

• 药剂 •

玉屏风口服液澄清工艺的实验研究

吕定刚 (广西兴安县人民医院, 广西 兴安 541300)

摘要: 采用药典法测定不同澄清工艺样品的总固体物含量; 薄层扫描法测定黄芪甲苷含量; 苯酚-硫酸法测定多糖含量。考察乙醇沉淀法和壳聚糖澄清剂对玉屏风口服液有效成分含量及总固体物含量的影响, 并进行了澄清效果、制剂稳定性比较。结果两种澄清工艺的澄清效果、制剂稳定性相似; 壳聚糖澄清剂对黄芪甲苷和多糖含量基本无影响; 乙醇沉淀法在使制剂总固体物含量明显减少的同时, 也使多糖含量显著降低。

关键词: 玉屏风口服液; 壳聚糖澄清剂; 乙醇沉淀法; 澄清工艺

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)03-0001-03

Experimental Studies on the Clarifying Techniques of *Yupingfeng* Oral Liquid

LU Ding-gang

(Xing'an County People's Hospital of Guangxi Province, Xing'an, 541300)

Abstract: The effects of alcohol sediment and chitosan clarifier were studied on the contents of astragaloside IV, determined by TLC-scanning method, and polysaccharide, calculated by phenol-sulfuric acid method and the total weight of sediment of *Yupingfeng* oral liquid. The clarification and stability of the liquid were also compared. The results showed two techniques hold similar clarify and stability. Chitosan had no effects on the contents of astragaloside IV and polysaccharide, but alcohol obviously decreased the total solid and polysaccharide of oral liquid.

Key words: *Yupingfeng* Oral Liquid; Chitosan clarifier; Alcohol sedimentation; Clarifying techniques

玉屏风口服液中国药典90年版开始予以收载。其制备方法为水提醇沉法^[1]。但近年研究显示^[2,3], 作为中药水提取液经典澄清方法之一的醇沉法在有效成分的保留等问题上存在着颇多不足之处, 尤其是一些具有免疫调节作用的水溶性多糖类成分, 往往会随醇沉过程而丢弃殆尽; 药液中总固体物损失一般亦超过50%甚或80%^[4]。因此, 近年来药学工作者对中药水提取液的精制尝试了多种方法, 其中对絮凝澄清剂的应用亦作了许多有益的探讨^[5]。本实验分别考察了乙醇、壳聚糖用于玉屏风口服液的澄清效果及其对主药有效成分的影响, 为确定玉屏风口服液的澄清工艺提供实验依据。

1 试药与仪器

1.1 试药 实验用药材黄芪、白术、防风均为饮片, 经鉴定与中国药典2000年版一部正品相符。

壳聚糖(华东理工大学理学院华凯科技贸易公司。用1%的醋酸配成1%的壳聚糖胶体溶液); 乙醇(含醇量为95%, 其它符合药典规定); 葡萄糖标准品(AR, 105℃干燥至恒重); 黄芪甲苷对照品(中国

药品生物制品检定所); 5%苯酚试剂(取苯酚100g, 加铝片0.1g, 碳酸氢钠0.05g, 混合蒸馏, 收集182℃馏分。称取此馏分5g, 加95ml蒸馏水)。其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器 CS-930型薄层扫描仪(日本岛津); 薄层层析用高效硅胶G板(青岛海洋化工厂); 定量毛细管(Drummond, USA); 7520型分光光度计(上海分析仪器厂); TG328B型分析天平(上海天平仪器厂); GQ105管式分离机(上海离心机械研究所); 电热恒温水浴锅等。

2 方法与结果

2.1 水提取液的制备^[1] 按处方称取药材(黄芪600g, 防风、炒白术各200g), 防风先提取挥发油并收集蒸馏液另器保存; 药渣与黄芪、白术二味加水煎煮2次(1.5h, 1.0h), 合并煎液、滤过、滤液浓缩至适量, 放冷后加入挥发油及蒸馏液, 调整药液总量至1000ml, 搅匀, 静置, 滤过, 即得(每1ml药液相当于生药1g)。

2.2 澄清剂用量考察 取2.1项下水提取液6份, 分别置15ml具塞试管中, 依次加入0.00%, 0.01%, 0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.30%(以壳聚糖计, w/w)壳

聚糖澄清剂, 搅匀, 水浴加热至 80℃, 继续搅拌约 10min, 密闭静置 24h, 观察澄清度变化情况。另取 2.1 项下水提取液 6 份, 分别置 100ml 三角瓶中, 依次加入 95% 的乙醇使含醇量分别达到 0.00%, 40.0%, 50.0%, 60.0%, 70.0%, 80.0%, 搅匀, 密闭静置 24h, 滤过, 滤液回收乙醇至无醇味, 加蒸馏水调至原药液量, 于 4~8℃ 冰箱中密闭静置 24h, 观察澄清度变化情况。其结果列于表 1。

表 1 不同用量澄清剂对玉屏风水提取液的澄清效果比较

壳聚糖 用量(%)	时间(h)						醇沉浓度					
	1	2	4	8	12	24	1	2	4	8	12	24
0.00	++	++	++	++	++	++	0.00	++	++	++	++	++
0.01	++	++	++	++	+	+	40.0	++	++	++	+	+
0.05	++	+	+	+	±	±	50.0	++	++	+	+	±
0.10	±	-	-	-	-	-	60.0	+	±	-	-	-
0.20	±	-	-	-	-	-	70.0	±	-	-	-	-
0.30	±	-	-	-	-	-	80.0	±	-	-	-	-

注: ++ 严重浑浊; + 浑浊; ± 微浊; - 澄清。

从表 1 可知, 玉屏风水提取液在 24h 内的澄清情况随澄清剂的加入量不同而呈现不同变化。未加澄清剂的水提液放置 24h 仍严重浑浊。壳聚糖和乙醇在药液中的含量分别在 0.10%~0.30% 和 60%~70% 范围内, 水提取液均可达到澄清效果。故选用较低剂量的 0.10% 的壳聚糖加入量和 60% 的醇沉浓度为宜。

2.3 不同澄清工艺样品的制备

2.3.1 自然澄清样品(I) 取 2.1 项下水提取液 200ml, 搅匀, 密闭静置 24h, 离心(3000r·min⁻¹) 10min, 滤过, 取 1/2 量滤液以蒸馏水调至 100ml, 留作定量分析用; 另取 1/2 量滤液按玉屏风水口服液生产工艺加糖浆, 以蒸馏水调至 100ml, 搅匀, 滤过, 灌装, 灭菌, 留作稳定性观察用。

2.3.2 壳聚糖澄清样品(II) 取 2.1 项下水提取液 200ml, 按 0.1% 的量加入壳聚糖澄清剂, 再按 2.2 项下方法澄清处理后, 密闭静置 24h, 余下按 2.3.1 项下方法操作完毕。

2.3.3 乙醇沉淀样品(III) 取 2.1 项下水提取液 200ml, 加 95% 乙醇至含醇量为 60%, 再按 2.2 项下方法澄清处理后, 密闭静置 24h, 余下按 2.3.1 项下方法操作完毕。

2.4 总固体物含量测定 精密量取 2.3 项下 3 种澄清样品液各 3 份, 每份 10ml, 精密称重后, 照中国药典 2000 年版一部附录 XA 浸出物测定方法测定可

溶性总固体物含量。每个样品平行操作 3 次, 取平均值, 结果见表 2。

2.5 黄芪甲苷含量测定^[6,7]

2.5.1 供试品液制备 精密吸取 2.3 项下澄清样品液各 10ml, 分别置分液漏斗中, 以乙醚萃取(20ml × 2), 取水层, 用正丁醇萃取(30ml × 4), 弃水层, 醇层用 5% 碳酸氢钠洗涤(20ml × 3) 及蒸馏水洗涤(10ml × 2), 取正丁醇层, 水浴蒸干, 残渣以甲醇溶解并定容至 5ml, 作为供试品溶液。

2.5.2 对照品溶液制备 精密称取黄芪甲苷对照品, 用甲醇配制成 1mg/ml 的对照品溶液。

2.5.3 线性关系考察 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 2.4.6.8.10μl 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(20:40:20:10) 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105℃ 烘干约 7min 至斑点色泽清晰, 双波长反射法锯齿形扫描(λ_s = 520nm, λ_r = 700nm), 以斑点面积积分值为纵座标, 相应对照品量为横坐标作图。其回归方程为 $A = 1.3127 \times 10^3 C + 1.402 \times 10^3$, $r = 0.9988$ 。

2.5.4 样品含量测定 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 2μl, 4μl, 供试品溶液 5μl, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开, 显色, 扫描测定, 计算含量。结果见表 2。

2.6 多糖含量测定^[8]

2.6.1 供试品液的制备 精密吸取 2.3 项下澄清样品液各 10ml, 加 95% 乙醇至含醇量为 80%, 搅匀, 冰箱中密闭静置 24h, 离心(3000r·min⁻¹) 10min, 弃去上清液, 沉淀用无水乙醇洗涤(30ml × 3), 分离沉淀, 置 10ml 量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 作为供试品溶液。

2.6.2 对照品溶液的制备 精密称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖标准品 10.0mg, 置 100ml 量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.1mg/ml 的对照品溶液。

2.6.3 标准曲线的制备 精密吸取葡萄糖对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8ml, 分别置 10ml 具塞试管中, 加蒸馏水补足至 2.0ml, 再分别加入新配制的 5% 苯酚溶液 1.0ml, 摇匀, 置冷水浴中, 迅速滴加浓硫酸 5.0ml, 摇匀, 5min 后取出, 置热水浴中加热 15min, 取出, 再置冷水浴中使其迅速冷却至室温。另取 2.0ml 蒸馏水同上平行操作作为空白对照, 按分光光度法于 490nm 波长处测定吸光度, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。回归

方程 $A = 6.875 \times 10^{-3} C - 1.682 \times 10^{-3}$, $r = 0.9996$ 。

2.6.4 样品含量测定 精密吸取供试品液 1.5ml 置 10ml 具塞试管中,按 2.6.3 项下方法自“加蒸馏水补足至 2.0ml ……”起,同法操作测定吸光度,并依回归方程计算。结果见表 2。

表 2 不同澄清工艺样品中总固体物、
黄芪甲苷及多糖含量 ($n = 3$)

编号	总固体物 含量 A (%)	黄芪甲苷 含量 B (mg/ml)	多糖 含量 C (mg/ml)	总固体物 除去率 S (%)	黄芪甲苷 保留率 M (%)	多糖保 留率 N (%)
I	29.06	0.762	32.27	—	—	—
II	20.75	0.724	29.94	28.60	95.01	92.78
III	15.38	0.688	6.56	47.08	90.29	20.32

注: $S = (A_I - A_x) / A_I \times 100\%$; $M = \frac{B_x}{B_I} \cdot 100\%$; $N = \frac{C_x}{C_I} \cdot 100\%$; $x =$

II, III。

2.7 稳定性观察 将不同澄清工艺制备的玉屏风口服液样品室温下放置 3 个月,观察其澄清度、色泽变化,并经离心后测定沉淀物重量、药液 pH 值、黄芪甲苷和多糖含量。结果自然澄清样品不仅外观性状较差,且沉淀物重量显著增加。但壳聚糖和醇沉法澄清样品外观性状基本稳定,沉淀物重量、pH 值、黄芪甲苷及多糖含量等均无明显变化,制剂质量基本稳定。

3 小结与讨论

黄芪为玉屏风口服液之君药,其所含黄芪甲苷具有抗炎、除压、镇痛、镇静、增加血浆 cAMP 和再生肝 DNA 含量等药理作用^[6];黄芪中的多糖类成分则具有较强的免疫调节作用^[9],故实验以上述两种有效成分含量及总固体物含量作为评价指标,以此综合考察不同澄清工艺对有效成分含量的影响。

实验结果表明,壳聚糖澄清法与乙醇沉淀法对玉屏风口服液的澄清效果相似,对黄芪甲苷的保留率亦基本接近,但对水溶性多糖的保留率则前者明显高于后者。此外,醇沉法可溶性总固体物损失较

多,可能与大部分水溶性多糖类成分的丢失有关。

在浓碱介质中加热脱除乙酰基后之产物。对中药水提取液的澄清主要与其吸附性能和絮凝作用有关,其澄清原理可能是通过与药液中蛋白质、果胶等分子间的吸附架桥和电中和作用,从而除去药液中颗粒较粗,具有沉降趋势的悬浮颗粒,保留高分子多糖类,并利用其胶体保护作用最终使药液澄清。此外,壳聚糖制备简单、毒性低,具有良好的生物相容性^[9]。从本实验结果看,壳聚糖代替乙醇用于玉屏风口服液澄清,对保留主药黄芪的有效成分及降低成本等方面无疑具有明显的优势,但对复方中其他成分及制剂总体疗效是否有影响,尚待相关药剂与药效学实验的进一步确证。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 421.
- [2] 韩桂茹, 徐切柳, 冯丽, 等. 水提醇沉法对各类有效成分的影响[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(5): 286.
- [3] 石猛, 莫尚志, 周文政. 醇沉法存在的问题及解决办法[J]. 中药材, 1999, 22(6): 313.
- [4] 秦腊酶, 张壮, 牛福玲, 等. 絮凝澄清剂在中药提取工艺过程中的应用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(3): 3.
- [5] 唐青华, 王曙东, 周昕. 吸附澄清剂在中药药液澄清中的应用近况[J]. 中成药, 1997, 19(6): 38.
- [6] 王宝葵, 苏健, 鲁静. 黄芪甲甙的检测在中药质控中的应用[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 161.
- [7] 李朝晖, 吴万征. 玉屏风散中黄芪甲甙的含量测定[J]. 中药材, 1999, 22(3): 146.
- [8] 毛丽珍, 徐世芳, 唐红芳. 天赐胶囊中多糖的含量测定[J]. 中草药, 2001, 32(3): 215.
- [9] 张彤, 徐莲英, 蔡贞贞. 壳聚糖澄清剂精制中药水提液的应用前景[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(8): 516