

元胡止痛软胶囊中延胡索提取工艺优选

杜茂波, 刘淑芝*, 刘树扬, 葛克亚

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 优化元胡止痛软胶囊中延胡索的提取工艺。方法: 以延胡索乙素含量为指标, HPLC 测定其含量, 选用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 考察乙醇体积分数、加醇倍数、提取次数、提取时间等影响因素。结果: 优选的提取工艺为 6 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 h。3 批验证试验 RSD 2.69%。结论: 优选的提取工艺稳定、可行。

[关键词] 元胡止痛软胶囊; 延胡索乙素; 提取; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0050-03

Optimization of Extraction Process for *Corydalis yanhusuo* from Yuanhu Zhitong Soft Capsule

DU Mao-bo, LIU Shu-zhi*, LIU Shu-yang, GE Ke-ya

(Institute of Chinese Maternal Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of *Corydalis yanhusuo* from Yuanhu Zhitong soft capsule. **Method:** With the content of tetrahydropalmatine as an indicator by HPLC, $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to investigate influencing factors, such as the concentration of ethanol, the amount of ethanol, extraction times, extraction time and so on. **Result:** Optimized extraction technology was: extracted 3 times with 6 times the amount of 70% ethanol, each time 1.5 h. RSD of three batches of validation tests was 2.60%. **Conclusion:** This optimized extraction process of *C. yanhusuo* from Yuanhu Zhitong soft capsule was stable and available.

[Key words] Yuanhu Zhitong soft capsule; tetrahydropalmatine; extraction; high performance liquid chromatography

元胡止痛软胶囊为《中国药典》2010 年版品种, 由延胡索(醋制)、白芷等组成, 具有理气、活血、止痛之功效, 用于气滞血瘀的胃痛、胁痛、头痛及痛经。延胡索为本处方君药, 主产于浙江和江苏, 其块茎含紫堇碱、原阿片碱等多种生物碱, 有镇痛、镇静、催眠作用。制剂有粉剂或醋制流浸膏, 主治心腹腰膝诸痛、月经不调、症瘕等。延胡索中主要成分为喹啉类生物碱^[1], 故选择延胡索乙素为考察指标, 优选元

胡止痛软胶囊中延胡索的提取工艺。

1 材料

2487 型高效液相色谱仪(美国 Waters), 延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110726-201011), 元胡药材购自北京市卫仁中药饮片厂, 经中国中医科学院中药研究所李先端研究员鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-乙腈-15 mmol 十二烷基硫酸钠(SDS)水溶液-三乙胺(24:32:44:0.5), 检测波长 280 nm, 柱温 30 °C, 流速 1 mL·min⁻¹。在上述色谱条件下, 延胡索乙素的

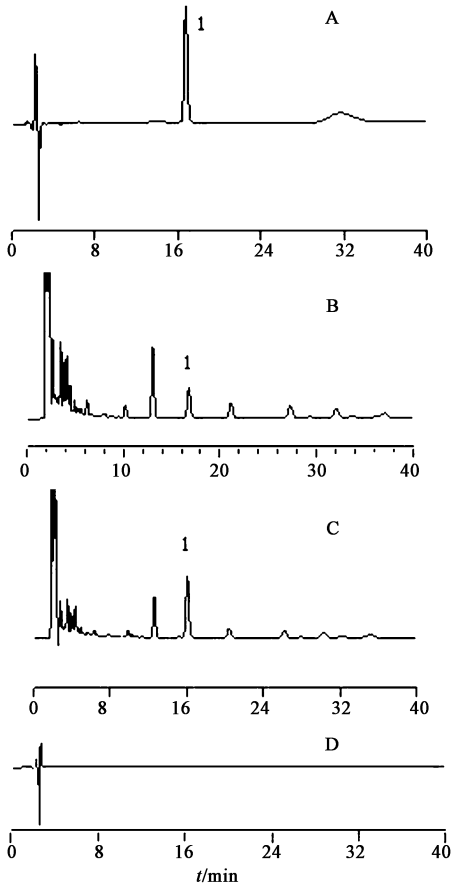
[收稿日期] 20120208(004)

[基金项目] 中国中医科学院中药研究所自主选题项目(ZZ03048)

[第一作者] 杜茂波, 硕士, 从事中药制剂工艺研究, E-mail: dumaobo@icmm.ac.cn

[通讯作者] *刘淑芝, 研究员, 博士生导师, 从事中药制剂研究, Tel: 010-84043227, E-mail: Liushuzhi2004@sina.com

色谱峰均达到基线分离,空白溶液无干扰,见图1。



A. 对照品;B. 样品;C. 混合液;D. 阴性对照;1. 延胡索乙素
图1 元胡止痛软胶囊 HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品适量,用甲醇制成 $62.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的延胡索乙素溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取元胡止痛软胶囊提取物约 0.2 g ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL ,密塞,称定质量,振摇使溶散,超声

(功率 250 W ,频率 40 kHz) 30 min ,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 样品测定 分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$,注入高效液相色谱仪,测定,即得。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系考察 分别精密称取延胡索乙素对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加适量甲醇,超声溶解,放冷,加甲醇定容至刻度,摇匀,制成 $62.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。吸取对照品溶液适量,过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜,分别进样 $1, 2, 5, 10, 15, 20 \mu\text{L}$ 。按 **2.1.1** 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得制标准曲线 $Y = 1 \times 10^6 X - 17534$ ($r = 0.9996$),线性范围 $0.062 \sim 1.240 \mu\text{g}$ 。

2.2.2 精密度试验 日内精密度:将供试品溶液于同日内连续进样 6 次,测定峰面积,经计算,延胡索乙素的 RSD 0.28% ,表明仪器精密度良好。

日间精密度:将供试品溶液于 3 日内每日分别连续进样 3 次,测定峰面积,经计算,延胡索乙素的 RSD 0.32% ,表明仪器精密度良好。

2.2.3 重复性试验 取 6 份供试品溶液,分别进样,测定指标成分含量。经计算,延胡索乙素 RSD 0.22% ,表明方法重复性良好。

2.2.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在样品制备后第 $0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 \text{ h}$ 进样,测定峰面积。得延胡索乙素 RSD 1.40% ,表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.2.5 加样回收率试验 精密吸取已知含量 6 份供试品溶液各 1 mL ,按供试品-对照品 ($1:1$) 比例准确加入对照品溶液,混合均匀,测定成分含量。结果见表1,表明方法的准确度良好。

表1 延胡索乙素加样回收率试验 ($n=6$)

样品含量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.015 3	0.015 5	0.030 8	99.97		
0.015 3	0.015 5	0.030 8	99.70		
0.015 2	0.015 5	0.030 7	100.04	100.05	0.36
0.015 3	0.015 5	0.030 9	100.41		
0.015 3	0.015 5	0.030 9	100.54		
0.015 3	0.015 5	0.030 7	99.67		

2.3 提取工艺正交试验 以延胡索乙素含量为指标,考察乙醇体积分数、加醇倍数、提取次数 3 个因素对元胡止痛软胶囊醇提工艺的影响,选择 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表进行试验,提取时间定为 1 h 。称取

元胡止痛软胶囊药材 9 份,每份延胡索(醋制) 40 g ,白芷 20 g 。进行醇提试验,将每份醇提液回收乙醇至无醇味,水浴浓缩至干,真空干燥,称重,测定其中延胡索乙素含量。因素水平表见表1,试验安排见

表 2、表 3, 方差分析见表 4。

表 2 元胡止痛软胶囊提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 加醇倍数 /倍	C 提取数 /次
1	60	80	1
2	70	70	2
3	80	60	3

表 3 元胡止痛软胶囊提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	延胡索乙素 /mg·g ⁻¹	转移 率/%
1	1	1	1	1	0.293	42.57
2	1	2	2	2	0.370	53.77
3	1	3	3	3	0.403	58.42
4	2	1	2	3	0.424	61.60
5	2	2	3	1	0.428	62.13
6	2	3	1	2	0.336	48.81
7	3	1	3	2	0.428	62.15
8	3	2	1	3	0.283	41.12
9	3	3	2	1	0.367	53.33
K ₁	1.07	1.15	0.91	1.09		
K ₂	1.19	1.08	1.16	1.13		
K ₃	1.08	1.11	1.26	1.11		
R	0.04	0.02	0.12	0.02		

表 4 延胡索乙素提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.003 0	2	0.001 5	8.52	> 0.05
B	0.000 7	2	0.000 4	1.97	> 0.05
C	0.021 2	2	0.010 6	59.81	< 0.05
D(误差)	0.000 4	2	0.000 2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

由以上结果可知, 其最佳工艺为 $A_2B_1C_3$, 3 个影响因素中只有 C 因素有显著影响。

2.4 验证试验 称取元胡止痛软胶囊药材 3 份, 每份延胡索(醋制)40 g, 白芷 20 g, 按上述确定的最佳工艺进行 3 次验证试验, 测定样品中延胡索乙素

平均含量为 $0.4342 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 2.69%, 转移率均为 66.7%, 说明该优选工艺稳定, 可行。故确定最佳工艺为 $A_2B_1C_3$, 即 6 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h。

2.5 提取时间考察 称取元胡止痛软胶囊药材 3 份, 每份延胡索(醋制)40 g, 白芷 20 g, 按照上述优选工艺进行试验, 提取时间分别选择 0.5, 1.0, 1.5 h。测定样品中延胡索乙素含量分别为 0.416, 0.476, 0.536 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。转移率分别为 64.87%, 74.13%, 83.53%。由结果可知, 1.5 h 延胡索乙素含量、转移率均高于其他 2 个样品, 故确定提取时间为 1.5 h。

3 讨论

采用《中国药典》^[2-3] 的流动相进行试验时, 峰型很不理想, 因此更换了 3 根色谱柱进行试验, 依然达不到相应分离要求。参考文献[4]选择甲醇-水为流动相进行试验, 分离效果同样不理想。查找文献发现延胡索乙素属于巴马汀衍生物, 故选择该流动相^[5]进行测定, 样品分离效果很好, 但个别峰的峰型不是很好, 加入三乙胺后得到很好的改善。

[参考文献]

- [1] 武琳, 刘淑芝, 李曼玲, 等. 乙肝舒颗粒剂中黄芪最佳提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(2):8.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:130.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010:526.
- [4] 陆益, 黎远冬, 梁宁生, 等. RP-HPLC 法测定香术止痛酊中延胡索乙素的含量[J]. 广西医科大学学报, 2008, 25(3):427.
- [5] 杜茂波, 刘淑芝, 李曼玲, 等. 黄连巴布剂体外释放和透皮行为研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8):969.

[责任编辑 全燕]