

## 复方茜草片的制备工艺优选

方乐敏, 刘云, 王冰, 浦益琼\*, 张彤\*, 李俊松  
(上海中医药大学, 上海 201203)

**[摘要]** **目的:** 优选复方茜草片的提取工艺和成型工艺, 为该制剂的工业生产和临床推广提供参考。**方法:** 采用药效学试验筛选复方茜草片的提取方式, 以大叶茜草素和羟基萘醌总色素提取率的综合评分为指标, 通过正交试验考察提取温度、溶剂用量、提取时间对提取工艺的影响。利用单因素试验优选复方茜草片的成型工艺。**结果:** 最佳提取和成型工艺为加 10, 8 倍量 95% 乙醇于 95 ℃ 水浴回流提取 2 次, 每次 1 h, 合并提取液, 减压回收溶剂, 干燥制成浸膏; 取该浸膏适量, 加入适量微晶纤维素和羧甲基淀粉钠, 混匀, 以 5% 聚维酮-K30 为黏合剂, 湿法制粒, 干燥, 过 20 目筛整粒, 加适量硬脂酸镁, 压片, 包薄膜衣, 片剂增重 1%, 包装。浸膏中大叶茜草素和羟基萘醌总色素质量分数分别为 6.68%, 10.81%, 浸膏得率 4.57%, RSD 依次为 2.4%, 4.6%, 2.1%。片剂硬度约 4.5 kg, 崩解时限 25 min, 包衣效果良好。**结论:** 优化的工艺条件合理可行, 适用于复方茜草片的工业化生产。

**[关键词]** 复方茜草片; 出血时间; 大叶茜草素; 黏合剂; 崩解时限

**[中图分类号]** R283.6; R285.5; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)04-0011-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040011

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151229.1130.016.html>

**[网络出版时间]** 2015-12-29 11:30

## Optimization of Preparation Technology of Compound Qiancao Tablets

FANG Yue-min, LIU Yun, WANG Bing, PU Yi-qiong\*, ZHANG Tong\*, LI Jun-song  
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize preparation process of compound Qiancao tablets. **Method:** Pharmacodynamic test was adopted to screen extraction method, orthogonal test was used to optimize conditions of extracting temperature, solvent amount and extracting time in extraction process of compound Qiancao tablets, with extracting rates of mollugin and hydroxynaphthoquinones as indexes. Molding process of compound Qiancao tablets was optimized by single factor tests. **Result:** Optimal extraction and molding processes were as follows: extracted twice with 10-fold and 8-fold 95% ethanol refluxing at 95 ℃, 1 hour for per time, then vacuum dried to obtain extract; added MCC and CMS-Na into extract, mixed with 5% PVP-K30 as an adhesive to obtain wet granules, dried granules and granulated through a twenty-mesh sieve; added proper amount of magnesium stearate for tableting with coating weight of 1%. Dry extract rate was 4.57%, contents of mollugin and hydroxynaphthoquinones in extract were 6.68% and 10.81%. Hardness of the tablets was 4.5 kg and disintegration time was 25 min with good coating performance. **Conclusion:** These optimized processes are reasonably practicable, which can be applicable to industrial production of compound Qiancao tablets.

**[Key words]** compound Qiancao tablets; bleeding time; mollugin; adhesives; disintegration time

**[收稿日期]** 20150608(007)

**[基金项目]** 上海市科委中药现代化专项(11DZ1971500);上海市卫计委青年项目(20124Y002)

**[第一作者]** 方乐敏,在读硕士,从事药物新剂型和新技术研究,Tel:021-51322685,E-mail:diy430@163.com

**[通讯作者]** \*浦益琼,博士,讲师,从事中药制药与新剂型研究,Tel:021-51323068,E-mail:puyiq@163.com;

\*张彤,博士,教授,从事中药制药及中药分析技术研究,Tel:021-51322318,E-mail:zhangtdmj@hotmail.com

复方茜草片系上海中医药大学附属龙华医院的临床经验方,由茜草和紫草 2 味中药组成,用于改善肝硬化脾功能亢进引起的血小板减少症和凝血功能障碍,短期效果明显,现已成为协定处方,广泛用于肝硬化脾功能亢进和免疫性血小板减少性紫癜(immune thrombocytopenic purpura, ITP) 的治疗。君药茜草,性寒,味苦,归肝经,可凉血、止血、祛瘀、通经<sup>[1]</sup>,主要成分为蒽醌类化合物<sup>[2]</sup>;现代药理研究表明茜草具有止血、抗癌、抗氧化等作用<sup>[3]</sup>。臣药紫草,性寒,味甘、咸,入肝、心经,具有凉血活血、解毒透瘀的功效<sup>[4]</sup>,主要成分为萘醌类化合物;现代药理作用研究表明紫草具有抗炎镇痛、抗肿瘤及免疫调节、止血、肝保护等作用<sup>[5]</sup>。方中取紫草清热解毒凉血之功效,以加强茜草的凉血效果,全方组方精简,共奏凉血止血、清热活血之功效,适用于血小板减少症的治疗,尤其对免疫性血小板减少症有较好的疗效。由于复方茜草片处方量较大,每日的口服剂量按生药计为 30 g,故选择将 2 味药合提后,制成服用、携带方便的片剂。本实验根据药材性质和药效筛选结果,并结合实际生产特点,以大叶茜草素和羟基萘醌总色素的提取率为综合评价指标,采用正交试验优选提取物原料的提取工艺,并通过单因素试验优选该制剂的成型工艺,为复方茜草片的工业化生产提供参考。

## 1 材料

HP1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),TU-1900 型双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器公司),BS 124S 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],XS105DU 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),TDP 型单冲压片机(上海中药机械厂),SY-3D 型片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器厂),BYW 型无极调速包衣机(宝鸡建华制药机械有限公司)。

茜草饮片(上海青浦中药饮片有限公司,批号 100730)和紫草饮片(上海雷允上中药饮片厂,批号 2011110575),经上海中医药大学中药鉴定实验室李俊松高级实验师检验,均符合《中国药典》2010 年版的相关规定;大叶茜草素、左旋紫草素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110884-200604,110769-200405),聚维酮-K30(PVP-K30,美国国际特品公司),羧甲基淀粉钠(CMS-Na)和微晶纤维素(MCC)(药用级,西安惠安纤维素化工有限公司),胃溶型薄膜包衣预混剂(上海新菲尔生物制药工程技术有限公司),止血敏(上海衡山药业有限公司,批号 110609),醋酸地塞米松(上海信谊药厂有限公

司,批号 100303),甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级 Balb/c 小鼠,雌性,6~7 周龄,常规条件饲养,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

## 2 方法与结果

### 2.1 药效学试验筛选

**2.1.1 样品的制备** 称取茜草和紫草饮片各 200 g,加 10 倍量乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并提取液,减压回收溶剂,干燥,得复方茜草醇提物。称取茜草和紫草饮片各 200 g,加 10 倍量水回流提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并提取液,减压回收溶剂,干燥,得复方茜草水提物。

**2.1.2 动物分组** 设正常组,复方茜草醇提组(低、中、高剂量分别为 125,250,500 mg·kg<sup>-1</sup>),复方茜草水提组(500 mg·kg<sup>-1</sup>)和阳性组(第 1 次实验按 100 mg·kg<sup>-1</sup> 给予止血敏,第 2 次实验按 2 mg·kg<sup>-1</sup> 给予醋酸地塞米松)。取 Balb/c 小鼠 60 只,称重,随机分成 6 组,每组 10 只。

**2.1.3 出血时间的测定** 采用剪尾法测定正常小鼠的出血时间。小鼠随机分组后,每天给予(灌胃)相应受试药物与阳性药物,连续给药 2 周,于末次给药后 1 h,固定小鼠,用剪刀剪小鼠尾尖约 3 mm,从出血开始按下秒表计时,每隔 15 s 用滤纸轻点小鼠尾尖,直至无血迹或看不清血迹为止,所记时间即为出血时间。结果第 1 次实验时正常组,低、中、高复方茜草醇提组,复方茜草水提组和阳性组的出血时间分别为(534.38 ± 66.84), (406.88 ± 66.08), (423.75 ± 81.95), (221.25 ± 71.87), (339.38 ± 93.89), (303.75 ± 48.75) s,第 2 次实验时正常组,低、中、高复方茜草醇提组,复方茜草水提组和阳性组的出血时间分别为(485.00 ± 63.39), (456.67 ± 37.92), (430.00 ± 52.38), (266.67 ± 33.61), (393.33 ± 54.59), (301.67 ± 36.27) s。说明复方茜草提取物能够明显的促进正常小鼠的止血功能,缩短出血时间;比较醇提与水提 2 种工艺,在相同剂量条件下,醇提工艺的止血活性明显优于水提工艺。故确定采用醇提法。

**2.2 提取工艺优选** 预试验发现茜草和紫草合并醇提时,有效成分的提取率较高,选择 95% 乙醇为提取溶剂,提取数 2 次,以提取温度、溶剂用量、提取时间为考察因素,大叶茜草素和羟基萘醌总色素提取率的综合评分为指标。称取茜草、紫草饮片各 50 g,充分混合后,按正交表设定的条件提取。采用

HPLC 测定浸膏中大叶茜草素含量 [ Ultimate XB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-乙腈-0.2% 磷酸 (25:50:25), 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 250 nm, 柱温 30 ℃ ] 和 UV 测定羟基萘醌总色素的含量 (精密称取浸膏约 0.05 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声 20 min, 放冷, 用乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过,

取续滤液适量, 加乙醇稀释 10 倍, 摇匀, 得供试品溶液。精密称取左旋紫草素对照品适量, 加乙醇制成 0.02 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。照紫外-可见分光光度法在 516 nm 处测定吸光度, 采用外标一点法计算, 综合评分 = 大叶茜草素提取率 × 0.5 + 羟基萘醌总色素提取率 × 0.5。试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 复方茜草片提取工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of extraction process of compound Qiancao tablets

No.	A 提取温度 /℃	B 溶剂用量 /倍	C 提取时间 /h	D(空白)	大叶茜草素 /%	羟基萘醌总色素 /%	综合评分
1	95	10,8	2.0	1	95.77	59.19	77.48
2	95	8,8	1.5	2	93.68	52.36	73.02
3	95	6,6	1.0	3	99.06	56.09	77.58
4	80	10,8	1.5	3	87.21	43.23	65.22
5	80	8,8	1.0	1	96.15	23.54	59.85
6	80	6,6	2.0	2	79.83	42.48	61.16
7	65	10,8	1.0	2	81.82	40.42	61.12
8	65	8,8	2.0	3	79.59	23.33	51.46
9	65	6,6	1.5	1	81.89	34.80	58.35

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	MS	F	P
A	583.52	291.76	1 620.88	<0.01
B	65.33	32.67	181.47	<0.01
C	13.04	6.52	36.22	<0.05
D(误差)	0.36	0.18		

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

由直观分析可知, 各因素对综合评分的影响顺序为  $A > B > C$ 。方差分析表明, 因素 A, B, C 均对提取工艺具有极显著性或显著性影响, 选择最佳提取工艺组合  $A_1B_1C_3$ , 即提取温度 95 ℃, 分别加 10, 8 倍量 95% 乙醇提取 2 次, 每次 1 h。取茜草、紫草各 3 份, 每份 150 g, 按优选的工艺条件进行提取, 计算浸膏中大叶茜草素和羟基萘醌总色素质量分数分别为 6.68%, 10.81%, 浸膏得率 4.57%, RSD 依次为 2.4%, 4.6%, 2.1%。说明优选的复方茜草片提取工艺操作可行、质量稳定。

### 2.3 成型工艺优选

**2.3.1 黏合剂考察** 称取适量复方茜草浸膏, MCC 和 CMS-Na(总量 100 g), 选用含 5% PVP-K30 的乙醇溶液为黏合剂, 选择不同辅料比例和黏合剂用量, 以硬度和崩解时限为指标。结果发现当 CMS-Na 与

MCC 的质量比 < 2:1 时, 不易制粒; 当含 5% PVP-K30 的乙醇溶液用量 < 20 mL 时, 颗粒不成粒; 含 5% PVP-K30 的乙醇溶液用量 > 50 mL 时, 颗粒较黏。以片剂硬度和崩解时限综合考虑, 根据相应样品检测结果, 初步选择 CMS-Na-MCC(27:8) 为固体辅料加入比例, 含 5% PVP-K30 的乙醇溶液用量 40 mL(总量 100 g), 该制剂的颗粒成型较好, 且硬度 (4.5 kg) 和崩解时限 (25 min) 较为适宜。

**2.3.2 片剂硬度选择** 分别采用不同压力制备多批不同硬度 (1, 3, 5, 8, 9, 10 kg) 的样品, 测定样品的崩解时限分别为 8, 15, 20, 30, 40, 58 min, 根据 2010 年版《中国药典》一部的规定, 中药浸膏片需在 60 min 内全部崩解。结果表明片剂的硬度对崩解时限的影响较大, 随片剂的硬度增加, 崩解时限明显增加, 硬度 < 10 kg 时, 崩解时限都合格, < 2 kg 时则包衣时易碎片, 不能满足包衣的需要, 故选择压片时硬度 3 ~ 10 kg。

**2.3.3 包衣液选择** 素片呈棕褐色, 为了改善片剂的外观, 选用胃溶型薄膜包衣预混剂 (红色), 配成 20% 混悬液, 用喷枪喷入装有片剂的包衣锅中。取素片约 500 g, 置于包衣锅内, 开动包衣锅, 充分打磨片芯, 去除不合格片芯, 冷风吹去细尘, 称得素片总重 477.25 g。预热包衣锅, 同时不断搅拌已配好的

包衣液,使其完全溶解并保持均一,准备包衣。调节包衣锅 45 度倾角,转速  $4 \sim 5 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,压缩空气压力  $0.3 \sim 0.4 \text{ MPa}$ ,喷枪口径  $1.5 \text{ mm}$ ,开始喷入包衣液,片床温度保持在  $40 \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ 。目测包衣已掩盖大部分素片颜色后,继续包衣  $1 \text{ min}$  后,停止包衣并逐步系统降温。放冷后称重,经包衣后样品的总重  $482.14 \text{ g}$ 。经仔细检查,全部样品均掩色完全,且包衣质量良好。计算包衣增重  $1.0\%$ 。

综上所述,确定的成型工艺为取复方茜草浸膏,加入适量 MCC 和 CMS-Na,混匀,以含  $5\%$  PVP-K30 的乙醇溶液为黏合剂,湿法制粒,干燥,过 20 目筛整粒,加适量硬脂酸镁,压制成 1 000 片,包薄膜衣,片剂增重  $1\%$ ,包装,贴标签,即得。

### 3 讨论

中草药是多成分的有效部位对多靶点起药效作用,单一或几个化学指标成分并不能全面地保证药物的疗效,因此当主要药效有成熟模型时,可结合药效试验确认优选工艺条件的合理性。在本文的工艺研究中,通过测定出血时间,评估了复方茜草提取物促进止血作用的活性,并确定了提取工艺的基本方法。在中药前处理过程中,基于药效学试验的中药提取精制工艺的筛选,有利于保持与原方效果的一致性。

预试验结果显示多批茜草药材中羟基茜草素的含量差异较大,与其他文献报道一致<sup>[6]</sup>,且该成分在茜草中含量较低。因此在制备工艺优选的过程中,选择大叶茜草素( $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_4$ )为茜草提取的主要指标成分。提取温度对  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁的提取效果影响较大,在  $>80 \text{ }^\circ\text{C}$  的回流条件下,萘醌类成分的提取量急剧下降<sup>[7-10]</sup>。亦有文献报道很多市售紫草的  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁含量实际

并不能达到 2010 年版《中国药典》的标准 ( $\geq 0.30\%$ )<sup>[11]</sup>。因此,暂不将  $\beta, \beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁列入制备工艺的条件优选指标,而选取羟基萘醌总色素作为提取紫草的指标成分。提示中药提取过程中的指标成分的选择,应与市售药材的实际条件相符合,才能建立全面有效的优选条件。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:218,320.
- [2] 李鹏,胡正海. 茜草的生物学及化学成分与生物活性研究进展[J]. 中草药,2013,44(14):2009-2014.
- [3] 张振英,黄显峰. 茜草药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(15):2172-2173.
- [4] 谈静,方芳,郑琰,等. 紫草提取工艺研究[J]. 中药与临床,2013,4(6):11-13.
- [5] 詹志来,胡峻,刘谈,等. 紫草化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(21):4127-4135.
- [6] 郭桂明,蔡乐,梁小雨,等. HPLC 法测定茜草饮片中 大叶茜草素和羟基茜草素的含量[J]. 北京中医药,2011,30(7):541-543.
- [7] 冯文文,李国玉,谭勇,等. 新疆紫草中萘醌类成分的提取工艺研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2011,29(1):67-70.
- [8] 韩赞,史影影,韩丽琴. 紫草红色素提取稳定性研究[J]. 吉林医药学院学报,2009,30(1):28-29.
- [9] 韦英杰,王荣,袁慕荣,等. 紫草效应成分动态变化与稳定性研究[J]. 中药材,2011,34(4):611-615.
- [10] 王宏,彭冰,李萍,等. 紫草闪式提取醇提物 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(2):74-77.
- [11] 陈征,陈文明,任卫琼,等. 不同市场紫草相关质量的比较[J]. 中国当代医药,2014,22(10):7-9.

[责任编辑 刘德文]