

乳康胶囊的制备工艺研究

王建明*, 马晓星, 王岩松, 王凯乾
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究乳康胶囊制备工艺, 优选最佳提取, 纯化工艺条件。方法: 以黄芪甲苷含量为考察指标, 用正交试验考察了加水量、提取时间和提取次数对水提取工艺的影响; 然后考察了醇沉浓度、药液浓度、放置时间3因素对醇沉效果的影响。结果: 乳康胶囊最佳水提工艺条件为加12倍量的水, 提取2次, 每次2h; 纯化工艺以醇沉浓度75%, 药液浓度1:1.5, 放置时间24h为佳。结论: 获得优化提取工艺。

[关键词] 乳康胶囊; 制备工艺; 正交试验; 黄芪甲苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)06-0027-03

Studies on the Preparing Technology of Rukang Capsules

WANG Jian-ming*, MA Xiao-xing, WANG Yan-song, WANG Kai-qian
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To study preparation and optimum conditions in the extraction and purifying of Rukang Capsules. **Methods:** The amount of water, extracting time and extracting times were optimized based on the contents of Astragaloside, in water extracting process, and also for the effects of alcohol concentration, decoction concentration and sedimentary time on removing residue. **Results:** The optimum condition of Rukang Capsules for water extraction were 12 times of water, 2 times and 2 h each times; 75% alcohol, 1: 1.5 decoction should be used for purifying process with in 24 h. **Conclusion:** The optimum condition was reasonable and practice for industrial production.

[Key words] Rukang Capsules; preparation technology; orthogonal test; astragaloside

乳康胶囊是由乳康片改剂型而得, 在临床上用于治疗乳腺增生病。该方由黄芪、丹参、莪术、天冬、浙贝母、乳香、没药等15味名贵中药制成的中药制剂, 具有疏肝解郁, 理气止痛, 活血破瘀, 软坚散结, 补气健脾之功效。黄芪是方中主药, 其有效成分是黄芪甲苷, 我们以黄芪甲苷含量为考察指标, 对制剂的水提取工艺和醇纯化工艺进行了优选, 确立了合理的制备工艺。

1 仪器与试剂

Waters600E 高效液相色谱仪(美国产); Alltech ELSD2000 蒸发光散射检测器(美国产); Millennium32

数据处理系统(美国产); 超声波清洗仪; 分析天平(1/10⁶); 电子分析天平(1/10⁶); 真空干燥箱; 旋转蒸发仪。

乙腈(色谱纯); 水(二次重蒸水); 其他试剂均为分析纯; 黄芪甲苷对照品(含量测定用, 批号: 0781-20020 中国药品生物制品检定所); 所用药材均为符合中华人民共和国药典规定, 由哈尔滨市药材总公司提供。

2 黄芪甲苷测定方法的建立

2.1 色谱条件 色谱柱: 大连 Kromasil C18 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶; 流动相: 乙腈-水(32: 68); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 40 °C; 高纯氮气流速: 2.5 L/min; 漂移管温度: 105 °C; 理论塔板数: 按黄芪甲苷计算不低于2 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品

[收稿日期] 2006-09-28

[通讯作者] * 王建明, Tel: (0451) 82196262; E-mail: wangjianming@hljucm.net

3.6 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。(每 1 mL 中含黄芪甲苷 0.36 mg)。

2.3 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 4.6、8、10、12 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 记录色谱图, 以峰面积的自然对数为纵坐标, 以黄芪甲苷含量的自然对数为横坐标绘制标准曲线, 得黄芪甲苷的回归方程为: $\ln A = 10.9603 + 1.8852 \ln X$ ($r = 0.9999$), 表明相关性显著, 具有良好的线性关系。结果表明, 黄芪甲苷在 1.44 μg ~ 4.32 μg 之间有良好的线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 峰面积的 RSD 为 0.4%, 说明精密度较高, 测定可靠。

2.5 重复性试验 精密称取同一批号乳康胶囊 4 g, 取 5 份, 分别精密称定, 按供试品溶液制备和含量测定项下提取和测定, 样品含量相对偏差为 0.3%。

2.6 稳定性试验 精密称取样品 4.0003 g, 按供试品制备方法制备供试品溶液。每次精密进样 15 μL, 每隔 2 h 测定一次, 共测定 12 h, 其含量相对标准偏差为 0.2%。表明样品在 12 h 内具有良好的稳定性。

2.7 回收率试验 取本品乳康胶囊 5 份, 每份约 2 g, 精密称定, 分别加入黄芪甲苷对照品 0.576 mg, 混匀后, 分别按供试品制备和含量测定项下提取测定, 五份样品平均回收率为 100.3%, RSD = 0.5%, 回收率较高, 方法可靠。

3 水提取工艺的优选

3.1 因素与水平的确定 根据长期实践得知, 中药浸出制剂疗效的发挥主要取决于提取, 而提取效果受到提取溶剂、提取次数及时间等因素, 以及因素不同水平的影响。故水提取考察时, 选择加水量、提取时间、提取次数作为因素, 重点考察因素的水平对水煎煮效果的影响。结合生产成本、能源等方面进行综合考虑, 各因素水平安排见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素		
	A 提取时间(h)	B 用水量(倍)	C 提取次数(次)
1	1	8	1
2	2	10	2
3	3	12	3

3.2 供试品溶液的制备 按处方比例称取药材, 每个样品共计 72 g, 按正交试验设计方案进行提取, 提

取液均浓缩至 72 mL, 备用。精密称取各备用液 12 mL(相当于黄芪原药材 2 g) 移至蒸发皿中, 于水浴上蒸干, 残渣置索氏提取器中, 加乙醚 50 mL 回流提取 3 h, 弃去乙醚提取液, 药渣及滤纸筒挥干乙醚, 加甲醇 60 mL 回流提取 8 h, 至提取液近无色, 将甲醇提取液蒸干, 残渣加水 20 mL 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇提取 5 次(30, 20, 20, 20, 20 mL), 合并正丁醇层, 用氨试液洗 2 次, 每次 30 mL, 弃去氨试液, 正丁醇层用正丁醇饱和的水 20 mL 洗 1 次, 分取正丁醇层, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容于 5 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

3.3 供试品溶液的含量测定 精密吸取对照品溶液 6 μL, 10 μL 与供试品溶液 15 μL, 注入液相色谱仪, 将峰面积和浓度均取自然对数, 以外标两点法计算, 求出供试品浓度的自然对数, 再换算出供试品的含量, 即得。结果见表 2。

表 2 正交试验结果

样品	A	B	C	D	试验结果
					黄芪甲苷量(mg)
1	1	1	1	1	0.86
2	1	2	2	2	1.57
3	1	3	3	3	1.61
4	2	1	2	3	1.83
5	2	2	3	1	1.89
6	2	3	1	2	1.16
7	3	1	3	2	1.68
8	3	2	1	3	1.04
9	3	3	2	1	1.94
Ij	4.04	4.37	3.06	4.69	
IIj	4.88	4.50	5.34	4.41	
IIIj	4.66	4.71	5.18	4.48	
Rj	0.84	0.34	2.12	0.28	

3.4 方差分析结果 经表 2 直观分析可以看出, 影响最大的因素是提取次数, 以提取 2 次为最好; 其次是提取时间, 以提取 2 h 为最好; 用水量影响最小, 以 12 倍量为最佳。直观分析结果 A₂B₃C₂ 为最佳工艺。为进一步验证, 将数据进行方差分析, 结果见表 3。

方差分析与直观分析结果一致, 最佳水提工艺定为加 12 倍量的水, 提取 2 次, 每次 2 h。经实验验证, 按最佳提取条件提取所得的黄芪甲苷含量高于正交试验表中的得率。

表 3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.126 5	2	0.063 5	8.91	
B	0.019 6	2	0.009 8	1.38	
C	1.079 8	2	0.539 9	76.04	$P < 0.05$
D	0.014 2	2	0.007 1		

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

4 醇沉工艺研究

4.1 因素与水平的确定 中药中能被水煎出的杂质主要是淀粉、多糖类、蛋白质、粘液质、鞣质色素、无机盐等水溶性成分, 在水中加入一定量的醇改变杂质的溶解度, 可以将杂质全部或部分地除去。而醇沉效果受到醇沉浓度、药液浓度及放置时间等因素, 以及因素不同水平的影响。故醇沉考察时, 选择醇沉浓度、药液浓度、放置时间作为因素, 重点考察因素的水平对醇沉效果的影响, 选择因素水平设计见表 4。

表 4 因素水平

水平	因素		
	A 醇沉浓度(%)	B 药液浓度(g 生药/mL)	C 放置时间(h)
1	65	1	12
2	70	1.5	24
3	75	2	36

4.2 供试品溶液的制备 按处方比例称取药材, 共计 720 g, 依照最佳提取工艺进行煎煮, 提取液浓缩至 720 mL, 分成 10 份, 取其中 9 份备用。

4.3 含量测定 将上述 9 份供试品溶液按正交表进行浓缩, 醇沉、冷藏放置, 回收乙醇, 残渣转至索氏提取器, 操作方法同上。以黄芪甲苷含量为考察指标, 试验结果见表 5。

4.4 醇沉优选结果 直观分析表明, 影响最大的因素是醇沉浓度, 以 75% 为最好; 其次是放置时间, 以 24 h 为最好; 药物浓度影响最小, 以 1: 1.5 为最佳, 即醇沉浓度为 75%, 药液浓度为 1: 1.5, 放置时间为 24 h。但是 9 组实验数据结果差异很小, 属误差范围, 故方差分析已无实际意义。所以从实际情况看 75% 乙醇除杂效果最好; 从工艺成本考虑药液浓度选用 1: 1 为好; 放置 24 h 为常规时间可以采用。因此从实际出发最佳工艺定为 $A_3B_1C_2$ 即醇沉浓度 75%, 放置时间 24 h, 药液浓度 1: 1。

表 5 试验结果

样品	A	B	C	D	试验结果黄芪甲苷含量(mg/g)
1	1	1	1	1	0.261 4
2	1	2	2	2	0.265 9
3	1	3	3	3	0.260 3
4	2	1	2	3	0.266 8
5	2	2	3	1	0.260 8
6	2	3	1	2	0.258 7
7	3	1	3	2	0.266 5
8	3	2	1	3	0.268 4
9	3	3	2	1	0.271 1
Ij	0.787 6	0.794 7	0.778 5	0.793 3	
含 IIj	0.786 3	0.795 1	0.803 8	0.791 1	
量 IIIj	0.806 0	0.790 1	0.787 6	0.795 5	
Rj	0.019 7	0.005 0	0.016 2	0.004 4	

5 讨论

本试验的精制工艺为水提醇沉法^[1], 本法是先以水为溶剂提取药材有效成分, 再用不同浓度的乙醇沉淀去除提取液中杂质的方法。通常认为, 料液中含乙醇量达到 50%~60% 时, 可去除淀粉等杂质, 当含醇量达 75% 以上, 除鞣质、水溶性色素等少量无效成分外, 其余大部分杂质均可沉淀而去除。

现在应用于中药制剂的精制方法已经不再局限于传统的水提醇沉方法, 如大孔吸附树脂技术、吸附澄清技术(壳聚糖、J01 果汁澄清剂等)等新方法已经越来越多地得到应用, 我们会在以后的工作中进一步讨论其他方法在乳康胶囊精制工艺中的运用。

文献报道的黄芪甲苷的含量测定方法有薄层扫描^[2]、HPLC-UV^[3]、HPLC-ELSD^[4]法、比色法^[5]等。本文采用 HPLC-ELSD 法对黄芪甲苷进行含量测定, 灵敏度高, 分离度好, 干扰少, 重现性好, 是一种检测黄芪甲苷成分的新型有效的分析方法, 可作为乳康胶囊的含量控制方法。

[参考文献]

- [1] 范碧亭. 中药药剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000. 107.
- [2] 定水平. 薄层扫描法测定二味康中黄芪甲苷含量的研究[J]. 医药导报, 2002, 21(3): 175-176.
- [3] 雷曦, 秦剑. 高效液相色谱法测定复脉定颗粒剂中黄芪甲苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(7): 402-403.
- [4] 赵灵. HPLC-ELSD 法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(6): 403-405.
- [5] 陆一心. 黄芪甲苷定量方法的研究[J]. 中成药, 1996, 18(2): 38-39.