复方延胡索片中延胡索的醇提工艺优选

王 炜^{1,2}, 陈 平¹, 黄礼杰³, 颜胜利³, 何元田^{3*}

(1. 中国科技开发院医药科技开发所, 广东 深圳 518057; 2. 北京大学药学院生物技术研究室, 北京 100083;
3. 深圳亿胜医药科技发展有限公司, 广东 深圳 518057)

复方延胡索片系根据妇科名老中医经验方研制成的复方制剂, 由延胡索、蒲黄、三棱等 8 味中药组成, 具活血化瘀、破气行滞、消积定痛之功效, 用于治疗妇女原发性痛经。延胡索为方中君药, 所含化学成分主要为生物碱, 如延胡索甲素 (延胡索碱, *d*-cordaline)、乙素 (*dl*-四氢掌叶防己碱, *dl*-tetrahydropalmatine)、丙素 (原阿片碱, *protopine*)、丁素 (*l*-四氢黄连碱, *l*-tetrahydrocoptisine)、戊素 (*dl*-四氢黄连碱) 等, 其中以延胡索乙素作用最强^[1]。药材有效成分在乙醇中有较好的溶解性。为了制定科学的提取工艺, 同时保证成药的质量, 本实验以固形物得率和延胡索乙素浸出量为考察指标, 采用正交试验法对延胡索醇提工艺进行优选^[2]。

1 材料与仪器

延胡索经中国科技开发院医药科技开发所鉴定, 药材购自深圳市药材公司, 产地为浙江。洗净, 加醋与水文火煮至透心, 干燥, 粉碎成粗粉。延胡索乙素对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0726-9906); 甲醇、乙醚等试剂均为分析纯; 乙醇为药用级。

高效液相色谱仪: Waters 1525 泵, Waters 2487 紫外检测器, Waters Breeze (version 3.30) 高级色谱工作站; Shimadzu Libror AEL 40 SM (十万分之一) 天平 (日本岛津); H66025 超声波清洗机 (无锡超声电子设备厂)。

2 方法与结果

2.1 固形物得率的测定: 精密量取提取液适量, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干后, 于 105℃ 干燥 3 h, 移至干燥器中, 冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算, 即得。

2.2 延胡索乙素的测定^[3]

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Symmetry C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸 (用三乙胺调 pH 6.00) (35: 65); 检测波长: 280 nm; 体积

流量: 1 mL/min; 柱温: 25℃。

2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取延胡索乙素对照品 2.57 mg, 置 2 mL 量瓶中, 加少量甲醇超声溶解, 再以甲醇加至刻度, 摇匀, 即得 (含延胡索乙素 1.29 μ g/mL)。

2.2.3 供试品溶液的制备: 精密量取提取液适量, 水浴蒸干, 加 1% 盐酸 15 mL, 超声 30 min 使溶解, 用浓氨水调 pH 值至 10, 加乙醚振荡提取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙醚层, 于 40℃ 水浴回收乙醚, 残渣置 5 mL 量瓶中, 加适量甲醇超声使溶解, 并加至刻度, 即得。

2.2.4 测定方法: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液适量, 注入高效液相色谱仪中, 按上述色谱条件, 以外标法分别测定供试品溶液中延胡索乙素含量, 并按下式计算提取液中延胡索乙素浸出量。

$$\text{延胡索乙素浸出量 (mg)} = \text{延胡索乙素质量浓度 (mg/mL)} \times \text{提取液体积 (mL)}$$

2.3 正交试验确定最佳提取条件

2.3.1 因素水平的确定: 在预试验确定提取两次的基础上, 采用正交试验对延胡索醇提的其他工艺条件的影响因素进行优选。选择乙醇体积分数 (A)、加醇量 (B)、提取时间 (C) 作为考察因素, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素		
	A %	B 倍	C /h
1	60	4, 4	1.0, 0.5
2	70	6, 4	1.5, 1.0
3	80	8, 6	2.0, 1.5

2.3.2 正交试验方法与结果: 取延胡索粗粉 70 g, 按 L₉(3⁴) 正交试验设计安排, 分别加规定体积分数的乙醇回流提取两次, 滤过, 收集提取液, 合并, 浓缩至约 240 mL, 加水定容至 250 mL, 备用。精密量取适量浓缩液, 分别测定固形物得率和延胡索乙素浸

* 收稿日期: 2003-11-12

作者简介: 王 炜 (1972-) 男, 湖南人, 博士研究生, 从事新药研究与开发工作。Tel (010) 82801516 Fax: (010) 82802700

E-mail wangweichina@yahoo.com.cn

出量 结果见表 2, 方差分析见表 3, 4

表 2 L₉(3⁴) 试验设计及结果

Table 2 Design and result of L₉(3⁴) orthogonal test

列号	A	B	C	D(空 白)	固形物 得率 %	延胡索乙素 浸出量 /mg
1	1	1	1	1	10.56	16.93
2	1	2	2	2	15.32	17.23
3	1	3	3	3	15.41	18.55
4	2	1	2	3	10.01	24.98
5	2	2	3	1	12.63	25.90
6	2	3	1	2	13.53	26.68
7	3	1	3	2	9.11	23.60
8	3	2	1	3	11.55	23.30
9	3	3	2	1	11.57	23.95
固体物得率 I	41.29	29.68	35.64	34.76		
II	36.17	39.50	36.90	37.96		
III	32.23	40.51	37.15	36.97		
R	9.06	10.83	1.51	3.20		
SS _j	9.12	13.03	0.25	1.14		
延胡索乙素 浸出量 I	52.71	65.51	66.91	66.78		
II	77.56	66.43	66.16	67.51		
III	70.85	69.18	68.05	66.83		
R	24.85	3.67	1.89	0.73		
SS _j	68.61	1.50	0.40	0.06		

表 3 固形物得率方差分析

Table 3 Variance analysis of solid extracting

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	13.76	2	6.88	12.29	P < 0.05
B	23.86	2	11.93	21.30	P < 0.01
误差 (C+ D)	2.23	4	0.56		

$F_{0.05}(2, 4) = 6.94$ $F_{0.01}(2, 4) = 18.00$

表 4 延胡索乙素浸出量方差分析

Table 4 Variance analysis of tetrahydropalmatine extract

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	110.18	2	55.09	918.17	P < 0.01
B	2.43	2	1.22	20.33	
C	0.61	2	0.31	5.17	P < 0.05
误差 (D)	0.11	2	0.06		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

以固形物得率为评价指标, 乙醇体积分数对其有显著性影响, 加醇量对其有极显著性的影响, 最佳提取工艺为 A₁B₃C₁; 以延胡索乙素总量为评价指标, 乙醇体积分数对其具有极显著的影响, 加醇量对其有显著性的影响, 最佳提取工艺为 A₂B₃C₁。提取固体物的多少与有效成分的浸出并不一定完全呈正比关系, 相反, 乙醇体积分数愈小, 水溶性杂质成分溶出会更多。70% 乙醇提取时延胡索乙素量明显大于 60% 乙醇提取的延胡索乙素量, 而且统计学上差异具有显著性 (P < 0.01), 这也说明 70% 乙醇更利于延胡索中醇溶性成分的浸出, 因此 A₂B₃C₁ 醇提工艺条件应该更具有合理性, 故选用 A₂B₃C₁ 方案对延胡索进行提取

2.4 验证试验: 取延胡索粗粉适量, 按照最佳工艺条件 A₂B₃C₁ 进行试验, 结果固形物得率为 12.65%, 延胡索乙素浸出量达 26.68 mg, 与正交试验中结果一致

3 讨论

由方差分析结果可知, 乙醇体积分数、加醇量对固形物得率和延胡索乙素得率均有显著影响, 而提取时间仅有一定影响。

在最优工艺条件下延胡索乙素的转移率达 88.7%, 提取已比较完全, 且验证试验结果表明该工艺稳定可行, 适合大于生产。

References

[1] Xu T, Jin X L, Cao H M. Advance in research of pharmacological activities of dl-tetrahydropalmatine [J]. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药学杂志), 2001, 10(1): 58-60.
 [2] Chen P, Xing Z R. Comparison of extracting and analysis of total alkaloids from *Rhizoma Corydalis* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 1993, 10(6): 15-16.
 [3] Gong Q, Zhou D. Assay of tetrahydropalmatine in Yanhusuo by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2000, 17(4): 315-317.

HPLC法测定参葛颗粒中葛根素的含量

戎欣玉¹, 邵文亮², 马燕², 胡献菊^{2*}

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北 石家庄 050018; 2. 河北省药物研究所, 河北 石家庄 050061)

参葛颗粒是由人参、葛根、麦冬、茯苓、黄芪、生地等 10 味中药加工而成的中药制剂, 具有生津止

渴、清热除烦、养阴滋肾、益气和中之功效。为了有效控制该制剂的质量, 本实验对其君药葛根中的有效

* 收稿日期: 2004-01-28

作者简介: 戎欣玉 (1962-), 女, 石家庄市人, 副教授, 主要从事教学及药物制剂的研究开发。

Tel (0311) 8632185 E-mail xyrong@hebust.edu.cn