

抗流感口服液的提取工艺优选

饶小勇¹, 何双凤¹, 吴志鹏¹, 黄恺¹, 张国松¹, 张尧¹, 罗晓健^{1,2*}

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 南昌 330006)

[摘要] 目的: 优选抗流感口服液的提取工艺。方法: 以解热药效为指标, 采用药效跟踪试验考察提取溶媒和提取方式; 以黄芩苷转移率为指标, 采用正交试验法考察提取时间、提取次数及溶剂用量对抗流感口服液提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为加 12 倍量水提取 3 次, 每次 1 h, 黄芩苷转移率 85.41%。结论: 采用药效跟踪试验可保障产品的有效性, 优选的提取工艺稳定、可行、操作性强。

[关键词] 抗流感口服液; 提取工艺; 药效; 正交试验; 黄芩苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0031-04

Optimization of Extraction Process of Kangliugan Oral Liquid

RAO Xiao-yong¹, HE Shuang-feng¹, WU Zhi-peng¹, HUANG Kai¹,
ZHANG Guo-song¹, ZHANG Yao¹, LUO Xiao-jian^{1,2*}

(1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Kangliugan oral liquid. **Method:** With antipyretic efficacy as index, extraction solvent and method were investigated by pharmacodynamic tracking test; With transfer rate of baicalin as index, extraction process of Kangliugan oral liquid was optimized by orthogonal experiment with solvent amount, extraction time and times as factors. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted 3 times with 12 times the amount of water, 1 h each time, transfer rate of baicalin was 85.41%. **Conclusion:** Pharmacodynamic tracking test could guarantee effectiveness of products, this optimized extraction technology was stable, feasible and workable.

[Key words] Kangliugan oral liquid; extraction process; pharmacodynamic; orthogonal test; baicalin

抗流感处方古方普济消毒饮演变而来是治疗风热引起的流行性感动的经验方, 临床疗效确切。该处方由黄芩、柴胡、牛蒡子等 6 味药材组成, 具有清热解毒、利咽的功效, 主治风热感冒引起的发热、咽痛、咳嗽等症。本方在临床上常以传统汤剂给药, 因此存在煎煮携带不方便、口感不佳、单次服用剂量大等缺点, 且制备工艺随意、质量控制指标缺乏, 难以

保障产品的稳定性和可控性, 严重影响了该品种在临床上广泛应用。本实验在保障产品有效性的前提下, 采用现代制剂技术将其研制成安全、有效、可控、方便的口服液。方中君药黄芩的有效成分为黄芩苷, 具有解热、抗炎、抗病毒的作用^[1], 是反映该制剂质量的重要指标, 故采用药效跟踪及黄芩苷转移率为指标相结合的方式, 对抗流感口服液的提取工艺进行优化。

1 材料

ZNHW 型电热套(巩义市予华仪器有限责任公司), TE612-L 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), Powerlab sp/8 型生理记录仪(澳大利亚 Powerlab), 1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent), AL104/01 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

[收稿日期] 20120715(006)

[基金项目] 南昌市科技支撑计划(2010KJZCJH-YYYYLQX-065)

[第一作者] 饶小勇, 在读博士, 工程师, 从事中药制剂技术研究, Tel: 0791-87119617, E-mail: rxy1014@163.com

[通讯作者] * 罗晓健, 博士, 教授, 从事中药新剂型和新技术研究, Tel: 0791-87119619, E-mail: luoxj98@126.com

黄芩、牛蒡子、荆芥、柴胡、桔梗、甘草均购于江西南昌黄庆仁药店,经江西中医学院冯育林副教授鉴定,均符合《中国药典》2010 年版相关项下要求。黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110715-200212),双黄连胶囊(河南天方药业中药有限公司,批号 050117),酵母菌(法国乐斯福公司,批号 20041222),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。SD 大鼠,60 只,雄性,体重(150~200)g,由江西医学院动物实验中心,合格证号 SCXK(赣)2005-0001。

2 方法与结果

2.1 提取溶媒的筛选

2.1.1 不同提取溶媒样品的制备^[2-6]

2.1.1.1 水提法 按处方比例称取药材,加水煎煮 2 h,滤过,浓缩,得供试品液 A。

2.1.1.2 水提法和收集挥发油 分别称取处方量药材,取柴胡、荆芥、桔梗加水煎煮,收集挥发油,滤过,滤液备用;药渣与其余药材加水煎煮 2 h,滤过,合并滤液,浓缩,加入挥发油,得供试品液 B。

2.1.1.3 分开水提法 按处方比例称取药材,黄芩加水煎煮 2 h,滤过,浓缩,加浓盐酸调 pH 3~4,静置 1 h,滤过,滤液于 40℃调 pH 1.5~2,保温 30 min,静置,浓缩,得提取物^[7],备用;其余 5 味药材加水煎煮 2 h,滤过,浓缩,备用;合并提取物和浓缩液,得供试品液 C。

2.1.1.4 醇提法 按处方比例称取药材,加 60%乙醇煎煮 2 h,滤过,浓缩,得供试品液 D。

2.1.2 药效供试液配制 取上述供试品液 A, B, C, D,分别加水稀释得混悬液;阳性药是将双黄连胶囊研成细粉后加水制得混悬液;酵母混悬液是将干酵母菌加水配成 20%酵母菌混悬液。

2.1.3 药效试验 A, B, C, D 抗流感各组给药剂量为 16 g·kg⁻¹,给药质量浓度 1.6 g·mL⁻¹;双黄连给

药剂量 1.0 g·kg⁻¹,给药质量浓度为 0.1 g·mL⁻¹;模型组给予等容量蒸馏水。各组口服灌胃给药容量均为 10 mL·kg⁻¹,其中模型组给予等容量蒸馏水,连续给药 3 d,每天 1 次,末次给药后 1 h,各组动物按 10 μL·g⁻¹剂量于背部皮下注射 20%酵母菌溶液以复制发热模型,记录动物造模后 0, 4, 6, 8, 10, 12 h 动物体温,以各时间点体温与 0 h 体温差进行分析,结果见表 1。

从表 1 可知,干酵母注射后大鼠体温逐渐上升,6 h 后达峰值,升温(2.9±0.4)℃,此后缓慢降温,观察至 12 h 接近正常体温。连续 3 d 给予双黄连,造模后大鼠体温缓慢升高,与模型组比较体温显著降低。说明分别给予抗流感处方 A, B, C, D 的模型大鼠,6 h 后体温均略有升高,但升温幅度低于模型组,与模型组比较均有统计学差异,而与阳性药双黄连比较未见统计学差异。经进一步比较,结果表明抗流感处方 A, B, C 3 组间无显著性差异,但解热效果 A>C>B,且降温效果均优于 D,所以选择采用 A 法提取,即水提法。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 大连依利特 Hyperisil ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25℃,检测波长 280 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取于 60℃减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,加甲醇制成 60 mg·L⁻¹的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取药材煎煮液适量,相当于黄芩生药材约 0.003 g,置 10 mL 量瓶中,加 70%乙醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 阴性供试品液的制备 取处方中缺黄芩的阴性样品,按 2.2.3 项下方法制备,即得。

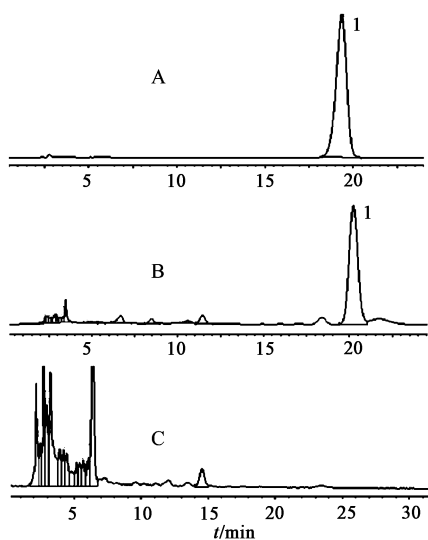
2.2.5 干扰性试验 分别精密吸取供试品溶液、阴

表 1 6 种抗流感提取液对干酵母致大鼠发热的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体温变化/℃					
		Δ2 h	Δ4 h	Δ6 h	Δ8 h	Δ10 h	Δ12 h
模型	-	1.6±0.9	2.7±0.5	2.9±0.4	2.8±0.4	2.0±0.3	0.9±0.5
双黄连	1.0	1.1±0.4	2.4±0.4	2.7±0.7	2.5±0.8	1.8±0.8	0.6±0.3 ¹⁾
处方 A	16	0.9±0.3	2.1±0.3	2.4±0.5	2.2±0.4	1.3±0.5	0.4±0.3 ¹⁾
处方 B	16	0.9±0.4	2.3±0.7	2.5±0.5	2.2±0.3	1.4±0.5	0.3±0.4 ²⁾
处方 C	16	1.0±0.4	2.1±0.3	2.5±0.3	2.2±0.2	1.6±0.6	0.4±0.3 ²⁾
处方 D	16	0.9±0.2	2.6±0.2	2.8±0.2	2.6±0.6	1.8±0.7	0.5±0.1 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P<0.05,与模型组比较²⁾P<0.01。

性对照溶液各 10 μL ,按 2.2.1 项下色谱条件进行测定,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性溶液;1. 黄芩苷

图 1 抗流感口服液 HPLC

2.2.6 标准曲线的制备 分别精密量取黄芩苷对照品溶液($0.137\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$)1,2,4,8,10,16,20,32,40 μL 。按上述方法测定含量,记录黄芩苷的峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 677.14X - 172.47$ ($r = 0.9999$),表明黄芩苷对照品在进样量 $0.137 \sim 5.48\ \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 精密量取同一黄芩苷对照品溶液,连续进样 6 次,按上述方法测定,结果峰面积 RSD 0.92%,表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取同一供试品溶液 5 份,按上述方法测定含量,结果黄芩苷峰面积 RSD 1.44%。

2.2.9 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,8,12,24 h 各进样 10 μL ,结果峰面积 RSD 0.88%。

2.2.10 加样回收试验 分别取同一批已知含量的药材煎煮液适量,置 10 mL 量瓶中,分别精密加入一定量对照品溶液,用 70% 乙醇定容至刻度,共 9 份,分成 3 组,分别测定黄芩苷含量,计算平均加样回收率 99.5%,RSD 0.74%。

2.3 提取工艺优化 在预试验基础上,选取水倍数、煎煮次数、煎煮时间为考察因素,按处方比例称取药材 9 份,以黄芩苷转移率为指标,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 2,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $C > B > A$,说明煎煮次数对黄芩苷转移率的影

表 2 抗流感口服液提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取时间/h	B 加水量/倍	C 提取数/次
1	1	5	1
2	1.5	8	2
3	2	12	3

表 3 抗流感口服液提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	黄芩苷 转移率/%
1	1	2	1	1	29.23
2	1	1	2	2	38.33
3	1	3	3	3	79.69
4	2	2	2	3	50.22
5	2	1	3	1	69.54
6	2	3	1	2	48.55
7	3	2	3	2	80.78
8	3	1	1	3	26.98
9	3	3	2	1	72.09
K_1	147.25	160.23	104.76	170.86	
K_2	168.31	134.85	160.64	167.66	
K_3	179.85	200.33	230.01	156.89	
R	32.6	65.48	125.25	13.97	

表 4 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	182.16	2	91.08	5.10	0.164
B	726.64	2	363.32	20.35	0.047
C	2 624.70	2	1 312.35	73.50	0.013
D(误差)	35.71	2	17.86		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

响最大,加水量次之,煎煮时间影响最小。由方差分析可知,B,C 因素对提取过程中黄芩苷的转移率具有显著性影响,A 因素无显著性影响,说明 A 因素水平值对黄芩苷转移率影响很小。确定最佳提取工艺参数为 $A_1B_3C_3$,即加 12 倍量水提取 3 次,每次 1 h。

2.4 验证试验 按优选的提取工艺进行 3 次验证试验,取滤液,分别测定提取液中黄芩苷的含量,结果黄芩苷转移率分别为 85.20%,84.81%,86.21%,说明优选的工艺稳定可行。

3 讨论

在确保产品安全有效的前提下,拟将临床抗流感复方汤剂改制成口服液,可降低患者服用剂量,矫正口感,提高患者顺应性。本文根据抗流感复方汤

黄连提取液超滤纯化工艺优选

王群, 刘文*, 宋信莉, 陈大业, 杨颂
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 优选黄连提取液的超滤纯化工艺参数。方法: 以出膏率及盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱及表小檗碱含量为指标, 通过单因素试验考察截留相对分子质量分别为 5 000, 10 000, 20 000 的中空纤维膜对黄连提取液超滤工艺的影响; 选取料液温度、料液质量浓度及进样流速为考察因素, 以指标成分的综合含量和转移率的综合评分为指标, 采用正交试验优选黄连提取液的超滤工艺参数。结果: 截留相对分子质量为 5 000 的中空纤维超滤膜分离效果较好, 其最佳超滤工艺参数为料液温度 40 ℃, 体积流量 40 mL·min⁻¹, 药液质量浓度 25 g·L⁻¹。结论: 中空纤维超滤膜可选择性地用于药液的精制, 可提高有效成分的保留率。

[关键词] 中空纤维超滤膜; 超滤; 盐酸小檗碱; 黄连碱; 巴马汀; 表小檗碱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0034-04

Optimization of Ultrafiltration Purification Technology of *Coptis chinensis* Extract

WANG Qun, LIU Wen*, SONG Xin-li, CHEN Da-ye, YANG Song
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ultrafiltration purification technology parameters of *Coptis chinensis* extract. **Method:** With extract rate, the content of berberine hydrochloride, coptisine, palmatine and

[收稿日期] 20120920(001)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药[2010]5016)

[第一作者] 王群, 硕士, 从事中药新制剂及新技术研究, Tel: 13765819280, E-mail: 945431270@qq.com

[通讯作者] * 刘文, 硕士生导师, 教授, 从事中药新制剂及新技术研究, Tel: 13984416258, E-mail: liuwen16258@sina.com

药的临床症候, 结合方中药物的药效药理相关研究文献资料, 以药物对干酵母菌导致的发热大鼠的解热效果为指标, 筛选提取溶媒, 研究结果表明本方提取液及阳性对照组对造模动物体温均有显著降低作用, 但两者无显著差异性, 说明本方提取液解热效果与阳性对照药双黄连相当。试验结果表明采用水和乙醇为溶媒, 两者提取液的解热效果无显著性差异, 考虑工业化生产实际, 确定采用水为提取溶媒。

正交试验结果选用了加 12 倍量水, 即最大水平, 主要考虑方中药材大多为根茎类药材, 加水量达到 12 倍已能很好浸没药材, 基于工业化生产耗能问题, 未进一步考察 > 12 倍量的水平, 但通过验证试验表明优化的提取工艺稳定、可行、重复性好。

[参考文献]

[1] 张曦, 李宏, 候茂君, 等. 黄芩及其有效成分的药理学

研究进展[J]. 天津药学, 2000, 12(4): 8.

[2] 史跃杰. 黄芩黄连水煎剂对厌氧菌的体外抑菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 226.

[3] 曾超珍, 刘志祥, 韩磊. 黄芩总黄酮提取技术及其抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1342.

[4] 叶定江. 中药炮制学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 236.

[5] 李韦, 杨伟鹏, 梁日欣, 等. 栽培黄芩和野生黄芩抗炎、解热和免疫作用比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 29.

[6] 肖培根. 新编中药志. 第 1 卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 784.

[7] 韩会玲, 宋小妹, 张选军. 黄芩苷提取工艺的改进[J]. 陕西中医学院学报, 1997, 20(4): 35.

[责任编辑 全燕]