

芪葛口服液制备工艺

周恩丽, 孟文娟, 徐连明, 尚强, 杨璐, 萧伟*

(江苏康缘药业股份有限公司中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的: 优选芪葛口服液制备工艺参数。方法: 采用黄芪甲苷含量为检测指标, 通过正交设计及单因素试验考察, 优选得到最佳制备工艺。结果: 最佳工艺为加 5 倍量水, 提取 2 次, 每次 2 h, 醇沉体积分数 60%, 采用聚山梨醇酯-80(吐温-80)进行挥发油增溶。结论: 芪葛口服液水提、精制工艺满足生产工艺要求。

[关键词] 芪葛口服液; 黄芪甲苷; 正交试验; 增溶; 澄清度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0004-03

Preparation Technology of Qige Oral Liquid

ZHOU En-li, MENG Wen-juan, XU Lian-ming, SHANG Qiang, YANG Lu, XIAO Wei*

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co Ltd, State Key Laboratory of New-Tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

[收稿日期] 20111011(015)

[基金项目] 国家科技部 973 计划(2010CB735604)

[第一作者] 周恩丽, 学士, 工程师, 从事新药工艺研究, Tel: 0518-85521936, E-mail: zel315@sina.com

[通讯作者] * 萧伟, 博士, 高级工程师, 从事创新中药的开发与研究, Tel: 0518-85521956, E-mail: kanionxw2010@126.com

为误差项的方差分析见表 7。

表 7 纯化工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	232.402	2	116.201	201.307	<0.01
B	11.221	2	5.610	9.720	
C	38.045	2	19.022	32.954	<0.05
D(误差)	1.155	2	0.577		

从表 6, 7 可见, 以干膏中总皂苷的质量分数为指标进行分析, 其最佳工艺为 $A_2B_3C_3D_1$, 影响其总皂苷含量的主要因素是乙醇体积分数, 其次是乙醇体积及洗脱流速, 影响最小的是吸附流速, 根据优选结果, 最佳洗脱条件为 6 BV 70% 乙醇洗脱, 洗脱流速 $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 吸附流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 为了节省时间, 选择吸附流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 即最佳工艺为 $A_2B_3C_3D_2$ 。

2.5.3 验证试验 按上述正交工艺条件制备 3 批样品, 10 倍放大上样, 测定洗脱物中总皂苷平均质量分数为 51.93%。结果表明, 该工艺稳定可靠, 可推广应用用于黄花草木犀总皂苷有效部位的大量

制备。

3 讨论

首次建立了以 β -胡萝卜素为对照品测定总皂苷含量的方法。预试表明黄花草木犀总皂苷有效部位中含有一定量的 β -胡萝卜素, 仅含有微量的齐墩果酸, 为此试验选择香草醛-冰醋酸比色法, 比较了分别以齐墩果酸为对照品和以 β -胡萝卜素为对照品的皂苷含量测定方法, 方法学考察表明以 β -胡萝卜素为对照品皂苷含量测定方法更加准确可靠重现性好。

[参考文献]

- [1] 吉林省中医中药研究所. 长白山植物药志[M]. 长春: 吉林人民出版社, 1982: 1177.
- [2] 王玉芝, 于天霞, 王嘉滨. 荔枝核中总皂苷的提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 48.
- [3] 桂双英, 周亚球, 张跃飞. 正交试验法优选人参总皂苷的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(10): 591.
- [4] 张国松, 封传华, 罗晓健, 等. 柴胡总皂苷提取工艺的优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 17.

[责任编辑 全燕]

[**Abstract**] **Objective:** To establish preparation technology of Qige oral liquid. **Method:** With the content of astragaloside iv as evaluation index, optimum preparation technology was optimized by orthogonal design test and single factor test. **Result:** Optimum technology was: extracted 2 times with 8 times the amount of water for 2 h each time, the concentration of ethanol precipitation was 60%, Tween-80 was used for solubilizing volatile oil. **Conclusion:** Water extracting technology and refining process of Qige oral liquid met production technology requirement.

[**Key words**] Qige oral liquid; astragaloside iv; orthogonal design; solubilizing; clarity

芪葛口服液系由名方黄芪桂枝五物汤化裁而成,具有益气活血、宣痹通络之功效,用于颈椎病引起的眩晕、头痛、项强、手臂麻木等症,临床疗效显著。为使其更好地开发疗效,对芪葛口服液的制备工艺进行了优化研究。

1 材料

黄芪、葛根、桂枝、威灵仙、白芍、姜黄、川芎和菊花购于连云港市和兴堂饮片厂,其中黄芪经本院质量标准研究中心鉴定为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根。黄芪甲苷对照品购于中国药品生物制品检定所,批号 110781-200613),乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。聚山梨醇酯-80(吐温-80)为药用规格。

2695-2420 型高效液相色谱仪(美国 Waters), Agilent zorbax-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), AE240 型电子分析天平(中国梅特勒-托利多仪器厂)。

2 方法与结果

根据处方中药材的性质,桂枝、姜黄、川芎、菊花^[1] 4 味用水蒸气蒸馏法^[2] 提取挥发油,黄芪、葛根、威灵仙、白芍^[3] 4 味药主要含有皂苷、黄酮及其苷、酚苷类成分,都是水溶性成分,因此选择水煎煮法提取。

2.1 挥发油提取工艺考察 在预试验基础上,取处方量的桂枝、姜黄、川芎、菊花,除菊花外,均粉碎成粗粉,加 10 倍生药量的水,浸泡 1 ~ 10 h,待药材充分浸透后水蒸气蒸馏法提取挥发油,结果挥发油提取量分别为 0.70, 1.00, 1.20, 1.35, 1.55, 1.63, 1.65, 1.68, 1.70, 1.70 mL。由结果可见,6 h 挥发油已基本提取完全,10 h 提出的挥发油量最大,但耗工耗能,因此确定提油时间为 6 h。采用优选后的挥发油提取工艺,对 3 批 1 个处方量药材进行挥发油提取工艺验证试验,结果挥发油平均提取量为 1.69 mL,与工艺考察试验结果接近,说明该工艺稳定可行。

2.2 提取工艺优选^[4]

2.2.1 试验设计^[5] 取 1 个处方量的药材,以黄芪甲苷为指标,选用 L₉(3⁴) 正交试验表,对加水量、提取时间、提取次数进行考察,因素与水平见表 1。预试验中,分别考察了 4, 5, 6 倍加水量,提取 2 h,结果加水量对黄芪甲苷提取率无显著影响,故正交设计中加水量因素设计采用 3, 4, 5 倍。

表 1 芪葛口服液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 提取数/次
1	3	1	1
2	4	2	2
3	5	3	3

2.2.2 黄芪甲苷的含量测定^[6] Agilent zorbax-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(33:67), 柱温 30 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 蒸发光散射检测条件:漂移管温度 43 ℃, 雾化器温度 35 ℃, 氮气压力 25 Psi, 进样量 5 μL。

取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

精密量取黄芪、葛根、威灵仙、白芍药材水提取液样品 20 mL,置分液漏斗中,用水饱和正丁醇振摇提取 4 次(60, 40, 40, 40 mL),合并正丁醇液,用氨试液洗涤 3 次,每次 40 mL,弃去氨液,回收正丁醇至干,残渣加水 10 mL 使溶解,放冷,通过 D101 大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,长 12 cm),用 50 mL 水洗脱,弃去水液,再用 40% 乙醇 50 mL 洗脱,弃去 40% 乙醇洗脱液,继用 70% 乙醇 150 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇溶解并移置 2 mL 的量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液 2, 8 μL、供试品溶液 5 μL,依法测定,结果见表 2。

从表 2 可以看出,对黄芪甲苷提取率的影响程度依次为 B > A > C。根据测定结果并考虑省时节能。降低成本,选择最佳工艺为 A₃B₂C₂,即 5 倍量水煎煮提取 2 次,每次 2 h。

表 2 芪葛口服液提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	黄芪甲苷转移率/%
1	1	1	1	1	0.20
2	1	2	2	2	0.52
3	1	3	3	3	0.59
4	2	1	2	3	0.46
5	2	2	3	1	0.53
6	2	3	1	2	0.50
7	3	1	3	2	0.52
8	3	2	1	3	0.56
9	3	3	2	1	0.70
K_1	1.31	1.18	1.26	1.43	
K_2	1.49	1.61	1.68	1.54	
K_3	1.78	1.79	1.64	1.61	
R	0.47	0.61	0.42	0.18	

2.2.3 工艺验证试验 取同批次处方量药材 3 份,按优选工艺进行试验,记录挥发油提取量及制得样品黄芪甲苷含量,结果黄芪甲苷平均提取率为 54.67%。

2.3 醇沉工艺优选 中药提取液醇沉过程中,60%乙醇可使淀粉、多糖、蛋白质发生沉淀,80%以上乙醇可使极性较大的苷类成分发生沉淀,为了除去杂质,减少活性成分的损失,分别考察了体积分数 60%,70%,80%乙醇沉淀对黄芪甲苷成分的影响。取同批次处方量药材 3 份,按优选的提取工艺对药材进行提取,水提取液减压浓缩(80℃, -0.08 MPa)至相对密度 1.10(50℃),放置室温后,加入 95%乙醇醇沉,以醇沉液中黄芪甲苷质量浓度为考察指标筛选最佳醇沉工艺。

结果显示,用体积分数 60%,70%,80%乙醇沉淀黄芪甲苷转移率分别为 53%,51%,45%,说明 80%醇沉黄芪甲苷有损失,60%和 70%醇沉无显著性差异,故采用 60%醇沉工艺。经 3 批工艺验证试验,黄芪药材中黄芪甲苷平均转移率为 53%,与筛选实验结果相近,说明醇沉工艺稳定可行。

2.4 成型工艺 采取热处理冷藏法及选用吐温-80 作为挥发油增溶剂法解决其澄清度问题,取得了较好的效果。

2.4.1 配液工艺考察 分别称取 4 个处方量的药材,按水提醇沉优选工艺制得样品浸膏,平均分成 4 等分,分别加水至足量(1 000 mL),混匀,分别煮沸

10,20,30 min,放冷后冷藏 48 h,离心滤过,灌装,灭菌,结果未热处理的出现浑浊,10 min 热处理的有少量沉淀析出,但轻摇即散,20,30 min 热处理澄清;并对灭菌后制剂中黄芪甲苷质量浓度进行检测,结果分别为 0.21,0.21,0.20,0.20 g·L⁻¹。由结果可知黄芪甲苷受温度影响不明显,热处理冷藏法可以提高制剂的澄清度,根据测定结果并考虑省时节能,降低成本,采用热处理 20 min 配液较为合理。

2.4.2 挥发油增溶工艺考察 选用吐温-80 作为挥发油增溶剂,以口服液澄清度为考察指标,取 1 000 mL 口服 5 份,并分别对质量分数 0.5%,1.0%,1.5%,2.0%,2.5%的吐温-80 用量进行考察,结果表明吐温-80 用量 1.5%~2%为好,考虑降低成本和尽量减少吐温-80 的用量,因此吐温-80 用量选择 1.5%。

2.5 芪葛口服液制备工艺验证 取 20 个处方的同批次药材,分别按所选工艺进行试验,制得口服液样品,分别考察了挥发油提取、黄芪甲苷含量及澄清度,均符合质量标准要求且工艺基本稳定,结果挥发油平均提取量为 37 mL,黄芪甲苷平均质量浓度为 0.14 g·L⁻¹,口服液澄清。

3 讨论

芪葛口服液中含有挥发油成分,采用吐温-80 对其进行增溶,不但增加了挥发油的溶解度,对提高口服液的澄清度也有一定的作用。

[参考文献]

- [1] 迈小敏,王宏洁,司南,等.川芎、杭黄菊药材单提与合提挥发油成分的比较[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(5):92.
- [2] 于兆海,李万忠.中药挥发油的提取、分离与制剂研究概述[J].环球中医药,2009,2(3):232.
- [3] 柳俊,张建军.Box-Behnken 效应面法优化白芍配方颗粒提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(1):9.
- [4] 钱琳,邓楠.黄芪提取工艺研究[J].中国现代医学杂志,2009,19(11):1605.
- [5] 吴立明.正交试验法考察黄芪的提取工艺[J].中国中医药信息杂志,2003,10(11):39.
- [6] 仝立国,梁瑞敏,冯玛莉,等.HPLC-ELSD 测定芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):72.
- [7] 李景丽,田玉先.吐温-80 在药剂中的增溶作用[J].陕西中医学院学报,1998,21(2):44.

[责任编辑 全燕]