

芍药苷在疏经防痛胶囊水提液和浓缩液中热稳定性考察

唐安玲¹, 郑琰², 宋英^{2*}, 杨红梅¹

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

[摘要] 目的: 考察不同因素对疏经防痛方水提液和浓缩液中芍药苷含量的影响, 通过分析芍药苷的热降解动力学优化工艺条件。方法: 采用 HPLC 测定芍药苷含量, 流动相 0.05% 磷酸二氢钾-乙腈 (85:15), 检测波长 230 nm。考察不同影响因素对疏经防痛胶囊水提液和浓缩液中芍药苷含量的影响。结果: 疏经防痛胶囊制剂工艺过程中加热温度及时间是影响芍药苷含量的主要因素。芍药苷在水提液中热降解反应符合热力学一级反应方程, 热降解速率常数随温度的升高显著增大; 在浓缩液水浴 80 ℃ 中降解反应符合一级反应方程 $\lg C = -0.002t + 1.345$ ($r = 0.9904$), 速率常数 4.606×10^{-3} , 有效期 22.88 h, 半衰期 150.46 h。结论: 疏经防痛胶囊制备工艺过程应避免高温及长时间受热, 在浓缩和干燥工艺中应采用减压浓缩法及真空干燥法以降低芍药苷的降解速率。

[关键词] 疏经防痛胶囊; 芍药苷; 热稳定性; 热降解动力学

[中图分类号] R283.6; R944.5; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0024-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150211.1503.005.html>

[网络出版时间] 2015-02-11 15:03

Thermal Stability of Paeoniflorin in Water Extract and Concentrated Solution of Shujing Fangtong Capsules TANG An-ling¹, ZHENG Yan², SONG Ying^{2*}, YANG Hong-mei¹ (1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China; 2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of different factors on the content of paeoniflorin in water extract and concentrated solution of Shujing Fangtong prescription, to optimize process conditions by analyzing thermal degradation kinetics of paeoniflorin. **Method:** HPLC was employed to determine the content of paeoniflorin with mobile phase of 0.05% potassium dihydrogen phosphate-acetonitrile (85:15) and detection wavelength at 230 nm. Effects of different factors on the content of paeoniflorin in water extract and concentrated solution of Shujing Fangtong capsules. **Result:** Main factors affecting the content of paeoniflorin were heating temperature and time in preparation process of Shujing Fangtong capsules. Thermal degradation reaction of paeoniflorin in water extract accorded with thermodynamic first-order reaction equation, thermal degradation rate constant (K) increased significantly with increasing of temperature; its thermal degradation reaction accorded with thermodynamic first-order reaction equation of $\lg C = -0.002t + 1.345$ ($r = 0.9904$) in concentrated solution at 80 ℃, K was 4.606×10^{-3} , validity was 22.88 h, half-life was 150.46 h. **Conclusion:** High temperature and long time heating should avoid in preparation process of Shujing Fangtong capsules, vacuum concentration method and vacuum drying method should be adopted to reduce degradation rate of paeoniflorin.

[Key words] Shujing Fangtong capsules; paeoniflorin; thermal stability; thermal degradation kinetics

疏经防痛胶囊由白芍、丹参、竹叶柴胡、枳壳、甘草和没药等 8 味中药组成, 该方源于杨家林主任医师经验方——四逆散合活络效灵丹加减化裁而成,

主治肝郁血瘀型痛经。白芍为方中君药, 具有养血调经、柔肝止痛、平抑肝阳等功效, 主要有效成分为芍药苷^[1]。原方以散剂形式应用于临床多年, 疗效

[收稿日期] 20140814(001)

[第一作者] 唐安玲, 在读硕士, 从事中药新药与新剂型研究, Tel:13438021065, E-mail:434391498@qq.com

[通讯作者] * 宋英, 硕士, 主任中药师, 从事中药学研究, Tel:028-87783735, E-mail:zhengde5@163.com

确切。但相关文献指出芍药苷在生产过程中不稳定,受热易破坏^[2-3]。疏经防痛胶囊制备过程中经过了提取、浓缩、干燥等处理,通过稳定性试验研究发现其有效成分——芍药苷化学性质较不稳定,受工艺因素影响较大。前期已运用正交试验优化了提取工艺条件,采用常压浓缩和干燥方法进行前期处理,在小试成品中芍药苷转移率亦能达到要求,但在中试成品中芍药苷转移率却偏低。为了考察其中原因,本实验拟探讨了不同影响因素对疏经防痛胶囊提取液和浓缩液中芍药苷含量的影响^[4-6],为解决该制剂工业化生产中产品的稳定性问题提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国惠普公司),BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),CXP-500A 型高速多功能粉碎机(上海市中晟喜制药机械有限公司)。白芍、丹参等药材均购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学药鉴教研室严铸云教授鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下要求;芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110736-201337,纯度 94.9%),乙腈为色谱纯,水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芍药苷的含量测定^[7-8]

2.1.1 色谱条件 Luna 5u C₁₈ (2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.05% 磷酸二氢钾-乙腈(85:15),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 10 μL,检测波长 230 nm。理论塔板数按芍药苷峰计算 ≥ 2 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品 0.98 mg,置于 10 mL 棕色瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密量取水提液或浓缩液(约相当于白芍药材 50 mg)适量,置 25 mL 具塞量瓶中,加入 50% 乙醇 20 mL,超声提取 30 min,取出,放至室温,用 50% 乙醇定容至刻度,摇匀,滤

过,即得。

2.2 水提液和浓缩液的制备 称取 5 个处方量(每个处方量药材共 1 kg,含白芍药材 200 g),按前期优选的工艺条件进行提取(加 15 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h),合并滤液,一半水提液留作热降解动力学考察,另一半水提液减压浓缩成相对密度 1.04 的浓缩液,按 2.1 项下方法测定,结果药材、水提液及浓缩液中芍药苷质量分数分别为 27.34, 23.47, 22.61 mg·g⁻¹,计算转移率分别为 100.0%, 85.8%, 82.7%。

2.3 水提液受热处理考察 取疏经防痛胶囊水提液 4 L(内含炒白芍 100 g),等分为 10 份,每 2 份为 1 组,共 5 组,密封,分别置于 60, 70, 80, 90, 100 °C 恒温水浴锅中,在相应时间点精密量取 2 mL(约含炒白芍 0.05 g),按 2.1.1 项下色谱条件测定,以芍药苷质量浓度的常用对数为纵坐标,时间为纵坐标,绘制热降解动力学曲线,见表 1, 2。结果表明受热温度和时间是影响芍药苷含量的主要因素,芍药苷在水提液中降解反应符合一级反应方程。随着温度的提高,芍药苷的降解速率常数显著增大;在同一温度下,随着加热时间的增加,芍药苷含量不断降低。因此在制备工艺中应尽量降低加热温度,并缩短加热时间,采用减压浓缩法可明显提高芍药苷含量。

表 1 不同热处理下疏经防痛胶囊水提液中芍药苷含量变化(n=2)
Table 1 Content change of paeoniflorin in water extract of Shujing Fangtong capsules under different heat treatment(n=2)

t/h	芍药苷/mg·g ⁻¹				
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C	100 °C
0	23.55	23.40	23.34	23.37	23.31
4	23.47	23.11	23.16	22.20	20.91
6	23.42	23.00	23.01	21.75	20.14
12	23.34	22.77	22.85	20.95	18.34
16	23.28	22.46	22.31	20.15	17.39
20	23.20	22.29	22.13	19.36	16.58
24	23.09	22.13	21.96	18.92	15.90
36	22.80	21.72	21.30	17.57	14.02
48	22.52	21.34	20.44	16.43	12.24
72	21.87	20.69	19.53	14.81	10.03

表 2 疏经防痛胶囊水提液的热降解动力学分析

Table 2 Thermal degradation kinetics analysis of water extract of Shujing Fangtong capsules

T/°C	回归方程	相关系数	速率常数	有效期(t _{0.9})/h	半衰期(t _{0.5})/h
60	lgC = -0.000 4t + 1.373 2	0.989 9	9.212 × 10 ⁻⁴	114.42	752.28
70	lgC = -0.000 7t + 1.365 3	0.979 0	1.612 × 10 ⁻³	65.38	429.90
80	lgC = -0.001 1t + 1.368 5	0.991 8	2.533 × 10 ⁻³	41.61	273.59
90	lgC = -0.002 7t + 1.352 2	0.975 1	6.218 × 10 ⁻³	16.95	111.45
100	lgC = -0.004 9t + 1.332 0	0.976 5	1.128 × 10 ⁻²	9.34	61.44

2.4 芍药苷在不同浓缩状态下的含量变化

2.4.1 不同溶媒水浴 80 °C 考察 精密吸取 2.2 项下浓缩液,加入不同量乙醇,使乙醇体积分数分别达 0, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 密封,置 80 °C 水浴恒温 48 h,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算芍药苷质量分数分别为 18.37, 18.63, 18.91, 19.19, 19.42, 19.59, 19.48, 18.94, 18.57 mg·g⁻¹。结果表明当加热温度和时间相同的情况下,芍药苷受不同溶媒影响各异,提示在制样过程中可考虑选择稀乙醇为溶媒。芍药苷含有糖苷键和苯甲酸酯键,二者均有可能在溶媒的作用下发生化学反应。芍药苷结构中还存在半缩酮基团,在提取过程中有可能与醇类溶剂发生缩酮反应。芍药苷可能先发生水解反应,当乙醇体积分数达 50% 后发生缩酮反应,故导致芍药苷含量先增加后减少。

2.4.2 不同受热时间水浴 80 °C 考察 取 2.2 项下浓缩液适量,密封,分别于 80 °C 水浴恒温放置不同时间,取出,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算芍药苷质量分数分别为 22.47, 20.62, 19.72, 18.71, 17.85, 16.48, 15.97 mg·g⁻¹。结果表明芍药苷在疏经防痛胶囊浓缩液中降解反应符合一级反应方程 $\lg C = -0.002t + 1.345$ ($r = 0.9904$), 速率常数 4.606×10^{-3} , $t_{0.9}$ 22.88 h, $t_{0.5}$ 150.46 h。与水提液相比,浓缩液中芍药苷的降解速率常数明显增大,芍药苷含量降低更快, $t_{0.9}$ 与 $t_{0.5}$ 明显变短。

2.4.3 不同受热温度水浴 48 h 考察 将 2.2 项下浓缩液密封,分别置于 60, 70, 80, 90, 100 °C 水浴恒温 48 h,取出,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算芍药苷质量分数分别为 20.98, 19.05, 17.74, 15.68, 10.73 mg·g⁻¹。结果表明在受热时间相同而受热温度不同的条件下,温度对芍药苷质量浓度的影响方程为 $C = -0.239T + 35.932$ ($R^2 = 0.9263$), 温度越高,芍药苷含量下降越快。

3 讨论

芍药苷溶于水又溶于乙醇,芍药苷常选择水提和醇提工艺^[10-11],且提取过程中该成分转移率较高。本文选择水为提取溶媒,考察芍药苷在提取浓缩过程中的含量变化情况,符合生产实际。结果发现在提取过程中,芍药苷含量变化较小;而在浓缩过程中芍药苷含量变化较大。且随着受热温度升高及时间延长,样品的颜色加深,100 °C 时颜色变化最明显;90, 100 °C 时随着加热时间的延长,样品会逐渐出现不溶的黑渣,且颜色越深,芍药苷含量越低。

在试验过程中,考察了在不同受热温度及时间

下单味白芍药材水提液和复方水提液中芍药苷含量变化情况,结果变化情况相似,说明高温和长时间受热是影响芍药苷含量下降的主要因素。浓缩液在浓缩成稠膏过程中,影响因素有溶媒、加热温度与时间,结果表明不同溶媒对芍药苷影响不大,导致芍药苷含量下降的因素是受热温度与时间。在碱性环境中芍药苷不稳定^[12],疏经防痛方水提液显弱酸性 (pH 4.69),对芍药苷含量影响不大,故弱酸性环境中芍药苷较稳定。

在疏经防痛胶囊实际生产过程中,浓缩工艺宜采用减压浓缩,且须进行单次浓缩工序放膏,不宜多次加料 1 次放膏,该法可明显降低受热温度和明显减少受热时间。干燥工艺宜采用真空干燥或喷雾干燥等受热时间短的方法。本文干燥工艺中为了减少芍药苷的受热时间,试验设计时将稠膏与部分生药粉拌匀后再干燥。

[参考文献]

- [1] 刘鹰翔,马玉卓. 白芍的化学成分与药理研究进展 [J]. 中草药, 1995, 26(8): 437-440.
- [2] Li S Z, Guo Y J, Xu Y C, et al. The influence of different boiling way on the contents of paeoniflorin [J]. Chin Tradit Pat Med, 1999, 21(3): 115-116.
- [3] 解江纯,刘志东,田慧,等. 芍药苷稳定性研究 [J]. 天津中医药, 2010, 27(4): 344-345.
- [4] 曾宝,黄晓其,易智彪,等. 芍药苷在生产工艺过程中的含量变化和影响因素研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1472-1474.
- [5] 陈剑平,林荣锋,苏子仁,等. 滋肾宁神胶囊中芍药苷在制剂工艺中的热稳定性考察 [J]. 中成药, 2010, 32(5): 767-769.
- [6] 闫兴丽,张建军,李伟,等. 温度对白芍药材、白芍提取物及乾坤清颗粒成品中芍药苷含量稳定性的影响 [J]. 中草药, 2003, 34(2): 131-133.
- [7] 王哲. HPLC 法测定心炎平胶囊中芍药苷的含量 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(2): 306-307.
- [8] 倪立坚,严锦贤,郑笈,等. HPLC 法测定透骨消痛胶囊中芍药苷的含量 [J]. 福建中医药, 2014, 45(1): 50-51.
- [9] 谢晓梅,廖自荣. 芍药中芍药苷提取方法的比较研究 [J]. 中国中医药科技, 2005, 12(2): 98-99.
- [10] 于定荣,顾雪竹,张村,等. 白芍中芍药苷提取工艺的对比研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 49-51.
- [11] 郭年松,徐驰,刘兴华,等. 温度、pH 值和光照对石榴汁花色苷稳定性的影响 [J]. 食品与发酵科技, 2009, 45(5): 29-31.

[责任编辑 刘德文]