



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106153791 A
(43)申请公布日 2016. 11. 23

(21)申请号 201610862327.9

(22)申请日 2016.09.29

(71)申请人 天津中医药大学

地址 300193 天津市南开区鞍山西道玉泉路88号

(72)发明人 张慧杰 任晓亮 王萌 孙立丽
刘亚男 邱喜龙 戚爱棣

(74)专利代理机构 北京远大卓悦知识产权代理
事务所(普通合伙) 11369
代理人 周明飞

(51) Int. Cl.
G01N 30/86(2006.01)

权利要求书2页 说明书16页 附图5页

(54)发明名称

基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方
血脂宁处方的方法

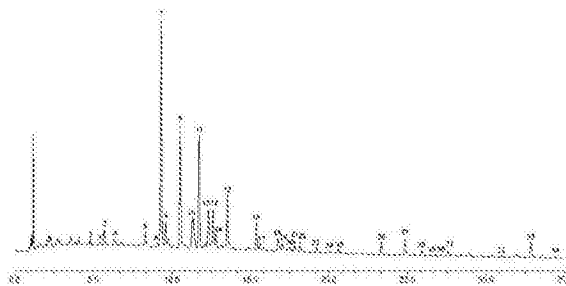
(57)摘要

本发明公开了基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法,包括如下步骤:步骤一、选取多组处方量复方血脂宁,分别制备血脂宁水提取物以及血脂宁β-环糊精提取物;步骤二、分别建立所述血脂宁水提取物以及所述血脂宁β-环糊精提取物的指纹图谱,选取多个共有指纹峰;步骤三、对所述共有峰进行药材归属,通过所述共有指纹峰中的色谱峰面积,

计算相对应的色谱峰峰面积含量 $si = \frac{Xi}{Mi}$;步骤

四、根据所述血脂宁水提取物中共有指纹峰的色谱峰面积以及所述血脂宁β-环糊精提取物中共有指纹峰的峰面积含量,分别计算优化后不同药

小值,从而确定最终优化后复方血脂宁处方中各药材用量。



材中的色谱峰相似度

$$R = \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{xi}{yi}\right)^2}{n}}$$

1. 基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 包括如下步骤:

步骤一、选取多组处方量复方血脂宁, 分别制备血脂宁水提取物以及血脂宁β-环糊精提取物;

步骤二、分别建立所述血脂宁水提取物以及所述血脂宁β-环糊精提取物的指纹图谱, 选取多个共有指纹峰;

步骤三、对所述共有峰进行药材归属, 通过所述共有指纹峰中的色谱峰面积, 计算相对应的色谱峰峰面积含量 $s_i = \frac{X_i}{M_i}$; 式中, X_i 为传统处方下β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰面积, M_i 为传统处方下该色谱峰归属药材的用药质量;

步骤四、根据所述血脂宁水提取物中共有指纹峰的色谱峰面积以及所述血脂宁β-环糊精提取物中共有指纹峰的峰面积含量, 计算色谱峰相似度 $R = \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{x_i}{y_i}\right)^2}{n}}$ 的最小值, 从而

确定最终优化后复方血脂宁处方中各药材用量; 式中, $x_i = m_i \times s_i$, x_i 为优化后处方下β-环糊精提取物所有共有指纹峰中某一成分色谱峰面积, m_i 为优化后该色谱峰归属药材的用药质量, s_i 为该色谱峰的峰面积含量, y_i 为水提取物所述共有指纹峰中与β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰相对应的色谱峰面积, n 为所述共有峰的数量, $\frac{x_i}{y_i}$ 为相似程度。

2. 如权利要求1所述的基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 在所述步骤一中, 所述处方量复方血脂宁按照重量分数由以下组分组成: 决明子3份, 制首乌2份, 荷叶1.5份, 山楂1份。

3. 如权利要求2所述的基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 在所述步骤一中, 所述血脂宁水提取物制备工艺包括: 按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g, 制首乌2g, 荷叶1.5g, 山楂1g, 加入25倍量水, 浸泡1小时, 提取3次, 每次2小时, 提取液过滤后合并, 得到所述血脂宁水提取物。

4. 如权利要求3所述的基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 在所述步骤一中, 所述血脂宁β-环糊精提取物制备工艺包括: 按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g, 制首乌2g, 荷叶1.5g, 山楂1g, 加入占药材量5%β-环糊精, 25倍量水, 浸泡1小时, 提取3次, 每次2小时, 提取液过滤后合并, 得到所述血脂宁β-环糊精提取物。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 所述步骤二中, 选取34个共有指纹峰。

6. 如权利要求5所述的基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法, 其特征在于, 在所述步骤三中, 对所述共有峰进行药材归属包括如下步骤:

步骤a、分别称取处方量阴性决明子复方、阴性制首乌复方、阴性荷叶复方、阴性山楂复方, 并且分别制备水提取物以及β-环糊精提取物;

步骤b、分别建立所述水提取物以及所述 β -环糊精提取物的指纹图谱,其与34个共有指纹峰进行比对;

步骤c、确定27个指纹峰归属于决明子,4个指纹峰归属于制首乌,4个指纹峰归属于荷叶,1个指纹峰归属于山楂。

7.如权利要求6所述的基于指纹图谱技术优化 β -环糊精提取复方血脂宁处方的方法,其特征在于,所述步骤a中还包括阴性决明子和制首乌复方,阴性制首乌和山楂处方。

8.如权利要求7所述的基于指纹图谱技术优化 β -环糊精提取复方血脂宁处方的方法,其特征在于,在所述步骤a中,所述阴性决明子复方按照重量分数由以下组分组成:制首乌2份,荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性荷叶复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,山楂1份;所述阴性山楂复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,荷叶1.5份;所述阴性决明子和制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性制首乌和山楂处方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份。

9.如权利要求8所述的基于指纹图谱技术优化 β -环糊精提取复方血脂宁处方的方法,其特征在于,在所述步骤四中,计算所述色谱峰相似度R最小值,确定最终优化后复方血脂宁处方中决明子将为原处方用量的90.7%,制首乌将为原处方用量的80.7%,荷叶将为原处方用量的80.1%,山楂用量保持不变。

基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及中药提取工艺,具体涉及基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法。

背景技术

[0002] 中药复方血脂宁收载于2010年版《中华人民共和国药典》一部中,由决明子、制首乌、荷叶、山楂四味中药组成,具有活血行气,化瘀降脂之功效,适用于血脉瘀滞所致高脂血症。环糊精(Cyclodextrin,简称CD)及其衍生物是近年来发展较快的新型药用材料,具有生物毒性低、水溶性好的特点。β-环糊精(β-CD)是淀粉经葡萄糖糖基转移酶发酵后得到的α-1,4-葡萄糖苷键连接的环状低聚物,其包含7个吡喃葡萄糖单元。具有内疏水、外亲水的特殊分子结构,能与多种“客体”药物形成包含物,从而可以增加药物的溶解度、稳定性并提高生物利用度。国内学者利用环糊精水溶液对金银花、银杏、广枣、虎杖等药材进行提取,发现环糊精对黄酮类,蒽醌类等成分具有增加提取率、改善溶出速率的作用,提示环糊精对药物分子具有选择包合作用,可提高中药活性成分的提取率。

[0003] 中药指纹图谱技术谱是一种综合的、量化的鉴定手段,通过现代信息技术和质量分析手段能较为全面地反映中药及其制剂中所含化学成分的种类与数量,进而对药品质量进行整体描述和评价。与传统水提工艺相比,β-环糊精提取血脂宁新方法能增加其有效成分的提取率,进而增加药材的利用率,但由于β-环糊精具有分子选择性,对血脂宁中成分具有不同提取效果,而中药成分的比例、含量稳定是保证其疗效的前提,为保证β-环糊精提取血脂宁新方法药品质量及与传统提取方法提取成分比例、含量一致,保证药效和用药安全,需要对基于β-环糊精提取工艺下复方血脂宁的处方进行进一步的优化。

发明内容

[0004] 本发明设计开发了基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法,本发明的发明目的是解决通过使用β-环糊精提取复方血脂宁药材,保证提取成分比例、含量一致情况下减少处方中药材用量,得出优化后处方用量的问题。

[0005] 本发明提供的技术方案为:

[0006] 基于指纹图谱技术优化β-环糊精提取复方血脂宁处方的方法,包括如下步骤:

[0007] 步骤一、选取多组处方量复方血脂宁,分别制备血脂宁水提取物以及血脂宁β-环糊精提取物;

[0008] 步骤二、分别建立所述血脂宁水提取物以及所述血脂宁β-环糊精提取物的指纹图谱,选取多个共有指纹峰;

[0009] 步骤三、对所述共有峰进行药材归属,通过所述共有指纹峰中的色谱峰面积,计算相对应的色谱峰峰面积含量 $s_i = \frac{X_i}{M_i}$;式中, X_i 为传统处方下β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰面积, M_i 为传统处方下该色谱峰归属药材的用药质量;

[0010] 步骤四、根据所述血脂宁水提取物中共有指纹峰的色谱峰面积以及所述血脂宁β-

环糊精提取物中共有指纹峰的峰面积含量,计算色谱峰相似度 $R = \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{x_i}{y_i}\right)^2}{n}}$ 的最小值,

从而确定最终优化后复方血脂宁处方中各药材用量;式中, $x_i = m_i \times s_i$, x_i 为优化后处方下β-环糊精提取物所有共有指纹峰中某一成分色谱峰面积, m_i 为优化后该色谱峰归属药材的用药质量, s_i 为该色谱峰的峰面积含量, y_i 为水提取物所述共有指纹峰中与β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰相对应的色谱峰面积, n 为所述共有峰的数量, $\frac{x_i}{y_i}$ 为相似程度。

[0011] 优选的是,在所述步骤一中,所述处方量复方血脂宁按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,荷叶1.5份,山楂1份。

[0012] 优选的是,在所述步骤一中,所述血脂宁水提取物制备工艺包括:按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g,制首乌2g,荷叶1.5g,山楂1g,加入25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时,提取液过滤后合并,得到所述血脂宁水提取物。

[0013] 优选的是,在所述步骤一中,所述血脂宁β-环糊精提取物制备工艺包括:按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g,制首乌2g,荷叶1.5g,山楂1g,加入占药材量5%β-环糊精,25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时,提取液过滤后合并,得到所述血脂宁β-环糊精提取物。

[0014] 优选的是,所述步骤二中,选取34个共有指纹峰。

[0015] 优选的是,在所述步骤三中,对所述共有峰进行药材归属包括如下步骤:

[0016] 步骤a、分别称取处方量阴性决明子复方、阴性制首乌复方、阴性荷叶复方、阴性山楂复方,并且分别制备水提取物以及β-环糊精提取物;

[0017] 步骤b、分别建立所述水提取物以及所述β-环糊精提取物的指纹图谱,其与34个共有指纹峰进行比对;

[0018] 步骤c、确定27个指纹峰归属于决明子,4个指纹峰归属于制首乌,4个指纹峰归属于荷叶,1个指纹峰归属于山楂。

[0019] 优选的是,所述步骤a中还包括阴性决明子和制首乌复方,阴性制首乌和山楂处方。

[0020] 优选的是,在所述步骤a中,所述阴性决明子复方按照重量分数由以下组分组成:制首乌2份,荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性荷叶复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,山楂1份;所述阴性山楂复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,荷叶1.5份;所述阴性决明子和制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:荷叶1.5份,山楂1份;所述阴性制首乌和山楂处方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份。

[0021] 优选的是,在所述步骤四中,计算所述色谱峰相似度R最小值,确定最终优化后复方血脂宁处方中决明子将为原处方用量的90.7%,制首乌将为原处方用量的80.7%,荷叶将为原处方用量的80.1%,山楂用量保持不变。

[0022] 本发明与现有技术相比较所具有的有益效果:

[0023] 1、 β -环糊精提取样品中34个共有指纹峰(除21号峰)峰面积有不同程度增加,进一步证明了 β -环糊精具有分子选择性,由于二者在提取成分上组成相同,但在提取量上有差异,因此采用改进后的新改良程度相似度,其具有突现样本里的大差异,灵敏地反映成分群中某些成分对既定配比大的偏离,在复方优化中,其对成分群配比波动控制的特性更有利于保证优化后复方的化学成分比例与传统提取样品的一致性,进而保证药效的一致;

[0024] 2、本实验首次采用定量指纹图谱辅助分析手段,对血脂宁复方进行优化研究,经过优化相似度由0.837提高到0.924,与理论计算值0.925基本一致,证明方法的可行性,也为解决类似问题提供了一条新途径,同时优化后复方中决明子、制首乌、荷叶分别降为原复方用量的90.7%,80.7%和80.1%,药材用量的减少对中药资源保护以及降低工业化生产成本具有重要意义。

附图说明

[0025] 图1为本发明所述的复方血脂宁水提取物高效液相色谱图。

[0026] 图2为本发明所述的复方血脂宁 β -环糊精提取物高效液相色谱图。

[0027] 图3为二苯乙烯对照品高效液相色谱图。

[0028] 图4为血脂宁传统水提取样品指纹图谱图。

[0029] 图5为血脂宁 β -环糊精提取样品指纹图谱图。

[0030] 图6为血脂宁共有指纹峰色谱图。

[0031] 图7为阴性决明子复方指纹图谱图。

[0032] 图8为阴性制首乌复方指纹图谱图。

[0033] 图9为阴性荷叶复方指纹图谱图。

[0034] 图10为阴性山楂复方指纹图谱图。

[0035] 图11为阴性决明子和制首乌复方指纹图谱图。

[0036] 图12为阴性制首乌和山楂复方指纹图谱图。

具体实施方式

[0037] 下面结合附图对本发明做进一步的详细说明,以令本领域技术人员参照说明书文字能够据以实施。

[0038] 如图1~12所示,本发明提供了基于指纹图谱技术优化 β -环糊精提取复方血脂宁处方的方法,包括如下步骤:

[0039] 步骤一、选取多组处方量复方血脂宁,分别制备血脂宁水提取物以及血脂宁 β -环糊精提取物;

[0040] 步骤二、分别建立所述血脂宁水提取物以及所述血脂宁 β -环糊精提取物的指纹图谱,选取多个共有指纹峰;

[0041] 步骤三、对所述共有峰进行药材归属,通过所述共有指纹峰中的色谱峰面积,计算相对应的色谱峰峰面积含量 $s_i = \frac{X_i}{M_i}$;式中, X_i 为传统处方下 β -环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰面积, M_i 为传统处方下该色谱峰归属药材的用药质量;

[0042] 步骤四、根据所述血脂宁水提取物中共有指纹峰的色谱峰面积以及所述血脂宁β-

环糊精提取物中共有指纹峰的峰面积含量,计算色谱峰相似度 $R = \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{x_i}{y_i}\right)^2}{n}}$ 的最小值,

从而确定最终优化后复方血脂宁处方中各药材用量;式中, $x_i = m_i \times s_i$, x_i 为优化后处方下β-环糊精提取物所有共有指纹峰中某一成分色谱峰面积, m_i 为优化后该色谱峰归属药材的用药质量, s_i 为该色谱峰的峰面积含量, y_i 为水提取物所述共有指纹峰中与β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰相对应的色谱峰面积, n 为所述共有峰的数量, $\frac{x_i}{y_i}$ 为相似程度。

[0043] 在另一种实施例中,在步骤一中,处方量复方血脂宁按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,荷叶1.5份,山楂1份。

[0044] 在另一种实施例中,在步骤一中,血脂宁水提取物制备工艺包括:按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g,制首乌2g,荷叶1.5g,山楂1g,加入25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时,提取液过滤后合并,得到所述血脂宁水提取物。

[0045] 在另一种实施例中,在步骤一中,血脂宁β-环糊精提取物制备工艺包括:按照处方量复方血脂宁分别称取决明子3g,制首乌2g,荷叶1.5g,山楂1g,加入占药材量5%β-环糊精,25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时。提取液过滤后合并,得到所述血脂宁β-环糊精提取物。

[0046] 在另一种实施例中,在步骤三中,对所述共有峰进行药材归属包括如下步骤:

[0047] 步骤a、分别称取处方量阴性决明子复方、阴性制首乌复方、阴性荷叶复方、阴性山楂复方,并且分别制备水提取物以及β-环糊精提取物;

[0048] 步骤b、分别建立所述水提取物以及所述β-环糊精提取物的指纹图谱,其与34个共有指纹峰进行比对;

[0049] 步骤c、确定27个指纹峰归属于决明子,4个指纹峰归属于制首乌,4个指纹峰归属于荷叶,1个指纹峰归属于山楂。

[0050] 在另一种实施例中,步骤a中还包括阴性决明子和制首乌复方,阴性制首乌和山楂处方。

[0051] 在另一种实施例中,在步骤a中,阴性决明子复方按照重量分数由以下组分组成:制首乌2份,荷叶1.5份,山楂1份;阴性制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份,山楂1份;阴性荷叶复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,山楂1份;阴性山楂复方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,制首乌2份,荷叶1.5份;阴性决明子和制首乌复方按照重量分数由以下组分组成:荷叶1.5份,山楂1份;阴性制首乌和山楂处方按照重量分数由以下组分组成:决明子3份,荷叶1.5份。

[0052] 在另一种实施例中,在步骤四中,计算所述色谱峰相似度R最小值,确定最终优化后复方血脂宁处方中决明子将为原处方用量的90.7%,制首乌将为原处方用量的80.7%,荷叶将为原处方用量的80.1%,山楂用量保持不变。

[0053] 实施例

[0054] 1材料

[0055] 1.1药品

[0056] 决明子(产地:越南)、制首乌(产地:四川)、荷叶(产地:山东)、山楂(产地:承德)。

[0057] 1.2试剂

[0058]

试剂名称	生产公司
甲醇(色谱纯)	美国 sigma 公司
甲酸(色谱纯)	天津市元立化工有限公司
纯净水	杭州娃哈哈集团有限公司
β -CD	孟州市华兴生物化工有限责任公司

[0059] 1.3仪器

[0060]

仪器名称	型号	生产厂家
超高效液相色谱仪	Waters ACQUITY UPLC™ system	美国 Waters 公司
十万分之一天平	Sartorius BT125D	赛多利斯科学仪器有限公司
电子天平	JA31002	上海精天电子仪器有限公司
高速离心机	TG16-WS	湖南湘仪实验室仪器开发有限公司
电热套	KDM	北京永兴精佳仪器有限公司
超声波清洗器	KH3200B	昆山禾创超声仪器有限公司

[0061] 2方法与结果

[0062] 2.1复方血脂宁中药指纹图谱

[0063] 2.1.1色谱条件

[0064] 色谱柱:Acquity UPLC BEH shield RP18(2.1×100mm,1.7 μ m);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱程序见下表;流速:0.2mL/min;柱温:45℃;检测波长:280nm;分析时间:40min;进样量3 μ L;如图1~3所示,为血脂宁高效液相色谱图。

[0065] 表1梯度洗脱表

时间/min	A%	B%
0	10	90
2	25	75
[0066] 9	35	65
12	40	60
40	90	10

[0067] 2.1.2样品溶液制备

[0068] 血脂宁传统水提工艺

[0069] 按照血脂宁复方称取药材(决明子3g;制首乌2g;荷叶1.5g;山楂1g),加入25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时。提取液过滤后合并,即为血脂宁传统水提样品。

[0070] 血脂宁 β -环糊精提取工艺

[0071] 按照血脂宁复方称取药材(决明子3g;制首乌2g;荷叶1.5g;山楂1g),加入占药材量5% β -环糊精,25倍量水,浸泡1小时,提取3次,每次2小时。提取液过滤后合并,即为血脂宁 β -环糊精提取样品。

[0072] 供试品溶液制备精密量取1mL提取样品,置10mL棕色容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,超声30min,10000r \cdot min⁻¹离心10min,上清液经0.22 μ m滤膜过滤,收集续滤液即为供试品溶液。

[0073] 对照品溶液制备

[0074] 取二苯乙烯苷对照品适量,精密称定,置10mL棕色容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。

[0075] 2.1.3血脂宁指纹图谱

[0076] 按血脂宁复方称取药材10份,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样分析,10批传统水提取样品与 β -环糊精提取样品指纹图谱(图4、图5所示)。对比血脂宁传统提取与 β -CD提取样品指纹谱图可知,两种提取方法样品指纹峰数目相同,根据各自10批样品共标定34个共有指纹峰(如图6所示)。

[0077] 2.1.4共有指纹峰归属

[0078] 分别按复方量称取阴性决明子、制首乌、荷叶、山楂复方,按“2.1.2”项下样品制备方法制备各药材阴性药材样品,进样分析,对34个共有指纹峰进行了归属,结果见表2和表3,对阴性样品供试品溶液指纹图谱分析结果见图7~12。

[0079] 表2共有指纹峰归属

[0080]

峰编号	相对保留时间	化合物名称	归属药材
1	0.52	未知	制首乌+山楂
2	0.57	荷叶碱	荷叶
3	0.61	未知	制首乌
4	0.66	未知	决明子
5	0.89	未知	决明子
6	0.97	未知	决明子

[0081]

7	1.00	二苯乙烯苷	制首乌
8	1.03	Torachryson tetraglucoside	决明子
9	1.13	决明子苷 B ₂	决明子
10	1.22	决明子苷 C ₂	决明子
11	1.26	红镰霉素-6-O-β-D-龙胆二糖苷	决明子
12	1.32	决明子苷	决明子
13	1.35	未知	决明子
14	1.37	金丝桃苷	荷叶
15	1.46	未知	荷叶
16	1.65	橙黄决明素-6-O-β-D-葡萄糖苷	决明子
17	1.68	未知	决明子
18	1.80	未知	决明子
19	1.83	未知	决明子
20	1.86	未知	决明子
21	1.88	未知	决明子
22	1.91	决明素苷	决明子
23	2.06	未知	决明子
24	2.16	槲皮素	荷叶
25	2.21	未知	决明子
26	2.50	甲基钝叶决明素	决明子
27	2.67	橙黄决明素	决明子
28	2.78	未知	决明子
29	2.87	钝叶素	决明子
30	2.92	大黄酸	决明子
31	2.96	未知	决明子
32	3.26	大黄酚	决明子
33	3.53	大黄素	决明子+制首乌
34	3.69	大黄素甲醚	决明子

[0082] 注:表内色谱峰名称经前期质谱定性研究确定。

[0083] 表3共有指纹峰各药材归属数量

[0084]

药材名称	色谱峰数量
------	-------

[0085]	决明子	27
	制首乌	4
	荷叶	4
	山楂	1

[0086] 2.2样品测定

[0087] 分别按照血脂宁复方称取药材6份,以传统水提液和 β -环糊精提取液按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样分析,记录34个共有峰面积及平均值,结果如表4、表5所示。

[0088] 表4血脂宁传统水提样品测定结果

[0089]

峰号	峰面积						平均值
	1	2	3	4	5	6	
1	4858	4649	4740	4632	4869	4741	4748
2	1901	1945	1952	1888	1988	1927	1934
3	17879	15381	17783	18493	16600	19179	17553
4	4290	4693	4246	3948	4154	3794	4188
5	12165	12775	12749	13818	13402	12347	12876
6	3198	3653	3375	3085	3756	3299	3394
7(S)	167421	169052	165241	166044	166563	168777	167183
8	21342	20869	20970	20872	21990	21663	21284
9	85641	87911	91914	87916	92574	91707	89611
10	35394	36373	37356	35275	38435	38141	36829
11	83500	81425	78569	82097	85825	85312	82788
12	32622	30828	28984	30923	32372	32506	31373
13	35643	30753	31272	32787	32296	34614	32894
14	11130	10408	10692	9283	11125	9882	10420
15	42222	45413	51381	44650	46172	47966	46301
16	25030	21923	23119	24878	23218	24634	23800
17	6286	6196	6235	6244	6285	5875	6187
18	12871	12283	14033	14495	13726	12003	13235
19	10302	9670	9919	10251	9115	9712	9828
20	5592	4801	5115	5521	4855	5348	5205
21	9048	8710	8634	9027	8846	8786	8842
22	7448	6393	7991	7386	6882	7422	7254
23	4819	3981	4037	4829	4416	4649	4455

[0090]

24	2917	3633	3314	2836	3407	3101	3201
25	3303	2931	2992	3520	2966	3409	3187
26	9787	9907	10378	9594	10293	10470	10072
27	14498	13825	14052	14530	14486	15414	14468
28	4958	4655	4742	4815	4851	5041	4844
29	1817	2081	2013	1836	2161	2056	1994
30	1717	1633	1740	1476	1722	1800	1681
31	4714	4147	4331	4350	4331	4957	4472
32	4987	5254	5229	4327	5096	5485	5063
33	10113	9519	10721	9955	9592	10390	10048
34	1273	1297	1278	1235	1331	1153	1261

[0091] 表5血脂宁 β -环糊精提取样品测定结果

[0092]

峰号	峰面积						平均值
	1	2	3	4	5	6	
1	5854	5086	5041	4671	5384	5225	5210
2	2009	2031	2075	2099	2011	1964	2032
3	25533	21567	19821	21080	22024	21396	21904
4	4820	5483	4817	4643	4550	5034	4891
5	15128	12412	14909	12071	12743	12360	13271
6	4168	3530	3925	3753	3523	3416	3719
7(S)	171855	186130	184234	173818	198319	182117	182746
8	24736	20214	23271	19864	21642	20813	21757
9	102487	90501	104419	90908	98085	89810	96035
10	41322	36715	39254	37663	38115	38425	38582
11	89157	89996	89651	81955	84892	82205	86309
12	34980	34051	33505	32988	34200	36187	34319
13	41422	33661	32448	32596	33993	33907	34671
14	14832	14001	14797	14977	13918	14556	14514
15	57054	56386	59155	54172	55787	48073	55105
16	29987	26566	25531	27845	25509	26193	26939
17	6880	6750	6109	5950	5996	5995	6280
18	15191	15729	16539	14599	15041	15538	15440
19	10650	9724	10774	9719	9733	10192	10132
20	5658	4985	5684	5018	5048	5093	5248
21	8654	8795	9037	9047	8640	8823	8833
22	9895	8241	9514	8295	8323	8550	8803
23	4902	4312	4969	4360	4609	4909	4677
24	3997	4777	3994	3650	4783	3907	4185
[0093]							
25	3265	3272	3367	3467	3248	3223	3307
26	10764	10835	11472	10565	11268	11659	11094
27	15712	15869	15850	15760	16440	16094	15954
28	5479	5177	5229	4967	5418	5147	5236
29	2521	2318	2437	2459	2239	2597	2429
30	2405	1696	1832	1735	1746	2049	1911
31	4661	4908	5356	5252	5383	5512	5179
32	6326	5723	6155	6921	7057	7035	6536
33	13199	13613	13357	14155	13987	13773	13681
34	1418	1364	1494	1733	1531	1632	1529

[0094] 2.3相似度评价

[0095] 实验采用改进后的新改良程度相似度(相似度Q')作为相似度评价方法,新改良程度相似度能突现样本里的大差异,区分与参照样本的总差异相同差异分布不同的样本,灵敏地反映成分群中某些成分对既定配比大的偏离,适用于对成分群配比波动的控制,计算

公式: $Q' = 1 - \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{X_i}{y_i}\right)^2}{n}}$, 式中, X_i 为传统处方下β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的

某一成分色谱峰面积, y_i 为水提取物所述共有指纹峰中与β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰相对应的色谱峰面积, n 为所述共有峰的数量, $\frac{X_i}{y_i}$ 为相似程度。

[0096] 采用新改良程度相似度计算血脂宁传统水提与β-环糊精提取组相似度结果为0.837,表明传统处方下β-环糊精提取血脂宁与传统提取样品存在差异,因此需考虑对血脂宁复方进行优化,以期能最大限度与传统提取组相似,保证药效一致。结果如表6所示。

[0097] 表6血脂宁环糊精组与传统水提组相似度

峰号	传统水提组/ y_i	环糊精组/ X_i	计算公式	相似度(Q)
1	4748	5210	$Q' = 1 - \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{X_i}{y_i}\right)^2}{n}}$	0.837
2	1934	2032		
3	17553	21904		
[0098] 4	4188	4891		
5	12876	13271		
6	3394	3719		
7(S)	167183	182746		
8	21284	21757		

	9	89611	96035
	10	36829	38582
	11	82788	86309
	12	31373	34319
	13	32894	34671
	14	10420	14514
	15	46301	55105
	16	23800	26939
	17	6187	6280
	18	13235	15440
	19	9828	10132
	20	5205	5248
	21	8842	8833
[0099]	22	7254	8803
	23	4455	4677
	24	3201	4185
	25	3187	3307
	26	10072	11094
	27	14468	15954
	28	4844	5236
	29	1994	2429
	30	1681	1911
	31	4472	5179
	32	5063	6536
	33	10048	13681
	34	1261	1529

[0100] 2.4血脂宁复方优化

[0101] 对β-环糊精提取血脂宁复方优化是基于指纹图谱中每种成分高效液相色谱图峰面积含量的线性加和性,如公式所示: $x_i = m_i \times s_i$,式中, x_i 为优化后处方下β-环糊精提取物所有共有指纹峰中某一成分色谱峰面积, m_i 表示优化后该色谱峰归属药材的用药质量, s_i 为该色谱峰的峰面积含量。

[0102] 其中,该色谱峰的峰面积含量公式为 $s_i = \frac{X_i}{M_i}$,式中, X_i 为传统处方下β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰面积, M_i 为传统处方下该色谱峰归属药材的用药质量;以传统水提组血脂宁指纹图谱相应每种成分峰面积为标准,保持β-环糊精提取物峰面积含量不变,新改良程度相似度为评价指标,计算优化血脂宁复方中各味药材用量,从而确

定β-环糊精提取血脂宁的优化复方,其中,
$$Q = 1 - \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{x_i}{y_i}\right)^2}{n}}$$
 式中, y_i 为水提取物所述

共有指纹峰中与β-环糊精提取物所述共有指纹峰中的某一成分色谱峰相对应的色谱峰面积。

[0103] 2.4.1峰面积含量

[0104] β-环糊精提取血脂宁复方中34个共有指纹峰的峰面积含量测定结果见表7所示。

[0105] 表7β-环糊精提取复方血脂宁峰面积含量计算结果

[0106]

峰编号	化合物名称	环糊精组 (S)	归属药材	峰面积含量(S)
1	未知	2709+2501	制首乌+山楂	1355; 2501
2	荷叶碱	2032	荷叶	1355
3	未知	21904	制首乌	10970
4	未知	4891	决明子	1630
5	未知	13271	决明子	4424
6	未知	3719	决明子	1240
7	二苯乙烯苷	182746	制首乌	91373
8	Torachryson tetraglucoside	21757	决明子	7252
9	决明子苷 B ₂	96035	决明子	32012
10	决明子苷 C ₂	38582	决明子	12861
11	红镰霉素-6-O-β-D-龙 胆二糖苷	86309	决明子	28770
12	决明子苷	34319	决明子	11440
13	未知	34671	决明子	11557
14	金丝桃苷	14514	荷叶	9676
15	未知	55105	荷叶	36737
16	橙黄决明素-6-O-β-D- 葡萄糖苷	26939	决明子	8980
17	未知	6280	决明子	2093
18	未知	15440	决明子	5147

[0107]

19	未知	10132	决明子	3377
20	未知	5248	决明子	1749
21	未知	8833	决明子	2944
22	决明素苷	8803	决明子	2934
23	未知	4677	决明子	1559
24	槲皮素	4185	荷叶	2790
25	未知	3307	决明子	1102
26	甲基钝叶决明素	11094	决明子	3698
27	橙黄决明素	15954	决明子	5318
28	未知	5236	决明子	1745
29	钝叶素	2429	决明子	810
30	大黄酸	1911	决明子	637
31	未知	5179	决明子	1726
32	大黄酚	6536	决明子	2179
33	大黄素	5472+8209	决明子+制首乌	1824; 4104
34	大黄素甲醚	1529	决明子	510

[0108] 2.4.2优化复方

[0109] β -环糊精提取血脂宁的复方优化,是以新改良相似度Q作为评价指标,求取相似度

Q最大值,因此可简化为求色谱峰相似度R最小值, $R = \sqrt{\frac{\sum \left(1 - \frac{x_i}{y_i}\right)^2}{n}}$, 根据前期试验结果,

β -环糊精提取复方血脂宁较传统处方提取样品34个成分峰面积有不同程度增加,为使 β -环糊精提取复方血脂宁与传统提取样品成分比例一致,需要减少相应药材使用量,在本实施例中,采用LINGO9.0软件建立数学模型,求解色谱峰相似度R取得最小值(即新改良相似度Q最大值)时相应各味药材减少量,计算结果为决明子、制首乌、荷叶药材减少量分别为0.2801g、0.3859g、0.2988g,山楂药材量维持不变,此时新改良相似度Q为0.925,因此确定 β -环糊精提取的优化复方中决明子、制首乌、荷叶分别降为原复方用量的90.7%,80.7%和80.1%,山楂用量不变。

[0110] 2.5优化复方验证

[0111] 按照优化处方称取3份复方血脂宁,按“2.1.2”项下血脂宁 β -环糊精提取工艺制备样品,分析测定并记录共有指纹峰的峰面积(如表8所示),根据新改良相似度Q,以血脂宁传统水提样品测定结果为标准,计算 β -环糊精提取优化血脂宁复方与传统提取的相似度结果(如表9所示),计算平均程度相似度为0.924,与理论计算值基本一致。

[0112] 表8 β -环糊精提取优化血脂宁复方结果

峰号	优化复方血脂宁峰面积		
	验证 1	验证 2	验证 3
1	4774	4879	4687
2	1621	1600	1646
3	17077	17292	17522
4	4403	4666	4534
5	11987	11536	11853
6	3276	3077	3432
7	150000	148574	149333
8	20427	19717	19876
9	83780	85888	87388
10	34565	35331	34857
11	78434	80324	77377
12	31055	31721	30718
13	31021	31376	31456
[0113] 14	11127	10561	10124
15	44092	45061	43988
16	21567	22082	23567
17	5789	5607	5866
18	13156	13746	13387
19	8964	9825	9145
20	4878	4929	4867
21	7719	7819	7939
22	8049	7768	7894
23	4274	4493	4021
24	3002	3333	3359
25	2974	3032	3021
26	9085	9382	9577
27	14352	14453	14263
28	4559	4832	4678
29	2157	2229	2312
30	1643	1629	1712
31	4676	4665	4732
[0114] 32	5876	5899	6017
33	11007	11531	10511
34	1195	1237	1390

[0115] 表9相似度计算结果

[0116]

名称	验证 1	验证 2	验证 3	平均值
相似度 Q	0.925	0.923	0.925	0.924

[0117] 通过表8、9所示,通过将基于 β -环糊精提取复方血脂宁处方进行优化,在减少药材用量的同时保证了处方的等效性,药材用量的减少对中药资源保护以及降低工业化生产成本具有重要意义。

[0118] 尽管本发明的实施方案已公开如上,但其并不仅仅限于说明书和实施方式中所列运用,它完全可以被适用于各种适合本发明的领域,对于熟悉本领域的人员而言,可容易地实现另外的修改,因此在不背离权利要求及等同范围所限定的一般概念下,本发明并不限于特定的细节和这里示出与描述的图例。

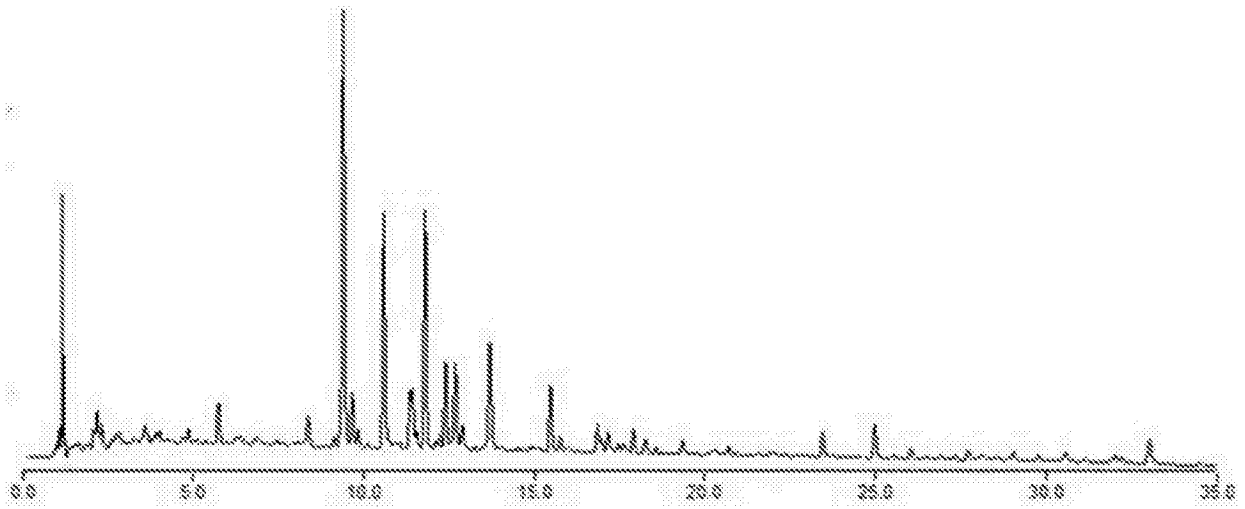


图1

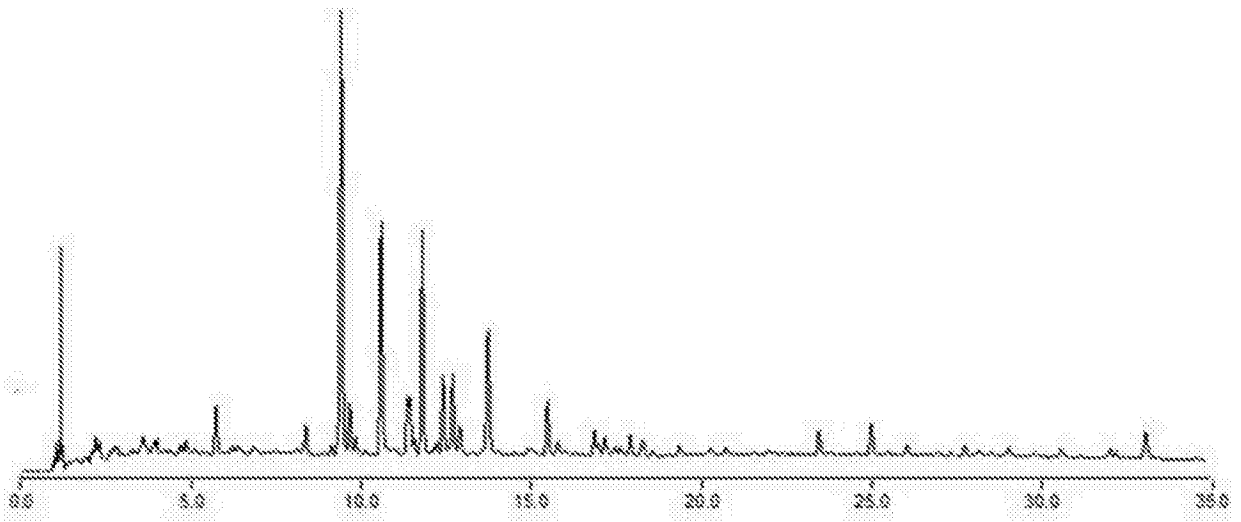


图2

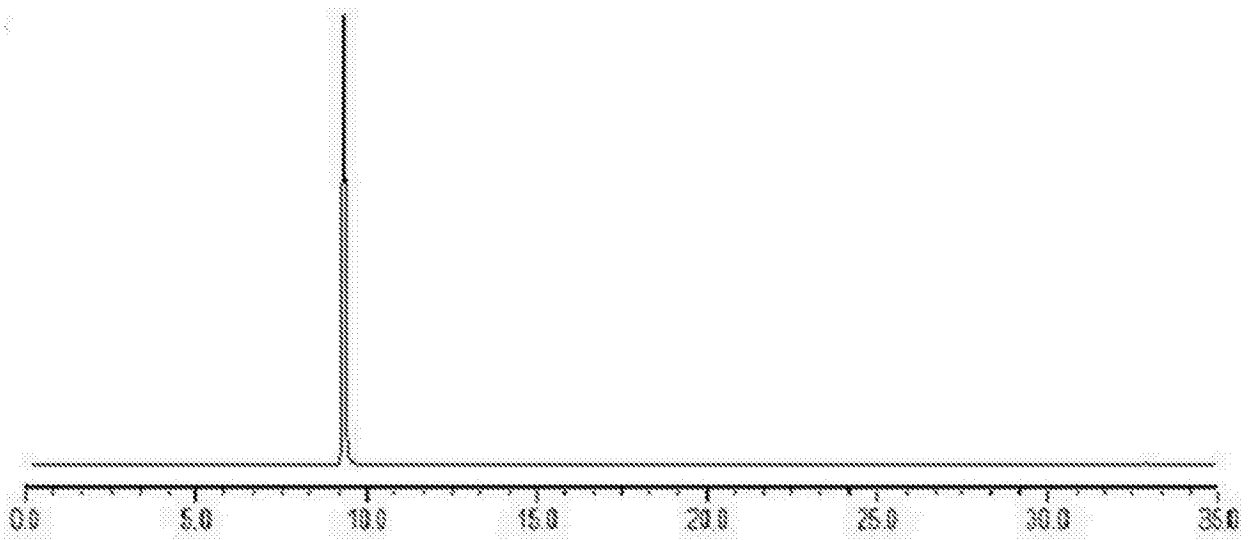


图3

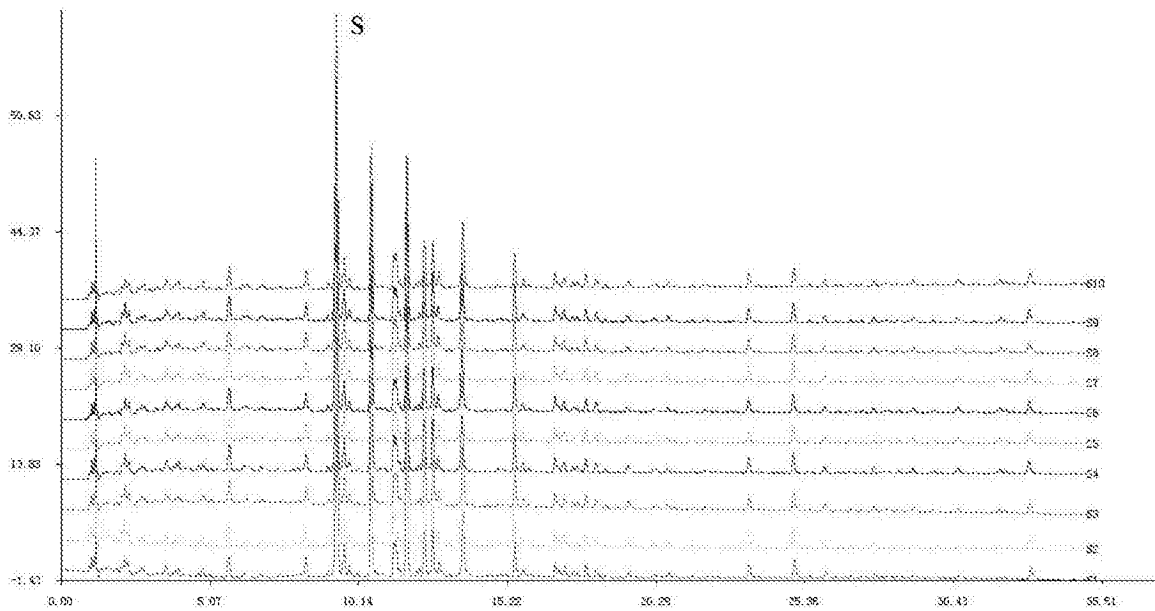


图4

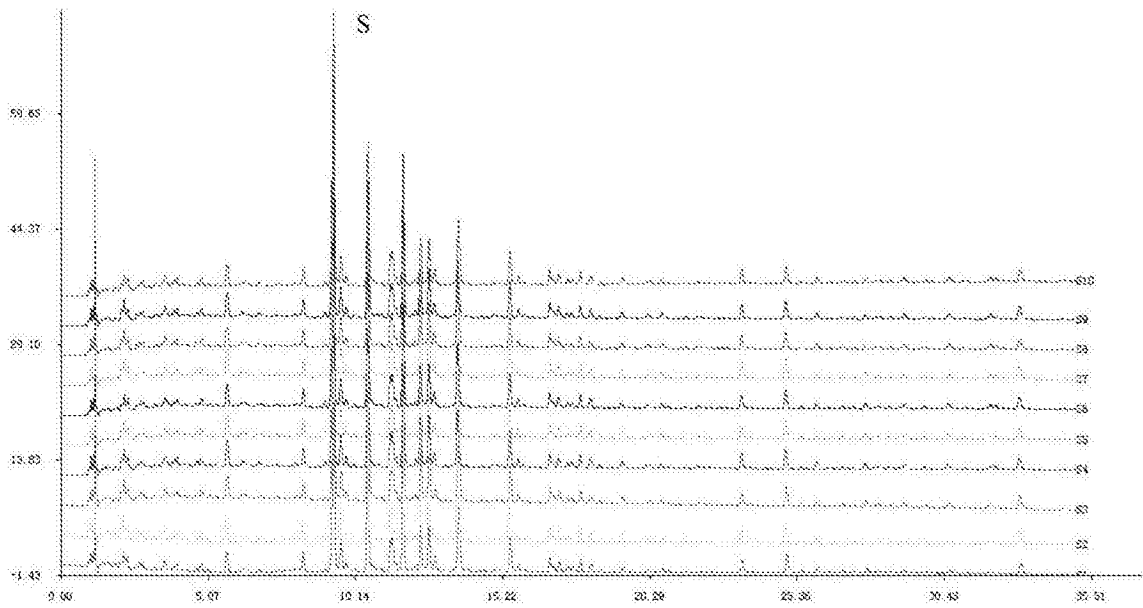


图5

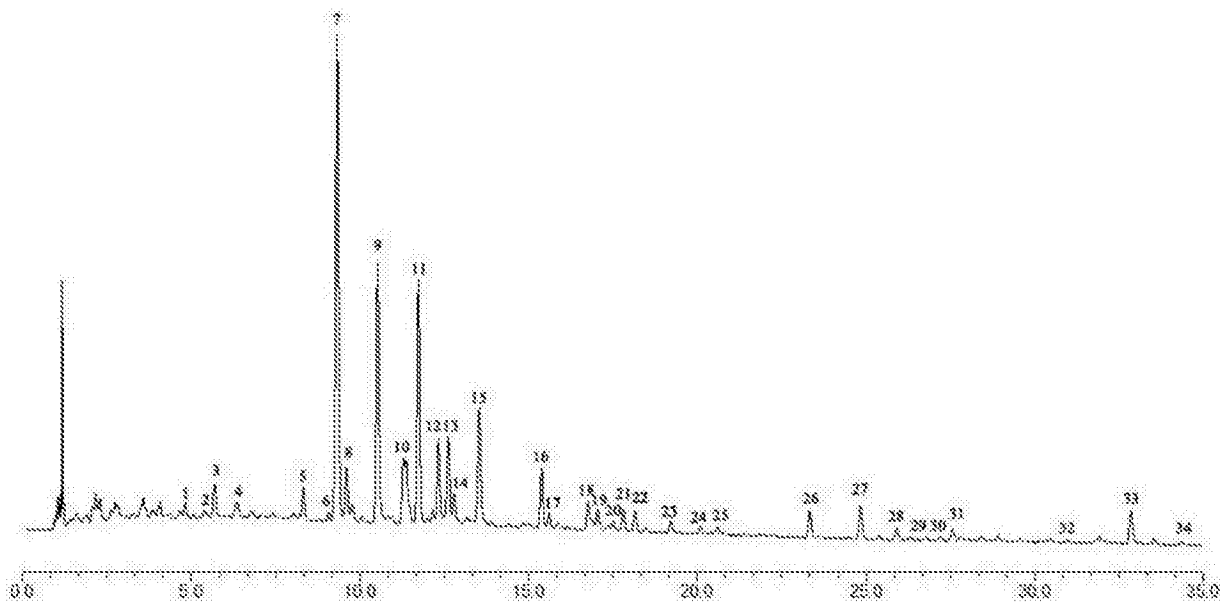


图6

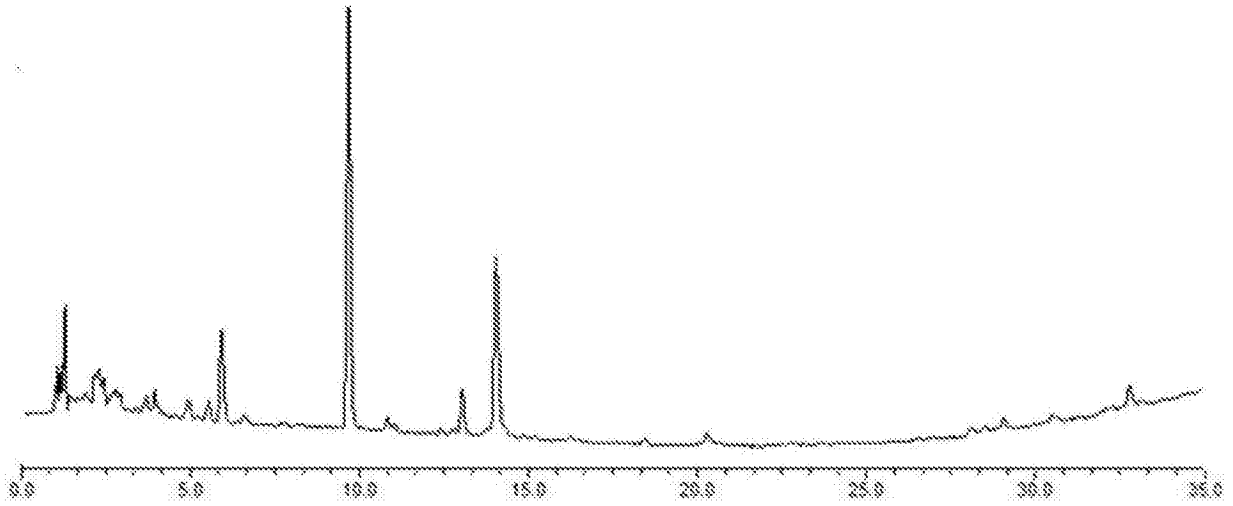


图7

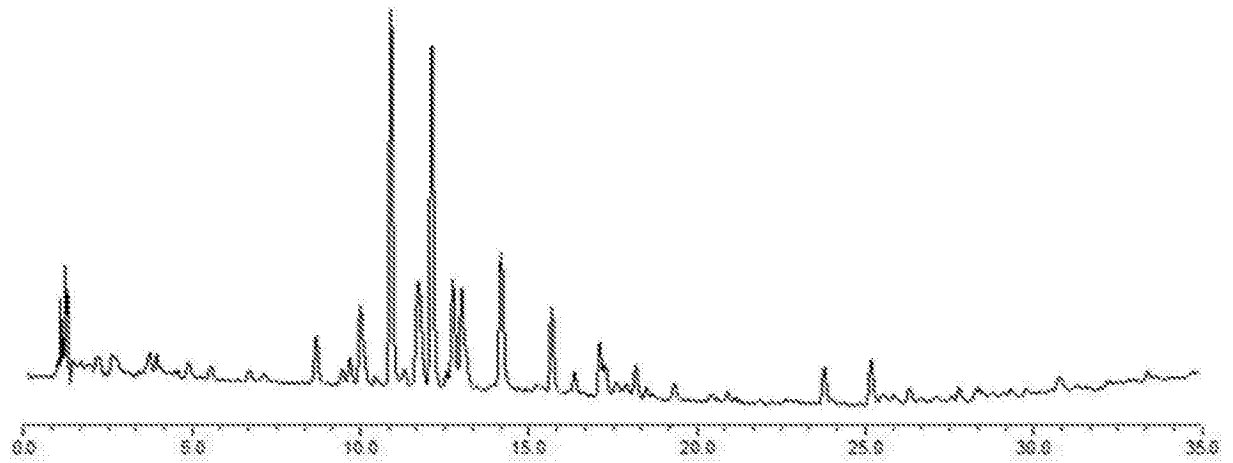


图8

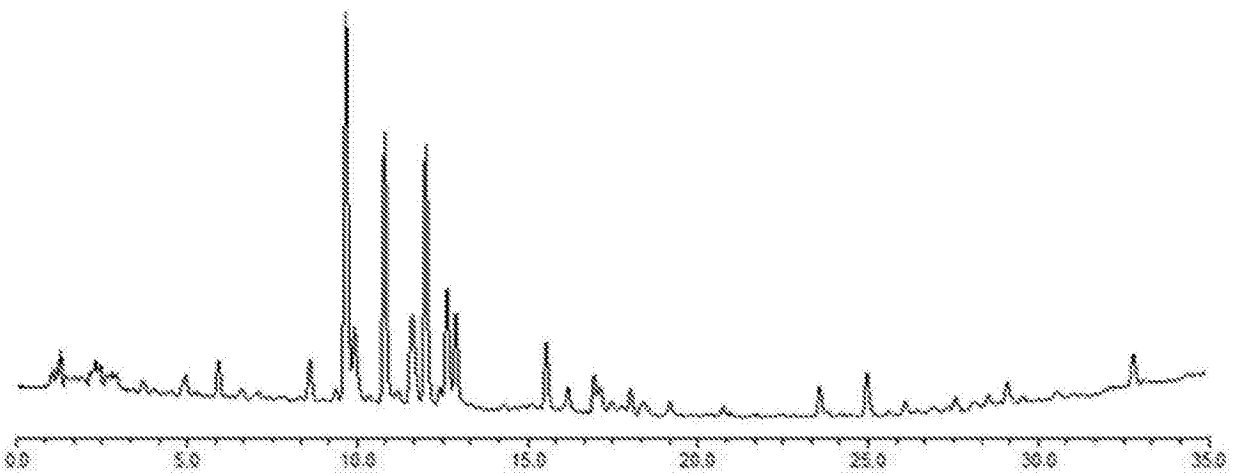


图9

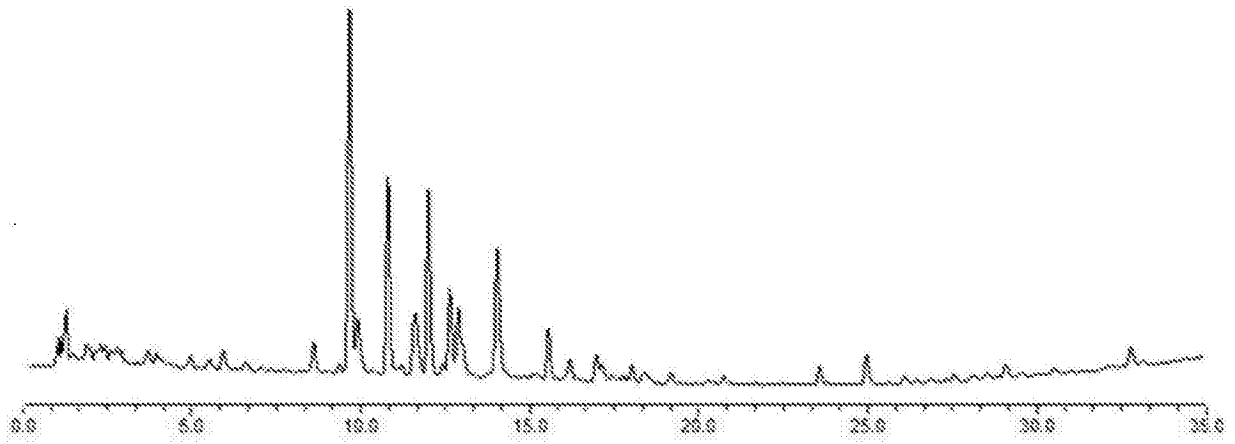


图10

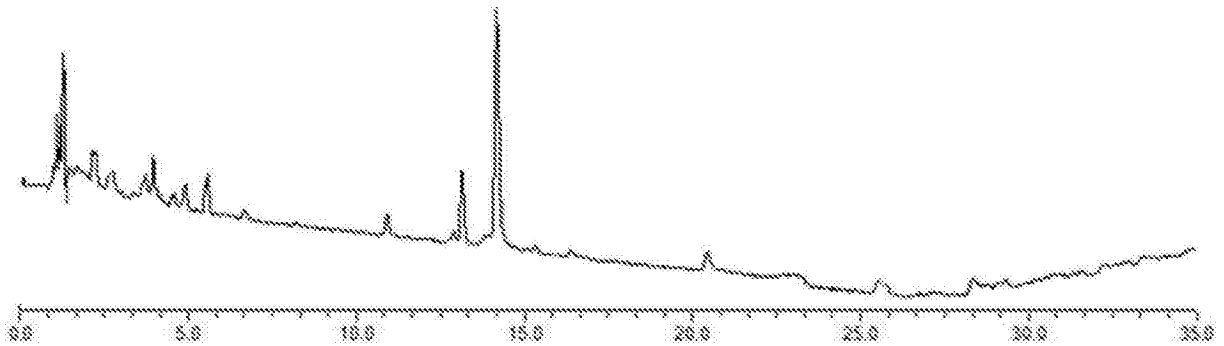


图11

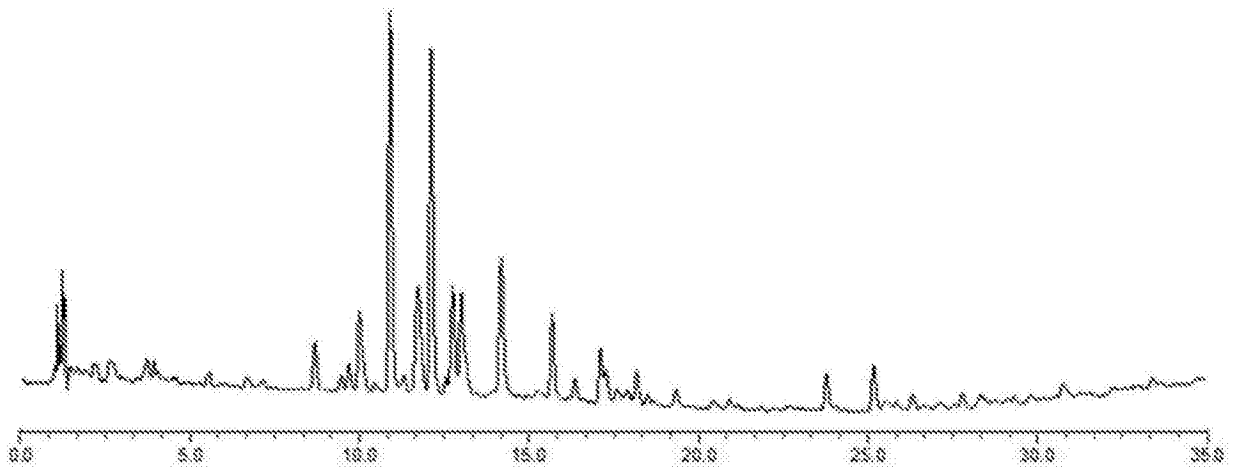


图12