

## 补阳还五汤总苷胶囊的制备工艺优选

邹龙,李欢欢,刘辉,邓常清\*  
(湖南中医药大学,长沙 410208)

**[摘要]** **目的:**优选补阳还五汤总苷胶囊的制备工艺。**方法:**以出膏率和黄芪甲苷含量为指标,采用正交试验优选补阳还五汤总苷胶囊的水提取工艺。采用 732 型阳离子交换树脂、三氯甲烷萃取和 DA-201 型大孔树脂对补阳还五汤中总苷类物质进行分离、纯化,通过单因素试验考察优选该制剂的成型工艺。**结果:**最佳水提取工艺为加 10,8 倍量水提取 2 次,每次 1 h。选择乳糖为吸湿剂,80% 乙醇为润湿剂,生产环境相对湿度应 < 60%,1.02 g 颗粒应分装入 6 粒 2 号胶囊中。**结论:**优选的提取、成型工艺条件合理可行,为补阳还五汤总苷胶囊的工业化生产提供参考。

**[关键词]** 补阳还五汤总苷胶囊; 正交试验; 黄芪甲苷; 制备工艺; 提取分离

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0008-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013160008

## Optimization of Preparation Technology of Total Glucosides of Buyang Huangwu Decoction Capsules

ZOU Long, LI Huan-huan, LIU Hui, DENG Chang-qing\*  
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize preparation process of total glucosides of Buyang Huanwu decoction (BYHWT) capsules. **Method:** With the content of astragaloside IV and extract yield as indexes, water extraction process of this capsules was optimized by orthogonal design. Isolation and purification of total glucosides from BYHWT was achieved by using 732 cation exchange resin firstly, then extracting with chloroform, and finally using DA-201 macroporous resin. Molding technology of this capsules was investigated by single factor tests. **Result:** Optimum water extraction technology was: extracted 2 times with 10, 8 times the volume of water, 1 h per time. Lactose as hygroscopic agent, 80% ethanol as wetting agent, relative humidity should be less than 50% for production environment, 1.02 g particles should be dispensed into 6 No. 2 capsules. **Conclusion:** Optimized extraction and molding technology was reasonable and feasible, which provided a reference for industrial production of total glucosides of BYHWT capsules.

**[Key words]** total glucosides of Buyang Huanwu decoction capsules; orthogonal test; astragaloside IV; preparation process; extraction and separation

补阳还五汤总苷胶囊源于《中国方剂大辞典》,

由经方补阳还五汤优化而来,该方始见于清代王清任所著《医林改错》,由黄芪、赤芍、桃仁、红花、当归、地龙、川芎组成。该制剂多用于治疗血管增殖性病变,疗效良好。补阳还五汤中苷类成分能有效抑制血管平滑肌细胞增殖,是该方中主要活性部分<sup>[1-10]</sup>。在不影响该方益气活血疗效的基础上,本实验拟将补阳还五汤中苷类成分制成胶囊,以提高其质量稳定性,通过多种方法和分析手段优化该胶囊的制备工艺。

**[收稿日期]** 20130228(018)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072750)

**[第一作者]** 邹龙,博士,教授,硕士生导师,从事中药制剂工艺与质量控制研究, Tel: 0731-88458071, E-mail: 1042231287@qq.com

**[通讯作者]** \* 邓常清,教授,博士生导师,从事中医药防治心脑血管疾病的基础研究, Tel: 0731-88458072, E-mail: dchangq@sohu.com

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent), Allteeh E1803300 型蒸发光散射(埃文森科技有限公司), AR124CN 型电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司)。

黄芪甲苷、芍药苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 YY20100809,20100505), 微晶纤维素(天津市化学试剂公司), 淀粉(西安悦来医药科技有限公司), 乳糖(镇江市康富生物工程有限公司), 糊精(山东广饶丽枫生物科技有限公司), 甲醇为色谱级,其他试剂均为分析级。药材均购自湖南老百姓大药房,经湖南中医药大学鉴定教研室刘塔斯教授鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求。

## 2 方法和结果

**2.1 正交试验因素水平考察** 在预试验基础上,确定提取 2 次,选取加水量、提取时间、浸泡时间为考察因素,每个因素设 3 个水平,以浸膏得率和黄芪甲苷含量为考察指标,采用  $L_9(3^4)$  正交表安排试验,因素水平见表 1。

表 1 补阳还五汤总苷胶囊水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 浸泡时间/h
1	12,10	1.5,1.0	1.0
2	10,8	1.0,1.0	0.5
3	8,6	1.0,0.5	0

### 2.2 黄芪甲苷含量测定<sup>[11]</sup>

**2.2.1 溶液的制备** 精密吸取  $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  浓缩液 10 mL,加入 95% 乙醇 80 mL 混匀,过滤,水浴 70 °C 蒸干,用 5 mL 甲醇定容,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成  $0.91\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.2.2 色谱条件** Kromasil  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(80:20),流速  $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,柱温 30 °C,蒸发光散射检测器,漂移管温度 60 °C,气体流量  $1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ,输出压力 0.5 MPa,进样量 10 μL。

**2.3 出膏率测定** 分别精密吸取样品溶液 25 mL,置于已经干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸至近干,移入 105 °C 真空干燥箱至恒重,取出置于干燥器中冷却 30 min,迅速称定质量。计算出膏率。

**2.4 水提取工艺优选** 称取 1/3 处方量的黄芪、赤芍、桃仁、红花、当归、地龙、川芎各 9 份,编号 1~9,置于 500 mL 圆底烧瓶中,按正交表中要求分别加水

浸泡,加热至微沸时开始计时,趁热过滤,浓缩,定容于 50 mL 量瓶,摇匀,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,测定,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 2 补阳还五汤总苷胶囊水提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	出膏率 /%	黄芪甲苷 提取量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
1	1	1	1	1	36.22	0.120
2	1	2	2	2	34.89	0.118
3	1	3	3	3	35.23	0.116
4	2	1	2	3	35.78	0.125
5	2	2	3	1	34.43	0.132
6	2	3	1	2	34.77	0.128
7	3	1	3	2	37.79	0.130
8	3	2	1	3	32.96	0.130
9	3	3	2	1	33.96	0.118
出膏率	$K_1$	106.34	106.79	103.95	104.61	
	$K_2$	104.98	102.28	104.63	104.45	
	$K_3$	101.71	103.96	104.45	103.97	
	R	4.63	4.51	0.68	0.64	
黄芪甲苷	$K_1$	0.353 7	0.374 6	0.376 3	0.370 1	
提取量	$K_2$	0.384 4	0.378 9	0.361 1	0.375 3	
	$K_3$	0.376 9	0.361 5	0.377 6	0.369 6	
	R	0.030 7	0.017 4	0.016 5	0.005 7	

表 3 水提工艺方差分析

	方差来源	SS	f	MS	F	P
出膏率	A	3.755	2	1.888	51.051	<0.05
	B	3.463	2	1.732	46.832	<0.05
	C	0.083	2	0.041	1.119	>0.05
	D(误差)	0.074	2	0.037		
黄芪甲苷	A	0	2	$8.539 \times 10^{-5}$	25.711	<0.05
提取量	B	$5.476 \times 10^{-5}$	2	$2.738 \times 10^{-5}$	8.245	>0.05
	C	$5.611 \times 10^{-5}$	2	$2.805 \times 10^{-5}$	8.447	>0.05
	D(误差)	$6.642 \times 10^{-6}$	2	$3.321 \times 10^{-6}$		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00, F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

由直观分析可知,浸膏得率的最优工艺为  $A_3B_1C_3$ ,黄芪甲苷提取量的最优工艺为  $A_2B_2C_3$ 。方差分析结果表明,加水量和提取时间对浸膏得率具有显著性影响,且加水量对黄芪甲苷含量影响显著。结合成本等考虑从,确定最佳水提取工艺  $A_2B_2C_3$ ,即药材不浸泡,加 10,8 倍量水提取 2 次,每次 1 h。

**2.5 验证试验** 取同一批次药材,按最佳提取工艺

进行 3 次验证试验,结果浸膏得率(34.62 ± 0.76)%,黄芪甲苷提取量(0.130 ± 0.002) mg·g<sup>-1</sup>,转移率(62.152 ± 0.009)%,说明该工艺稳定可行,适用于工业生产。

## 2.6 总苷类物质的分离和质量控制

**2.6.1 总苷类物质的分离** 按处方比例称取适量药材,按优选工艺进行提取,合并提取液,用 95% 乙醇醇沉至乙醇体积分数 85%,醇沉 2 次,静置,过滤,回收乙醇并将溶液 pH 调至 2,通过预处理好的 732 型阳离子树脂,用 3 BV 水洗,收集洗脱液,即得苷与苷元的混合样品,浓缩,加氨水调至中性,用三氯甲烷萃取 3 次,合并水层溶液,过 DA-201 型大孔树脂柱,用 60% 乙醇洗脱,收集洗脱液,即得补阳还五汤总苷类样品,测得平均每副处方(111 g)得总皂苷 0.51 g。

**2.6.2 芍药苷的含量测定** 在前期研究基础上,确定黄芪甲苷和芍药苷含量为补阳还五汤总苷类物质的质控指标<sup>[11]</sup>,黄芪甲苷的含量测定同 2.2 项下方法。

**2.6.2.1 溶液的制备** 精密称取总苷类样品 0.09 g,加 95% 乙醇 40 mL 混匀,过滤,70 °C 水浴蒸干,用甲醇定容至 10 mL 作为供试品溶液。另取经 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 减压干燥 36 h 的芍药苷对照品适量,加甲醇制成 7.7 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.6.2.2 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),检测波长 213 nm,流动

相甲醇-水(23:77),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,进样量 10 μL,理论塔板数按芍药苷峰计算不低于 3 000。

结果测得补阳还五汤总苷样品中黄芪甲苷质量分数(38.230 ± 0.358) mg·g<sup>-1</sup>,芍药苷质量分数(103.48 ± 0.517) mg·g<sup>-1</sup>,含量远高于未经分离处理的样品[黄芪甲苷、芍药苷质量分数分别为(0.130 ± 0.002),(1.332 ± 0.025) mg·g<sup>-1</sup>],在一定程度上降低了患者的服用量且达到提高疗效的作用。

## 2.7 胶囊的成型工艺考察

**2.7.1 吸湿率的测定** 将一定量的总苷粉与辅料(过 80 目筛)混合均匀置于 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 干燥 48 h 至恒重。将底部盛有过饱和氯化钠溶液的干燥器密封置于 25 °C 恒温箱内 24 h(干燥器内相对湿度 75%)。在已恒重的称量瓶底部放入厚约 2 mm 的混合粉末,准确称量后置于过饱和氯化钠溶液的干燥器内(将量瓶打开),25 °C 恒温保存,分别于 6,12,24,48,32 h 称定质量。

$$\text{吸湿率} = (m_{\text{吸湿后}} - m_{\text{吸湿前}}) / m_{\text{吸湿前}} \times 100\%$$

**2.7.2 休止角的测定** 采用固定漏斗法,休止角(α) = arctg(2H/D)。

**2.7.3 处方筛选** 取总苷浸膏粉适量,分别与淀粉、乳糖、微晶纤维素和糊精按 1:1 比例混合,取适量样品测定吸湿率和休止角,结果见表 4。

表 4 补阳还五汤总苷胶囊浸膏粉辅料配比试验( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

浸膏粉-辅料	休止角/°	吸湿率/%				
		6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
2:0(无辅料)	35.54	9.27 ± 0.04	10.56 ± 0.06	11.48 ± 0.07	13.54 ± 0.05	14.37 ± 0.08
1:1(淀粉)	34.60	10.34 ± 0.03	11.56 ± 0.05	12.15 ± 0.02	13.19 ± 0.01	13.50 ± 0.08
1:1(乳糖)	35.06	5.15 ± 0.03	5.45 ± 0.04	6.22 ± 0.06	7.21 ± 0.09	8.1 ± 0.05
1:1(微晶纤维素)	34.60	6.80 ± 0.04	7.58 ± 0.03	8.43 ± 0.11	9.06 ± 0.08	9.83 ± 0.04
1:1(糊精)	36.03	10.01 ± 0.05	10.61 ± 0.07	11.56 ± 0.10	12.15 ± 0.06	12.74 ± 0.04
颗粒	-	3.91 ± 0.19	4.16 ± 0.26	4.23 ± 0.28	4.36 ± 0.37	4.45 ± 0.35

将表 4 中吸湿率随时间变化的函数关系利用数学模型进行拟合,经 DPS 统计软件分析,选取最优的数学模型,结果见表 5。

将表 5 的 t<sub>0.5</sub> 用统计软件进行分析,所得结果均满足要求,进一步将上述 5 个处方进行完全随机化比较,发现差异有统计学意义。故选用 t<sub>0.5</sub> 最大的处方 3,即选用乳糖为辅料,不仅能显著降低药粉的吸湿性,还能增加其流动性,浸膏粉-乳糖(1:1)。

**2.7.4 制粒工艺润湿剂考察** 取和乳糖按 1:1 混合好的药材粉末 4 份,分别喷入不同体积分数(50%,60%,80%,90%)乙醇,拌匀制备成软材,过 40 目筛网制成湿颗粒,60 °C 烘干,用 40 目及 60 目筛网整粒,收集颗粒称定质量,结果发现前二者软材成团,后二者不成团;前二者难或较难过筛,后二者容易过筛;合格率分别为 76.47%,80.58%,87.54%,86.42%,故选择 80% 乙醇为润湿剂。

表5 不同处方的数学模型及  $t_{0.5}$  ( $n=3$ )

No.	最大吸湿率的 1/2	$t_{0.5}$	误差范围
1	7.18	2.372	$\pm 0.019$
2	6.75	0.291	$\pm 0.015$
3	4.05	3.053	$\pm 0.016$
4	4.92	1.237	$\pm 0.021$
5	6.37	0.227	$\pm 0.024$

**2.7.5 临界相对湿度的测定** 取一定量制备好的颗粒干燥至恒重后,在已经恒重的称量瓶底部铺上约 2 mm 厚的颗粒,准确称量后置于放有 7 种不同盐的过饱和溶液的干燥器内(将称量瓶盖打开),于 25 ℃ 恒温培养箱中放置 7 d 后称量,计算吸湿率。以相对湿度为横坐标,吸湿率为纵坐标作图,曲线两端切线的交点所对应的横坐标即为该总苷颗粒的临界相对湿度,见图 1,显示临界相对湿度 60%。

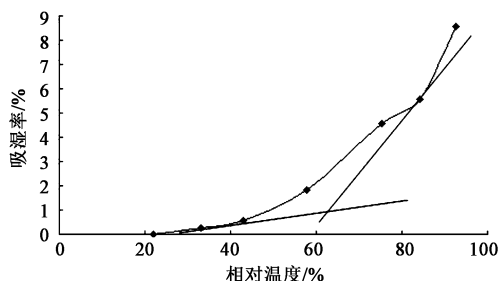


图1 补阳还五汤总苷胶囊的临界相对湿度曲线

**2.7.6 颗粒堆密度的测定** 取适量制备好的干颗粒,精确称定质量(3.849 3, 3.680 4, 3.707 2, 3.623 6, 3.825 g),缓缓注入 10 mL 量筒中,手持量筒轻落于试验台面上,重复 5 次,记录颗粒体积分别为 7.8, 7.6, 7.6, 7.5, 7.7 mL,堆密度分别为 0.494, 0.484, 0.488, 0.483, 0.497  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。综上所述,本制剂初步拟定的每天服用量 1.02 g, 1.02 g 颗粒应分装入 6 粒 2 号胶囊中。

### 3 讨论

补阳还五汤主要有效物质包括黄芪甲苷、芍药苷、苦杏仁苷、总黄酮、阿魏酸、多糖等。研究表明该方中苷类成分是去抗缺血性脑损伤的主要有效物质,具有抗血栓作用,故总苷类物质的分离和质量控制是实验的重点和难点。经多次预试验发现,总苷

类物质分离的操作步骤简便易行、重复性高;但在苷类物质的含量测定时,发现苦杏仁苷的含量过低不适于作为检测指标,而黄芪甲苷和芍药苷的含量满足要求且稳定,故选定黄芪甲苷和芍药苷作为定量指标。由于补阳还五汤总苷浸膏粉易吸湿,故宜加入一定量辅料来改善该制剂的吸湿性,胶囊内容物相对湿度和颗粒堆密度的测定可为大生产在分装环境和囊壳型号提供参考。

### [参考文献]

- [1] WU L, ZHANG W, DENG C Q. Characteristics and feasibility of vessel restenosis models produced by denuding arterial endothelium with domestic-made balloon catheter in rats [J]. J Clin Rehabilitative Tissue Eng Res, 2008, 12(17): 3372.
- [2] 赖真,王沙燕,耿小茵,等. 补阳还五汤对沙土鼠脑缺血再灌注星形胶质细胞的影响[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(10): 763.
- [3] 李花,陈刚,邓长青. 补阳还五汤及其有效组分和三七总皂苷含药血浆抗血小板衍生生长因子诱导的血管平滑肌细胞增殖的作用[J]. 中西医结合学报, 2009, 7(11): 1078.
- [4] 张丽萍. 补阳还五汤防治脑血管疾病的药理学研究现状[J]. 中国药房, 2007, 18(33): 2629.
- [5] 武红莉,荆志伟,王忠. 中药复方优化设计方法研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 224.
- [6] 刘玉辉,杨丹,游宇,等. 补阳还五汤含药血清抗同型半胱氨酸致内皮细胞损伤的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 160.
- [7] 张伟,吴露,陈北阳,等. 补阳还五汤及有效组分对大鼠增生血管内膜细胞外基质蛋白表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(2): 169.
- [8] 李小芳,何倩灵,向永臣,等. 黄芪多糖颗粒防潮辅料的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 11.
- [9] 邹欢. 补阳还五汤总苷类成分提取分离过程中溶解迁移规律的研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2010.
- [10] 赖珺,廖正根,杨明福,等. 生物利用度的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 22.
- [11] 邹龙,刘辉,李仲秋,等. HPLC 测定补阳还五汤总苷中黄芪甲苷和芍药苷的含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(5): 39.

[责任编辑 仝燕]