

清咽口含片醇沉工艺优选

袁淑婧, 范玲, 周琴妹*
(江苏省中医院, 南京 210029)

[摘要] 目的: 优选清咽口含片的醇沉工艺。方法: 选取药液相对密度、醇沉浓度及药液温度为考察因素, 以乙酰哈巴苷转移率及干膏得率为考察指标, 采用单因素试验与正交试验优选醇沉工艺。结果: 优选的醇沉工艺为药液浓缩至相对密度 1.13, 加 95% 乙醇至乙醇体积分数为 70%, 醇沉时药液温度 60 ℃, 冷藏静置 24 h。结论: 优选的醇沉工艺简单易行, 适用于实际大生产。

[关键词] 清咽口含片; 正交试验; 醇沉工艺; 乙酰哈巴苷; 转移率

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0025-04

Optimization of Alcohol Precipitation Technology for Qingyan Buccal Tablet

YUAN Shu-jing, FAN Ling, ZHOU Qin-mei*
(Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize alcohol-precipitation technology of Qingyan buccal tablet. **Method:** Relative density of liquor, the concentration of alcohol precipitation and temperature of liquor were chosen as factors, with transfer rate of acetylharpagide and yield of drying extract as indexes, alcohol precipitation technology was optimized by single-factor test and orthogonal test. **Result:** Optimal alcohol precipitation technology was as follow: concentrated extraction liquid to its relative density 1.13, added ethanol until the concentration of 70%, liquor temperature 60 ℃, rest for 24 h in condition of cold storage. **Conclusion:** This optimized technology was simple, practicable and suitable for practical production.

[Key words] Qinyan buccal tablet; orthogonal test; alcohol-precipitation technology; acetylharpagide; transfer rate

清咽口含片为江苏省中医院临床经验方, 由筋骨草、射干、玄参、桔梗、诃子、甘草等 6 味中药组成, 具有疏风解毒、宣肺利咽、凉血祛癖、化痰散结之功效, 临床用于治疗急慢性咽炎, 具有良好的效果。根据本制剂组成成分的性质, 确定对射干饮片采用乙醇提取^[1], 其他 5 味饮片则采用水提取。由于在水提过程中, 饮片中多糖、油脂、脂溶性色素等会随同有效成分一起溶出, 为保证制剂的质量和稳定性, 对

其进行醇沉工艺纯化。本试验采用单因素试验考察药液温度、药液相对密度及醇沉浓度对筋骨草中乙酰哈巴苷转移率的影响, 同时结合正交试验优选清咽口含片的醇沉工艺。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪(2998PDA 检测器, 美国 Waters 公司), BP-211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司), 101-1A 型数显电热鼓风干燥箱(上海沪南科学仪器联营厂)。

筋骨草购于安徽协和成药业饮片有限公司, 经江苏省中医院药学部陈晓斌主任中药师鉴定为唇形科植物筋骨草属金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb. 的干燥全草; 其他饮片均购于安徽协和成药业饮片有限公司, 经江苏省中医院药学部陈晓斌主任中药

[收稿日期] 20120702(010)

[基金项目] 江苏省政府财政专项(省直中医 11)

[通讯作者] * 周琴妹, 本科, 主任中药师, 从事中药制剂质量控制和新药开发, Tel: 025-86529291, E-mail: joy_zhouqinmei@yahoo.com.cn

师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求。

乙酰哈巴苷对照品(南京泽朗医药有限公司,批号 ZL20110303YX,纯度 98%),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法和结果

2.1 乙酰哈巴苷含量测定

2.1.1 色谱条件与系统适应性试验 按《中国药典》2010 年版中筋骨草中乙酰哈巴苷检测方法^[2],Hedera-ODS-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(12:88),检测波长 207 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取乙酰哈巴苷对照品 9.10 mg,置于 25 mL 量瓶中,甲醇定容;精密量取 1 mL 置于 5 mL 量瓶中,甲醇定容,摇匀,即得(乙酰哈巴苷质量浓度 0.072 8 g·L⁻¹)。

2.1.3 供试品溶液的制备 按处方比例称取筋骨草等饮片 315 g,加 10 倍量水浸泡 1 h 后,提取 3 次,每次 1 h(水提工艺优选将另文发表),所得提取液平均分为 9 份,按正交试验表进行试验,浓缩,冷却,快速搅拌下缓慢加入 95% 乙醇至不同体积分数乙醇,冷藏静置 24 h,过滤。精密量取上述水提醇沉液 2 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,即得。

2.1.4 阴性溶液的制备 按处方制备工艺制成缺筋骨草的阴性样品,按 2.1.3 项下方法制得阴性样品溶液。

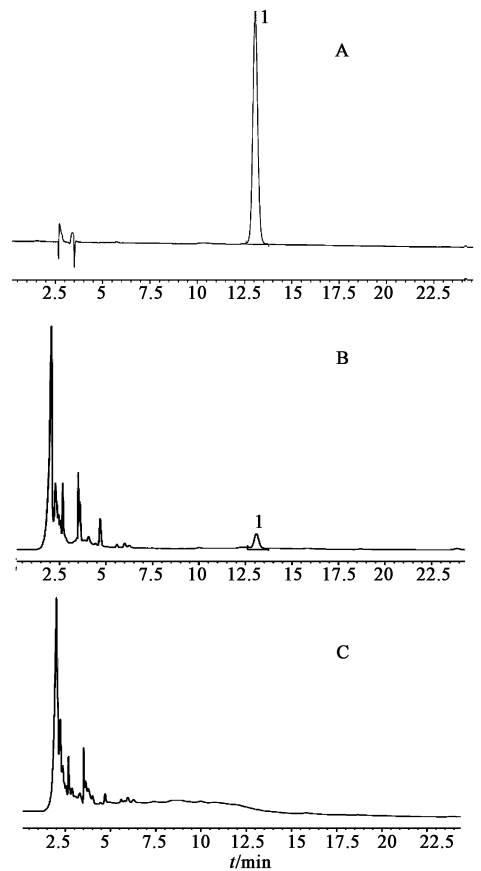
2.1.5 专属性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪。结果见图 1,说明该方法可行^[3]。

2.1.6 标准曲线绘制 精密吸取上述对照品溶液 3,5,10,15,25,35 μL 进样,测定峰面积,以乙酰哈巴苷的进样量对其峰面积值进行线性回归,得回归方程 $Y = 506\ 529X + 20\ 502$ ($r = 0.999\ 9$),结果表明在 0.218 4 ~ 2.548 μg 与峰面积值呈良好线性关系。

2.1.7 精密度试验^[4] 精密吸取同一对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果峰面积 RSD 0.84%,表明仪器精密度良好。

2.1.8 重复性试验 取同一醇沉液 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果 RSD 0.63%,说明本方法的重复性良好^[4]。

2.1.9 稳定性试验^[4] 取上述样品于配制后 2,4,8,12,24 h 分别进样,结果 RSD 0.95%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品溶液;1. 乙酰哈巴苷
图 1 清咽口含片 HPLC

2.1.10 含量测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定醇沉液中乙酰哈巴苷含量,计算其转移率。

2.2 干膏得率测定 精密量取醇沉液 2 mL,置干燥恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 烘箱中烘至恒重,取出,迅速置干燥器中冷却 30 min,精密称定,计算干膏得率。

2.3 醇沉工艺优选

2.3.1 单因素试验 药液相对密度考察:精密量取一定体积水提液,分别浓缩至相对密度 1.06,1.13,1.20,缓缓加入 95% 乙醇,边加边搅拌至含乙醇体积分数为 70%,冷藏静置 24 h,滤过。按含量测定方法制备供试品,测定乙酰哈巴苷含量,计算转移率分别为 70.38%,79.96%,81.31%;干膏得率依次为 28.11%,28.49%,22.05%。说明随浸膏相对密度增大,乙酰哈巴苷转移率依次升高,除杂率逐渐升高。结合实际生产条件和成本,初步确定浸膏浓缩至相对密度 1.10 ~ 1.25(60 °C)。

2.3.2 醇沉浓度考察 量取一定体积提取液,浓缩至相对密度 1.15 左右的浸膏,分别加入 95% 乙醇至含乙醇体积分数为 50%,60%,70%,冷藏静置 24

h,滤过。按含量测定方法制备供试品,测定乙酰哈巴苷含量,计算转移率分别为 75.94%,77.08%,81.64%;干膏得率分别为 30.54%,26.96%,21.16%。故初步确定醇沉至乙醇体积分数 70%。

2.3.3 药液温度考察 量取一定体积药液,浓缩至相对密度 1.15 左右,分成 3 分,分别置于 40,60,80℃水浴中,缓缓加入 95%乙醇,边加边搅拌至乙醇体积分数为 70%,冷藏静置 24 h,滤过。按含量测定方法制备供试品,测定乙酰哈巴苷含量,计算转移率分别为 73.88%,77.57%,74.25%;干膏得率依次为 25.38%,26.91%,27.00%。故初步确定药液温度 60℃。

2.4 醇沉工艺优选 选定浸膏的相对密度、醇沉浓度、醇沉液温度为考察因素,根据单因素考察结果设定各因素的 3 个水平,以干膏得率和乙酰哈巴苷转移率作为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验,试验因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 清咽口含片醇沉工艺优选正交试验因素水平

水平	A	B	C
	相对密度	醇沉浓度/%	醇沉液温度/℃
1	1.08~1.13	50	40
2	1.14~1.19	60	60
3	1.20~1.25	70	80

由表 2 可知,影响乙酰哈巴苷转移率的因素大小顺序为 $C > A > B$,初步确定最佳工艺 $C_2A_3B_3$;而影响干浸膏得率的因素大小顺序依次为 $B > A > C$,初步确定最佳工艺为 $A_3B_3C_2$;由表 3 可知,A,B 因素对乙酰哈巴苷转移率无显著影响,而对干浸膏得率有显著性影响。综合分析,最终确定优选工艺为 $A_3B_3C_2$,即合并滤液浓缩至相对密度 1.20~1.25,加乙醇使含醇体积分数为 70%,醇沉时药液温度 60℃。

2.5 验证试验 称取 5 倍处方量的清咽口含片饮片 3 份,每份 175 g,加水提取,提取液按优选的醇沉工艺进行 3 次验证试验。结果乙酰哈巴苷转移率分别为 85.08%,84.98%,86.83%;干浸膏得率分别为 15.97%,17.94%,16.03%。表明优选出的工艺稳定可行,重复性好。

3 讨论

本方中筋骨草为主药,占全方药量 30%,而乙酰哈巴苷为筋骨草清热解毒、止咳祛痰、养筋和血的主要有效成分,具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎等药理活

表 2 清咽口含片醇沉工艺优选正交试验安排

水平	A	B	C	D	转移率/%	干膏得率/%
1	1	1	1	1	72.85	31.38
2	1	2	2	2	73.1	29.6
3	1	3	3	3	74.21	23.36
4	2	1	2	3	84.82	32.38
5	2	2	3	1	74.97	29.8
6	2	3	1	2	80.1	23.29
7	3	1	3	2	73.58	27.83
8	3	2	1	3	79.75	21.47
9	3	3	2	1	90.61	16.84
转移率	K_1	220.16	231.25	232.7	238.43	
	K_2	239.89	227.82	248.53	226.78	
	K_3	243.94	244.92	222.76	238.78	
	R	7.93	5.70	8.59	4.00	
干膏得率	K_1	84.34	91.59	76.14	78.02	
	K_2	85.47	80.87	78.82	80.72	
	K_3	66.14	63.49	80.99	77.21	
	R	6.44	9.37	1.62	1.17	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
转移率	A	107.91	2	53.95	3.47
	B	54.56	2	27.28	1.75
	C	112.61	2	56.3	3.62
	D(误差)	31.09	2	15.55	
干膏得率	A	78.47	2	39.23	34.84 < 0.05
	B	134.07	2	67.03	59.54 < 0.05
	C	3.93	2	1.97	1.75
	D(误差)	2.25	2	1.13	

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

性^[6],故选择乙酰哈巴苷作为考察指标;因醇沉后制剂固体含量会降低,故将干膏得率也作为考察指标。

醇沉前干膏得率 45.58%,醇沉后干膏得率 16.65%,表明该工艺在保留有效成分的同时降低了固形物得率,可减少服药剂量。本课题组开始评估醇沉液 pH 和醇沉次数可能对醇沉效果有一定影响^[5],因此进行预试验研究,结果表明二者对醇沉效果影响均很小,故选择药液相对密度、醇沉浓度、药液温度为考察因素。

板蓝根饮片的浸润切制工艺优选

梁丽丽¹, 王英姿², 李环环¹, 孙秀梅^{1*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的: 优选板蓝根饮片的浸润切制工艺条件。方法: 以(R,S)-告依春、水浸出物、醇浸出物的含量为综合评价指标, 选取药材浸润用水量、浸润时间、饮片厚度为考察因素, 通过正交设计法优选板蓝根饮片的浸润切制工艺条件。采用质量法测定浸出物含量, HPLC测定(R,S)-告依春含量。结果: 影响板蓝根饮片浸润切制的主要因素为切片厚度, 其次为浸润时间和浸润用水量。优选的板蓝根饮片的浸润切制工艺为板蓝根药材加0.6倍量水浸润20h, 切片厚度3mm, 60℃烘干。结论: 优选的浸润切制工艺稳定可行, 为板蓝根饮片炮制工艺的规范化及质量标准提供实验依据。

[关键词] 板蓝根; 浸润切制; 工艺优选; 综合指标; 正交设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0028-03

Optimization of Infiltration and Cutting Technology for Pieces of *Isatis indigotica*

LIANG Li-li¹, WANG Ying-zi², LI Huan-huan¹, SUN Xiu-mei^{1*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize infiltration and cutting technology conditions for pieces of *Isatis indigotica*. **Method:** With the content of water extract, alcohol extract and (R, S) -goitrin as indexes, water consumption, infiltration time and thickness of pieces were selected as factors, infiltration and cutting technology for pieces of *I. indigotica* was optimized by orthogonal test. The content of extract and (R, S) -goitrin were determined by gravimetric method and HPLC. **Result:** Thickness of pieces was major factor for infiltration and cutting technology of pieces of *I. indigotica*, followed by infiltration time and water consumption. Optimum infiltration and cutting technology was: infiltrated 20 h with 0.6 times the amount of pieces of *I. indigotica*, thickness of pieces 3 mm and drying at 60 °C. **Conclusion:** Optimized infiltration and cutting technology was

[收稿日期] 20120624(007)

[基金项目] 中医药行业科研专项(201007012-2-8)

[第一作者] 梁丽丽, 硕士, 从事中药新药研究与中药炮制原理研究, Tel: 13405315121, E-mail: lianglina000123@126.com

[通讯作者] * 孙秀梅, 本科, 教授, 博士生导师, 从事中药新药研究与中药炮制原理研究, Tel: 0531-82628081, E-mail: sunxiumei8@163.com

[参考文献]

- [1] 张春容, 肖丹. 射干的提取纯化工艺研究[J]. 华西药
学杂志, 2006, 21(5): 447.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 325.
- [3] 魏庆华, 王勤. HPLC测定增液承气口服液哈巴昔和
哈巴俄昔含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18
(7): 81.

- [4] 王锦玉, 全燕, 王智民. RP-HPLC法同时测定筋骨草
药材中哈巴昔和乙酰哈巴昔含量[J]. 中国实验方剂
学杂志, 2009, 15(11): 26.
- [5] 侯林中, 张熙洁. 正交试验优选宽心口服液醇沉工艺
[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 32.
- [6] 谢浙裕, 秦明珠, 房玉玲. 8-乙酰哈巴昔的药理作用
[J]. 国外医药·植物药分册, 2005, 20(2): 56.

[责任编辑 全燕]