

复方红景天滴丸的制备工艺研究^{*}

郑路静^{1,2}, 刘庆焕², 陶遵威²

(1.天津中医药大学, 天津 301617; 2.天津市医药科学研究所, 天津 300020)

摘要:[目的] 筛选、优化复方红景天的最佳提取工艺, 初步探索该方的滴丸制备方法。[方法] 采用正交实验法, 以红景天苷含量及干膏收率为考察指标, 对提取时间、乙醇浓度、提取次数、溶剂倍数 4 个因素进行优化选择。考察冷凝剂、基质的筛选与配比、药物与基质比例, 优化成型工艺。[结果] 实验结果表明提取时间、提取次数、溶剂倍数对制备工艺有显著性影响。最佳提取工艺条件为 10 倍量, 浓度为 60% 的乙醇, 回流提取 2 次, 每次 1.5 h。验证实验中红景天苷平均含量为 1.73%, RSD=1.2%, 测得干膏收率平均值 24.82%, RSD=1.6% ($n=3$)。滴丸制备选取二甲基硅油作为冷凝剂, PEG4000 与 PEG6000 的最佳比例为 2:1, 药基比例 1:2.5。[结论] 优选的复方红景天提取及成型工艺合理、稳定、可行。

关键词: 复方红景天; 正交实验; 红景天苷; 提取工艺

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1673-9043(2019)01-0084-04

缺血性脑损伤可导致脑细胞坏死或凋亡, 其高致残率、高致死率, 给现代家庭与社会带来了沉重的负担^[1-2]。随着人们对脑缺血认识的逐渐加深, 大量科研数据为改善该病症提供了新的方法与思路。天津市医药科学研究所“行气活血、化瘀通络”为原则, 聚焦缺血性脑损伤“气虚血滞、脉络瘀阻”的病机, 组方红景天、延胡索、川芎以及冰片为复方, 成为第一个使用该方治疗脑缺血损伤的机构。药理学实验表明红景天复方可减缓海马组织神经细胞凋亡, 对脑缺血损伤起到保护作用^[3]。本研究对该方的提取及制剂工艺做进一步探究, 运用高效液相色谱法(HPLC)技术, 以君药中红景天苷的含量及干膏率为综合评价指标, 采用正交实验优选复方红景天的醇提工艺, 并考察了滴丸的成型工艺, 以期为工业化生产提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-20AT, 日本岛津公司), PDA 检测器(日本岛津公司), ME203E 电子天平(METTLER TOLEDO 上海有限公司)。

1.2 材料 红景天、延胡索等药材均购自天津市中

药饮片厂有限公司, 红景天苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号: 110818-201005), PEG4000、PEG6000(天津市瑞金特化学品有限公司), 二甲基硅油(天津市化学试剂供销公司), 甲醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取方法 按处方比例精密称定各药材, 放置圆底烧瓶中, 在 85℃ 条件下水浴加热, 进行回流提取, 收集滤液, 测定相关理化指标。

2.2 评价指标的测定

2.2.1 干膏率的测定 按处方配比称量各药材 9 份, 根据 $L_9(3^4)$ 正交实验设计表加乙醇回流, 过滤, 合并滤液, 精密吸取 20.0 mL 提取液至已干燥恒重的蒸发皿中, 蒸干至恒质量, 干燥器内冷却, 称定干膏质量, 计算。

2.2.2 红景天苷含量测定 红景天苷检测波长的确定: 通过查阅资料, 红景天苷(Salidroside)在波长为 223、275 nm 时均存有较强吸收峰^[4-5]。实验前期将 5 mg 红景天苷标准品分别在 223、275 nm 波长下进行检测, 结果显示 223 nm 波长下, 红景天苷的峰面积高于 275 nm, 且杂质干扰少, 故本实验在 223 nm 波长下进行检测。

色谱条件: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(85:15); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 223 nm; 柱温: 室温。

对照品溶液的制备: 精密称定 13.45 mg 红景天

^{*} 基金项目: 天津市应用基础与前沿技术研究计划(一般项目)(14JCYBJC28700)。

作者简介: 郑路静(1987-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为中药制剂。

通讯作者: 陶遵威, E-mail: taozunweitj@163.com。

苷标准品,置于100 mL量瓶,加70%甲醇溶解,配置成浓度为0.134 5 mg/mL溶液,摇匀,即得。

供试品溶液的制备 精密吸取10 mL提取液,转移至蒸发皿,蒸干,加70%甲醇溶解,定容至10 mL,留取续滤液过0.45 μm滤膜,进样,计算含量。

2.2.3 方法学考察 线性关系考察:配置系列浓度对照品溶液,进样到液相色谱仪,在上述色谱条件下分析,横坐标为对照品进样量,纵坐标为峰面积积分值,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=1 \times 10^6 X - 10\ 118$ ($r=0.999\ 7$),进样量线性范围0.134~2.69 μg。

精密度实验:取对照品溶液,连续进样6次,得红景天苷峰面积值RSD为0.67%,精密度良好。

稳定性实验:取“2.2.2”项下同一供试品,室温条件下,分别于0、2、4、8、12和24 h进行色谱测定。结果显示,红景天苷含量的RSD为1.90%,表明样品在24 h稳定。

重复性实验:相同条件下,按供试品储备液制备方法平行提取6份,进样测定,记录HPLC图,RSD1.28%,本方法重复性良好。

加样回收率:取6份已知含量的提取液各5 mL,精密量取,分别精密加入配制浓度为215.2 μg/mL的对照品溶液,各5 mL,折合成红景天苷的含量为1.076 mg。按“2.2.2”项下操作方法制备,进行色谱测定,计算平均回收率为100.27%,RSD 1.99%。

2.3 提取工艺设计 结合药材性质和参考文献[6-7],确定采用乙醇回流提取,选定影响提取的几个主要因素。实验前期采用单因素实验,对时间、次数、浓度和倍数进行考察。其提取工艺因素与水平设计,见表1。

表1 因素水平

水平	A 时间(h)	B 次数(次)	C 浓度(%)	D 倍数(倍)
1	1.0	2	50	8
2	1.5	3	60	10
3	2.0	4	70	12

2.4 正交实验设计优选提取方法 参照文献[8-9]。醇提部分以君药中红景天苷的提出量和干膏率作为考察指标。选用综合加权评分法优选提取工艺,权重系数分别为0.7、0.3,综合评分=(0.7×红景天苷含量/最大红景天苷含量)×100 + (0.3×干膏率/干膏收率最大值)×100。参考单因素的结果,选定影响提取工艺的3个水平(表1),按照 $L_9(3^4)$ 表设计安排实验。采用正交实验助手IIIV3.1进行正交设计分析,结果见表2。

表2 正交实验结果

编号	A	B	C	D	红景天苷 含量(%)	干膏 收率(%)	综合 评分(分)
1	1	1	1	1	1.16	17.00	62.69
2	1	2	2	2	1.30	22.62	73.94
3	1	3	3	3	0.45	24.00	41.12
4	2	1	2	3	1.75	22.54	91.65
5	2	2	3	1	1.71	24.69	92.10
6	2	3	1	2	1.47	27.62	85.51
7	3	1	3	2	1.73	23.38	91.84
8	3	2	1	3	1.12	31.00	74.74
9	3	3	2	1	0.85	28.31	61.49
均值1	59.25	82.06	74.31	72.09			
均值2	89.75	80.26	75.69	83.76			
均值3	76.02	62.71	75.02	69.17			
极差	30.50	19.35	1.38	14.59			

2.4.1 正交实验结果分析 比较各因素的直观分析(见表2)可知,各影响因素对醇提效果的影响大小为A>B>D>C。方差分析结果,A、B、D因素对提取结果有显著影响,综合极差分析、提取效率、提取成本等考虑,最优工艺确定为 $A_2B_1C_2D_2$,即浓度为60%乙醇、10倍量、提取2次,每次1.5 h。

表3 方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F值	P
A	1 400.31	2	700.16	490.13	<0.05
B	685.91	2	342.96	240.08	<0.05
C(误差)	2.86	2	1.43	1.00	
D	357.70	2	178.85	125.20	<0.05

注: $F_{0.05(2,2)}=19.00$,因素C的离均差平方和最小,将其作为误差项来处理。

2.5 验证实验 根据正交实验结果,为验证上述最佳工艺的稳定性,按处方称取红景天等药材,分别按优选工艺进行实验。测定两个考察指标,得出红景天苷平均含量为1.73%,RSD=1.2%;测得干膏收率平均值24.82%,RSD=1.6%($n=3$)。验证结果显示,依据该实验方法确定的红景天复方醇提工艺合理,且稳定、可行。

2.6 滴丸的制备

2.6.1 冷凝剂的选择 分别以二甲基硅氧烷的聚合物(二甲基硅油)、液体石蜡为冷却液,考察冷凝效果。结果表明液体石蜡为冷凝剂,下降快,易粘连,外形不圆整。而二甲基硅油中,滴丸间不粘连,下降速度适中,外形良好、圆整,因此本实验选取的冷凝剂为二甲基硅油。

表 4 三批验证实验结果

最佳工艺	红景天苷含量(%)	平均含量(%)	RSD (%)	干膏收率 (%)	平均收率 (%)	RSD (%)
1	1.72			25.14		
2	1.71	1.73	1.2	24.39	24.82	1.6
3	1.75			24.92		

2.6.2 基质的选择与配比 根据药物性质和基质所特有的内聚力、分散力等理化特点,选用水溶性 PEG6000 和 PEG4000 作为制备滴丸所需基质。实验显示,以 PEG4000 作为滴丸唯一基质时,硬度欠佳,因此加入 PEG6000 调整,实验以硬度、是否圆整、脱尾情况、滴制的难易、是否漂浮为考察指标,综合考虑,选取 PEG4000 与 PEG6000 比例为 2:1 作为滴丸基质,表 5。

表 5 不同基质配比对滴丸成型的影响

PEG4000:6000	硬度	拖尾情况	圆整度	滴制	是否漂浮
1:1	适宜	基本不拖	较圆整	易滴	不漂浮
2:1	适宜	不拖尾	圆整	易滴	不漂浮
3:1	偏软	不拖尾	圆整	易滴	不漂浮

2.6.3 药物与基质比例 滴丸质量的优劣与载药量密切相关。选取 PEG4000 与 PEG000 比例为 2:1,其他条件均固定,以软硬程度、是否拖尾、外观圆整度、以及有无气泡为评价标准,考察药基比对滴丸成型性影响。结果显示,药物与基质选择 1:2.5~1:5 时滴丸成型性较好。见表 6。

表 6 药物与基质比对滴丸成型的影响

药物:基质	圆整度	硬度	是否拖尾	有无气泡
1:1.5	不圆整	软	拖尾	有
1:2.0	圆整	偏软	不拖尾	有
1:2.5	圆整	适宜	不拖尾	无
1:3.0	圆整	适宜	不拖尾	有
1:5.0	圆整	适宜	不拖尾	无

2.6.4 滴丸的制备条件 滴丸为近几年中药制剂的新剂型,利用固体分散技术,使药物以分子、微晶或胶体状态分散于基质中,从而更有利于药物的溶解和吸收^[10]。而滴丸的制备工艺比较复杂,除受上述冷凝剂、基质配比和载药量影响外,其质量和成型还与多种因素有关,因此想要制成滴丸,很难用单个指标衡量其可行性。本实验后期考察了熔融温度、滴距等因素通过影响滴丸粘连程度、圆整度、拖尾、硬度,结合量化指标丸重差异系数,综合评定制备工艺,并对溶散时限进行了考察。本研究最终选定的制备条件为二甲硅油,PEG4000 与 PEG6000

的最佳比例为 2:1,药基比例 1:2.5,滴速 30 d/min,滴距 4 cm,药液温度 80 ℃。

2.6.5 溶散时限检查 按照上述操作方法制备滴丸,并根据《中国药典》2015 年版(四部),通则 0108 丸剂的规定进行实验。取 3 批红景天滴丸供试品,每批 6 丸,于升降式崩解仪内,不加挡板按崩解时限检查法进行测定,应在 30 min 内全部溶散。实验过程中 3 批滴丸溶散时间均小于 30 min,表明本实验方法制备的复方红景天滴丸符合检测规定。结果见表 7。

表 7 溶散时限检测结果

标准时间	溶散时限(min)		
≤30 min	HJTZ001	HJTZ002	HJTZ003
	7 min 21 s	7 min 8 s	7 min 53 s

3 讨论

复方红景天组方考究,君药红景天(*Rhodiola crenulata*)在《本草纲目》中被称为“经中上品”,味甘性寒,主治胸闷、体虚、周身乏力、恶心等症^[11-12]。现代科学研究发现,红景天具有延缓衰老、抗肿瘤、抗缺氧及调节人体免疫的功能,并且能够保护脑缺血再灌注损伤^[13-14]。川芎能活血、化瘀、止痛、行气。且其行气、活血、止痛的功能与抗脑缺血的作用机制紧密相关。其有效成分川芎嗪能够轻易地透过血脑屏障,从而对脑缺血起到保护作用^[15]。冰片与川芎,两者配伍可以增强川芎的药效作用^[16]。延胡索具有活血行气、镇痛的作用,治疗血瘀气滞等证,随着现代药理学的深入探究,发现其具有良好的抗脑缺血、抗心肌缺血等作用,其主要成分为延胡索乙素^[17-18]。红景天、延胡索、川芎和冰片四味中药合用,探讨其改善脑缺血的作用。

方中君药为红景天,对病症起主要治疗作用,2015 年版《中国药典》规定该药材质量的控制指标为红景天苷(Salidroside),因此选取 Salidroside 为本实验的含量指标性成分。干膏得率对工艺提取具有指标性意义,又是后期制剂成型的重要保障,对剂型的选择、制剂工艺的确定以及给药方案的确定具有重要意义。本实验研究了不同条件下复方红景天的提取效果,并采用正交实验法对提取工艺进行优化选择,并加以验证,所得最佳工艺为:10 倍量浓度为 60%的乙醇,回流提 2 次,每次 1.5 h。

本实验药方的组建用于改善治疗脑缺血病症,探索其滴丸的制备将有助于各有效成分更加快速的达到血药浓度峰值,发挥其治疗作用。充分体现

滴丸快速释药、生物利用度优良等优势,具有一定的临床意义^[9]。提高基质与药物比例,可改善滴制溶液粘稠度,使滴丸圆整、不拖尾,增加 PEG4000 含量可增大药物在基质中的溶解度,减少气泡。基质所含比例高,易于滴出、圆整,成型性优良,考虑到基质与药物比例应尽可能小,增加载药量,确定药物与基质配比为 1:2.5。本实验对滴丸进行了初步的探究,可为该组方的进一步开发提供研究基础。

参考文献:

- [1] 王 萍,张密霞,庄朋伟,等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2014,33(5): 317-320.
- [2] Kulik T, Kusano Y, Aronhime S, et al. Regulation of cerebral vasculature in normal and ischemic brain [J]. Neuropharmacol, 2008, 55(3): 281-8.
- [3] 王 宏,康 利,刘庆焕,等. 复方红景天对大鼠缺血性脑损伤后海马组织细胞凋亡的影响[J]. 天津中医药, 2017, 34(8): 554-558.
- [4] 薛 瑞,郭东艳. 基于多指标综合评价的红景天提取工艺研究[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(5): 407-409.
- [5] 刘庆焕,王 宏,张 婷,等. 多指标正交试验优化复方红景天颗粒的提取工艺[J]. 中国药房, 2017, 28(13): 1830-1833.
- [6] 陈小明,徐超群. 红景天中红景天苷的提取工艺研究[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(3): 329-331.
- [7] 倪付勇,陈 重,许琼明,等. 高山红景天化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(7): 798-802.
- [8] 韩忠耀,周福军,刘 芳,等. 多指标综合评分法优选柴胡桂枝颗粒提取工艺[J]. 天津中医药大学学报, 2015, 34(2): 108-111.
- [9] 吴月国,张 萍,赵铮蓉,等. 红杞胶囊提取工艺的研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(10): 910-913.
- [10] 吴雪旖,闫雪生,赵许杰,等. 茯苓皮总三萜滴丸制备工艺的优化[J]. 中成药, 2016, 38(4): 934-937.
- [11] 贺美艳,张小龙. 唐古特红景天提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(6): 495-497.
- [12] 蒲位凌,李文华,白茹玉,等. 红景天及其抗炎和抗肿瘤活性成分药理作用研究进展[J]. 天津中医药, 2017, 34(12): 856-859.
- [13] 季宇彬,耿 欣,汲晨峰. 红景天研究进展[J]. 天津中医药, 2007, 24(1): 81-85.
- [14] Zhu Y, Shi YP, Wu D, et al. Salidroside protects against hydrogen peroxide-induced injury in cardiac H9c2 cells via PI3K-Akt dependent pathway [J]. DNA Cell Biol, 2011, 30(10): 809-819.
- [15] 金玉青,洪远林,李建蕊,等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2013, 4(3): 44-48.
- [16] 万国靖. 中药川芎与冰片配伍使用的研究[J]. 黑龙江医药, 2012, 25(6): 892-894.
- [17] 梁 健,王富强,郑平香,等. 延胡索乙素抗脂质过氧化作用与对脑缺血再灌注大鼠行为及病理改变的保护[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(2): 167-169.
- [18] 杨 娟,张莉蓉. 延胡索乙素抗大鼠血栓作用研究[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(5): 399-401.
- [19] 周礼玲,张师愚. 双黄连滴丸的最佳制备工艺和溶出时限检查[J]. 天津中医药大学学报, 2007, 26(2): 79-80.

(收稿日期:2018-01-05)

Study on the preparation process of compound *Rhodiola crenulata* dropping pill

ZHENG Lujing^{1,2}, LIU Qinghuan², TAO Zunwei²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China)

Abstract: [Objective] To screen and optimize the best extraction technology of compound *Rhodiola*. The preparation method of dropping pills of this prescription is preliminarily explored. [Methods] The process was designed by orthogonal experimental method. Taking the content of salidroside and recovery rate of dry ointment as indexes to optimize 4 factors which includes extraction time, ethanol concentration, extraction times and solvent multiple. Studying condensing agent, matrix and its ratio, drugs and matrix proportion and optimize the molding process. [Results] The results of variance analysis showed that the extraction time, extraction times and solvent multiple had significant impact on the preparation. The optimum extraction process was adding 10 fold amount of 60% ethanol, extracting for 1.5h and 2 times. The average content of salidroside in the test was 1.73%, RSD=1.2% and the yield of dry extract was 24.28%, RSD=1.6% (n=3). Dimethyl silicone oil was selected as condensing agent. The best ratio of PEG4000 and PEG6000 was 2:1. The ratio of drug to matrix was 1:2.5. [Conclusion] The extracting and molding process of the optimized compound *Rhodiola* is reasonable, stable and feasible.

Key words: Compound *Rhodiola*; orthogonal test; salidroside; extraction technology