

复方芸归颗粒制备工艺研究

张霞^{1a,2,3}, 王荣^{1b*}, 王文革^{1a,2,3}, 侯延辉^{1a,2,3}, 李治芳^{1a,2,3} (1.宁夏医科大学, a.药学院, b.中医学院, 银川 750004; 2.宁夏回药现代化工程技术研究中心, 银川 750004; 3.宁夏医药研究所, 银川 750004)

摘要: 目的 优选复方芸归颗粒最佳制备工艺。方法 以方中主药当归活性成分阿魏酸、枳壳的活性成分柚皮苷提取量为评价指标, 高效液相色谱法定量, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验法, 对复方芸归颗粒制备过程中的水提取工艺进行优化, 并进行制粒工艺研究。结果 最佳提取工艺为: 加水量 10 倍、提取时间为 1.5 h、提取次数为 2 次; 制粒工艺: 提取液减压浓缩后喷雾干燥得药粉, 以 90%乙醇作润湿剂, 药粉: 辅料为 1:0.5, 矫味剂用量为 0.2%。结论 该工艺合理可行, 适用于复方芸归颗粒的制备。

关键词: 复方芸归颗粒; 制备工艺; 正交试验; 阿魏酸; 柚皮苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R943.4; R944.27 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2011)03-0222-05

Optimization of the Preparation Process of Complex Prescription Yungui Granules

ZHANG Xia^{1a,2,3}, WANG Rong^{1b*}, WANG Wenping^{1a,2,3}, HOU Yanhui^{1a,2,3}, LI Zhifang^{1a,2,3} (1.Ningxia Medical University, a.College of Pharmacy, b.College of Chinese Medicine, Yinchuan 750004, China; 2.Ningxia Engineering and Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine, Yinchuan 750004, China; 3.Ningxia Pharmaceutical Institute, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize preparation technology of complex prescription Yungui granules(CPYGG). **METHODS** Using the content of ferulic acid in Ligustici Radix and naringin in Aurantii Fructus as the index, HPLC was used to quantitative, extraction time, the amount of water, extracting times, degree on extraction technology were evaluated by $L_9(3^4)$ orthogonal design method. Granulating conditions were studied. **RESULTS** The superior technology of water extraction were as follows: 10 times as much water, extracted 1.5 h for 2 times. Wetting agent was 90% alcohol, extraction powder : adjuvant was 1 : 0.5, 0.2% sweetening agent was added. **CONCLUSION** The preparation procedure is stable and feasible, it can be used for the preparation of CPYGG.

KEY WORDS: complex prescription Yungui granules; preparation process; orthogonal experiment; ferulic acid; naringin; HPLC

便秘是临床上常见的胃肠运动障碍性疾病,严重影响患者的生活质量,并可诱发或加重其他疾病。西药治疗便秘多采用各种通便剂或促动力药,但大多治标不治本,且会带来多种不良反应^[1]。复方芸归颗粒原方是在中医药理论指导下,根据经

方、临床经验和实践,筛选出的具有标本兼治、攻补兼施作用的方剂。该方由当归、枳壳、黑芝麻、莱菔子、肉苁蓉等组成,具有补血润肠,行气通便的功效,临床用于治疗血虚便秘症。当归为方中君药,甘辛而温,具有补血活血、调经止

基金项目: 宁夏医科大学特殊人才启动基金(XT200807)

作者简介: 张霞,女,硕士,高级工程师 Tel: (0951)6980522
Tel: (0951)6880503 E-mail: everbright365@126.com

E-mail: ydzhx@126.com *通信作者: 王荣,男,博士,讲师

痛、润燥滑肠、生肌健骨的功用^[2]；枳壳、莱菔子行气除胀，并能使诸药补而不滞。原方以汤剂形式给药，经临床观察疗效显著，且具有不易引起药物依赖性的优势。将其制成无糖型颗粒剂可有效减小制剂体积，方便患者服用。为确保有效成分的提取效果，保证制剂的质量及疗效，本试验对本品的制备工艺进行了优选。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

L2000 高效液相色谱仪(日立公司)；AL 104 电子分析天平(梅特勒-托利多)；SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂)；RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)；B-290 喷雾干燥机(瑞士步琦)。

1.2 试剂

阿魏酸对照品(批号：200907，纯度：98%)、柚皮苷对照品(批号：200610，纯度：98%)，购于中国药品生物制品检定所；当归(批号：080817)、枳壳(批号：0806034)、黑芝麻(批号：0701135)、莱菔子(批号：0802010)、肉苁蓉(批号：0809275)等 5 味中药购自宁夏明德中药饮片有限公司，符合中国药典 2010 年版一部要求；乙腈为色谱纯，水为超纯水，其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 剂型的选择

由于本方单方剂量较大，通过预试验得知药材出膏率较高，所以不宜选用胶囊剂和片剂、口服液等剂型。无糖型颗粒剂具有服用量少、携带方便、吸收快、起效迅速、稳定性高等优点，故本方选用无糖型颗粒剂。

2.2 提取工艺的优化

2.2.1 吸水率的考察 按处方比例称取药材适量，加 10 倍水浸泡至透心(6 h)，滤过，称重，计算得药材吸水率为 196% (RSD=1.8%，n=3)，因此在第 1 次提取时应多加 2 倍量的水以补足吸水量，以免降低溶剂实际加入量，影响考察的准确性。

2.2.2 正交试验设计因素水平的确定 经预试验确定浸泡时间为 1 h，在此基础上采用正交试验对提取工艺条件做进一步优化。选择提取时间、加水量、提取次数作为考察因素，以有效成分提取量(阿魏酸、柚皮苷的权重系数分别为 0.6, 0.4)为评价指标，用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验，因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Tab 1 The factor and level of orthogonal design

水平	因素		
	提取时间/h (A)	加水倍量(B)	提取次数(C)
1	1	8	1
2	1.5	10	2
3	2	12	3

2.2.3 提取实验 依处方比例称取当归、枳壳等药材，共 9 份，按正交试验设计表的安排，见表 2。分别加水浸泡，煎提，过滤，收集滤液，减压浓缩至约 80 mL，转移至 200 mL 量瓶中，加水定容至刻度，备用。

2.2.4 阿魏酸、柚皮苷含量测定方法

2.2.4.1 色谱条件 采用 Thermo ODS-2 HYPERSIL C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m)；流动相 A 为乙腈，B 为 0.1% 磷酸，梯度洗脱：0~15 min，A 相 10%→22%，B 相 90%→78%；15~30 min，A 相 22%→27%，B 相 78%→73%；30~35 min，A 相 27%→10%，B 相 73%→90%；流速：1.0 mL·min⁻¹；柱温：30 °C；检测波长：310 nm；进样量：10 μ L。在此色谱条件下，阿魏酸、柚皮苷与供试品中其他成分达到较好的分离，见图 1。

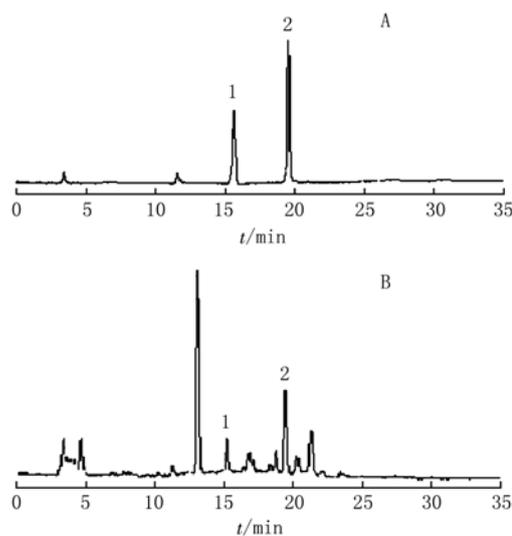


图 1 高效液相色谱图

A-对照品；B-供试品；1-阿魏酸；2-柚皮苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-ferulic acid; 2-naringin

2.2.4.2 对照品储备液的制备 精密称取经减压干燥的对照品阿魏酸和柚皮苷，置 10 mL 量瓶中，加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度分别 0.143, 0.960 g·L⁻¹ 的混合溶液，即得。

2.2.4.3 供试品溶液的制备 精密量取“2.2.3”项下所得提取液 2 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4.4 标准曲线的绘制 精密量取对照品储备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得不同浓度的对照品混合溶液。在上述色谱条件下进样测定, 以阿魏酸和柚皮苷浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。阿魏酸和柚皮苷的回归方程分别为: $Y=12\,574X+1\,980(r=0.999\,6)$ 和 $Y=36\,586X+1\,300(r=0.999\,5)$ 。结果表明阿魏酸和柚皮苷分别在 2.86~14.3 mg·L⁻¹ 和 19.2~96.0 mg·L⁻¹ 内线性关系良好。

2.2.4.5 仪器精密度试验 取同一对照品混合溶液连续进样 6 次, 测得阿魏酸和柚皮苷峰面积的

RSD 分别为 0.82% 和 0.70%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4.6 重复性试验 依处方比例取药材 6 份, 精密称定, 按相同提取工艺条件提取后, 依法制备供试品溶液, 进样测定, 计算提取率。结果阿魏酸和柚皮苷提取量的平均值分别为 0.126, 2.30 mg·g⁻¹; RSD 分别为 2.0%, 1.5%。

2.2.4.7 稳定性试验 取供试品溶液在室温下放置, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定峰面积。结果阿魏酸和柚皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.7% 和 1.4%。表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.2.4.8 加样回收率试验 依处方比例称取药材 6 份, 精密称定, 分别加入阿魏酸对照品 1.43 mg 和柚皮苷对照品 4.80 mg, 按表 2 中序号 1 的条件提取后测定, 结果两者的加样回收率分别为 90.8% 和 91.3%, RSD 分别为 2.0% 和 1.8%。

表 2 水提工艺正交试验设计表及结果

Tab 2 Design and result of orthogonal test for water extraction

因素 序号	A 1	B 2	C 3	D 4	试验结果		
					阿魏酸峰面积(0.6)	柚皮苷峰面积(0.4)	综合评分
1	1	1	1	1	30 390(47.4)	1 515 999(26.2)	73.6
2	1	2	2	2	32 121(50.1)	1 741 663(30.1)	80.0
3	1	3	3	3	33 467(52.2)	1 712 731(29.6)	81.8
4	2	1	2	3	38 468(60.0)	1 654 869(28.6)	88.6
5	2	2	3	1	29 749(46.4)	2 314 502(40.0)	86.4
6	2	3	1	2	33 211(51.8)	1 759 022(30.4)	82.2
7	3	1	3	2	31 864(49.7)	1 822 670(31.5)	81.2
8	3	2	1	3	29 556(46.1)	1 637 510(28.3)	74.4
9	3	3	2	1	32 185(50.2)	1 747 449(30.2)	80.4
K1	78.53	81.13	76.73	80.13			
K2	85.73	80.33	83.13	81.20			
K3	78.67	81.47	83.07	81.60			
R	7.20	1.13	6.40	1.47			

2.2.5 数据分析 对表 2 数据进行直观分析可知, 其最佳提取工艺条件为 A₂B₃C₂, 各因素的主次顺序为 A, C, B, 其中 A, C 因素经方差分析表明对阿魏酸和柚皮苷提取率有显著影响, 见表 3。

表 3 有效成分提取量方差分析表

Tab 3 Variance analysis of the content

误差来源	离差平方和	自由度	方差 F 值	P 值
A	101.80	2	29.52	<0.05
B	2.04	2	0.59	>0.05
C	81.08	2	23.51	<0.05
误差 E	3.45	2		

综合上述结果, 从省时、节约、降低成本角度考虑, 最终确定方案 A₂B₂C₂ 为最佳提取工艺条件, 即加 10 倍量水提取 2 次, 每次 1.5 h。

2.3 验证试验

按处方比例称取药材适量, 平行 3 份, 根据优化得到的工艺条件进行提取, 结果阿魏酸和柚皮苷的提取率分别为 0.161, 3.51 mg·g⁻¹。验证实验表明, 优化得到的提取工艺稳定可行。因此确定复方芸归颗粒的提取工艺为: 加入 10 倍量的水(第 1 次提取时加水量为 12 倍, 浸泡 1 h), 煎煮 2 次, 每次 1.5 h。

2.4 制粒工艺条件的筛选

2.4.1 浸膏粉的制备 处方药材按优化的提取条件提取后, 滤过, 合并滤液, 滤液减压浓缩至相对密度 1.05~1.10(60 °C), 进行喷雾干燥。喷雾干燥的工艺参数为: 进液物料温度 50~60 °C, 进风口温度 170 °C, 出风口温度 90 °C, 在此条件下可得到干燥的药粉且尽可能地保留药物的有效成分。

2.4.2 润湿剂的选择 由于本方的药粉黏性较强, 因此选用一定浓度的乙醇为润湿剂。制粒时软材情况与乙醇浓度的关系见表 4。根据试验结果应选择 90%乙醇作为制粒时的润湿剂。

表 4 不同浓度乙醇对制粒的影响

Tab 4 Effect of different alcohol content on granulating

乙醇浓度/%	软材情况	制粒难易
0	糖膏状	不能制粒
50	捏之成团, 但不散	很难制粒
70	捏之成团, 不易散	难制粒
90	捏之成团, 轻敲即散	易制粒

2.4.3 辅料的选择 颗粒剂(无糖型)常用辅料有乳糖、糊精和可溶性淀粉。称取喷雾干燥粉与辅料比例为 1:1, 分别混合均匀, 以 90%乙醇为润湿剂制粒。60 °C干燥 10 h, 以吸湿性、成型性及休止角为考察指标选定成型辅料。结果表明, 以可溶性淀粉为辅料制粒时, 可成粒, 但易黏连。以乳糖和糊精为辅料时, 易成粒, 不黏连, 所得颗粒均匀, 吸湿性及休止角无明显差异。由于乳糖价格较高, 考虑生产成本, 选用药用糊精为赋型剂。

2.4.4 辅料用量的选择 称取喷雾干燥粉与辅料适量, 分别混合均匀, 制粒, 通过考察颗粒的成型性、吸湿率及休止角确定所用辅料, 结果见表 5。随着辅料用量的增加, 颗粒的成型性变好, 吸湿性降低, 流动性增强, 考虑服用量应以少为佳, 确定药粉与辅料的比率为 1:0.5。

表 5 辅料用量的考察

Tab 5 Effect of different excipients compound on extract granulating

药粉: 辅料	成型性	吸湿率/%	休止角/°
1:0.1	很易黏连	32.16	38.30
1:0.3	易黏连, 颗粒不均匀	31.85	37.69
1:0.5	易成粒, 不黏连, 颗粒均匀	28.71	37.11
1:1.0	易成粒, 不黏连, 颗粒均匀	27.56	36.90

2.4.5 矫味剂用量的选择 虽然本处方当归、枳

壳等均含有多糖等甜味成分, 但仍然有一定的苦涩味, 为改善制剂的口感, 使患者容易接受, 应加入一定量的矫味剂掩盖不良口味。加入蛋白糖的量分别为药粉量的 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 试验结果表明当加入蛋白糖 0.2%时已能起到较好的矫味作用, 药香自然, 故确定加入蛋白糖 0.2%进行矫味。

2.4.6 颗粒临界相对湿度(CRH)的测定 配制不同浓度硫酸溶液和饱和盐溶液^[3], 分别置于干燥器中, 20 °C恒温放置 48 h, 使其内部湿度平衡, 构成不同相对湿度(RH)的环境; 另精密称取 21 份药物颗粒, 每份约 5 g, 置于干燥恒重的称量瓶中, 按每 3 份一组置上述不同 RH 的干燥器中, 恒温吸湿至恒重, 精密称重计算吸湿率。以吸湿百分率为纵坐标, RH 为横坐标作图。试验结果在 20 °C 时, 颗粒的 CRH 为 56%, 在此湿度下颗粒吸湿变化不大。因此, 颗粒在制粒、包装、储藏时, 环境湿度应控制在 56%以下, 以减少水分对药物性质及稳定性的影响。

3 讨论

复方芸归颗粒原方汤剂服用效果良好, 且组方中当归、枳壳水煎液具有松弛肠管、促进胃肠蠕动的功能^[4], 与本颗粒剂的功能主治一致, 故确定为水提取工艺。经正交试验优化得到复方芸归颗粒的提取工艺为: 加入 10 倍量的水(第 1 次提取时加水量为 12 倍, 浸泡 1 h), 煎煮 2 次, 每次 1.5 h。提取液滤过, 合并滤液, 滤液减压浓缩至相对密度 1.05~1.10(60 °C), 进行喷雾干燥得药粉。制粒工艺以 90%乙醇为润湿剂, 药粉与辅料糊精的比例为 1:0.5, 矫味剂蛋白糖的用量为 0.2%, 在 RH<56%环境下制粒。

中药复方的功效是多种有效部位、有效成分共同作用的结果。本试验选取方中主药当归、枳壳的活性成分阿魏酸、柚皮苷为指标考察提取工艺, 使工艺优选的依据更加全面合理。

分离有机酸类物质可使用甲醇-水, 乙腈-水等作为流动相, 但由于阿魏酸等结构中的酚羟基、羧基在水溶液中容易发生电离, 极性增强, 在固定相表面形成双重保留机制, 色谱峰拖尾严重, 定量分析误差较大。本试验采用 0.1%磷酸调节流动相 pH 能明显改善色谱峰形。因此, 最终确定的流动相是乙腈和 0.1%磷酸两部分组成, 采用梯度洗脱的方式实现各物质的分离。

REFERENCES

- [1] MA P Q. Drugs of treating constipation and its progress [J]. China Pharm Technol Exch(中国医药技术与市场), 2006, 6(2): 33-35.
- [2] WANG F, LI D. Chemical constituents and pharmacology study of Angelica [J]. J China Pharm(中国药房), 2003, 14(10): 630-631.
- [3] WANG L L, ZHANG J J, LI Z Y. Study on formulation process of Yangning granule [J]. Guangming J Chin Med(光明中医), 2009, 24(10): 1181-1183.
- [4] SU S L. Research progress of Fructus Aurantii [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2001, 24(3): 222-224.

收稿日期: 2010-08-02