

### 3种水提预处理方法对白芷总香豆素提取物的影响

常金花, 李云, 刘翠哲\*

(承德医学院, 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北承德 067000)

**摘要:** 目的 考察常温水提、40℃水提、水煎煮对白芷总香豆素提取物的影响。方法 分别采用乙醇回流提取和3种水提预处理方法得到提取物 I~IV, UV 和 HPLC 法分别测定总香豆素、欧前胡素含量, 比较提取物粉体学性质和溶出度。结果 4种提取物中总香豆素含量分别为 3.98%、6.03%、6.81%、4.46%, 欧前胡素含量分别为 0.633%、0.540%、0.465%、0.155%, 休止角分别为 48.455°、42.587°、42.689°、42.024°, 堆密度分别为 0.214、0.324、0.316、0.354 g/cm<sup>3</sup>。提取物 I 在 100 min 内的吸湿速率和平衡吸湿量高于其他 3 种提取物。各提取物在 120 min 内的累积溶出度均显著高于药材细粉。结论 3 种水提预处理方法均可明显改善白芷总香豆素提取物的粉体学性质, 并提高药材细粉的溶出度。

**关键词:** 白芷总香豆素提取物; 水提预处理方法; 总香豆素; 欧前胡素; 粉体学性质; 溶出度

中图分类号: R927.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)05-1065-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.05.011

### Effects of three aqueous extraction preprocessing methods on total coumarins extract of *Angelicae dahuricae Radix*

CHANG Jin-hua, LI Yun, LIU Cui-zhe\*

(Hebei Provincial Key Laboratory for Research and Development of Chinese Medicine, Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To investigate the effects of aqueous extraction at normal temperature, 40℃, and water boiling on total coumarins extract of *Angelicae dahuricae Radix*. **METHODS** For the extracts I-IV obtained by ethanol reflux extraction and three aqueous extraction preprocessing methods, respectively, UV and HPLC were adopted in the content determination of total coumarins and imperatorin, then the powder properties and dissolution rates were compared. **RESULTS** The contents of total coumarins in four extracts were 3.98%, 6.03%, 6.81% and 4.46%, while those of imperatorin were 0.633%, 0.540%, 0.465% and 0.155%, respectively. The angles of repose were 48.455°, 42.587°, 42.689° and 42.024° with the bulk densities of 0.214, 0.324, 0.316 and 0.354 g/cm<sup>3</sup>, respectively. Within 100 min, extract I demonstrated higher moisture adsorption rate and equilibrium moisture absorption content than the other three extracts. The accumulative dissolution rates of various extracts were much higher than that of medicinal material fine powder within 120 min. **CONCLUSION** All the three aqueous extraction preprocessing methods can obviously improve the powder properties of total coumarins extract of *A. dahuricae Radix* and increase the dissolution rate of medicinal material fine powder.

**KEY WORDS:** total coumarins extract of *Angelicae dahuricae Radix*; aqueous extraction preprocessing methods; total coumarins; imperatorin; powder properties; dissolution rates

收稿日期: 2017-11-04

基金项目: 河北省高校重点学科建设项目(冀教高[2013]4)

作者简介: 常金花(1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事药物新剂型及药代动力学研究。Tel: (0314) 2290629, E-mail: xiaoniqu@126.com

\*通信作者: 刘翠哲(1964—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药制剂现代化及中药药代动力学研究。Tel: (0314) 2291142, E-mail: liucuihexy@163.com

元胡止痛方是经典名方，由醋制延胡索和白芷组成，用于气滞血瘀引起的胃痛、胁痛、头痛、痛经等症<sup>[1]</sup>，其中白芷具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的功效<sup>[2-3]</sup>，香豆素类是其主要化学成分之一，具有明显镇痛作用<sup>[4]</sup>，为方中活性物质<sup>[5-6]</sup>。2015年版《中国药典》一部共收录5种元胡止痛制剂，分别为元胡止痛口服液、元胡止痛片、元胡止痛软胶囊、元胡止痛胶囊和元胡止痛颗粒，其中口服液和软胶囊是将白芷粉碎成粗粉后乙醇热回流提取得到清膏，然后加辅料制备；片剂、胶囊剂和颗粒剂是将75%白芷粉碎成细粉，剩余25%制成醇提取物投料<sup>[7]</sup>。在采用原药材细粉投料时，往往由于产地、栽培和采收条件不同，导致其质量存在较大差异，而且溶出度也可能较低，最终导致相关制剂质量差异大<sup>[8-9]</sup>，因此在制备元胡止痛片等剂型时，如果应用白芷总香豆素提取物投料，则有可能减小制剂间的质量差异。

然而，前期研究发现按照2015版《中国药典》方法，即乙醇回流提取所得到的白芷提取物黏度较大，需要加入大量辅料才能制成颗粒。因此，本实验应用水提法对白芷饮片进行预处理，然后应用乙醇回流法进行后续提取，考察不同水提预处理方法对白芷香豆素提取物中总香豆素含有量、欧前胡素含有量、粉体学性质和溶出度的影响，以达到降低其黏度的目的，并为后续将其代替细粉入药和进一步相关剂型改进提供参考。

## 1 仪器与材料

1.1 仪器 JASCO 高效液相色谱仪（单泵，PU-1580；紫外检测器，UV-1575）（日本JASCO公司）；SHB-Ⅲ循环水式多用真空泵（郑州长城科工贸有限公司）；EYELA 旋转蒸发仪（上海爱朗仪器有限公司）；YP1200 电子天平（上海精密科学仪器有限公司）；TG16-WS 台式高速离心机（长沙湘仪离心机仪器有限公司）；EZ550 冷冻干燥机（美国FTS公司）；HP-8453 紫外-可见分光光度计（美国惠普公司）；AG245 电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；KQ-300、KQ-100E、KQ-500B 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 材料 白芷购自同仁堂承德分公司，由承德医学院中药研究所赵春颖教授鉴定为正品。欧前胡素对照品（批号110826-200712，中国食品药品检定研究院）。甲醇为色谱纯（天津市协和昊鹏色谱科技有限公司）；四氢呋喃为色谱纯（天津市福晨化学试剂厂）；其他试剂均为分析纯；水为娃哈哈

纯净水。

## 2 方法与结果

### 2.1 总香豆素提取

2.1.1 乙醇回流提取<sup>[10]</sup> 称取白芷粉末（10目）10 g，置于500 mL圆底烧瓶中，加入70%乙醇300 mL，加热回流2次，每次2 h，减压滤过，合并滤液，减压浓缩后将浓缩液置于60℃烘箱中干燥，得到提取物Ⅰ，质量为1.50 g，收率为15.0%。

2.1.2 常温水提预处理 称取白芷粉末（10目）10 g，加入10倍量水常温浸渍12 h，3 000 r/min离心15 min，药渣置于250 mL圆底烧瓶中，加入70%乙醇100 mL，按“2.1.1”项下方法得到提取物Ⅱ，质量为0.919 g，收率为9.2%。

2.1.3 40℃水提预处理 称取白芷粉末（10目）10 g，加入10倍量水加热至40℃，保温2 h，3 000 r/min离心15 min，药渣置于250 mL圆底烧瓶中，加入70%乙醇100 mL，按“2.1.1”项下方法得到提取物Ⅲ，质量为0.758 g，收率为7.6%。

2.1.4 水煎煮预处理 称取白芷粉末（10目）10 g，加入10倍量水煎煮1 h，3 000 r/min离心15 min，药渣置于250 mL圆底烧瓶中，加入70%乙醇100 mL，按“2.1.1”项下方法得到提取物Ⅳ，质量为1.30 g，收率为13.0%。

### 2.2 总香豆素含有量测定<sup>[11]</sup>

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取欧前胡素对照品4.98 mg，置于100 mL量瓶中，加入适量甲醇超声溶解，静置至室温，甲醇定容至100 mL，摇匀，即得49.8 μg/mL贮备液，精密量取1、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 mL置于10 mL量瓶中，甲醇稀释至刻度，即得。

2.2.2 供试品溶液制备 精密称取白芷提取物约5.0 mg，置于25 mL量瓶中，加入适量甲醇超声提取40 min，静置至室温，甲醇定容至25 mL，即得。

2.2.3 检测波长确定 以甲醇为空白对照，将一定质量浓度对照品、供试品溶液在200~400 nm波长处进行紫外扫描，发现两者在304 nm处均有吸收，并且紫外光谱图变化较平缓，故选择其作为检测波长。

2.2.4 线性关系考察 以对照品质量浓度为横坐标（X），吸光度为纵坐标（A）进行线性回归，得到回归方程为 $A = 0.043\ 467X + 0.001\ 88$ （ $r =$

0.999 2), 在 4.98 ~ 19.92  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

2.2.5 测定方法 精密称取提取物 I ~ IV 各约 5.0 mg, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 以甲醇为空白溶剂, 在 304 nm 波长下测定吸光度, 外标一点法计算含有量, 结果分别为 3.98%、6.03%、6.81%、4.46%, 而药材粉末为 0.782%。

### 2.3 欧前胡素含有量测定

2.3.1 色谱条件 Discovery  $\text{C}_{18}$  色谱柱 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相 甲醇-水-四氢呋喃 (65 : 35 : 1); 检测波长 300 nm; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 体积流量 0.8 mL/min; 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

2.3.2 对照品溶液制备 精密量取“2.2.1”项下贮备液 0.1、0.2、0.5、0.75、1.0、1.25 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 即得 (0.498、0.996、2.49、3.735、4.98、6.225  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。

2.3.3 线性关系考察 取“2.3.2”项下系列质量浓度对照品溶液 6 份, 按“2.3.1”项下方法进行测定。以欧前胡素质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 峰面积为纵坐标 ( $Y$ ) 进行线性回归, 得到回归方程为  $Y = 73\ 768X - 3\ 522.87$  ( $r = 0.999\ 8$ ), 在 0.498 ~ 6.225  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

2.3.4 专属性考察 取一定质量浓度的对照品、供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由图可知, 提取物中其他成分对测定无干扰, 欧前胡素色谱峰可达到基线分离, 其分离度大于 1.5, 理论塔板数大于 4 000。

2.3.5 精密度试验 对照品溶液 (0.996  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 在“2.3.1”项色谱条件下, 同一天测定 6 次, 连续 3 d, 测得日内、日间精密度 RSD 分别为 0.825%、1.89%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取提取物 II 约 10.0 mg, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 共 6 份, 在“2.3.1”项色谱条件下测定, 测得欧前胡素峰面积 RSD 为 2.3%, 表明该方法重复性良好。

2.3.7 加样回收率试验 取含有量已知的提取物 II 约 10.0 mg, 共 9 份, 按照欧前胡素含有量的 50%、100%、150% 分别加入对照品 0.049 8、0.099 6、0.149 4 mg, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 测得平均加样回收率分别为 98.6%、99.2%、100.3%, RSD 分别为 2.1%、1.8%、2.9%。

2.3.8 测定方法 精密称取 4 种提取物各约 10.0 mg, 平行 3 份, 按“2.2.2”项下方法制备

供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下测定, 外标一点法计算含有量, 结果分别为 0.633%、0.540%、0.465%、0.155%, 而药材粉末为 0.147%。

### 2.4 流动性考察

2.4.1 休止角<sup>[12-13]</sup> 将 4 种提取物粉碎至细粉 (80 目), 采用注入法测定其休止角, 平行 3 次, 结果分别为 (48.455  $\pm$  1.214) $^{\circ}$ 、(43.587  $\pm$  1.116) $^{\circ}$ 、(42.689  $\pm$  0.859) $^{\circ}$ 、(42.024  $\pm$  1.476) $^{\circ}$ , 可知提取物 II ~ IV 的休止角均小于 I, 表明水提预处理有利于增加提取物细粉的流动性。

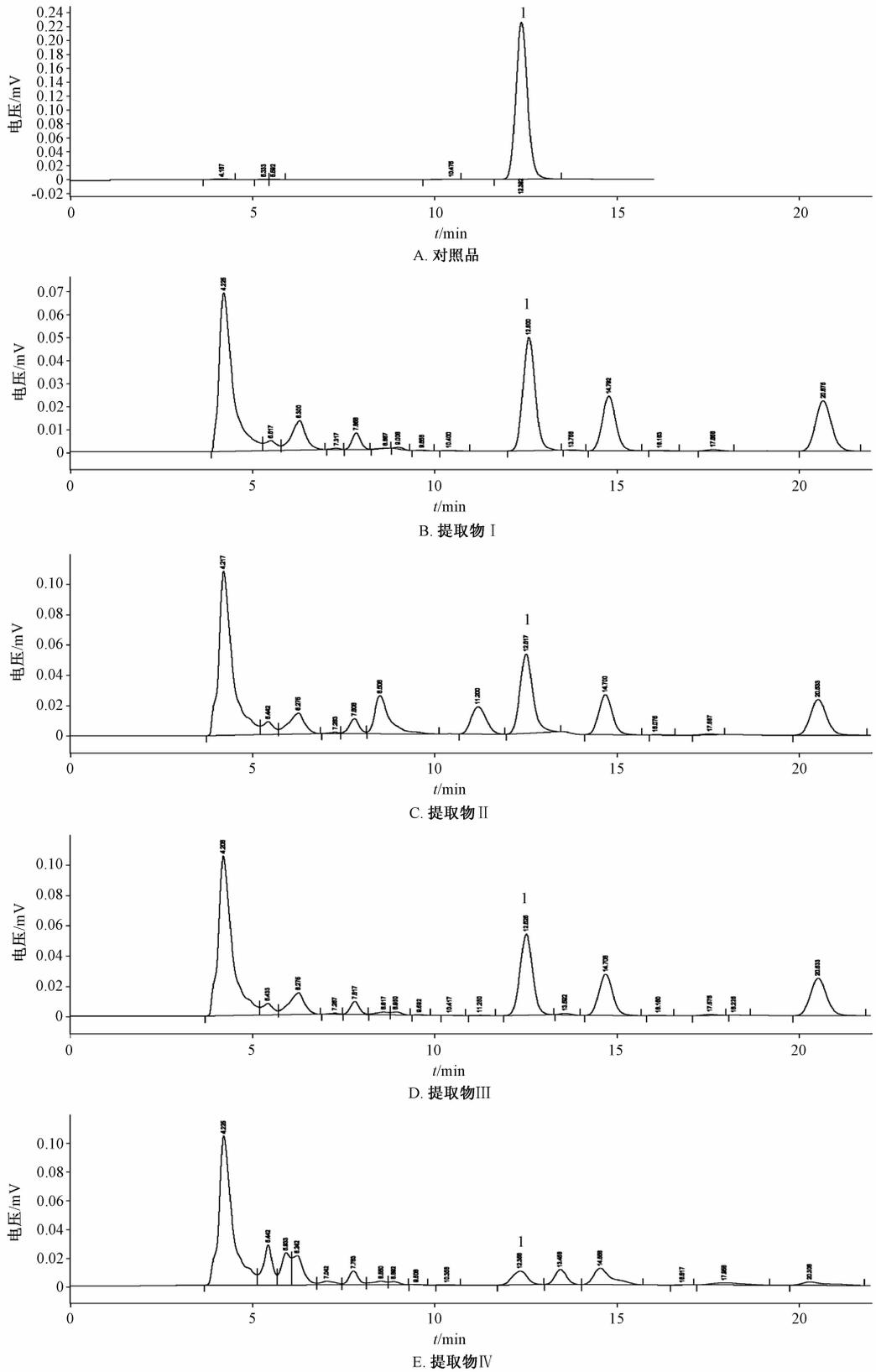
2.4.2 堆密度<sup>[13]</sup> 将 4 种提取物细粉轻轻装入 10 mL 量筒中, 连续 3 次, 测量最初松体积, 计算堆密度, 结果分别为 (0.214  $\pm$  0.006)、(0.324  $\pm$  0.021)、(0.316  $\pm$  0.003)、(0.354  $\pm$  0.002)  $\text{g}/\text{cm}^3$ , 可知提取物 II ~ IV 的堆密度均大于 I, 即三者流动性均优于提取物 I, 与“2.4.1”项下结果一致。

2.5 吸湿率 精密称取已干燥至恒重的 4 种提取物各约 0.5 g, 平铺到称量瓶底部, 置于恒温恒湿箱 (25  $^{\circ}\text{C}$ 、75%) 中, 于 2、4、8、12、24、36、48、60、72、96 h 称定质量, 计算吸湿率, 结果见图 2。由图可知, 提取物 I 的吸湿速率和平衡吸湿量均大于 II ~ IV, 并且后三者曲线无明显差别, 其原因可能是应用水提法进行预处理时可除去部分水溶性成分, 使其在提取物中的含有量下降。

2.6 溶出度 按照 2015 版《中国药典》第四部附录中溶出度的第三法。分别取 4 种提取物和药材饮片, 粉碎至 80 目, 分别精密称取 4 种提取物细粉 0.081、0.095、0.111、0.332 g (相当于 0.514 5 mg 欧前胡素) 和饮片细粉 0.350 g (相当于 0.514 5 mg 欧前胡素), 置于 250 mL 含 0.1% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 的水溶液中, 于 10、20、30、45、60、90、120 min 取样 2.5 mL, 同时补加等温同体积空白溶剂。不同时间点的样品经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后弃去初滤液, 取续滤液, 在“2.3.1”项色谱条件下测定, 计算溶出度, 结果见图 3。由图可知, 4 种提取物的溶出度均明显高于药材细粉, 而且水提预处理略低于乙醇回流, 其原因可能是水提后部分水溶性成分被除去, 减小了提取物的润湿性, 导致溶出度下降。

## 3 讨论

中药提取物的粉体学性质与后续制剂工艺及最终制剂质量密切相关, 包括流动性、吸湿性、比表面积等。本实验发现, 与传统乙醇回流提取相比, 水提预处理可显著提高白芷香豆素提取物流动性,



1. 欧前胡素  
1. imperatorin

图1 欧前胡素 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of imperatorin

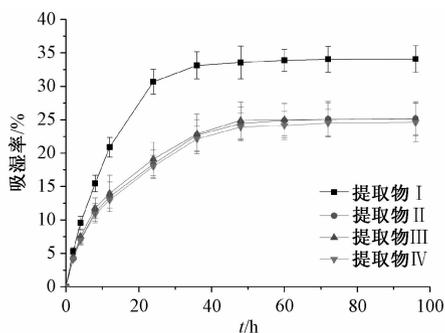


图2 4种提取物吸湿曲线

Fig. 2 Moisture absorption curves for four extracts

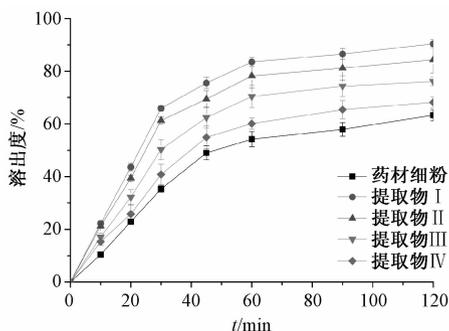


图3 4种提取物溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curves for four extracts

并降低其吸湿性，即有利于提高其粉体学性质，虽然其溶出度略有降低，但显著高于药材细粉。同时，该方法操作简单，易于工业化，今后将其工艺参数作进一步优化。

### 参考文献:

- [1] 吴雪松, 许 浚, 张喜民, 等. 元胡止痛方的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(7): 1081-1095.
- [2] 吴媛媛, 蒋桂华, 马逾英, 等. 白芷的药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 625-627.
- [3] 周爱德, 李 强, 雷海民. 白芷化学成分的研究[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1081-1083.
- [4] 王海莉, 王春梅, 李 贺, 等. 白芷香豆素的镇痛作用部位及其机制[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(15): 1902-1904.
- [5] 肖 凌, 侯俊杰, 聂 晶, 等. 液-质联用研究元胡止痛系列制剂特征图谱[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(8): 574-579.
- [6] 韩彦琪, 许 浚, 龚苏晓, 等. HPLC-QTOF/MS 方法分析元胡止痛方的化学成分[J]. 药学报, 2017, 52(1): 132-138.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [8] 肖 凌, 侯俊杰, 聂 晶, 等. 元胡止痛系列制剂中5种有效成分定量测定的研究[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1068-1072.
- [9] 周 冰, 刘 培, 陈 京, 等. 不同产地白芷药材中香豆素类及多糖类化学成分的分析评价[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(1): 68-73.
- [10] 蓝耀宏. 响应面优化白芷总香豆素提取工艺的研究[J]. 化工技术与开发, 2014, 43(2): 20-24.
- [11] 袁 瑜, 张 良, 李玉锋, 等. 渗漉法提取白芷总香豆素的工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 302-303.
- [12] 廖正根, 陈绪龙, 赵国巍, 等. 超微粉碎对骨碎补理化性质的影响[J]. 中草药, 2011, 42(3): 461-465.
- [13] 褚洪标, 汪小英, 张燕军, 等. 黄柏不同粒径粉体显微特性及溶出性能研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(9): 1620-1625.