

复方钩藤片醇提工艺优选

朱青, 夏新华*, 兰星, 杜帆
(湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 优选复方钩藤片的醇提工艺。方法: 以浸膏得率、钩藤碱为评价指标, HPLC 测定钩藤碱含量, 单因素试验考察乙醇体积分数; 选取加醇量、提取时间及浸泡时间为考察因素, 采用正交试验法优选乙醇提取工艺。结果: 最佳醇提工艺为以 80% 乙醇为溶剂, 浸泡 0.5 h, 加热回流 2 次, 分别加 6, 4 倍量 80% 乙醇提取 2.0, 1.5 h。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 适用于工业大生产。

[关键词] 复方钩藤片; 醇提工艺; 正交试验; 钩藤碱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0059-03

Optimization of Ethanol Extraction Process of Compound Gouteng Tablet

ZHU Qing, XIA Xin-hua*, LAN Xing, DU Fan
(College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ethanol extraction technology of compound Gouteng tablet. **Method:** Ethanol extraction technology were optimized by orthogonal test with yield of extract and rhynchophylline as indexes, with the amount of ethanol, extraction time and soaking time as factors, the content of rhynchophylline was determined by HPLC. The concentration of ethanol was investigated by single factor test. **Result:** Optimum ethanol extraction process was as follows: soaked in 80% ethanol for 0.5 h, reflux extracted 2 times with 6, 4 times the amount of 80% ethanol by 2.0, 1.5 h, respectively. **Conclusion:** Optimum extraction process was stable, feasible, and suitable for industrial production.

[Key words] compound Gouteng tablet; ethanol extraction process; orthogonal test; rhynchophylline

复方钩藤片为本校附属医院的临床经验方, 由钩藤、川芎等中药组成, 具有平肝祛风、活血化痰的功效, 临床用于高血压的治疗有良好疗效。钩藤为该制剂中君药, 具有息风定惊、清热平肝的功效^[1], 其所含生物碱类成分(主要为钩藤碱、异钩藤碱)具有降血压、镇静、抗心律失常、抑制血小板聚集、抗血栓等作用^[2-3]。为充分浸出处方中各药材的有效成分, 更好地发挥该制剂的疗效, 依据方中各药材的主

要活性成分的理化性质和药理作用, 对方中钩藤、川芎等中药采用乙醇提取。本试验以浸膏得率和钩藤碱浸出量为评价指标, 通过对比试验和正交试验系统地考察乙醇体积分数、浸泡时间、加醇量、提取时间及提取次数等对浸出的影响, 为该制剂醇提工艺优选提供实验依据。

1 材料

P1201 型高效液相色谱仪(UV1201 型紫外-可见检测器, EC2006 型色谱数据处理工作站, 伊利特), AY120 型电子分析天平(Shimadzu), 钩藤碱对照品(成都曼思特生物科技有限公司, 批号 A0318), 所用钩藤、川芎等药材饮片均购自于湖南省医药销售有限公司, 经湖南中医药大学药学院刘塔斯教授鉴定, 钩藤为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil 的干燥带钩茎枝, 川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort 的干燥根茎。各味药均符合《中国药典》2010

[收稿日期] 20120210(013)

[基金项目] 湖南省“十二五”中药学重点学科项目(2011ZY0018)

[第一作者] 朱青, 在读硕士, 从事中药新制剂工艺与质量标准的研究, E-mail: zhuqing.1@163.com

[通讯作者] *夏新华, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新制剂、新技术及质量标准的研究, Tel: 0731-88458305, E-mail: xiaxinhua001@163.com

年版一部中要求,甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 浸膏得率的测定 精密量取提取液 25 mL,转移至已恒重的干燥蒸发皿中,水浴蒸至近干,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 钩藤碱的含量测定^[4]

2.2.1 色谱条件 Hypersil GOLD 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.2% 氨水溶液(62:38),检测波长 245 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30℃。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取钩藤碱对照品 10 mg,置于 100 mL 棕色量瓶中,加 60% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 2.0 mL,置于 10 mL 棕色量瓶中,加 60% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备与测定 精密量取醇提取液适量,置于 10 mL 离心管中,精密加入甲醇至 10 mL,摇匀,离心(3 000 r·min⁻¹)20 min,取上清液用 0.45 μm 微孔薄膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。精密吸取对照品与供试品溶液适量,注入高效液相色谱仪,测定峰面积积分值,计算,即得。

2.3 乙醇体积分数的考察 按处方比例分别称取钩藤(含钩藤碱 35.17 μg·g⁻¹)、川芎 36,27 g,共 4 份。分别加入不同体积分数的乙醇浸泡 0.5 h,加热回流提取 2 次,第 1 次加 6 倍量醇提取 1.5 h,第 2 次加 4 倍量醇提取 1.0 h,收集醇提液,定容。取适量,分别测定乙醇提取液中浸膏得率及钩藤碱含量。结果表明,以 80% 乙醇的浸出效果最好(表 1)。

表 1 不同体积分数乙醇对钩藤及川芎浸出的影响

乙醇体积分数 /%	浸膏得率 /%	钩藤碱浸出量 /μg	钩藤碱转移率 /%
50	18.26	732	57.82
60	17.27	799	63.11
70	17.01	783	61.85
80	13.67	890	70.30

2.4 醇提工艺优选 在确定乙醇体积分数的基础上,选择浸泡时间、加醇量和提取时间作为考察因素,以浸膏得率和钩藤碱浸出量为评价指标,选择 L₉(3)⁴ 正交表安排试验,所选因素水平与正交试验设计见表 2,3。依处方比例分别称取钩藤、川芎 36,27 g,共 9 份,分别加入 80% 乙醇浸泡一定时间,回

流提取 2 次,收集醇提液,真空浓缩并定容至 100 mL,摇匀,备用。取醇提液适量,按上述方法分别测定浸膏得率与钩藤碱的含量,结果见表 3。方差分析见表 4,5。

表 2 复方钩藤片醇提工艺正交试验因素水平

水平	A 浸泡时间/h	B 加醇量/倍	C 提取时间/h
1	0	4,2	1.0,0.5
2	0.5	6,4	1.5,1.0
3	1.0	8,6	2.0,1.5

表 3 醇提工艺优选正交试验设计表及结果

No.	A	B	C	D	浸膏得率 /%	钩藤碱 浸出量 /μg	转移率 /%
1	1	1	1	1	9.23	731	57.74
2	1	2	2	2	12.11	792	62.56
3	1	3	3	3	15.77	943	74.49
4	2	1	2	3	12.32	848	66.98
5	2	2	3	1	14.94	997	78.75
6	2	3	1	2	13.30	850	67.14
7	3	1	3	2	14.94	973	76.85
8	3	2	1	3	11.60	851	67.22
9	3	3	2	1	14.13	771	60.90
浸膏得率 K ₁	37.11	36.49	34.13	38.30			
K ₂	40.56	38.65	38.56	40.35			
K ₃	40.67	43.20	45.65	39.69			
R	3.56	6.71	11.52	2.05			
钩藤碱 K ₁	2 466	2 552	2 432	2 499			
浸出量 K ₂	2 695	2 640	2 411	2 615			
K ₃	2 595	2 564	2 913	2 642			
R	229	88	502	143			

表 4 醇提浸膏得率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.732	2	1.366	3.74	
B	7.821	2	3.911	10.71	
C	22.511	2	11.256	30.84	<0.05
D(误差)	0.730	2	0.365		

注: F_{0.05}(2,2) = 19.0(表 5 同)。

表 5 钩藤碱浸出量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F
A	8 786.9	2	4 393.4	3.27
B	1518.2	2	759.1	0.39
C	53 756.2	2	26 878.1	13.97
D(误差)	3 848.2	2	1 924.1	

由以上结果可知,以浸膏得率为评价指标,最佳工艺方案为 $A_3B_3C_3$,各因素影响的主次顺序依次为 $C > B > A$,方差分析结果表明因素 C 有显著性影响,因素 A, B 的影响无显著性意义;以钩藤碱浸出量为评价指标,最佳醇提工艺方案为 $A_2B_2C_3$,各因素影响的主次顺序依次为 $C > A > B$,各因素 C 对钩藤碱浸出量均无显著性影响。故最终确定最佳醇提工艺为 $A_2B_2C_3$,即浸泡 0.5 h,回流提取 2 次,加醇量分别为饮片的 6,4 倍,提取时间分别为 2.0,1.5 h。

2.5 验证试验与提取次数的考察 按上述正交试验优选的工艺条件平行试验 3 次,同时考察增加 1 次提取对浸出的影响。分别称取钩藤、川芎 36,27 g,共 3 份,加 80% 乙醇浸泡 0.5 h,回流提取 3 次,加醇量分别为饮片的 6,4,4 倍,提取时间分别 2.0,1.5,1.5 h,收集提取液,将第 1,2 次提取液合并定容,第 3 次提取液单独定容,备用。精密量取提取液适量,分别按上述方法测定浸膏得率第 1,2 次合并溶液为 $(15.02 \pm 0.07)\%$,第 3 次为 $(1.95 \pm 0.10)\%$;钩藤碱浸出量第 1,2 次合并溶液为 $(986.7 \pm 4.2) \mu\text{g}$,第 3 次为 $(66.7 \pm 2.1) \mu\text{g}$ 。结果表明,第 1,2 次提取的浸膏得率与钩藤碱浸出量的平均值均与正交表中 5 号试验方案的试验结果相近,从而进一步验证了正交试验所确定的最佳工艺条件的可行性。第 3 次提取的浸膏得率与钩藤碱浸出量仅为 3 次提取总量的 11.49% 与 6.33%,从减少能耗和缩短生产时间考虑,选择提取 2 次即可。

3 讨论

钩藤制剂中降压作用的有效成分为钩藤碱和异钩藤碱^[5-6]。预试验中采用 HPLC 同时测定醇提液中的钩藤碱和异钩藤碱,发现川芎等药材饮片中的成分对异钩藤碱的测定存在干扰,故未选择异钩藤碱作为醇提工艺的评价指标。

在中药汤剂中,钩藤一般要求后下^[7],因为钩藤碱和异钩藤碱结构中有酯键,在水中煎提时易分解。目前,对钩藤中生物碱的提取一般采用乙醇提

取^[8],本试验比较体积分数为 50% ~ 80% 的乙醇对钩藤碱浸出的影响,结果表明 80% 乙醇为最佳。对于川芎的提取,文献报道以阿魏酸为评价指标,最佳醇体积分数一般为 80% ~ 85%^[9-12]。故试验选 80% 乙醇为提取溶剂。采用 90% ~ 95% 乙醇作为提取溶剂,不但成本高,且不利于乙醇的回收利用,故未进一步考察体积分数 > 90% 的乙醇。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:240.
- [2] 邓美彩,焦威,董玮玮,等. 钩藤化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2009(21):242.
- [3] 王盟,刘卫. 钩藤总生物碱的研究进展[J]. 实用医药杂志,2008,25(3):360.
- [4] 郭星,曾常青. HPLC 测定不同产地钩藤中异钩藤碱和钩藤碱的含量[J]. 河南中医,2010,30(1):40.
- [5] 黄卓谦,刘建利,王玉英,等. 钩藤煎煮过程中化学成分变化的研究[J]. 西北大学学报,2008,38(5):788.
- [6] 吉崎文彦. 钩藤煎煮的基础研究[J]. 国外医学:中医中药分册,1985,7(5):32.
- [7] 葛尔宁,盛振华,朱飞叶,等. 后下中药饮片有效成分的煎出量及变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):42.
- [8] 申金龙,孙良顺,李峰,等. 钩藤中总生物碱提取工艺研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(1):357.
- [9] 丁原全,万绍晖,许启泰,等. 肝宁颗粒剂中川芎的提取和干燥工艺研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(21):2244.
- [10] 白海波,王剑飞,宋子荣. 川芎提取工艺的优化[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(4):8.
- [11] 谢华通,王卫东,任丽华,等. 复方川归分散片的制备工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(1):5.
- [12] 郑琴,伍振峰,秋玲玲,等. 大川芎方中川芎提取纯化工艺及其镇静镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):6.

[责任编辑 全燕]