10%、0.15%、0.2%、0.3%、0.6%、1.0%、1.5%、2.0% 维生素 E 的贴膏。

2.1.4 空白保护贴膏 取羊毛脂 45.0 g(熔点 45~60℃),置于 60℃水浴锅中,水浴至熔融状态,取出,冷却至适宜温度。取“2.1.1”项下挥

发油约 5.0 g，加入羊毛脂基质中，混合均匀，放冷，取 1.5 g 填于空白贴片中，密封，纯铝袋包装，即得。

2.2 指标成分含有量测定

2.2.1 色谱条件 参考文献 [12]，分析采用 Phenomenex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)；流动相为乙腈(A)-水(B)，梯度洗脱(程序见表 1)；检测波长分别为苍术素 340 nm，桂皮醛、丁香酚 230 nm；柱温室温；体积流量 1.0 mL/min；进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 乙腈/%	B 水/%
0~3	45→60	55→40
3~10	60	40
10~12	60→80	40→20
12~25	80	20
25~30	80→45	20→55
30~35	45	55

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品苍术素 5.32 mg、桂皮醛 11.13 mg、丁香酚 21.16 mg，置于 10 mL 棕色量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，备用。分别精密量取 1.0、2.5、2.5 mL，置于 50 mL 棕色量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即得(含苍术素 0.010 6 mg/mL、桂皮醛 0.056 5 mg/mL、

丁香酚 0.105 8 mg/mL)。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取贴膏 0.25 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声 45 min，放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取混合对照品溶液 2、4、8、10、16、20 μL，在“2.2.1”项色谱条件下分析，以对照品进样量(μg)为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)进行回归。结果，苍术素回归方程 $Y = 12\,006\,352.193\,0X + 247.526\,3$ ($r = 0.999\,9$)，在 0.021 2~0.212 0 μg 范围内呈良好的线性关系；桂皮醛回归方程 $Y = 2\,512\,865.811\,5X + 25\,887.351\,2$ ($r = 0.999\,8$)，在 0.113 0~1.130 0 μg 范围内呈良好的线性关系；丁香酚回归方程 $Y = 2\,060\,431.203\,4X - 17\,805.113\,6$ ($r = 0.999\,8$)，在 0.211 6~2.116 0 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.3 抗氧化剂对挥发油受热稳定性的影响 取“2.1”项下 3 种抗氧化剂贴膏和空白保护贴膏适量，置于密封洁净容器中，40、60 ℃下放置 5 d，于第 0、3、5 d 取样。在“2.2.1”项色谱条件下测定含有量，计算保留率[受热(40、60 ℃)下指标成分含有量/常温(28 ℃)下指标成分含有量×100%]，结果见表 2。

表 2 指标成分保留率测定结果

Tab. 2 Determination results of retention rates of indicative components

样品	受热时间/d	苍术素/%		桂皮醛/%		丁香酚/%	
		40 ℃	60 ℃	40 ℃	60 ℃	40 ℃	60 ℃
空白保护贴膏	0	100	100	100	100	100	100
	3	92.1	70.9	85.8	82.1	92.9	88.2
	5	69.1	71.2	75.1	71.9	73.5	77.1
0.2% 维生素 E 贴膏	0	100	100	100	100	100	100
	3	99.7	88.5	97.4	85.1	98.3	90.5
	5	93.7	84.8	97.5	80.5	94.6	86.4
0.2% 2,6-二叔丁基对甲酚贴膏	0	100	100	100	100	100	100
	3	98.2	78.2	91.7	73.7	95.3	84.5
	5	95.4	66.3	92.6	74.5	92.5	81.6
0.2% 叔丁基对羟基茴香醚贴膏	0	100	100	100	100	100	100
	3	98.0	74.0	94.2	80.0	96.0	84.2
	5	86.3	61.6	92.0	71.5	95.6	76.9

由表可知，与空白保护贴膏比较，在 40 ℃下受热 5 d 的加入 3 种抗氧化剂的贴膏中，苍术素、桂皮醛、丁香酚的保留率均有所提升，而且 0.2% 维生素 E 贴膏略高于其他两种；在 60 ℃下受热 5 d 后，0.2% 维生素 E 贴膏中三者的保留率显著高于其他两种，即其保护效果最佳。

2.4 不同用量维生素 E 对挥发油稳定性的影响

将 0.01%、0.05%、0.10%、0.15%、0.3%、0.6%、1.0%、1.5%、2.0% 维生素 E 贴膏，空白保护贴膏，丁桂儿脐贴置于密封洁净容器中，60 ℃下受热，于第 0、3、5、10 天取样，在“2.2.1”项色谱条件下测定含有量，按“2.3”项下公式计算保留率，结果见表 3~5。

表 3 苍术素保留率测定结果（%）
Tab. 3 Determination results of atractylodin retention rates（%）

受热时间/d	空白保护贴膏	维生素 E 贴膏								
		0.01%	0.05%	0.10%	0.15%	0.3%	0.6%	1.0%	1.5%	2.0%
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	81.5	77.9	86.7	94.7	98.2	98.8	90.8	89.0	98.7	79.0
5	66.5	76.9	81.8	92.4	96.8	99.7	91.7	85.9	91.0	61.0
10	61.5	64.3	67.4	72.0	91.5	95.3	48.7	43.4	67.7	53.0

注：由于丁桂儿脐贴中不含苍术素，故不对其进行测定

表 4 桂皮醛保留率测定结果（%）
Tab. 4 Determination results of cinnamaldehyde retention rates（%）

受热时间/d	空白保护贴膏	维生素 E 贴膏									丁桂儿脐贴
		0.01%	0.05%	0.10%	0.15%	0.3%	0.6%	1.0%	1.5%	2.0%	
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	84.3	83.9	87.7	84.9	87.5	95.3	88.5	87.4	81.3	83.0	67.7
5	70.3	77.1	80.6	78.2	90.8	95.4	84.7	85.5	86.8	74.0	52.8
10	64.1	68.7	71.4	69.1	83.7	87.9	63.9	61.6	68.9	62.0	56.6

表 5 丁香酚保留率测定结果（%）
Tab. 5 Determination results of eugenol retention rates（%）

受热时间/d	空白保护贴膏	维生素 E 贴膏									丁桂儿脐贴
		0.01%	0.05%	0.10%	0.15%	0.3%	0.6%	1.0%	1.5%	2.0%	
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	91.2	82.1	90.5	93.4	96.9	98.1	98.7	98.7	99.4	92.0	85.8
5	71.2	80.7	86.8	92.5	95.1	99.1	97.9	94.7	95.1	91.0	81.7
10	71.3	78.4	83.3	86.5	91.5	93.9	71.0	60.3	80.6	85.0	78.7

由表可知，与空白保护贴膏比较，60 ℃下受热 3、5 d 后维生素 E 贴膏中苍术素、桂皮醛、丁香酚的保留率更高；受热 10 d 后，0.15% ~ 0.3% 维生素 E 贴膏中 3 种成分的保留率最高，并且桂皮醛和丁香酚稳定性显著优于丁桂儿脐贴。

3 讨论和结论

课题组前期发现，随着苍术素、桂皮醛、丁香酚的降解，仁术脐贴的止泻药效呈降低趋势，提示该制剂稳定性会影响其药效。文献报道，维生素 E、2，6-二叔丁基对甲酚等抗氧化剂可增强菜籽油等稳定性^[13-16]。本实验考察了 3 种抗氧化剂对仁术脐贴指标成分受热稳定性的影响，发现维生素 E 对贴膏中指标成分的保护效果显著优于 2，6-二叔丁基对甲酚和叔丁基对羟基茴香醚，而且其适宜用量为 0.15% ~ 0.3%。加速稳定性试验表明，添加 0.15% ~ 0.3% 维生素 E 的贴膏与空白保护贴膏相比，其指标成分保留率亦明显提高，表明该方法具有可行性，可为含苍术、肉桂、丁香等药材的制剂工艺提供参考，后续将进一步考察其在长期稳定性试验中的效果。

参考文献：

[1] 方鹤松. 小儿腹泻病学[M]. 北京：人民卫生出版社，2584

[2] 梁连锦. 小儿腹泻病的治疗进展[J]. 中外医学研究，2011，9(23)：155-158.

[3] 庞风华，曾亚仑，邢国健，等. 经皮给药制剂的应用研究及质量控制[J]. 中国医药导报，2009，6(6)：127-128.

[4] 韩 林，张艳侠. 丁香挥发油 β-环糊精包合物的制备研究[J]. 西北药学杂志，2011，26(6)：447-449.

[5] 赵亚男，朱 姝，刘红燕. 肉桂挥发油 β-环糊精包合的相关研究概况[J]. 山东中医杂志，2015，34(4)：315-318.

[6] 谢晓玲，郭锦禧，叶炳皇，等. 苍术素在不同存在状态下稳定性影响因素研究[J]. 今日药学，2013，23(9)：596-599.

[7] 张生潭，汪铁山，林敬明. 春砂仁挥发油羟丙基-β-环糊精包合物的稳定性及增溶作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(4)：53-56.

[8] 鄢春鹏，索建政，严文利，等. 环糊精包合物的制备及在贴膏中的应用[J]. 北京中医药，2011，30(6)：459-462.

[9] 余 丹，吴小莉，伊 莲. 苍术挥发油 β-环糊精包合物的制备[J]. 时珍国医国药，2009，20(1)：130-131.

[10] 孙红胜，郭兴奎，孙 萍，等. 均匀设计优选肉桂挥发油的 β-环糊精包合工艺研究[J]. 中国中药杂志，2007，32(23)：2568-2570.

[11] 徐天生，刘 莉，梁 艳，等. β-环糊精包合丁香油的工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报，2009，11(9)：162-164.

[12] 张 军，叶炳皇，陈 威，等. HPLC 测定复方挥发油 β-

环糊精包合物中桂皮醛、丁香酚、苍术素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 86-88.

[13] 黄 进, 杨国宇, 李宏基, 等. 抗氧化剂作用机制研究进展[J]. 自然杂志, 2004, 26(2): 74-77.

[14] 汤务霞, 陈明涛, 阙晓莉. 抗氧化剂 BHT 和维生素 E 对菜籽油的抗氧化研究[J]. 中国食品添加剂, 2011(4): 59-62.

[15] 穆筱梅, 钟振声. 维生素 E、维生素 C 和 BHT 对大豆磷脂脂质体的抗氧化作用[J]. 大豆科学, 2006, 25(4): 434-437.

[16] 刘成梅, 冯妹元, 刘 伟, 等. 天然维生素 E 及其抗氧化机理[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(6): 205-207.

表面活性剂-超声协同提取山香圆叶总黄酮工艺的优化

罗开沛, 李小芳*, 林 浩, 罗 佳, 杨 露, 刘海霞
(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137)

摘要: **目的** 优化表面活性剂-超声协同提取山香圆 *Turpinia arguta* Seem. 叶总黄酮工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 以十二烷基硫酸钠 (SDS) 用量、液料比、乙醇体积分数为影响因素, 总黄酮提取率为评价指标, Box-Behnken 设计优化提取工艺。**结果** 最佳条件为十二烷基硫酸钠用量 0.64%, 液料比 25 : 1, 乙醇体积分数 50%, 超声温度 60 ℃, 超声时间 40 min, 总黄酮提取率为 3.48%。**结论** 该方法简单、节能、省时, 可用于山香圆叶总黄酮的提取。**关键词:** 山香圆; 叶; 总黄酮; 表面活性剂-超声协同提取; Box-Behnken 设计
中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)12-2585-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.12.012

Optimization of surfactant assisted ultrasonic extraction for total flavonoids from *Turpinia arguta* leaves

LUO Kai-pei, LI Xiao-fang*, LIN Hao, LUO Jia, YANG Lu, LIU Hai-xia
(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; The Ministry of Education Key Laboratory for Standardization of Chinese Herbal Medicine; Key Laboratory for Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province—State Key Laboratory Breeding Base Co-founded by Province and Ministry, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the surfactant assisted ultrasonic extraction process for total flavonoids from *Turpinia arguta* Seem. leaves. **METHODS** Based on single factor test, sodium dodecyl sulfate (SDS) amount, liquid-solid ratio and ethanol concentration were determined to be the influencing factors, and Box-Behnken design was applied to optimizing the extraction with the extraction rate of total flavonoids as an evaluation tool. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 0.64% for sodium dodecyl sulfate consumption, 25 : 1 for liquid-solid ratio, 50% for ethanol concentration, 60℃ for ultrasonic temperature, and 40 min for ultrasonic time at 3.48% total flavonoids extraction rate. **CONCLUSION** This energy and time saving, and yet simple method can be used for the extraction of total flavonoids from *T. arguta* leaves.
KEY WORDS: *Turpinia arguta* Seem.; leaves; total flavonoids; surfactant assisted ultrasonic extraction; Box-Behnken design

收稿日期: 2016-01-04
基金项目: 四川省教育厅重点项目 (15ZA0094); 四川省科技厅“苗子工程”重点项目 (2016RZ0037)
作者简介: 罗开沛 (1991—), 男, 硕士生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术。Tel: 15351218131, E-mail: luokaipei@126.com
* 通信作者: 李小芳 (1964—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术。Tel: 13808195110, E-mail: lixiaofang918@163.com