

正交试验优选蜂病康合剂壳聚糖纯化工艺

贾永艳*,祝侠丽,陈波,田效志,苗明三,樊静静
(河南中医学院,郑州 450008)

[摘要] 目的:探讨壳聚糖澄清剂用于蜂病康提取液的纯化工艺。方法:以纯化后药液中黄芩苷含量为指标,采用正交试验优选絮凝澄清条件,并与传统醇沉工艺比较。结果:正交优选工艺优于醇沉工艺,最佳絮凝澄清条件为水提液浓缩到1:8,壳聚糖用量 15%,温度 50℃。结论:壳聚糖澄清剂可用于蜂病康合剂的精制。

[关键词] 壳聚糖;正交实验;蜂病康合剂;纯化工艺
[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)11-0032-03

Optimization of Purification Process for Chitosan from
Fengbingkang Mixture by Orthogonal Test

JIA Yong-yan*, ZHU Xia-li, CHEN Bo, TIAN Xiao-zhi, MIAO Ming-san, FAN Jing-jing
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] Objective: To investigate purification technology of Fengbingkang mixture with chitosan as clarification agent. Method: With the content of baicalin from purified liquid as index, flocculation clarification process was optimized by orthogonal design, and compared with traditional ethanol precipitation process. Result: These test result showed that optimized technology was better than ethanol precipitation technology. Optimum flocculation clarification process conditions were: water extraction liquid concentrated to 1:8, the amount of chitosan 15%, temperature 50℃. Conclusion: Chitosan clarifying agent could be used for purifying Fengbingkang mixture.

[Key words] chitosan; orthogonal test; Fengbingkang mixture; purification technology

在蜜蜂养殖过程中,常出现爬蜂病、白垩病等病症影响蜂蜜的产量。在蜜蜂疾病防治过程中,抗生素类药物的弊病逐渐暴露出来。蜂病康合剂由苦参、半枝莲、白花蛇舌草、黄芩等 10 味中药组成,具有抗病毒、提高免疫力的功效。本试验为提高蜂病康合剂产品质量,对其提取液进行精制纯化,在保留有效成分的同时最大限度地除杂,并尽可能减少有效成分损失。目前常用纯化方法有醇沉、高速离心、澄清剂吸附、大孔吸附树脂、微滤等^[1],本研究应用壳聚糖澄清技术对提取液进行纯化,采用正交试验优选最佳条件,并与传统醇沉工艺进行比较。

1 材料
2487 型高效液相色谱仪(美国 Waters),BP-210S 型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),LG16.W 型离心机(北京医用离心机厂),苦参、半枝莲、白花蛇舌草、黄芩等药材购于河南中医学院第三附属医院,经本院生药学科陈随清教授鉴定符合《中国药典》2010 年版要求,黄芩苷对照品(批号 110715-200815,中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果
2.1 提取液的制备 按处方取苦参、半枝莲、白花蛇舌草、黄芩等 10 味中药共 141 g,加 10 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h,滤过,滤液浓缩至每 1 mL 相当于生药 1 g 的药液,作为原药液。分别稀释制成 1:6(0.17 g·mL⁻¹),1:8(0.125 g·mL⁻¹),1:10(0.1 g·

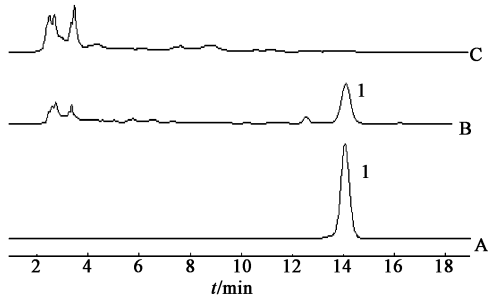
[收稿日期] 20111212(012)
[基金项目] 河南省重点科技攻关计划项目(072102130006)
[通讯作者] * 贾永艳,副教授,硕士研究生导师,从事药物制剂新技术与新剂型研究, Tel: 13526862076, E-mail: hnzyjy@126.com

mL⁻¹)的溶液备用。

2.2 壳聚糖溶液的配制 取壳聚糖适量,加1%冰醋酸溶液配成含壳聚糖质量分数1%的溶液,备用。

2.3 黄芩苷的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适应性试验 Waters Sunfire™ C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水-醋酸(50:50:1),检测波长274 nm,流速1 mL·min⁻¹,进样量10 μL,柱温30 ℃,理论塔板数以黄芩苷计不低于1 500。色谱图见图1。



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性对照品;1. 黄芩苷

图1 蜂病康合剂 HPLC

2.3.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,置1 mL量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,制成质量浓度0.137 g·L⁻¹的溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取全方水提取上清液2 mL至100 mL量瓶中,加50%甲醇90 mL,超声处理10 min,放置至室温,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3.4 标准曲线的制备 精密称干取经五氧化二磷减压干燥至恒重的黄芩苷对照品9.0 mg,置50 mL量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,制成质量浓度0.18 g·L⁻¹的黄芩苷对照品储备液。分别精密量取对照品储备液1,2,3,4 mL置5 mL量瓶中,50%甲醇稀释至刻度,分别精密吸取10 μL注入液相色谱仪,按2.3.1项下方法测定。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,进行回归。得回归方程 $Y = 1\,957\,574.167X - 172\,753.50$ ($R^2 = 0.999\,9$)。结果表明黄芩苷在0.36~1.80 μg与峰面积呈良好线性关系。

2.3.5 含量测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL,按2.3.1色谱条件测定,计算含量。

2.4 壳聚糖澄清工艺参数考察^[2-7] 通过预试验并结合文献报道,对影响澄清效果的主要因素药液浓缩比例、壳聚糖加入量、絮凝温度进行考察,按L₉(3⁴)正交表安排试验。因素水平见表1。试验安

排及结果见表2。

表1 峰病康合剂壳聚糖澄清工艺正交试验因素水平

水平	A 壳聚糖用量 /%	B 提取液浓度 /g·mL ⁻¹	C 澄清温度 /℃
1	10	0.17	30
2	15	0.125	40
3	20	0.10	50

表2 峰病康合剂壳聚糖澄清工艺 L₉ (3⁴) 正交试验安排

No.	A	B	C	D	黄芩苷提出量/g
1	1	1	1	1	0.56
2	1	2	2	2	0.65
3	1	3	3	3	0.74
4	2	1	2	3	0.70
5	2	2	3	1	0.84
6	2	3	1	2	0.73
7	3	1	3	2	0.75
8	3	2	1	3	0.69
9	3	3	2	1	0.69
K ₁	1.95	2.01	1.98	2.09	
K ₂	2.27	2.18	2.04	2.13	
K ₃	2.13	2.16	2.33	2.13	
R	0.32	0.17	0.35	0.04	

由表3可知,因素A,B,C对黄芩苷含量均有显著影响,影响大小顺序为C>A>B,最优方案为A₂B₂C₃,即药液浓缩至含生药质量浓度0.125 g·mL⁻¹,壳聚糖加入量为药液的15%,絮凝温度50 ℃。

表3 黄芩苷含量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.017 2	2	0.008 6	43	<0.05
B	0.005 8	2	0.00 29	14.5	
C	0.023 4	2	0.011 7	58.5	<0.05
D(误差)	0.000 4	2	0.000 2		

注: $F_{0.01}(2,2) = 99.33$; $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

2.5 提取液醇沉精制法与絮凝澄清精制法的比较

根据上述试验选定的絮凝条件,取含生药量0.125 g·mL⁻¹的药液,加入15%的壳聚糖溶液,搅拌30 min,取出,静置12 h,抽滤,定容至80 mL。取含生药量1 g·mL⁻¹的药液,加乙醇使含醇量达60%,静置24 h,抽滤,浓缩,定容至1:1(141 mL)。取2种药液适量,分别测定黄芩苷的质量、浸膏率。结果絮凝工艺、醇沉工艺黄芩苷质量分别为0.798,

昆参分散片处方工艺优选

朱立俏*, 盛华刚
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:优选昆参分散片的成型工艺。方法:以崩解时间为指标,采用单因素试验优选辅料种类;均匀设计试验优选辅料用量。结果:最佳处方组成为主药 65%,交联聚乙烯吡咯烷酮 12%,微晶纤维素 21%,阿司帕坦 2%。按该处方压片,崩解时间 <3 min,溶出迅速且完全。结论:所优选处方合理,工艺可行。

[关键词] 昆参分散片; 处方工艺; 崩解时间; 溶出度

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)11-0034-03

Optimization of Prescription Technology of Kunshen Dispersible Tablet

ZHU Li-qiao*, SHENG Hua-gang
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] Objective: To optimize molding process of Kunshen dispersible tablet. Method: With disintegration time as index, type of excipients were optimized by single factor test and the amount of excipients was optimized by uniform design test. Result: Optimum formulation was composed of extract powder 65%, microcrystalline cellulose 21%, cross-linked polyvinyl pyrrolidone (PVPP) 12%, aspartame 2%. Under these

[收稿日期] 20111221(015)
[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-013)
[通讯作者] * 朱立俏, 讲师, 博士研究生, 从事中药化学成分与新制剂的研究, E-mail: zliqiao@163.com

0.553 g;浸膏率分别为 25.1%,22.8%。表明壳聚糖澄清剂可有效地保留有效成分,与醇沉法相比,能明显提高有效成分含量,同时浸膏率无明显差异。

3 讨论

壳聚糖天然吸附澄清剂在保留药液中高分子物质、多糖及可溶性固体物方面优于传统水提醇沉法,具有有效、简便、成本低、增强稳性的优点,应用前景很好^[8]。同时天然吸附澄清剂在中药精制中的使用不应盲目,因为中药配方各异成分复杂,不同的澄清剂对不同药物有效成分的影响不同,应针对具体药物在试验基础上确定使用种类、剂量及方法,并以药效学指标确定其对疗效的影响,使其应用更科学,以达到最佳效果。

[参考文献]

[1] 郑琴,徐德生,冯怡.改善中药口服液澄明度的思路[J].中成药,2006,28(10):1502.

[2] 殷放宙,蔡宝昌,潘扬,等.均匀设计考察壳聚糖澄清

法精制降糖通脉水提液[J].中药材,2003,26(2):113.

[3] 夏新华,谭红胜.蒲公英水提液絮凝澄清工艺研究[J].中国中药杂志,2006,31(19):1633.

[4] 陈英,李永吉,程淑云,等.壳聚糖絮凝法精制红花水提液工艺的研究[J].时珍国医国药,2007,18(5):1167.

[5] 蒋敏,夏新华.壳聚糖用于湘 A-2 号颗粒的絮凝工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(6):33.

[6] 盛华刚,朱立俏,林桂涛.壳聚糖澄清剂对枳实薤白桂枝汤颗粒提取液的纯化工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):15.

[7] 陈以新,盛华刚,林桂涛,等.壳聚糖絮凝沉降法与乙醇沉淀法对二冬汤精制的对比研究[J].中成药,2011,33(4):612.

[8] 朱兴年.壳聚糖在中药提取液中的应用研究[J].时珍国医国药,2002,13(9):557.

[责任编辑 仝燕]