

• 制剂工艺 •

苦杏仁配方颗粒制备工艺和质量标准研究

周 斌¹, 高文远¹, 张铁军^{2*}, 张家欣³

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 天津药物研究院中药现代化部, 天津 300193;
3. 淮安信息技术学院, 江苏 淮安 223001)

[摘要] 目的: 优化苦杏仁配方颗粒制备工艺, 并建立苦杏仁配方颗粒质量标准。方法: 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计安排实验, 用薄层色谱(TLC)进行定性鉴别, 用高效液相色谱(HPLC)法进行含量测定。结果: 苦杏仁的提取工艺为: 加10倍量水, 煎煮提取3次, 每次1.0h, 苦杏仁苷转移率可达96%; 在薄层色谱中可检出特征斑点; 苦杏仁苷进样量在1.952 5~ 9.762 5 μ g范围内线性关系良好($r = 0.999\ 9$), 平均回收率97.64% (RSD= 1.40%, $n = 6$)。结论: 提取工艺科学合理; HPLC法易于操作, 重复性好, 能够控制苦杏仁配方颗粒的质量。

[关键词] 苦杏仁; 配方颗粒; 高效液相色谱法; 质量标准

[中图分类号] R283.6, R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)11-0001-03

Study on Preparation and Quality Standard of *Prunus armeniaca* Dispensing Granules

ZHOU Bin¹, GAO Wen-yuan¹, ZHANG Tie-jun^{2*}, ZHANG Jia-xin³

(1. College of Pharmaceuticals & Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 30072, China;
2. Department of Modernization of Chinese Traditional Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 3. Huai'an College of Information Technology, Huai'an 223001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation process and to set up the quality standard of *Prunus armeniaca* dispensing granules. **Methods:** Nine experiments were carried out by $L_9(3^4)$ orthogonal design, *Prunus armeniaca* dispensing granules was identified by TLC and the content of amygdalin was determined by HPLC. **Results:** The optimal extraction process was as follows: the water was 10 times of the *Prunus armeniaca*, it was decocted 3 times and each time was sustained for 1 hour. The linear relationship of amygdalin was at the range of 1.952 5~ 9.762 5 μ g ($r = 0.999\ 9$), the average recovery was 97.64% (RSD= 1.40%, $n = 6$). **Conclusion:** The extraction process was scientific, the method was available with a good reproducibility and can control the quality of *Prunus armeniaca* dispensing granules.

[Key words] *Prunus armeniaca*; dispensing granules; HPLC; quality standards

中药配方颗粒又称免煎中药, 它是将单味中药通过科学加工并提取中药材中有效成分, 制成中药

饮片新剂型, 是中药饮片发展方向之一, 也是中药现代化的重要研究内容之一。临床应用和药理实验表明^[1-3], 单味中药配方颗粒和传统的水煎剂具有基本相同的疗效和药理作用, 且中药配方颗粒具有体积小, 易于携带和保存, 质量稳定可控等优点^[4]。苦杏仁是止咳平喘、润肠通便的常用中药之一, 在中药方剂中广泛使用; 苦杏仁配方颗粒是由苦杏仁饮片经

[收稿日期] 2006-04-17

[基金项目] 天津市科技发展计划项目(043180911)

[通讯作者] * 张铁军, Tel/Fax: (022) 23006848; E-mail: tiezhering4@sina.com

现代工艺提取、浓缩、一步制粒而成。本实验对影响苦杏仁提取因素进行了优化,并建立了控制苦杏仁配方颗粒的质量标准。

1 仪器与试剂

SP8800 高效液相泵, Spectra Focus 紫外检测器(美国 Spectra Physics 公司), 威玛龙色谱数据工作站, 苦杏仁苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110820-200403); 苦杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 干燥成熟种子, 饮片购自天津市中药饮片厂, 经天津药物研究院张铁军研究员鉴定; 甲醇为优级纯。

2 方法与结果

2.1 苦杏仁提取工艺

2.1.1 正交设计 根据预试验结果, 以苦杏仁苷转移率和出膏率为考察指标, 以煎煮次数、提取时间、加水量作为 3 个因素, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平

水平	因素		
	A 煎煮次数(次)	B 提取时间(h)	C 加水倍数(倍)
1	1	1.0	8
2	2	1.5	10
3	3	2.0	12

2.1.2 实验安排及结果 称取 20g 苦杏仁饮片共 9 份, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验, 测定出膏率及苦杏仁苷转移率, 按照苦杏仁苷转移率和出膏率的权重比(7: 3) 计算综合评分, 并对实验结果进行分析, 结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验表

试验号	因素				苦杏仁苷转移率 (%)	出膏率 (%)	综合评分
	A 煎煮次数	B 提取时间	C 加水倍数	D 空白			
1	1	1	1	1	71.04	8.57	52.30
2	1	2	2	2	83.46	9.23	61.19
3	1	3	3	3	78.82	9.86	58.13
4	2	1	2	3	84.28	11.95	62.58
5	2	2	3	1	91.58	12.14	67.75
6	2	3	1	2	86.87	13.02	64.72
7	3	1	3	2	95.69	13.89	71.15
8	3	2	1	3	92.83	14.38	69.29
9	3	3	2	1	91.62	15.98	68.93
K_1	57.21	62.01	62.10	62.99			
K_2	65.02	66.08	64.23	65.69			
K_3	69.79	63.93	65.68	63.33			
R	12.58	4.07	3.57	2.69			

表 3 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
A	242.12	2	121.06	18.76	> 0.05
B	24.83	2	12.45	1.92	> 0.05
C	19.39	2	9.69	1.50	> 0.05
误差(D)	12.91	2	6.45		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$$

从上述结果分析可以看出, 3 个因素的影响大小依次为 A > B > C, 且 $A_3 > A_2 > A_1$, $B_2 > B_3 > B_1$, $C_3 > C_2 > C_1$, 且 3 个因素影响都没有显著性。从节约能耗和降低成本考虑, 在保证提取充分的前提下, 综合分析各因素对苦杏仁苷转移率和出膏率的影响, 确定提取工艺为加 10 倍量水、煎煮提取 3 次、每次 1.0h。

2.1.3 3 批验证实验 为了验证所选条件的正确性与合理性, 进行了验证实验, 结果如表 4 所示。

表 4 最佳水提取工艺验证结果

实验号	苦杏仁苷转移率 (%)	出膏率 (%)
1	96.39	12.83
2	96.28	12.78
3	96.39	12.69
平均	96.35	12.77

从表 4 可知, 在所选工艺条件下, 结果均优于 $L_9(3^4)$ 正交表中任一工艺条件, 故确定最佳提取工艺为: 加 10 倍水量、煎煮提取 3 次、每次 1.0h。

2.2 苦杏仁配方颗粒的定性鉴别 取配方颗粒 1.0g, 加乙醚 50mL, 加热回流 1h 时, 弃去乙醚液, 药渣用乙醚 25mL, 洗涤后挥干, 加甲醇 30mL, 加热回流 30min, 放冷, 滤过, 滤液作为供试品溶液。取苦杏仁粉末 1.0g, 按照同法制成对照药材溶液。另取苦杏仁苷对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15: 40: 40: 10) 5~ 10 $^{\circ}$ C 放置 12h 的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 立即喷以磷钼酸硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性药液无斑点。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 TIANHE Irregular C_{18} (250mm \times 4.6mm, 10 μ m); 流动相: 甲醇-水(20: 80); 柱温: 室温; 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 210nm。对

照品和供试品色谱图见图1。

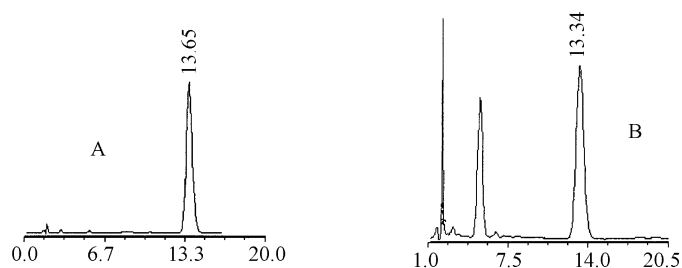


图1 苦杏仁苷对照品(A)和供试品(B)的HPLC谱图

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品7.81mg于10mL量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀即得对照品溶液,每1mL含苦杏仁苷0.781mg。

2.3.3 供试品溶液的制备 取苦杏仁配方颗粒1g,研细,精密称取粉末约0.5g,于50mL量瓶中,加入甲醇45mL,超声处理15min,放冷,加入甲醇至刻度,摇匀,0.45μm滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,进样10μL。

2.3.4 线性关系考察 依次吸取2.5、5、7.5、10、12.5μL对照品溶液注入高效液相色谱仪,以进样量(X)为横坐标,色谱峰面积(Y)为纵坐标,求得回归方程: $Y = 1916.5X - 26206$, $r = 0.9999$ 。表明进样量在1.9525~9.7625μg范围内线性关系良好。

2.3.5 精密度实验 精密吸取上述供试品溶液10μL,重复进样5次,按上述色谱条件测定,记录峰面积。计算得RSD=0.32% (n=5)。

2.3.6 稳定性实验 精密吸取上述供试品溶液10μL,分别在放置0、2、4、6、12、24h进样,按上述色谱条件测定苦杏仁苷的峰面积,计算得RSD=0.63% (n=6),结果表明,供试品溶液在24h内稳定。

2.3.7 重复性实验 精密称取同一批次样品5份,按2.3.3项方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定苦杏仁苷含量,计算得RSD=0.69% (n=5)。

2.3.8 加样回收实验 取苦杏仁配方颗粒粉末约0.05g,精密称定于10mL量瓶中,精密加入浓度为 $1.836\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 苦杏仁苷对照品溶液1.5mL,加入甲醇7mL,按2.3.3项下同法操作,进样10μL,测定苦杏仁苷含量,结果平均回收率为97.64%,RSD=1.40%,结果见表5。

2.3.9 成品的含量测定 分别称取不同批号的苦杏仁配方颗粒约0.5g,精密称定,按2.3.3项方法制备供试品溶液,进样10μL,按上述色谱条件测定,结果见表6。

表5 苦杏仁苷加样回收实验结果

组号	取样量(g)	苦杏仁苷量(mg)	加入量(mg)	实测量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.0524	3.0057	2.754	5.6851	97.29		
2	0.0525	3.0014	2.754	5.6891	97.23		
3	0.0512	2.9368	2.754	5.6224	97.52		
4	0.0537	3.0802	2.754	5.7149	95.67	97.64	1.40
5	0.0541	3.1032	2.754	5.8526	99.83		
6	0.0537	3.0802	2.754	5.7869	98.28		

表6 3批样品含量测定

批号	样品质量(g)	苦杏仁苷含量(mg/g)	RSD(%)
050510	0.5082	57.58	1.46
050512	0.5025	58.12	1.28
050514	0.5062	56.87	1.67

3 讨论

苦杏仁苷在用《中国药典》2005版一部规定的展开剂三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:30:10)展开时^[5],发现 R_f 值太小,调整三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水比例为(15:40:40:10),则效果较好, R_f 约0.63。

《中国药典》2005版一部采用硝酸银滴定法测苦杏仁苷含量^[5],不仅繁琐,而且重现性不好,本文采用HPLC法检测,易于操作,重复性好,可以有效的控制苦杏仁配方颗粒的质量。

苦杏仁苷是苦杏仁药材中的主要活性成分,且水溶性好,可被热水提出,因此,将苦杏仁制成配方颗粒,并以苦杏仁苷作为质量控制指标是合理可行的,是对中药饮片剂型的发展和补充,既保证了传统中药的特点,又提高了质量保证,值得临床推广和应用。

[参考文献]

[1] 陈玉兴,周瑞玲,崔景朝.羌活胜湿汤单煎与合煎抗炎、镇痛作用比较研究[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(1):15-17.

[2] 邓高丕,陶莉莉,缪江霞,等.寿胎丸加味方合煎与单煎混合浓缩颗粒的临床等效性研究[J].中药材,2001,24(9):694-695.

[3] 詹峰.润肠丸单味中药浓缩颗粒剂与传统饮片药效比较的研究[J].中国现代临床医学,2004,3(7):34.

[4] 诸明娜.免煎中药配方颗粒与传统中药饮片的比较[J].湖北中医杂志,2004,26(11):55.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2005.140.