

表 6 药材水分安全范围

Table 6 Safety range of moisture of Chinese medicinal materials

环境 温度	相对 湿度	不同药材水分下色度指标							
		8%	9%	10%	11%	12%	13%	14%	16%
45℃	90%	0.139 8	0.122 8	0.109 6	0.115 6	0.120 5	0.124 6	0.154 9	0.155 7
25℃	60%	0.069 4	0.070 1	0.712 0	0.072 1	0.746 0	0.763 0	0.081 2	0.099 2

3 讨论

3.1 由正交试验和方差结果分析可知,“泛糖”影响因素的主次顺序为环境温度、相对湿度、药材水分。最佳贮存条件是环境温度 25℃,相对湿度 60%,药材水分 1%。为了利于牛膝药材的实际贮存,由“泛糖”单因素影响考察结果可知,牛膝药材安全贮藏范围是环境温度 35℃以下,相对湿度 70%以下,药材水分 9%~13%。

3.2 “泛糖”的主要影响因素是环境温度,其次是相对湿度和药材水分。其原因可能是温度能加速药材成分的化学反应,并且增强“油渍状”物质溢出药材表面,因而牛膝药材贮藏要避免高温,保持通风。但

是,“泛糖”不是单个因素引起的,同时需控制相对湿度和药材水分。

References

- [1] Kong W Y. *Storage Technology of Traditional Chinese Medicine* (中药贮藏技术) [M]. Beijing: Huaxia Publishing House, 1988.
- [2] Zhang Z D. *Preservation Technology of Chinese Medicinal Materials* (中药材保管技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1983.
- [3] Nanjing Pharmaceutical College, Studying and Teaching Group of Medicinal Materials Subject. *Medicinal Materials Subject* (药材学讲义) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1961.
- [4] Zhu S H. *Preservation and Storage Knowledge of Chinese Medicinal Materials* (中药材贮藏保管知识) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1983.

清热凉血颗粒制备工艺的研究

李正翔¹, 任 荣¹, 李 彬¹, 李培凡^{2*}

(1. 天津医科大学总医院, 天津 300052; 2. 天津医学高等专科学校, 天津 300166)

摘要: 目的 建立清热凉血颗粒的制备方法。方法 对水溶性成分,以绿原酸和浸膏收率为指标;对醇溶性成分丹皮酚制备β环糊精包合物,以收率和包合率为指标,采用正交试验优选提取工艺。结果 水溶性成分提取的最佳工艺为用8倍量水,每次提取2次,共提取3次。最佳包合工艺为β-CD与丹皮酚配比为10:1,包合温度为50℃,包合时间为5h。结论 本方法适用于清热凉血颗粒的制备。

关键词: 清热凉血颗粒;绿原酸;丹皮酚;β环糊精包合物;正交试验

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)11-0996-04

Study on preparation of Qingre Liangxue Granula

LI Zheng-xiang¹, REN Rong¹, LI Bin¹, LI Pei-fan²

(1. General Hospital, Tianjin University of Medical Science, Tianjin 300052, China; 2. Medical Institution of Higher Education in Tianjin, Tianjin 300166, China)

Key words Qingre Liangxue Granula; chlorogenic acid; peanone; β-CD inclusion compound; orthogonal test

清热凉血颗粒是根据本院传统方剂研制的。由金银花、牡丹皮、水牛角、生石膏、白茅根等药味组成。金银花为君药,牡丹皮、白茅根、水牛角、生石膏为臣药,具有清热解毒、凉血消斑的功效。该处方的汤剂在用于荨麻疹、痤疮、过敏性紫癜、系统性红斑狼疮等疾病的治疗效果显著。为更方便患者的治疗

需要,同时也为更加科学合理地利用药材资源,本实验在对处方的成分进行分析后,采用现代化的提取制剂技术,将该处方制成颗粒剂。玄参、生地等大部分药材所含成分易溶于水,采用水煎煮的方法提取。牡丹皮中的主要成分丹皮酚难溶于水,而易溶于乙醇,采用乙醇回流的方法进行提取。

1 材料

高效液相色谱仪: LC-6A HPLC (SCL-6A 系统控制器, LC-6A恒流泵, SPD-6AC紫外检测器, Anastar 色谱工作站); UV-260紫外分光光度计(日本岛津); KQ218型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AR2140型电子分析天平(上海奥豪斯公司)

所有中药材由安徽省亳州市药材总公司提供,均符合《中华人民共和国药典》2000版要求;绿原酸、丹皮酚对照品(中国药品生物制品检定所);β-环糊精(化学纯,华北地区特种化学试剂开发中心);甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 水溶性成分提取工艺条件的优选:以君药金银花中有效成分绿原酸和提取液的浸膏收率作为测定指标,采用正交试验的方法对水煎煮的提取工艺进行了优选,并将能反映提取质量的主要数据绿原酸的含量和干浸膏的收率二者综合加权的结果作为指标评价。

2.1.1 浸膏收率的测定方法:取处方量 1/5的各药材混合,按试验号所制定的加水倍量加水,浸泡 2 h,然后按规定的提取次数和时间进行煎煮提取,浓缩至一定体积,并记录。定量移出 50 mL的水煎液,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 80℃干燥 5 h后,移入干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定质量,至恒重^[1]。以干燥品对原药材的质量分数作为浸膏收率。

2.1.2 水煎液中绿原酸的测定方法:色谱条件^[1]: C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.4%磷酸(13:87);紫外检测波长:327 nm;柱温:室温;流速:1 mL/min;进样量:20 μL。在上述色谱条件下供试品水煎液的色谱行为与绿原酸对照品溶液完全相同,其他组分对绿原酸无干扰。

对照品溶液的制备:精密称取经 105℃干燥至恒重的绿原酸对照品 10 mg,置于 50 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,得 200 μg/mL的绿原酸对照品储备液。

供试品溶液的制备:用微量进样器取样品 20 μL,用吸量管取蒸馏水 0.9 mL,在混样器上混匀。

线性关系考察:精密吸取绿原酸对照品储备液 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 mL,加甲醇定容至 10 mL,配成不同浓度的对照品溶液系列。进样 20 μL,在上述色谱条件下进行分析,测定峰面积。以进样浓度为纵坐标,相应的峰面积为横坐标,进行线性回

归,计算,得回归方程: $Y = 0.9084 + 0.00014X$, $r = 0.9999$ 。绿原酸在 0.1~3 μg/mL具有良好的线性关系。

2.1.3 因素水平的选择及统计结果:取影响该提取物的 3个主要因素:溶媒量(加水倍量)、提取次数、提取时间,选 L₉(3³)正交试验表进行试验,每个因素根据试验情况取 3个水平设计试验方案,其他条件不变。因素水平见表 1 统计结果见表 2。

表 1 水溶性成分提取的因素水平表

Table 1 Factors and levels of extraction for water soluble ingredient

水 平	因 素		
	A溶媒量 倍	B提取时间 /h	C提取次数 次
1	12	1.0	1
2	8	1.5	2
3	10	2.0	3

对于综合评分的解释:由于绿原酸是其主要活性成分,绿原酸含量和浸膏收率的权重系数分别取 0.7和 0.3。为在统一标准下加权评分,分别把两项最好的指标定为 100分。把浸膏收率结果最好的 3号试验定为 100分,用公式 $Y_1' = Y_1 / 30.35 \times 100$,把各号试验的浸膏收率转化为分数。如第 1号试验: $Y_1' = 17.84 / 30.35 \times 100 = 58.78$ 分,余类推。绿原酸含量最高的第 3号试验定为 100分,由公式 $Y_2' = Y_2 / 231.8 \times 100$,并用该式把其余各号试验的绿原酸含量转化为分数。根据确定的权重,对两个单项分数加权求和。用式 $Y = 0.3Y_1' + 0.7Y_2'$,求出各试验号的综合评分。

较佳的方案为 A₂B₃C₃。其提取的最佳工艺确定为:用 8倍量的水,每次提取 2 h,共提取 3次。

2.2 醇溶性成分的提取

2.2.1 丹皮酚含量测定方法的建立:紫外吸收图谱的绘制及波长的选择:精密称取经 105℃干燥至恒重的丹皮酚对照品适量,置于 100 mL量瓶中,加无水乙醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,得 12.32 μg/mL的丹皮酚对照品储备液。以无水乙醇为空白,将其在 200~400 nm波长扫描。发现在 274 nm处有最大吸收,故选定 274 nm处为测定波长。

丹皮酚标准曲线的制备:分别精密量取 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0 mL丹皮酚对照品储备液置 25 mL量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即配成不同浓度的丹皮酚对照品溶液系列。以无水乙醇为空白,于 274 nm波长处测定吸光度。以吸光度对溶液浓度作线性回归,得线性方程: $Y = 0.0841 + 11.5724X$, $r = 0.9999$ 。丹皮酚在 1.97~9.86 μg/L

mL具有良好的线性关系

2.2.2 丹皮酚的提取:取牡丹皮加约 10倍量的乙醇,分两次回流提取,第一次 3 h,第二次 2.5 h,滤

取提取液,即得牡丹皮的乙醇回流提取液,按照已选定的紫外测定方法测定吸光度,代入回归方程,计算丹皮酚含量为 3.14%。

表 2 正交试验设计及结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验编号	A	B	C	D(空白)	浸膏收率 %	绿原酸含量 / (mg · 100 g ⁻¹)	综合评分
1	1	1	1	1	17.84	199.2	83.07
2	1	2	2	2	24.87	173.2	81.49
3	1	3	3	3	30.35	213.1	100.00
4	2	2	3	1	29.29	189.6	91.24
5	2	3	1	2	24.54	196.2	88.73
6	2	1	2	3	24.35	186.9	85.49
7	3	3	2	1	25.70	184.6	86.06
8	3	1	3	2	28.10	199.7	93.40
9	3	2	1	3	17.19	143.1	63.99
浸膏收率	K ₁	73.06	70.29	59.57	72.83		
	K ₂	78.18	71.35	74.92	77.51		
	K ₃	70.99	80.59	87.74	71.89		
	R ₁	7.19	10.30	28.17	5.62		
绿原酸含量	K ₁	5.855	5.858	5.385	5.734		
	K ₂	5.727	5.059	5.447	5.691		
	K ₃	5.274	5.939	6.024	5.431		
	R ₂	0.581	0.880	0.639	3.033		
综合评分	K ₁	264.56	261.96	235.79	260.37		
	K ₂	265.46	236.72	253.04	263.62		
	K ₃	243.45	274.79	284.64	249.48		
	R ₂	21.11	38.07	48.85	13.78		

2.3 丹皮酚 β-环糊精包合物的制备

2.3.1 包合物的制备:采用饱和水溶液包合法。精密称取 β-CD 适量,置于烧杯中,加入纯化水 50 mL,水浴加热使溶解,加入丹皮酚乙醇提取浓缩液,搅拌 (200 r/min)进行包合一定时间,置冰箱中冷藏过夜,抽滤,用乙醚洗涤 (10, 10 mL),挥去乙醚,60 °C 干燥 4 h,即得包合物

2.3.2 包合物最佳制备工艺的选择:由反复预试验可知,β-CD 丹皮酚配比,包合温度,包合时间为影响包合的主要因素,对每种因素各取 3个水平,进行正交试验,选用 L₉(3⁴)正交试验表,设计因素水平见表 3

表 3 制备丹皮酚 β-CD 包合物因素水平表

Table 3 Factors and levels of preparing inclusion compound of paeonal-β-CD

水平	因素		
	A β-CD: 丹皮酚	B 包合时间 /h	C 包合温度 /°C
1	7: 1	4	40
2	10: 1	5	50
3	13: 1	6	60

包合率^[6]为衡量包合效果的重要指标,包合率越高,包合效果越好,可作为包合工艺筛选的主要指标,权重系数定为 0.7 但收率^[6]在大生产中也很有

意义,在加水量一定的条件下,收率越高,包合效果越好,因此,收率可作为次要筛选指标,权重系数定为 0.3

包合率 = 包合物中丹皮酚的量 / 丹皮酚的加入量 × 100%。

包合物收率 = 包合物的质量 / (β-环糊精的质量 + 丹皮酚的加入量) × 100%。

正交试验结果见表 4 综合评分后对结果进行直观分析,最佳包合工艺条件确定为: A₂B₂C₃即 β-

表 4 正交试验设计表及试验结果

Table 4 Results of orthogonal test

试验编号	A	B	C	收率 %	包合率 %	综合评分	
1	1	1	1	1	48.32	59.52	56.16
2	1	2	2	2	53.80	73.89	67.86
3	1	3	3	3	52.05	55.41	54.40
4	2	2	3	1	47.28	87.14	75.18
5	2	3	1	2	50.45	79.60	70.86
6	2	1	2	3	48.50	85.27	74.24
7	3	3	2	1	52.44	70.61	65.16
8	3	1	3	2	55.80	39.34	44.28
9	3	2	1	3	72.63	54.50	59.94
综合评分	K ₁	178.42	174.68	186.96	196.50		
	K ₂	220.28	202.98	207.26	183.00		
	K ₃	169.38	190.42	173.86	188.58		
	R ₃	50.90	28.30	33.40	13.50		

CD和丹皮酚配比为 10:1,包合温度为 50℃,包合时间为 5 h

2.3.3 验证试验:按最佳包合条件,重复 3次试验,结果平均包合率为 84.18%。表明所选择的条件是较佳的包合条件。

2.3.4 包合物的鉴定:采用紫外可见分光光度法^[2]。以吸收曲线与吸收峰的位置和高度判断包合物形成的情况。

制备丹皮酚的乙醇溶液:取经乙醚洗脱后的丹皮酚 β 环糊精包合物挥醚至净,用适量的纯化水溶解,备用;取经乙醚洗脱后的丹皮酚 β 环糊精包合物挥醚至净,用无水乙醇超声提取 10 min,滤过,收集滤液备用;取少量的 β 环糊精,以适量纯化水溶解,滤过,收集滤液备用。取上述样品各少量在 200~400 nm 进行紫外扫描,结果显示,丹皮酚包合前后,紫外吸收峰变化很大,包合后在 275 nm 的最大吸收峰已完全消失,经乙醇提取后的丹皮酚包合物溶液又重现出丹皮酚包合前的吸收特征。说明包合物已形成。

2.4 颗粒剂的制备:取生石膏、玄参、秦艽、白茅根、黄连、石斛、金银花、生地黄、桃仁、红花 10味药采用最佳提取方法,即群药加 8倍量水浸泡至透后,煎煮 3次,每次 2 h 合并煎液,滤过,浓缩至相对密度 1.28~1.32 (50℃~60℃)的浸膏。加入糖粉与可溶性淀粉的混合物(浸膏:糖粉:可溶性淀粉的质量比为 5:3:10),混匀,加入乙醇适量制软材,并混入相应处方量的水牛角粉,软材通过 14目筛制成颗粒,干燥,整粒,加入丹皮酚 β 环糊精包合物,混匀,即得。

3 讨论

3.1 本颗粒剂中的多种药材都含有丰富的多糖,如

玄参、生地黄,能够提高机体的免疫能力,有利于疾病的治疗。所以本制剂主要采用以水作为溶媒的方法进行有效成分的提取。水牛角粉作为处方中的重要药材,由于其价格昂贵,所以采取了将其粉碎过筛与辅料直接混合制软材的办法。这样就可以做到最大限度的节约贵重药材,而且还防止了有效成分在煎煮中遭到破坏的问题。对于本处方中某些药物(金银花、玄参等)具有挥发油成分的问题,在试验中曾试图用挥发油提取器提取其中的挥发油,但由于提出的挥发油太少(放入 5倍处方量药材提出的挥发油不足 1 mL),无法进行进一步的加工。需要指出的是,金银花、玄参中的有效成分分别是绿原酸和糖类成分,并不具有挥发性。

3.2 丹皮酚是牡丹皮的主要成分,具有强烈的挥发性。曾采用水蒸气蒸馏法、超声提取法等方法进行提取,结果均不甚理想。最后采用乙醇回流提取,结果较满意。

3.3 金银花为本方中的君药,且药量最大,从制剂的 HPLC图谱也可看出,绿原酸是其中的主峰。故选定金银花中绿原酸的含量作为本制剂的质量控制标准的指标性成分。用以往制颗粒剂软材的条件进行摸索,发现往浸膏中加入糊精之后,制成的软材黏性极大,无法过筛制粒。当将糊精换成可溶性淀粉之后,情况得到很大改善。应该提出的是,本处方中的药材含有大量的糖类成分,所以在加入辅料时应适量减少蔗糖的加入,以免味道过甜。

References

- [1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I .
- [2] Lu B. *New Dosage Form and New Technique of Pharmacy* (药物新剂型与新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

加压膨化前后甘草中甘草酸铵的溶出度比较

陈丹菲,王溶溶*

(浙江省中药研究所,浙江 杭州 310023)

清音袋泡剂是由甘草、薄荷、桔梗等 7味中药组成的一种茶剂,其中甘草为本方君药。由于甘草属根茎类药材,其原植物的组织结构致密,质地较为坚硬,故在制备清音袋泡剂时,对甘草进行了加压膨化处理,使其木质化结构变得疏松,有利于有效成分甘

草酸铵在热水中迅速溶出。本实验通过定性鉴别、溶出度的比较,发现甘草进行加压膨化处理是可行的。

1 仪器与材料

RCZ-8A智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂),TPH135膨化机(江苏牧羊集团有限公司),电