

复方天麻钩藤口腔崩解片的半仿生提取工艺优选

李钦青,郭蕾*,柴金苗,张俊龙
(山西中医学院,太原 030024)

[摘要] 目的:优选复方天麻钩藤口腔崩解片的半仿生提取工艺。方法:以天麻素、钩藤总碱、芍药苷和阿魏酸提取量的综合评分为指标,采用正交试验考察加水量、提取时间、提取温度对提取工艺的影响。采用 HPLC 测定天麻素、芍药苷和阿魏酸含量,流动相分别为乙腈-0.05% 磷酸溶液(3:97),乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),乙腈-0.1% 磷酸溶液(17:83),检测波长分别为 220,230,316 nm,运用 UV 测定钩藤总碱含量。结果:最佳提取工艺为加 12 倍量水于 60 ℃ 提取 2 h;5 倍处方药材中天麻素、钩藤总碱、芍药苷、阿魏酸提出总量分别为 0.479,1.276,4.802,0.061 g。结论:优选的工艺条件稳定可行,适合复方天麻钩藤口腔崩解片的工业化生产。

[关键词] 正交设计;口腔崩解片;半仿生提取法;高效液相色谱法;紫外分光光度法

[中图分类号] R283.6;R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0012-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014080012

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000032.html>

[网络出版时间] 2014-02-07 15:16

Optimization of Semi-bionic Extraction Technology for Compound Tianma Gouteng Orally Disintegrating Tablets

LI Qin-qing, GUO Lei*, CHAI Jin-miao, ZHANG Jun-long
(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize semi-bionic extraction technology of compound Tianma Gouteng orally disintegrating tablets. **Method:** With composite score of gastrodin, rhomotoxine, paeoniflorin and ferulic acid extraction amounts as index, L_9 (3^4) orthogonal test was adopted to investigate effects of the amount of water, extracting time and temperature on semi-bionic extraction technology. HPLC was used to determine contents of gastrodin, paeoniflorin and ferulic acid, mobile phase were acetonitrile-0.05% phosphoric acid (3:97), acetonitrile-0.1% phosphoric acid (14:86) and acetonitrile-0.1% phosphoric acid (17:83), detection wavelength were 220, 230 and 316 nm, respectively; The content of rhomotoxine was determined by UV. **Result:** Optimum extraction technology was as follows: extracted 2 h with 12 times the amount of water at 60 ℃; Total extraction amounts of gastrodin, rhomotoxine, paeoniflorin and ferulic acid in five times the amount of prescriptions medicines were 0.479, 1.276, 4.802 and 0.061 g, respectively. **Conclusion:** This optimized extraction process was stable and feasible, which was suitable for industrial production of compound Tianma Gouteng orally disintegrating tablets.

[Key words] orthogonal design; orally disintegrating tablets; semi-bionic extraction; HPLC; UV

半仿生提取法是模仿口服给药在胃肠道的转运过程,采用选定 pH 的酸性水和碱性水依次提取,将

[收稿日期] 20131129(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873236);太原市科技项目(11014918)

[第一作者] 李钦青,硕士,助教,从事中药药效物质及新药研究,Tel:0351-2272269,E-mail:lqqlqq@126.com

[通讯作者] *郭蕾,博士,教授,从事中医基础理论的研究,Tel:0351-2272664,E-mail:glqzl123@163.com

中药或复方中药效物质最大限度地提取出来,得到“活性混合体”并保持原中药或复方特有功效^[1]的技术。复方天麻钩藤口腔崩解片源自临床经验方,由天麻、钩藤、白芍、当归组成,含有钩藤生物碱等碱性有效成分和阿魏酸等酸性有效成分。前期试验比较了传统水煎煮、70%乙醇回流提取和半仿生温浸提取共3种工艺,确定采用半仿生温浸工艺提取钩藤口腔崩解片为最佳。本实验以天麻素、钩藤总碱、芍药苷、阿魏酸提取量为综合评价指标,通过正交试验优选该制剂的半仿生提取工艺。

1 材料

LC-2010A型高效液相色谱仪(日本岛津公司),UV1100型紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司),PL6001-S,AL204,AB135-S型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),DZKW-D-4型电热恒温水浴锅(上海仪器仪表有限公司)。

天麻、钩藤、白芍等药材山西中医学院附属医院中药房,经本校中药学院鉴定教研室裴香萍副教授鉴定均符合2010年版《中国药典》相关项下要求;天麻素、芍药苷、阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110807-200205,110736-200833,110773-200611),钩藤碱对照品(南昌贝塔生物科技有限公司,批号10172-080114),甲醇、乙腈为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品贮备液的制备 称取处方量药材,按一定条件半仿生温浸提取2次,合并提取液,调节pH至近中性,减压浓缩成相对密度1.10~1.15(60℃)的浸膏,加乙醇使含醇量达70%,静置12h,滤过,滤液减压回收乙醇并调整至总体积1L,即得。

2.2 天麻素的含量测定

2.2.1 色谱条件^[2] Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.05%磷酸溶液(3:97),检测波长220 nm,柱温30℃,流速1 mL·min⁻¹,进样量10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取天麻素对照品11.95 mg,置25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为贮备液;精密量取贮备液5.0 mL置25 mL量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取样品贮备液10 mL,置蒸发皿中水浴浓缩至近干,残渣加乙腈-水(3:97)混合溶液溶解并转移至5 mL量瓶中,加乙腈-水(3:97)混合液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备

液1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL,分别置于25 mL量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,按2.2.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 885\ 321X - 7\ 264.9$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围0.191 2~1.147 2 μg。

2.3 钩藤总碱的含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取钩藤碱对照品6.92 mg置25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,精密量取2 mL置50 mL量瓶中,加甲醇溶解至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 线性关系考察 精密量取对照品溶液1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL,水浴挥干甲醇,残渣加入pH 3.6邻苯二甲酸氢钾-盐酸缓冲液5.0 mL,加入溴甲酚绿酸性染料溶液5.0 mL,摇匀,加入三氯甲烷4 mL,振摇2 min,静置5 min,分出下层,反复萃取3次,合并三氯甲烷萃取液,加入无水硫酸钠0.4 g脱水,转移至25 mL量瓶中,加三氯甲烷至刻度,摇匀;另精密量取水1.0 mL如法操作后作为空白对照,照紫外-可见分光光度法于412 nm处测定吸光度(A),以A为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 0.008\ 9X - 0.002\ 1$ ($r = 0.999\ 1$),线性范围11.072~66.432 μg。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密量取样品贮备液10 mL,水浴挥干,残渣用2%硫酸溶液10 mL使溶解,滤过,用2%硫酸溶液2 mL洗涤残渣和滤纸,加pH 3.6的邻苯二甲酸氢钾-盐酸缓冲溶液5 mL清洗残渣和滤纸,合并滤液和洗涤液,调节pH 3.6并转移至25 mL量瓶中,用pH 3.6邻苯二甲酸氢钾-盐酸缓冲溶液稀释至刻度,即得。

2.4 芍药苷的含量测定

2.4.1 色谱条件^[3] Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(14:86),检测波长230 nm,柱温25℃,流速1 mL·min⁻¹,进样量10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品10.60 mg,置于25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为贮备液;精密量取贮备液2.0 mL置25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4.3 线性关系考察 精密量取对照品贮备液1.0,3.0,5.0,7.0,9.0 mL,分别置于25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,按2.4.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 1.491 \times 10^6 X + 6\ 075.8$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围0.169 2~1.526 4 μg。

2.4.4 供试品溶液的制备 精密量取样品贮备液 2 mL,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,即得。

2.5 阿魏酸的含量测定

2.5.1 色谱条件^[4] Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(17:83),检测波长 316 nm,柱温 35 ℃,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 10.10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为贮备液;精密量取贮备液 3.0 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.5.3 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备液 1.0,3.0,5.0,7.0,9.0 mL,分别置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,按 **2.5.1** 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y=4.054 \times 10^6 X - 1\,689.8 (r=0.999\,9)$,线性范围 0.020 2~0.181 8 μg。

2.5.4 供试品溶液的制备 精密量取样品贮备液 10 mL,置蒸发皿中水浴浓缩至近干,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.6 正交试验优选^[5] 选取加水量、提取时间、提取温度为考察因素,按处方比例称取天麻 30 g,钩藤 60 g,白芍 60 g,当归 24 g,共 9 份,按正交试验安排进行提取,酸水以稀盐酸调节 pH 2.5,碱水以 40% 氢氧化钠调节 pH 8.5,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。以天麻素、钩藤总碱、芍药苷、阿魏酸提取量的综合评分为指标,权重系数均为 0.25,共 40 分,方差分析见表 3。

表 1 复方天麻钩藤口腔崩解片半仿生温浸提取工艺正交试验因素水平			
水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取温度/℃
1	10	1.0	50
2	12	1.5	60
3	14	2.0	70

表 2 复方天麻钩藤口腔崩解片半仿生温浸提取工艺正交试验安排及直观分析									
No.	A	B	C	D(空白)	天麻素/g	钩藤总碱/g	芍药苷/g	阿魏酸/g	综合评分
1	1	1	1	1	0.048	0.153	0.562	6.2	21.53
2	1	2	2	2	0.092	0.243	0.808	11.0	35.96
3	1	3	3	3	0.058	0.190	0.682	12.6	30.31
4	2	1	2	3	0.084	0.233	0.774	11.2	34.54
5	2	2	3	1	0.061	0.212	0.715	10.6	30.30
6	2	3	1	2	0.059	0.201	0.665	9.0	27.83
7	3	1	3	2	0.052	0.182	0.656	7.2	24.89
8	3	2	1	3	0.060	0.208	0.709	8.4	28.17
9	3	3	2	1	0.097	0.262	0.962	12.2	39.68
K ₁	87.81	80.97	77.54	91.52					
K ₂	92.67	94.44	110.19	88.68					
K ₃	92.75	97.82	85.50	93.03					
R	4.94	16.85	32.65	4.35					

表 3 综合评分方差分析					
方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.671	2	1.336	1.65	>0.05
B	26.497	2	13.249	16.32	>0.05
C	96.619	2	48.310	59.51	<0.05
D(误差)	1.623	2	0.812	1.00	

注:F_{0.05}(2,2)=19.0。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 C>B>A。方差分析表明 C 因素具有显著性

差异,故确定最佳提取工艺为 A₂B₃C₂,即加 12 倍量酸水于 60 ℃温浸 2 h,滤过,滤液备用,残渣加 12 倍量碱水于 60 ℃温浸 2 h。按处方比例称取药材共 3 份,每份天麻 150 g,钩藤 300 g,白芍 300 g,当归 120 g,按优选的工艺条件进行提取,结果提出总量分别为天麻素 0.481,0.476,0.480 g,钩藤总碱 1.275,1.287,1.265 g,芍药苷 4.804,4.791,4.811 g,阿魏酸 0.059,0.062,0.061 g,表明优选的工艺稳定可行。

Box-Behnken 响应面法优选川芎超微粉碎工艺

向孙敏¹, 杨安东^{2*}, 朱宁², 逯多³, 郝月莆¹, 秦春风¹

(1. 成都中医药大学, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137; 2. 四川省中医药研究院, 成都 610041; 3. 四川道地药材科技开发有限公司, 成都 610000)

〔摘要〕 目的: 优选川芎的超微粉碎工艺。方法: 选择投料量、含水量、粉碎时间为自变量, 平均粒径为因变量, 通过 Box-Behnken 响应面法优选川芎的超微粉碎工艺, 并考察超微粉碎前后的粉体学性质和吸湿性。结果: 最佳超微粉碎工艺为投料量 1.3 kg, 含水量 4%, 粉碎时间 19 min; 平均粒径 19.187 μm, 与模型预测值 18.357 7 μm 的偏差仅 4.5%。川芎普通粉末和超微粉的休止角分别为 (49.4 ± 0.03), (50.2 ± 0.02)°, 松密度分别为 (0.429 ± 0.003), (0.363 ± 0.005) g·mL⁻¹, 振实密度分别为 (0.609 ± 0.05), (0.556 ± 0.10) g·mL⁻¹, 吸湿平衡时间均约 80 h。结论: 优选的超微粉碎工艺合理可行, 川芎超微粉的制剂过程中需加入助流剂等辅料以改善粉体的流动性, 川芎超微粉碎过程中宜严格控制湿度。

〔关键词〕 川芎; 超微粉碎工艺; Box-Behnken 响应面法; 吸湿曲线; 粉体学性质
〔中图分类号〕 R283.3; R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2014)08-0015-04
〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.2014080015
〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000034.html>
〔网络出版时间〕 2014-02-07 15:17

Optimization of Ultrafine Grinding Technology for Chuanxiong Rhizoma by Box-Behnken Design

XIANG Sun-min¹, YANG An-dong^{2*}, ZHU Ning², LU Duo³, HAO Yue-pu¹, QIN Chun-feng¹

〔收稿日期〕 20131125(015)
〔基金项目〕 国家重大新药创制项目[2011ZX09401-304(5-4)]
〔第一作者〕 向孙敏, 在读硕士, 从事中药新技术、新工艺、新制剂研究, Tel:13708006953, E-mail:553121616@qq.com
〔通讯作者〕 * 杨安东, 研究员, 从事天然产物新产品开发和中药质量标准研究, Tel:028-85255137, E-mail:597523887@qq.com

3 讨论

半仿生提取法是从生物药剂学角度模拟口服给药时药物经过胃肠道消化吸收过程的一种新工艺^[6], 采用选定 pH 的酸性水和碱性水依次连续提取得到含指标成分高的“活性混合物”。前期研究已运用正交试验优选了复方天麻钩藤口腔崩解片的工艺参数, 但由于口腔崩解片需较多的辅料才易于成型, 为保证药效需要对该制剂的精制工艺进一步优化。

〔参考文献〕

[1] 张俊龙, 郭蕾, 李钦青, 等. 半仿生提取法应用的研究进展[J]. 山西中医学院学报, 2013, 14(4): 73.

[2] 蔡梅超, 徐男, 张超, 等. 半夏白术天麻汤方药用半仿生提取法工艺条件优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 21.

[3] 李芳, 张兆旺, 孙秀梅, 等. 均匀设计法优选桂枝茯苓丸方药的半仿生提取工艺条件[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2151.

[4] 阿古拉, 张兆旺, 孙秀梅. 用均匀设计优选慈航软胶囊方药的半仿生提取工艺条件[J]. 中成药, 2006, 28(7): 956.

[5] 彭英, 凯赛尔, 霍仕霞, 等. 均匀设计优选驱白巴布期胶囊半仿生提取法工艺[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(9): 59.

[6] 张瑞亭, 张兆旺, 孙秀梅, 等. 思维方式的转换与中药“半仿生提取法”[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(9): 542.

〔责任编辑 仝燕〕