

C₂₉H₃₀N₆O₆(%): 计算值 C 62.36, H 5.41, N 15.05; 测得值 C 62.37, H 5.43, N 15.09。

2 结果与讨论

与以前的合成方法相比, 本实验在以下几点做了改进: ①使用溴化氢代替剧毒、易挥发的溴素作为溴源, 更为安全环保; ②通过合理安排反应步骤, 避免了分子量较大的保护基“三苯基甲基(-CPh₃)”的使用, 体现了原子经济性; ③“一锅法”实现了 *N*-烷基化和皂化-酯化反应, 操作大大简化; ④四氮唑化反应, 使用固体氯化锌代替传统的液体三丁基氯化锡作为路易斯酸, 挥发性减少, 易于操作; ⑤整个工艺只用到 DMF、二氯甲烷、乙腈 3 种有机溶剂, 工业化时可减少分析、仓储费用, 降低生产成本。

本合成工艺路线简短, 操作简便, 绿色环保, 成本较低, 收率高, 适合奥美沙坦酯的工业化生产。

REFERENCES

- [1] 张海波, 陈国俊, 孟霆. 奥美沙坦酯合成路线图解[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(1): 867-869.

- [2] YANAGISAWA H, AMEMIYA Y, KANAZAKI T, et al. Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: synthesis, biological activities, and structure-activity relationships of imidazole-5-carboxylic acids bearing alkyl, alkenyl, and hydroxyalkyl substituents at the 4-position and their related compounds [J]. *J Med Chem*, 1996, 39(1): 323-338.
- [3] JEONG-SOO C, MOHAMMED I E-G, CHANG-HYUN O, et al. Design, synthesis, bioconversion, and pharmacokinetics evaluation of new ester prodrugs of olmesartan [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46(9): 3564-3569.
- [4] ZUPANCIC S, PECAVAR A, VRBINC M, et al. Process for the preparation of olmesartan medoxomil: US, 7943779B2 [P]. 2011-05-17.
- [5] 何其林, 耿玉先. 一种奥美沙坦酯的制备方法: China, 1680335 [P]. 2005-10-12.
- [6] WU T Z, LIU X H. A novel synthesis of olmesartan medoxomil and examination of its related impurities [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2006, 41(6): 537-543.
- [7] VEVERKA M, PUTALA M, BRATH H, et al. Process for the preparation of sartan derivatives and intermediates useful in such process [P]. US: 7868180B2, 2011-01-11.
- [8] HAN W W, WU J L. Summary of synthesis methods of olmesartan medoxomil and key intermediates [J]. *Chem Reagent(化学试剂)*, 2013, 35(8): 711-716.
- [9] ALDO S, RENATO C. Process for the preparation of 4-bromomethyl diphenyl compounds: US, 611114A [P]. 2000-08-29.

收稿日期: 2015-12-26

多指标综合评分法优化痹痛消巴布膏提取工艺

詹强¹, 陈红梅¹, 俞忠明², 王娜妮² (1. 杭州市中医院, 杭州 310007; 2. 浙江省中医药研究院, 杭州 310007)

摘要: 目的 优选痹痛消巴布膏的提取工艺。方法 以挥发油提取率为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交法优化挥发油提取工艺; 分别以丹酚酸 B、阿魏酸, 干浸膏得率为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交法优化药材水提取与醇提取工艺。结果 最佳挥发油提取工艺为药材剪碎成颗粒加 10 倍量水提取 3 h; 最佳水提取工艺为提取 2 次, 每次加水量 15 倍, 每次提取时间为 3 h; 最佳醇提取工艺为乙醇回流法, 提取 3 次, 每次 65% 乙醇倍数为 20 倍, 每次提取时间为 2.5 h。结论 采用多指标综合评分法优选的痹痛消巴布膏提取工艺合理、可行。

关键词: 痹痛消巴布剂; 正交设计; 丹酚酸 B; 阿魏酸

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)07-0891-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.07.014

Optimization for Extraction Technology of Bitongxiao Cataplastm by Multicriteria Comprehensive Assessment

ZHAN Qiang¹, CHEN Hongmei¹, YU Zhongming², WANG Nani² (1. Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China; 2. Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction conditions of Bitongxiao Cataplastm. **METHODS** Orthogonal design

基金项目: 浙江省经贸委中药现代化专项

作者简介: 詹强, 男, 硕士, 主任中医师

Tel: (0571)85827931

E-mail: zqtow@163.com

L₉(3⁴) was used for the optimization of extraction conditions of essential oil guided by yield of essential oil. The orthogonal design L₉(3⁴) was carried out for the optimum water extraction conditions guided by yields of salvianolic acid B and ferulic acid. The orthogonal design L₉(3⁴) was carried out for the optimum ethanol extraction conditions guided by yield of dry extract. **RESULTS** The optimum extraction conditions of essential oil were determined with using 10 times of water and decocting 3 h. The optimum water extraction conditions were determined with using 15 times of water, decocting 2 times and 3 h each time. The optimum ethanol extraction conditions were determined with decocting 3 times, 20 times of 65% ethanol and 2.5 h each time. **CONCLUSION** The optimum extractions were reasonable and practical.

KEY WORDS: Bitongxiao cataplasm; orthogonal design; salvianolic acid B; ferulic acid

痹痛消巴布膏制剂为杭州市名中医詹强主任中医师多年临床实践的经验方,具有补益肝肾,强筋壮骨,活血化瘀,通络止痛之功效。方中独活、桑寄生补肝肾,强筋骨,祛风湿^[1-2],为君药。细辛、丹参、当归协助君药发挥补气生血,通经络,除风湿,散瘀消肿之功效^[3-4],为臣药。川芎、红花、乳香、没药皆能止痛、消肿、生肌,以上诸药合为佐药。芥子辛散功窜,消皮里膜外之痰^[5],使药直达病所,故为使药。诸药合理配伍,标本兼治。正交实验法就是利用排列整齐的正交表来对实验进行整体设计、综合比较、统计分析,实现通过少数的实验次数找到较好的生产条件,以达到最佳工艺效果。巴布膏剂的质量控制指标一般包括含膏量、粘附性、药物成分含量等^[6-7]。

本研究针对痹痛消巴布膏制剂的特点,采用多指标评分正交实验优选提取工艺^[8-9],以挥发油提取率,丹酚酸 B、阿魏酸含量,干浸膏得率为指标,采用综合评分法优选挥发油提取工艺、药材水提工艺和药材醇提工艺,为痹痛消巴布膏制剂的质量标准制定和制剂研发提供实验依据。

1 仪器与试剂

LC-20A vp 高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-20A UV 检测器(日本岛津); METELLER 电子分析天平(瑞士梅特勒)。丹酚酸 B 对照品(批号: 111562.2003, 含量≥98%)、阿魏酸对照品(批号: 110826-201013, 含量≥98%)均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为色谱纯,水为去离子水,其余均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺研究

采用水蒸气蒸馏法,提取独活、当归、细辛、川芎中的挥发油,以挥发油提取率为指标,以药材粒度、加水量、提取时间为因素,各设 3 水平,按 L₉(3⁴)正交试验表安排实验,确定最佳提取工艺,结果见表 1~3。

表 1 挥发油提取的正交试验因素水平表

Tab. 1 Orthogonal test factor level table of volatile oil extraction

因素/水平	A 药材粒度	B 加水量/倍	C 提取时间/h
1	原药材	6	1
2	颗粒	8	2
3	粗粉	10	3

表 2 正交试验结果及极差分析结果

Tab. 2 Results of orthogonal test and range analysis

因素/ 试验号	A	B	C	D/空列	挥发油 提取率/%
1	1	1	1	1	1.8
2	1	2	2	2	2.4
3	1	3	3	3	3.4
4	2	1	2	3	3.6
5	2	2	3	1	4.3
6	2	3	1	2	3.8
7	3	1	3	2	2.7
8	3	2	1	3	2.9
9	3	3	2	1	3.3
K ₁	2.533	2.700	2.833		
K ₂	3.900	3.200	3.100		
K ₃	2.967	3.500	3.467		
R	1.367	0.800	0.634		

表 3 方差分析表

Tab. 3 The table of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	2.927	2	1.656	6.940	
B	0.980	2	0.555	6.940	
C	0.607	2	0.344	6.940	
D	0.167	2	0.095	6.940	
误差	3.530				

经极差分析结果表明,因素影响 A>B>C,最佳提取工艺为 A₂B₃C₃,故最终确定独活、当归、川芎、细辛挥发油提取工艺为药材剪碎成颗粒加 10 倍量水提取 3 h。

2.2 水提工艺正交试验

2.2.1 提取方法 独活、当归、细辛、川芎经挥

发油提取后的药渣，加入丹参、桑寄生、红花、芥子，加水煎煮得到水提液。采用综合评分法，评分标准：以丹酚酸 B 含量最高为 50 分，依次类推；以阿魏酸含量最高为 50 分，依次类推，将二项相加计算总分。采用正交设计实验，以加水量、提取次数、提取时间为因素，以丹酚酸 B、阿魏酸的含量为考察指标，各设 3 水平，作 $L_9(3^4)$ 正交试验，结果见表 4。通过正交试验表统计分析软件计算结果，确定最佳提取工艺。

表 4 因素水平表

Tab. 4 The table of factor levels

因素/水平	A 提取总时间/h	B 提取次数	C 加水量/倍
1	1	1	10
2	2	2	15
3	3	3	20

2.2.2 丹酚酸 B 含量的测定 ①色谱条件：色谱柱为 Diamonsil C_{18} ，流动相为有机相 A 为甲醇-乙腈(3:1)；水相 B 为 1.67% 甲酸水溶液；A-B(30%:70%)，柱温 30 °C，进样量 10 μ L，检测波长 286 nm。

②对照品溶液的制备：取丹酚酸 B 对照品，加 75% 甲醇制成 1 mL 含 0.155 mg 的对照品溶液。

③供试品溶液的制备：复方水煎液浓缩至 250 mL，过滤，精密吸取续滤液 2.5 mL 于 25 mL 量瓶中，加水至刻度，微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

④标准曲线的绘制：精密吸取上述丹酚酸 B 对照品溶液各 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 μ L 注入液相色谱，按上述色谱条件测定峰面积，以进样量(μ g)为 x 轴，以峰面积为 y 轴，作线性回归方程： $y=335.63x-11.837$ ， $R^2=0.9996$ ，表明进样量在 0.235~4.7 μ g 有良好的线性关系。

⑤含量测定：精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 5 μ L，注入液相色谱中，按上述色谱条件测定峰面积，计算丹酚酸 B 含量，高效液相色谱图见图 1。

2.2.3 阿魏酸含量的测定 ①色谱条件：Capcell C_{18} 色谱柱；乙腈-0.085% 磷酸溶液(17:83)；检测波长 316 nm；柱温 35 °C。

②对照品溶液制备：取阿魏酸对照品，加 70% 甲醇制成 1 mL 含 13.08 μ g 的溶液，即得。

③供试品溶液的制备：照“2.2.2”项下供试品溶液制备方法操作。

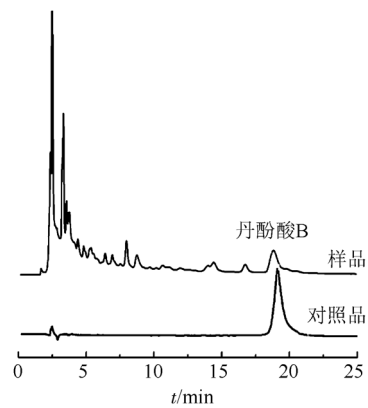


图 1 丹酚酸 B 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of salvianolic acid B

④标准曲线的绘制：精密吸取上述阿魏酸对照品溶液各 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 μ L，注入液相色谱，按上述色谱条件测定峰面积，以进样量(μ g)为 x 轴，以峰面积为 y 轴，作线性回归方程： $y=41460x+46521$ ， $R^2=1$ ，表明进样量在 6.54~130.8 ng 有良好的线性关系。

⑤含量测定：精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L，注入液相色谱中，按上述色谱条件测定峰面积，计算阿魏酸含量，高效液相色谱图见图 2。

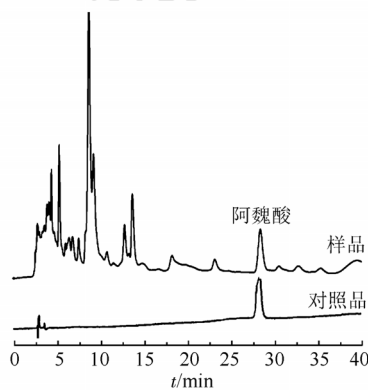


图 2 阿魏酸的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of ferulic acid

2.2.4 正交试验结果 按照 $L_9(3^4)$ 水提取正交设计表的条件进行实验，分别测得丹酚酸 B 和阿魏酸含量，并进行多指标综合评分。评分时以各指标的最大值为参照，将数据进行归一化，丹酚酸 B 和阿魏酸的权重系数均为 0.5。经极差分析结果表明因素影响 $A>B>C$ ，确定的最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2$ ，即加水总量 15 倍，提取次数 2 次，提取总时间为 3 h。正交试验结果见表 5~6。

表 5 正交试验结果

Tab. 5 The result of orthogonal text

	A	B	C	D	丹酚酸 B		阿魏酸		总分
					含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	得分	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	得分	
1	1	1	1	1	0.024	18.18	8.40	23.36	41.54
2	1	2	2	2	0.030	22.73	12.56	34.93	57.66
3	1	3	3	3	0.026	19.70	7.18	19.97	39.67
4	2	1	2	3	0.025	18.94	5.13	14.27	33.21
5	2	2	3	1	0.028	21.21	8.15	22.66	43.87
6	2	3	1	2	0.052	39.39	5.02	13.96	53.35
7	3	1	3	2	0.045	34.09	11.27	31.34	65.43
8	3	2	1	3	0.052	39.39	17.98	50.00	89.39
9	3	3	2	1	0.066	50.00	11.38	31.65	81.65
K_1	46.290	46.727	55.687						
K_2	43.477	63.640	58.813						
K_3	78.823	58.223	54.090						
R	35.346	16.913	4.723						

表 6 方差分析表

Tab. 6 The table of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	2 315.719	2	1.676	6.940	
B	447.574	2	0.324	6.940	
C	215.522	2	0.156	6.940	
D	34.635	2	0.025	6.940	
误差	2 763.29	4			

2.3 醇提工艺正交试验

2.3.1 提取方法 采用乙醇回流提取法提取乳香、没药。以干浸膏得率为指标，以提取次数、乙醇浓度、乙醇用量、提取总时间为因素，设 3 个水平，作 $L_9(3^4)$ 正交试验，结果见表 7~9。

表 7 因素水平表

Tab. 7 The table of factor levels

因素/水平	提取次数	乙醇浓度/%	乙醇用量/倍	提取总时间/h
1	1	50	10	1.5
2	2	65	15	2
3	3	80	20	2.5

2.3.2 结果 经极差分析结果表明因素影响 $A>C>D>B$ ，最佳提取工艺为 $A_3B_2C_3D_3$ ，故最终确定制乳香、制没药提取工艺为乙醇回流法，加 65% 乙醇，提取 3 次，乙醇总倍数为 20 倍，提取总时间为 2.5 h。

2.4 最佳提取工艺

按处方比例取独活、当归、细辛、川芎剪碎成颗粒，加 10 倍量水，采用水蒸气蒸馏法提取挥

表 8 正交试验结果

Tab. 8 The result of orthogonal text

试验号	A	B	C	D	干浸膏得率/%
1	1	1	1	1	7.42
2	1	2	2	2	9.35
3	1	3	3	3	10.27
4	2	1	2	3	13.21
5	2	2	3	1	13.58
6	2	3	1	2	9.15
7	3	1	3	2	12.77
8	3	2	1	3	12.08
9	3	3	2	1	11.19
K_1	9.013	11.133	9.550	10.730	
K_2	11.980	11.670	11.250	10.423	
K_3	12.013	10.203	12.207	11.853	
R	3.000	1.467	2.657	1.430	

表 9 方差分析表

Tab. 9 The table of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	17.802	2	1.687	6.940	
B	3.304	2	0.313	6.940	
C	10.863	2	1.029	6.940	
D	3.401	2	0.322	6.940	
误差	21.11	4			

发油 3 h；按处方比例取丹参、桑寄生、红花、芥子，加入上述挥发油提取后的药渣加水总量 15 倍，提取 2 次，提取总时间 3 h；按处方比例取乳香、制没药采用乙醇回流法，加 65% 乙醇，提取 3 次，乙醇总倍数为 20 倍，提取总时间为 2.5 h。

3 讨论

3.1 含量指标的选择

桑寄生为处方君药, 主要含黄酮类成分, 但中国药典 2015 年版一部中没有含量测定方法, 故无法作为含量指标。根据中国药典规定, 对方药材进行了含量指标筛选和含量测定方法学研究, 包括独活中蛇床子素的 HPLC 含量测定, 细辛中细辛脂素的 GC 含量测定, 红花中羟基红花黄色素 A 的 HPLC 含量测定, 介子中芥子碱硫氰酸盐的 HPLC 含量测定等, 结果蛇床子素含量极低, 细辛脂素及芥子碱硫氰酸盐均无法测出, 红花中羟基红花黄色素 A 的测定受其他成分干扰, 无法获得满意的定量方法。丹酚酸 B 为丹参的主要有效成分^[10], 经专属性考察, 缺丹参处方药材提取所得的缺味样品中未检测到丹酚酸 B; 处方中当归及川芎中均含有阿魏酸^[11], 专属性考察在缺当归及缺川芎样品中均检测到阿魏酸, 但作为优选提取工艺的指标, 阿魏酸含量能够反应药材中有效成分的提取效率, 故将丹酚酸 B、阿魏酸作为含量测定指标。中国药典中乳香、没药均无含量测定指标, 因而醇提工艺优化仅以药材干浸膏率为含量指标。

3.2 药材提取工艺的优化

处方中独活、当归、细辛、川芎均含有挥发油, 挥发油通常为小分子、脂溶性物质, 具有容易通过角质层、皮肤脂质屏障的特点, 在外用贴敷制剂巴布膏中能够发挥促透剂的作用, 因此,

本研究首先提取上述药材中的挥发油, 然后再进行水煎煮提取。

REFERENCES

- [1] ZHOU G, MA B H. The development on the study of Radix Angelicae Pubescentis [J]. China Mod Med(中国当代医药), 2012, 19(16): 15-16.
- [2] SU B W, ZHANG X J, ZHU K X, et al. Optimization of extraction technology of quercitrin from taxillus chinensis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(2): 8-10.
- [3] WANG X L, JIN L J, XU F X, et al. Research progress of chinese herb-asarum [J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2013, 9(7): 68-71.
- [4] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [5] 崔国静, 孙欢欢. 芥子的鉴别及炮制应用[J]. 首都医药, 2014, 11(11): 44-45.
- [6] 刘明海. 近年国内巴布剂体外透皮性能研究现状及进展[J]. 中成药, 2011, 33(6): 1033-1036.
- [7] HU Y H, LIU Y H, LI J, et al. Study on the matrix of chinese medicine patcher [J]. Med Recap(医学综述), 2012, 18(13): 2093-2096.
- [8] OUYANG L, DUAN X M, LI H L, et al. Optimization of extraction process for bushenhuayu extracts with orthogonal test [J]. Pract Pharm Clin Remed(实用药物与临床), 2015, 18(8): 951-953.
- [9] HUANG Q L, WANG X, ZHANG Y, et al. Optimization for extraction technology of qinlian baizhu granule by multivariate comprehensive assessment [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2012, 30(6): 1318-1320.
- [10] 中国药典 一部[J]. 2015: 76-77.
- [11] BAI J, LU Y, DU S Y, et al. Pharmacokinetics of ferulic acid in transdermal delivery [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2013, 38(5): 743-747.

收稿日期: 2015-01-06

多索茶碱脉冲控释微丸的研制

高捷¹, 朱森², 沃联群¹, 王文喜^{2*} (1. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100; 2. 浙江工业大学, 杭州 310014)

摘要: 目的 研究多索茶碱脉冲控释微丸的制备工艺, 并考察其释药性能。方法 以微晶纤维素为骨架材料采用挤出滚圆法制备载药丸芯, 通过流化床包衣法分别覆上交联羧甲基纤维素钠作为溶胀层、乙基纤维素和羟丙甲纤维素作为控释层制备多索茶碱脉冲微丸, 通过单因素考察筛选丸芯、溶胀层、控释层的处方组成对体外释药性能的影响。结果 以微晶纤维素、羧甲基淀粉钠和乳糖为添加剂可制得性能良好的高载药微丸。随着溶胀层厚度的增加, 药物释放时滞变短, 速率显著增加; 随着控释层包衣厚度的增加, 时滞延长, 释药减慢; 控释层中羟丙甲纤维素用量或分子量增加, 时滞缩短; 控释层中增塑剂用量增加, 时滞延长。结论 所得包衣微丸具有良好的脉冲释药性能, 有广阔的应用前景。

基金项目: 宁波市科技计划项目(2013C50059)

作者简介: 高捷, 女, 高级实验师 Tel: (0574)88223359 E-mail: gj3029@163.com *通信作者: 王文喜, 男, 博士, 副教授, 硕导 Tel: (0571)88320759 E-mail: yjw@zjut.edu.cn