

复方苏润江滴丸提取工艺研究

刘桂花¹, 薛桂蓬¹, 邢建国^{1*}, 谢婷² (1.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004; 2.石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

摘要: 目的 优选复方苏润江滴丸提取工艺。方法 采用正交试验设计, 分别以秋水仙碱含量、芦荟苷含量和浸膏得率为指标, 优选秋水仙等 3 味药材的乙醇提取工艺; 以总多糖含量和浸膏得率为指标, 优选盒果藤根皮等 4 味药材的水提取工艺。结果 3 味药材的最佳提取工艺为 8 倍量 70%乙醇, 提取 2 次, 每次 1.0 h; 4 味药材的最佳提取工艺为 10 倍量水, 提取 3 次, 每次 1.5 h。结论 优选的提取工艺稳定、可行。

关键词: 复方苏润江滴丸; 秋水仙碱; 芦荟苷; 总多糖; 正交试验; 提取工艺

中图分类号: R944.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0399-05

Study on Extraction Process of Compound Surunjia Dripping Pill

LIU Guihua¹, XUE Guipeng¹, XING Jianguo^{1*}, XIE Ting² (1.Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumchi 830004, China; 2.Pharmacy Department of Shihezi University, Shihezi 832002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction process of Compound Surunjia Dripping Pill. **METHODS** Orthogonal experimental design was used for optimization, the extract yield, the content of colchicine and aloin were taken as the indexes in extracting process of three herb medicines; the extract yield and the content of polysaccharide were taken as the indexes in extracting process of four herb medicines. **RESULTS** The optimum extraction progress was as follows: three herb medicines were extracted 2 times for 1 h with 8 times amount of 70% alcohol; four herb medicines were extracted 3 times for 1.5 h with 10 times amount of water. **CONCLUSION** The optimum extraction process is stable and feasible.

KEY WORDS: Compound Surunjia Dripping Pill; colchicine; aloin; polysaccharide; orthogonal test; extraction technique

复方苏润江滴丸是由秋水仙、芦荟、盒果藤根皮和阿里红等 9 味药组成的复方制剂, 该方具有清除异常黏液质, 行气止痛的功效, 主要用于异常黏液质引起的关节疼痛、坐骨神经痛、风湿及类风湿性关节炎。本方秋水仙中含有的秋水仙碱具有解毒散结、抗炎、消肿止痛的功效^[1], 是抗炎镇痛抗风湿病的主要活性成分, 以秋水仙碱入药的制剂有很多种且疗效确切^[2], 对急性痛性关节炎有特异的治疗作用^[3], 是秋水仙有效成分开发的热点。芦荟在临床上用于治疗多种炎症, 疗效显著^[4], 所含蒽醌类化合物大多具有杀菌、抑菌、消炎、解毒、促进伤口愈合等作用, 芦荟苷和芦荟大黄素是芦荟中主要的蒽醌类成分, 具有较强的抗菌、抗炎、健胃和致泻的功能^[5]。本方中阿里红和盒果藤根皮等药材含有大量多糖, 具有免疫调节和免疫增强的作用^[6], 间接治疗各种关节病。本实验采用正交试验设计, 以多种有效成分为指标优选出最佳提取工艺条件, 为研究复方苏润江滴丸的质量监控提供基础, 也为复方苏润江滴丸的临床应用和综合开发利用提供新的思路^[7]。

1 仪器与材料

SPD-10AVP 型高效液相色谱仪(日本岛津); AB135-S 电子天平(瑞士梅特勒-托利多); JM-B2003 电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司); WP-UP-IV-10 型 Water Purifier 实验室专用超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司); KQ-100DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); KDM 型调温电热套(山东省鄄城永兴仪器厂)。

所用的药材茜苳果(批号: 20100510)、阿里红(批号: 20100401)、盒果藤根皮(批号: 20100601)、芹菜子(批号: 20110901)、秋水仙(批号: 20110701)、牵牛子(批号: 20111011)、芦荟(批号: 20110501)、薰鲁香(批号: 20100801)、穆库没药(批号: 20101001)均由新疆麦迪森维药有限公司饮片厂提供, 产地均为新疆; 秋水仙碱对照品(批号: 086K1576, 供含量测定用)、芦荟苷对照品(批号: 11M1398V, 供含量测定用)均由美国 SIGMA-ALDRICH 公司提供; D-无水葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110833-200904, 纯度: 100%); 甲醇、乙腈(美国霍尼韦尔 Honeywell

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项(201130105-3)

作者简介: 刘桂花, 女, 硕士生, 研究实习员 Tel: (0991)2318172
研究员 Tel: (0991)2300682 E-mail: xingjianguo642@sohu.com

E-mail: lisena_lgh@sohu.com

*通信作者: 邢建国, 男, 硕士,

B&J, 色谱纯), 甲醇(天津市福晨化学试剂厂, 分析纯), 磷酸(西安化学试剂厂, 分析纯), 水为超纯水。

2 方法与结果

采用正交试验设计, 对方剂中秋水仙、芦荟和牵牛子 3 味药材进行乙醇提取工艺研究, 以秋水仙碱含量、芦荟苷含量和浸膏得率为指标进行优选; 对盒果藤根皮、阿里红、茴芹果等 4 味药材进行水提取工艺研究, 以总多糖含量和浸膏得率为指标进行优选^[8]。

2.1 秋水仙碱的含量测定

2.1.1 秋水仙碱对照品溶液的制备 取秋水仙碱对照品适量, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇制成 $330.848 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液, 再精密量取 1 mL 储备液, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成 $33.0848 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 即得。

2.1.2 色谱条件 采用 Kromasil C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 甲醇-水(37:63)为流动相; 检测波长为 350 nm, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$, 流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量为 10 μL 。分别测定样品、对照品和阴性样品(缺秋水仙), 色谱图见图 1。结果表明, 在此条件下样品中其他成分对秋水仙碱的测定无干扰。

2.1.3 秋水仙碱标准曲线的制备 分别精密吸取对照品储备液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 置 10 mL

量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 10 μL , 按“2.1.2”项下色谱条件分别测定分析, 以对照品浓度为横坐标 X , 峰面积为纵坐标 Y , 得秋水仙碱标准曲线, 结果见表 1。

2.2 芦荟苷的含量测定

2.2.1 芦荟苷对照品溶液的制备 取芦荟苷对照品适量, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇制成 $256.856 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液。再精密量取 2 mL 储备液, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成 $51.37 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 即得。

2.2.2 色谱条件 采用 Kromasil C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-水(25:75)为流动相; 检测波长为 355 nm, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$, 流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。进样量为 10 μL 。分别测定样品、对照品和阴性样品(缺芦荟), 色谱图见图 1。结果表明, 在此条件下样品中其他成分对芦荟苷的测定无干扰。

2.2.3 芦荟苷标准曲线的制备 分别精密吸取芦荟苷对照品储备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL 置 10 mL 棕色量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得系列对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 10 μL , 按“2.2.2”项下色谱条件分别测定分析, 以对照品浓度为横坐标 X , 色谱峰面积为纵坐标 Y , 得芦荟苷标准曲线, 结果见表 1。

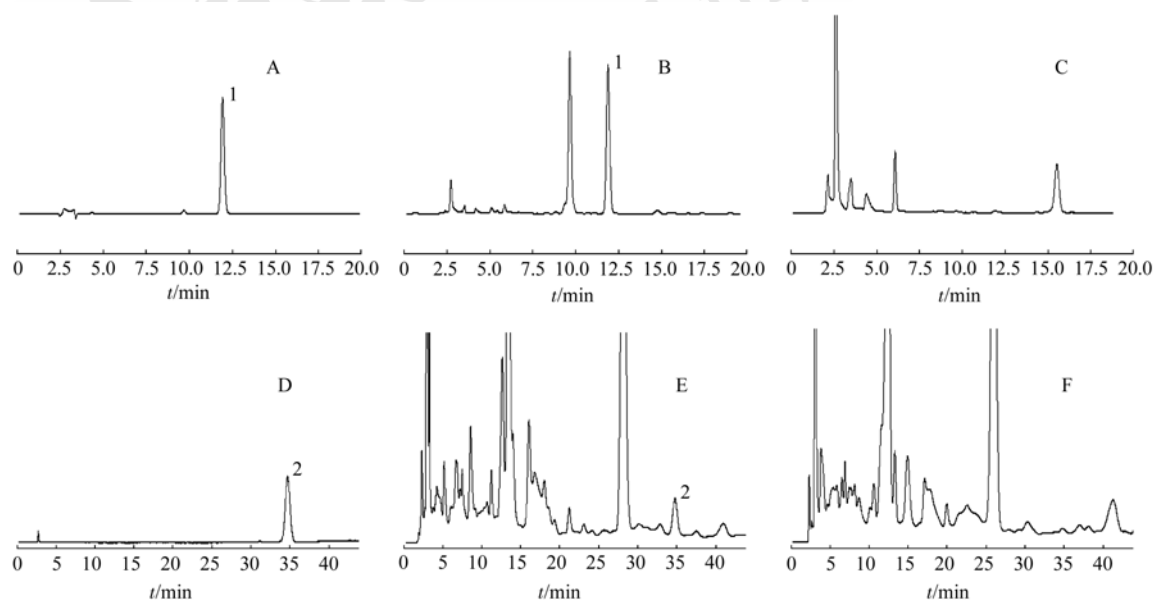


图 1 HPLC 色谱图

A-芦荟苷对照品; B、E-供试品; C-阴性样品(缺芦荟); D-秋水仙碱对照品; F-阴性样品(缺秋水仙); 1-芦荟苷; 2-秋水仙碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A-aloin control; B, E-sample; C-negative control(without aloes); D-colchicine control; F-negative control(without colchicum autumnale); 1-aloin; 2-colchicine

2.3 总多糖的含量测定

2.3.1 D-无水葡萄糖对照品溶液的制备 取 105 ℃干燥至恒重的 D-无水葡萄糖对照品适量,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,制得 207.4 μg·mL⁻¹ 的 D-无水葡萄糖的对照品溶液。

2.3.2 葡萄糖标准曲线的制备 分别精密吸取上述对照品溶液(207.4 μg·mL⁻¹)0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL, 分别置于 25 mL 的量瓶内,加水稀释至刻度,摇匀,分别吸取上述溶液 1.0 mL

于 10 mL 具塞刻度试管中,将试管置冰浴中,精密加入 0.2%硫酸蒽酮溶液(取蒽酮 0.2 g,溶于水 5 mL 与硫酸 95 mL 的混合液中,振摇溶解,放冷,临用新配)4 mL,摇匀,于 90 ℃水浴中加热 10 min,取出,流水冷却至室温,放置 30 min,以第 1 份为空白对照液,在 200~800 nm 内进行光谱扫描,得最大吸收波长为 624 nm。按分光光度法试验,在 624 nm 处测定各样品吸收度,以吸收度为纵坐标 Y,浓度为横坐标 X,得葡萄糖标准曲线,结果见表 1。

表 1 各指标标准曲线方程(n=5)

Tab 1 Standard curve equations(n=5)

对照品	标准曲线方程	线性范围/μg·mL ⁻¹	r
秋水仙碱	$Y=2.368\ 4\times 10^4X+3.562\ 4\times 10^4$	16.54~82.71	0.999 6
芦荟苷	$Y=2.029\ 5\times 10^4X+1.195\ 3\times 10^3$	12.84~102.74	0.999 7
D-无水葡萄糖	$Y=0.043\ 8\ X+0.036\ 7$	8.30~82.96	0.999 6

2.4 浸膏得率的测定

精密量取各个正交试验号的提取液 50 mL,置蒸发皿中水浴挥干,105 ℃干燥至恒重后,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称重。

2.5 供试品溶液的制备

分别按照 L₉(3⁴)正交设计表对样品进行提取,提取液经稀释后过 0.45 μm 滤膜,即得供试品溶液

2.6 3 味药材乙醇提取工艺的优选^[9]

2.6.1 正交试验设计 根据处方中药材有效成分的作用,选取秋水仙碱含量和芦荟苷含量及浸膏得率为考察指标,通过单因素试验考察了乙醇浓度、提取时间、提取次数和加醇倍量对指标成分含量的影响,在单因素试验基础上确定提取次数为 2 次,进一步采用 L₉(3⁴)正交表进行试验,试验因素水平表见表 2。

表 2 3 味药材乙醇提取正交设计因素水平

Tab 2 Factors and levels for orthogonal test

水平	因素		
	A 乙醇浓度/%	B 提取时间/h	C 加醇倍量/倍
1	60	1.0	8
2	70	1.5	10
3	80	2.0	12

2.6.2 正交试验结果与分析 试验结果采用综合评分法进行分析(权重系数分别为 0.4, 0.4, 0.2)结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 3 3 味药材乙醇提取工艺的正交试验结果

Tab 3 Results of orthogonal test

序号	因素				评价指标			综合评分
	A	B	C	D	芦荟苷含量/mg·g ⁻¹	秋水仙碱含量/mg·g ⁻¹	浸膏得率/%	
1	1	1	1	1	142.03	0.84	48.33	86.66
2	1	2	2	2	141.04	0.87	48.36	87.57
3	1	3	3	3	139.04	0.86	49.45	87.22
4	2	1	2	3	170.50	0.89	51.49	96.44
5	2	2	3	1	169.53	0.96	52.55	99.47
6	2	3	1	2	169.20	0.96	53.02	99.70
7	3	1	3	2	136.73	0.79	50.58	83.94
8	3	2	1	3	135.35	0.81	50.47	84.41
9	3	3	2	1	132.38	0.82	51.38	84.59

注: 综合评分=芦荟苷含量/芦荟苷最大含量×40+秋水仙碱含量/秋水仙碱最大含量×40+浸膏得率/最大浸膏得率×20

Note: Comprehensive score=content of aloin/maximum aloin content×40+content of colchicine/maximum colchicine content×40+yield of extraction/maximum extraction×20

表 4 方差分析表

Tab 4 Variance analysis of orthogonal test

变异来源	SS	V	MS	F	P
A	339.94	2	169.97	179.55	<0.05
B	4.37	2	2.19	2.31	
C	0.98	2	0.49	0.52	
D	1.89	2	0.95		
总变异	347.19	8			

注: F_{0.05}(2, 2)=19.00

Note: F_{0.05}(2, 2)=19.00

由方差分析结果可知, 因素 A 对综合评分的影响有显著性, 结合其极差分析, 选 A₂ 水平; B,

C 对指标影响均无显著性,为降低成本、节省工时,结合单因素实验结果综合考虑,确定最佳提取工艺为: A₂B₁C₁,即 8 倍量 70%乙醇,提取 2 次,每次 1.0 h。

2.6.3 验证试验 按优选的工艺条件制备 3 批样品进行验证试验,结果表明,芦荟苷含量为 167.22 mg·g⁻¹,RSD1.2%;秋水仙碱含量 0.89 mg·g⁻¹,RSD 1.3%;浸膏得率为 52.85%,RSD 0.9%。与正交试验结果吻合,证明最佳提取工艺合理、稳定可行。

2.7 4 味药材水提取工艺的优选

2.7.1 正交试验设计 通过单因素试验考察了提取次数、提取时间和加水倍量对指标成分含量的影响,根据单因素考察的结果,以总多糖含量和浸膏得率为指标,采用 L₉(3⁴)正交表进行试验。试验因素水平表见表 5。

2.7.2 正交试验结果与分析 采用综合评分法分析试验结果(权重系数分别为 0.8, 0.2),结果见表 6,方差分析见表 7。

表 5 4 味药材水提取正交设计因素水平

Tab 5 Factors and levels for orthogonal test

水平	因素		
	A 提取次数/次	B 提取时间/h	C 加水倍量/倍
1	1	1.5	10
2	2	2.0	12
3	3	2.5	14

表 6 4 味药材水提取工艺的正交试验

Tab 6 Results of orthogonal test

序号	因素				评价指标		综合评分
	A	B	C	D	总多糖含量/ mg·g ⁻¹	浸膏得率/%	
1	1	1	1	1	37.55	15.58	64.01
2	1	2	2	2	39.41	16.34	67.16
3	1	3	3	3	43.84	17.74	74.32
4	2	1	2	3	48.71	19.13	82.07
5	2	2	3	1	50.49	19.93	85.17
6	2	3	1	2	53.98	21.86	91.54
7	3	1	3	2	57.77	21.93	96.67
8	3	2	1	3	59.04	22.81	99.16
9	3	3	2	1	59.67	22.82	100.00

注:综合评分=总多糖含量/总多糖最大含量×80+浸膏得率/最大浸膏得率×20

Note: Comprehensive score=content of polysaccharide/maximum polysaccharide content×80+yield of water extraction/maximum water extraction×20

表 7 方差分析表

Tab 7 Variance analysis of orthogonal test

变异来源	SS	V	MS	F	P
A	1 374.73	2	687.37	156.64	<0.05
B	90.71	2	45.36	10.34	
C	8.91	2	4.45	1.02	
D	8.78	2	4.39		
总变异	1 483.13	8			

注: F_{0.05}(2, 2)=19.00

Note: F_{0.05}(2, 2)=19.00

由方差分析结果可知,因素 A 对综合评分有显著性影响,结合其极差分析,选 A₃水平,

B, C 对指标影响均无显著性,为降低成本、节省工时,结合单因素实验结果综合考虑,确定最佳提取工艺为: A₃B₁C₁,即加 10 倍量水,提取 3 次,每次 1.5 h。

2.7.3 验证试验 按优选的工艺条件制备 3 批样品进行验证试验,结果表明,总多糖含量为 58.95 mg·g⁻¹,RSD 1.6%;浸膏得率为 21.36%,RSD 1.2%。与正交试验结果吻合,证明最佳提取工艺合理、稳定可行。

3 讨论

本处方由 9 味药组成,其中 2 味药材采用的是打粉直接入药,而秋水仙、芦荟和牵牛子 3 味药材采用的是乙醇提取,根据处方的功能主治确定有效成分为秋水仙碱、芦荟苷、芦荟大黄素等,而这些成分均溶于乙醇,因此将这 3 味药醇提。盒果藤根皮、阿里红、茴芹果等 4 味药材采用的是水煎煮,根据处方的功能主治确定有效成分为总多糖,而多糖类成分均溶于水,因此将这 4 味药进行水煎煮。

在本实验中^[10],芦荟苷的含量测定采用的是中国药典 2010 年版一部芦荟项下的含量测定条件,即流动相为乙腈-水(25:75),在此条件下,芦荟苷有较好的分离,峰形对称性好。试验中,通过参考相关文献尝试改变流动相比^[11],更换为甲醇-水(45:55),双波长检测 350 nm(秋水仙碱)和 355 nm(芦荟苷),秋水仙碱和芦荟苷均有较好得分离,但由于样品溶液中秋水仙碱含量较少,芦荟苷含量较大,致使上述 2 个指标的峰面积不成比例,因此本实验将这 2 个指标成分在 2 个系统下分别测定。上述等比例双波长测定的条件可为后期的研究提供依据和奠定基础。

REFERENCES

- [1] WANG A G, GAO B, WANG J. Colchicine in treating rheumatoid arthritis [J]. J Nanjing Mil Med Coll(南京军医学院学报), 2003, 25(1): 71.
- [2] GE X. TCM differentiation and clinical research on middle-stage gouty acute arthritis [J]. J Zhejiang Univ Tradit Chin Med(浙江中医药大学学报), 2007, 31(3): 312, 323.
- [3] DING Y G, HUANG Y X. Value of colchicine in gouty arthritis treatment [J]. Chin J Prim Med Pharm(中国基层医药), 2006, 13(7): 1085-1086.
- [4] HOU D Y, HUI R H, LI T C. Research progress of aloes [J]. J Anshan Nor Univ(鞍山师范学院学报), 2002, 4(3): 54-59.
- [5] TIAN B, HUA Y J, MA X Q, et al. Relationship between antibacterial activity of aloe and its anthraquinone compounds [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2003, 28(11): 41-44.
- [6] XIU X H, DONG L, HOU X Y, et al. Enhancement of aloe polysaccharide on inhibitory effects of cisplatin on growth of lung adenocarcinoma in nude mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(12): 1080-1084.
- [7] LU C G, WANG H Z, LI Y H, et al. Simultaneous determination of aloin and aloe-emodin in aloe by HPLC [J]. Aca J Zhengzhou Univ Med(郑州大学学报: 医学版), 2008, 43(3): 584-586.
- [8] CHENG Y, SONG J H. Determination of liquiritin, glycyrrhizic acid and isoliquiritigenin in Xiaoyao Wan by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(2): 163-166.
- [9] XUE G P, XING J G, ZHAO Y, et al. Study on extraction process of Compound Xuelian Catapasm [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(2): 129-133.
- [10] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 151.
- [11] MA J J, FANG Z, WU Q H, et al. On determination of aloin and aloe-emodin in *Aloe barbadensis* Mill by HPLC [J]. J Hebei Agric Univ(河北农业大学学报), 2005, 28(2): 57-60.

收稿日期: 2012-06-29

托伐普坦固体分散体的制备及体外溶出特性考察

彭俊清*, 胡功允*, 徐彪, 陈梁, 余慧(浙江华海药业股份有限公司, 浙江 临海 317024)

摘要: 目的 采用固体分散技术提高难溶性药物托伐普坦的体外溶出度。方法 选用聚维酮 K_{29/32} 为载体材料, 以溶剂蒸发法制备托伐普坦固体分散体。采用差示扫描量热法(DSC)、X-射线粉末衍射法(XRPD)对所得固体分散体进行鉴定, 并进行溶解度、体外溶出实验。结果 固体分散体的 DSC 图谱及 XRPD 确定了托伐普坦以无定形态分散在载体中, 体外溶解实验表明其溶出较原料药、物理混合物均有明显提高。结论 将托伐普坦与聚维酮 K_{29/32} 制成固体分散体, 其分散状态发生了改变, 溶出性能明显提高。

关键词: 托伐普坦; 固体分散体; 溶出度

中图分类号: R944.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)04-0403-04

Preparation and *in Vitro* Dissolution of Tolvaptan Solid Dispersion

PENG Junqing, HU Gongyun*, XU Biao, CHEN Liang, YU Hui(Zhejiang Huahai Pharmaceuticals Co., Ltd., Linhai 317024, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To enhance the dissolution rate of tolvaptan which is a poorly water-soluble drug by solid dispersion. **METHODS** Solid dispersions of tolvaptan were prepared by solution evaporation method, with polyvinylpyrrolidone(PVP) K_{29/32} as the matrix. The physical states of tolvaptan were investigated by differential scanning calorimetry(DSC) and X-ray powder diffraction analysis(XRPD). The solubility and dissolution rate of tolvaptan, solid dispersions and physical mixtures were also compared. **RESULTS** The DSC and XRPD spectrum of the solid dispersion showed that tolvaptan existed as amorphous form in solid dispersion. The dissolution of tolvaptan solid dispersions was much faster than that of tolvaptan and the physical mixtures. **CONCLUSION** PVP K_{29/32} solid dissolution containing tolvaptan has changed its dispersion form with higher dissolution.

KEY WORDS: tolvaptan; solid dispersion; dissolution

作者简介: 彭俊清, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0576)85016589
高级工程师 Tel: (0576)85016030 E-mail: hu@huahai pharm.com

E-mail: pengjunqing@huahai pharm.com *通信作者: 胡功允, 男,