

正交试验优选八宝通脉颗粒制备工艺

涂瑶生^{1*},朱颖^{1,2},张建军¹(1.广东省中医研究所,广州 510095;2.广州中医药大学,广州 510405)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)47-4451-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.47.12

摘要 目的:优选八宝通脉颗粒制备工艺。方法:以提取次数、加水量、提取时间为考察因素,以芍药苷得率和得膏率的综合评分为评价指标,采用正交试验优选水提取工艺;以颗粒收率、溶解率、吸湿率的综合评分为评价指标,采用单因素试验对填充剂种类进行考察,并测定颗粒的流动性和临界相对湿度。结果:最佳提取工艺为加8倍量的水提取3次,每次1h;最优填充剂为麦芽糊精,颗粒的流动性较好,其临界相对湿度为59.07%。结论:优选的工艺合理、可行,可用于八宝通脉颗粒的制备。

关键词 水提工艺;颗粒剂;芍药苷

Optimization of Preparation Process of Babao Tongmai Granules by Orthogonal Test

TU Yao-sheng¹, ZHU Ying^{1,2}, ZHANG Jian-jun² (1.Guangdong Institute for TCM, Guangzhou 510095, China; 2. Guangdong University of TCM, Guangzhou 510405, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize preparation process of Babao tongmai granules. METHODS: The water extraction technology of Babao tongmai granules was optimized by orthogonal test with extracting times, amount of water adding and extracting time as factors using extraction rate of paeoniflorin and yield of extracts as index. The kind of filler were investigated by single factor test with yield, solubility and moisture absorption as index. RESULTS: The optimum technology was as follows: 8 times of water, extracting 3 times, lasting for 1 h each time. The optimum was maltodextrin, and the RCH of the granule was 59.07%. CONCLUSIONS: The optimal process is reasonable and feasible, and it could be suitable for the preparation of Babao tongmai granules.

KEY WORDS Water extraction technology; Granules; Paeoniflorin

视网膜静脉阻塞(Retinal vein occlusion)是老年人常见的眼底血管病,是发生率仅次于糖尿病视网膜病变的第二大致盲性视网膜血管病^[1]。中医认为,视网膜静脉阻塞属暴盲、视瞻昏渺范畴,利用中药治疗有一定疗效^[2]。八宝通脉颗粒由柴胡、赤芍、当归等8味中药组成,具有疏肝理气、健脾化湿、祛瘀通脉之功,主要用于治疗出血所致暴盲、视瞻昏渺等气滞血瘀、脾虚湿困之证。原处方以煎剂内服,但煎剂煎煮、携带、使用不方便。为了方便患者用药,又因本方日服用剂量大,难以

制成片剂或胶囊剂,故制成无糖型颗粒剂。

1 材料

1.1 仪器

BP 211D 电子分析天平(瑞士Mettler公司)LXJ-IIB 低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂);DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);1200 高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司)。

中,笔者采用直径较大的9号针头。另外,虽然固化时间和氯化钙溶液的体积对微囊均无显著影响,但为了确保试验的重复性,规定其氯化钙溶液体积为海藻酸钠溶液体积的5倍,固化时间为5 min。

参考文献

- [1] 熊小春,安春妹.白藜芦醇抗肿瘤的研究进展[J].黑龙江医药,2010,23(1):59.
- [2] 郭雪红.白藜芦醇的制备及药理作用概述[J].天津药学,2008,20(3):71.
- [3] Mertens-Talcott SU, Percival SS. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells[J]. *Cancer Lett*, 2005, 218(2):141.

- [4] 王新春,侯世祥,李文,等.白藜芦醇纳米脂质体体外释药和大鼠小肠吸收特性的研究[J].中国中药杂志,2007,32(11):1084.
- [5] 赵海涛,陈为涛,李万忠.白藜芦醇制备与制剂研究进展[J].亚太传统医药,2009,5(1):113.
- [6] 韩晶晶,刘炜,毕玉平.白藜芦醇的研究进展[J].生物工学报,2008,24(11):1851.
- [7] 陈易彬,孙宝祥,陈佳希.虎杖中白藜芦醇的稳定性研究[J].中药材,2007,30(7):805.
- [8] 车晓侠,余李敏,傅强.丹皮酚微囊的制备及体外释药考察[J].中国医院药学杂志,2010,30(11):905.
- [9] 胡荣,罗先钦,励娜,等.丹参酮缓释微囊的制备工艺研究[J].中草药,2012,43(11):2173.

(收稿日期:2013-05-21 修回日期:2013-09-19)

* 研究员,教授,博士研究生导师,博士。研究方向:中药制剂。电话:020-83482683。E-mail: tuyaos@21cn.com

1.2 药材

柴胡、赤芍、当归、白术、茯苓、山药等8味药材均购于广州致信药业有限公司,经广东省中医研究所孙冬梅主任药师鉴定为真品。

1.3 试剂

芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110736-201136);淀粉(安徽山河药用辅料股份有限公司);乳糖(DMW,新西兰乳品公司);甘露醇(E524E,法国罗盖特公司);糊精(中国台湾明台化工股份有限公司);麦芽糊精(山东西王药业有限公司);乙腈为色谱纯甲醇,磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芍药苷含量测定

2.1.1 色谱条件^[3] 色谱柱:Extend-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(14:86, V/V);检测波长:230 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 ℃。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取经P₂O₅减压干燥24 h的芍药苷对照品适量,置25 ml量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每1 ml含芍药苷507.6 μg)。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品干膏粉适量,精密称定,置50 ml量瓶中,加甲醇35 ml,超声(功率:240 W,频率:45 kHz)处理30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 称取除赤芍外的处方量药材适量,加10倍量的水,煎煮2次,每次1 h,药液滤过,合并滤液,浓缩干燥。按“2.1.3”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

2.1.5 方法专属性考察 吸取上述对照品、供试品及阴性对照溶液各5 μl,按上述色谱条件分别注入液相色谱仪,记录色谱图。结果,芍药苷在此色谱条件下能与其他组分达到基线分离,且与对照品在相同保留时间处有同一色谱峰出现;阴性对照无干扰。色谱见图1。

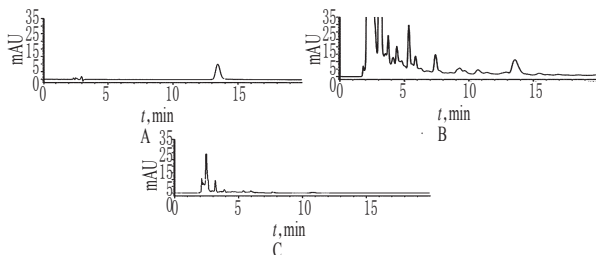


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.芍药苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. tests sample; C. negative control; 1. paeoniflorin

2.1.6 标准曲线的制备 精密量取芍药苷对照品溶液(507.6 μg/ml) 1、2、3、4、5、6、7 ml,分别置10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液按上述色谱条件进样测定峰面积,记录色谱图。以峰面积积分值(y)对进样量(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=0.9304x+0.2618$ ($r=0.9999$)。结果表明,芍药苷进样量在50.76~355.32 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.7 样品含量测定 精密吸取正交试验下各样品溶液5 μl,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图,根据线性回归方程,按外标两点法计算样品含量。

2.2 得膏率的测定

精密吸取各样品浓缩液10 ml,置于已恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干,按干燥失重法^[3]测定,照下式计算得膏率:得膏率(%)= $W \times V / 10 \times W_t \times 100\%$ (式中:W为10 ml浓缩液中干浸膏质量,V为定容体积,W_t为药材质量)。

2.3 正交试验优选水提取工艺

根据预试验考察结果,选取提取次数(A)、加水量(B)、提取时间(C)为考察因素,以芍药苷得率(芍药苷得率=芍药苷的质量浓度×提取液稀释位数×提取液体积×10⁻³/赤芍药材质量×100%)和得膏率的综合评分[综合评分=(80/最大芍药苷得率)×芍药苷得率+(20/最大得膏率)×得膏率]为指标,采用L₉(3⁴)正交表进行试验。因素与水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A,次	B,倍	C,h
1	1	8	1.0
2	2	10	1.5
3	3	12	2.0

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	因素				评价指标		综合评分
	A	B	C	D(误差)	芍药苷得率,%	得膏率,%	
1	1	1	1	1	0.33	21.85	30.67
2	1	2	2	2	0.65	25.51	49.41
3	1	3	3	3	0.62	26.02	48.07
4	2	1	3	2	0.74	30.23	56.94
5	2	2	1	3	1.05	30.84	73.94
6	2	3	2	1	1.40	30.25	91.72
7	3	1	2	3	1.49	31.12	97.11
8	3	2	3	1	1.53	32.76	99.99
9	3	3	1	2	1.52	32.78	99.33
\bar{K}_1	42.72	61.57	67.98	74.13			
\bar{K}_2	74.20	74.45	79.42	68.56			
\bar{K}_3	98.81	79.71	68.33	73.04			
R	56.09	18.14	11.44	5.57			

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	4743.314	2	2371.657	90.800	<0.05
B	522.208	2	261.104	9.997	
C	253.612	2	126.806	4.855	
D(误差)	52.239	2	26.120		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

由表2、表3可知,各因素影响提取效果的大小顺序为提取次数>加水量>提取时间,且提取次数对工艺有显著性影响($P<0.05$),而提取时间和加水量对试验结果无显著性影响。由此得最佳工艺组合为A₃B₃C₀。考虑到缩短生产周期、降低生产成本等综合因素,选择工艺A₃B₁D₁,即提取3次,每次加8倍量的水,提取1 h。

2.4 工艺验证试验

称取处方量药材适量,共3份,根据上述优选的工艺制备3批八宝通脉颗粒,并测定芍药苷得率和得膏率。结果,芍药苷的平均得率为1.50%,RSD=1.8%($n=3$);平均得膏率为

31.61%, RSD=1.6%(n=3),与正交试验优选结果吻合,表明优选的提取工艺稳定、可行,可用于制备八宝通脉颗粒。

2.5 颗粒成型工艺研究

2.5.1 浸膏粉的制备 取处方量药材,加8倍量的水煎煮3次,每次1h,滤过,合并滤液,减压浓缩至相对密度为1.3~1.4(60℃)的稠膏,真空干燥,粉碎,备用。

2.5.2 浸膏粉吸湿率的考察 取浸膏粉适量,置P₂O₅干燥器内恒质量48h,将底部盛有NaCl饱和溶液的玻璃干燥器放入25℃的恒温培养箱内,恒温24h后,在已恒质量的称量瓶底部放入2mm厚的药粉,精密称定,置于上述干燥器内,于第1、2、4、8、12、24、36、48、96、144、168h取出称量瓶,精密称定,计算吸湿率[吸湿率(%)=(吸湿后颗粒质量-吸湿前颗粒质量)/吸湿前颗粒质量×100%],以吸湿率对时间作图,即得吸湿曲线,见图2。吸湿曲线显示,浸膏粉具有较强的吸湿性,需要加入适宜的辅料以降低干膏粉的吸湿率,有利于颗粒的成型。

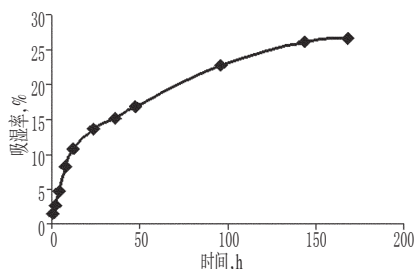


图2 吸湿曲线

Fig 2 The absorption curve

2.5.3 处方中浸膏粉与辅料配比的确定 由于该处方日服生药材剂量为59.5g,平均总出膏率为30%,若按每天2次的服用量计算,则每袋浸膏粉质量为8.9g,拟定每袋规格为10g,每袋辅料用量为1.1g,即浸膏粉与辅料比约为8:1(m/m)。

2.5.4 填充剂种类筛选 中药颗粒剂(无糖型)常用填充剂有麦芽糊精、淀粉、乳糖、甘露醇、药用糊精等,笔者根据经验,拟定6个处方(见表4),用无水乙醇为湿润剂,14目筛制粒,50~60℃干燥,12目筛整粒,按下列方法分别测定颗粒收率、溶解率、吸湿率,并计算综合评分[综合评分=(颗粒收率/颗粒收率_{max})×20+(溶解率/溶解率_{max})×30+(吸湿率_{min}/吸湿率)×50]。

(1)颗粒收率:将制备好的颗粒称定质量,收集能过12目筛但不能过60目筛的颗粒,视为合格颗粒,称定质量,按下式计算颗粒收率:颗粒收率(%)=合格颗粒质量/颗粒总质量×100%。(2)溶解率:取颗粒10g,加热水至200ml,搅拌5min,观察颗粒溶化情况,以离心半径为20cm、3000r/min离心10min,弃去上清液,将残渣烘干至恒质量,精密称定,按下式计算溶解率:溶解率(%)=(取样质量-沉淀质量)/取样质量×100%。(3)吸湿率:称取样品颗粒约2g,置干燥至恒质量的称量瓶中,精密称定质量,置相对湿度为75%的干燥器中,于25℃恒温培养箱中吸湿至72h后,精密称定质量,计算吸湿率。填充剂种类考察安排见表4;填充剂考察结果见表5。

由表4、表5可知,分别以乳糖、甘露醇、麦芽糊精为填充剂所制得的颗粒质量较好,其中以乳糖为佳,综合考虑生产成本

表4 填充剂种类考察安排(g)

Tab 4 Types of filling agent(g)

辅料	处方					
	1	2	3	4	5	6
浸膏粉	40	40	40	40	40	40
麦芽糊精		5				
淀粉			5			
乳糖				5		
甘露醇					5	
糊精						5

表5 填充剂种类考察结果

Tab 5 Results of types of filler

处方号	颗粒收率, %	溶解率, %	吸湿率, %	综合评分
1	87.92	72.02	14.10	85.04
2	70.82	89.39	12.80	91.05
3	73.08	82.17	12.72	89.50
4	69.35	90.80	11.64	95.71
5	78.50	86.87	11.63	96.56
6	78.56	84.53	13.23	89.74

等各因素,选择麦芽糊精作为填充剂。

2.5.5 休止角的测定 为考察颗粒的流动性,制备3批八宝通脉颗粒,用粉体综合测试仪测定休止角。结果,颗粒的平均休止角为26.68°,表明颗粒流动性较好。休止角的测定结果见表6。

表6 休止角的测定结果

Tab 6 Determination of angle of repose

试验号	1	2	3	\bar{x}
休止角,°	25.36	26.51	28.16	26.68

2.5.6 临界相对湿度(RH)的确定 将颗粒干燥至恒质量后,在已恒质量的称量瓶底部放入约2mm的颗粒,准确称定质量后置于分别盛有9种不同盐的过饱和溶液的干燥器内(称量瓶盖打开),于25℃恒温培养箱中吸湿至72h后称定质量,计算吸湿率。以吸湿率为纵坐标,RH为横坐标,绘制临界RH曲线。吸湿率测定结果见表7;临界RH曲线见图3。

表7 吸湿率测定结果

Tab 7 Rates of moisture absorption

RH, %	32.78	43.16	54.38	57.57	68.86	75.29	79.89	84.34	93.58
吸湿率, %	0.40	2.97	4.58	5.34	10.34	13.47	17.70	24.64	37.66

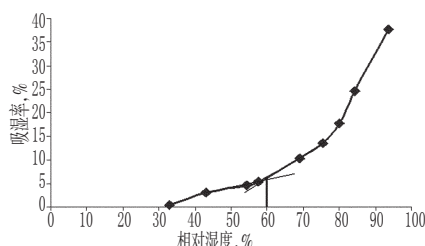


图3 临界RH曲线

Fig 3 Critical relative moisture

由图3可知,制成颗粒的临界RH为59.07%,故在生产本制剂时,车间环境的RH应控制在60%以下,同时对包装材料和贮藏条件亦提出了相应的要求。

3 讨论

眼底视网膜静脉阻塞是临床上较为常见的眼底病变,属“血瘀”之证范畴,该病与肝脾两脏病变有关。因情志内伤、肝气郁滞、气滞血瘀、瘀久气结血凝,导致视网膜动静脉、眼部末梢血管堵塞不通^[1];加之肝郁乘脾、脾气虚弱、血失统摄、血溢脉外,诸此导致眼底视网膜水肿、出血,视力下降,严重者可失明。所以治宜从肝,以疏肝理气、健脾化湿、祛瘀通脉为法。八宝通脉颗粒由柴胡、赤芍、当归等8味药组成,方中柴胡为君药入肝经,取其肝木条达之性以疏散升达、疏肝解郁;木贼、蝉蜕皆可入肝经,取其疏散作用共助柴胡疏散升达、疏肝解郁;赤芍重在散瘀,当归补血活血,二者活血祛瘀通络;白术健脾燥湿,茯苓健脾渗湿,山药补脾气,三药合用则健脾而不助湿。

科学、合理地选择中药复方的提取工艺是保持原方疗效的关键和核心,也是中药剂型改进和创新的前提和基础。现代药理学研究表明,柴胡皂苷和多糖能有效防治动脉粥样硬化、降血脂、增强免疫功能等作用^[2]。赤芍总苷可以显著改善机体微循环状态,降低血浆黏度,抑制二磷酸腺苷诱导的血小板聚集^[6-7]。当归水提物有制血小板聚集、抗血栓、增加血流量等作用^[8-9]。木贼水提物能抑制二磷酸腺苷、胶原和凝血酶诱导的大鼠血小板聚集,并能减轻血栓的质量^[10],其中的阿魏酸能抑制血小板聚集和5-羟色胺从血小板中释放^[11]。蝉蜕水提液对高脂血症病态下的血液流变学有明显的改善作用,能显著降低其全血和血浆黏度、体外血栓形成、红细胞聚集指数、血清中甘油三酯及总胆固醇水平^[12]。综上所述,八宝通脉颗粒的主要药理作用为改善血液流变,降低血液黏度,改善微循环,抑制血小板聚集等。根据其溶解性能及中药的用药习惯,确定采用水煎煮工艺提取。

赤芍作为方中臣药,芍药苷为其有效成分之一,且其含量测定方法成熟,可以用HPLC法测定提取物中芍药苷的含量,以此来评价工艺的优劣,权重系数定为0.8。而作为间接控制

有效成分溶出的一个指标,药效物质提取的多少可以从得膏率的大小来判断,故权重系数定为0.2。

参考文献

- [1] 王文吉.视网膜静脉阻塞[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2012,12(2):78.
- [2] 陈冬雪,林颖.中医治疗视网膜静脉阻塞研究概况[J].国医论坛,2012,27(2):52.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:96.
- [4] 陈国峰,刘珂.视网膜静脉阻塞的中医治疗[J].中国医疗前沿,2007,2(14):112.
- [5] 牛向荣.柴胡药理作用研究概述[J].中国药师,2009,12(9):1310.
- [6] 项亚西,张京红.赤白芍化学成分和药理作用的差异[J].海峡药学,2010,22(11):43.
- [7] 朴田,莫晓燕,林瑞峰.赤芍总苷提取液体外清除自由基和抗凝血活性的研究[J].中国药房,2007,18(9):64.
- [8] 柳永青.当归的化学成分与生物活性[J].航空航天医药,2009,20(11):127.
- [9] 王芳,李东.当归的化学及药理研究进展[J].中国药房,2003,14(10):630.
- [10] 齐志敏,王倩.木贼提取物对大鼠血小板聚集与血栓形成的影响[J].中国临床康复,2004,8(34):7738.
- [11] 朴惠顺,金光洙.木贼的化学成分和药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(6):1077.
- [12] 杨璐,李国玉,王金辉.蝉蜕化学成分和药理作用的研究现状[J].农垦医学,2011,33(2):184.

(收稿日期:2013-03-19 修回日期:2013-06-13)

国家食品药品监督管理总局办公厅要求修订含左旋延胡索乙素药品处方药说明书和非处方药说明书

本刊讯 2013年11月20日,国家食品药品监督管理总局办公厅发布通知,要求各省、自治区、直辖市食品药品监督管理局根据其监测评价结果,对含左旋延胡索乙素药品处方药说明书和非处方药说明书范本进行修订,同时要求通知行政区域内相关药品生产企业做好以下工作:

一、在2013年12月30日前,依据《药品注册管理办法》等有关规定提出修订说明书的补充申请备案。说明书的其他内容应当与原批准内容一致。补充申请备案之日起生产的药品,不得继续使用原药品说明书。

二、应当将说明书修订的内容及时通知相关医疗机构、药品经营企业等单位。并在补充申请备案后6个月内对已出厂的处方药说明书予以更换。

三、药品标签涉及相关内容的,应当一并修订。

附:含左旋延胡索乙素药品处方药说明书修订要求

一、[禁忌]项必须含以下内容:

1. 孕妇及哺乳期妇女禁用。
2. 锥体外系疾病患者(如震颤、多动、肌张力不全等)禁用。
- 二、[注意事项]项修订要求:

1. 复方制剂中增加“本品含左旋延胡索乙素(又称罗通定、左旋四氢帕马丁)或本品含罗通定(又称左旋延胡索乙素、左旋四氢帕马丁)。肝病者慎用。”单方制剂中增加“罗通定,又称左旋四氢帕马丁、左旋延胡索乙素。肝病者慎用。”但如原说明书已有儿童、老年患者禁用内容的仍应保留。

2. 必须含“儿童、老年患者慎用”。但如原说明书已有儿童、老年患者禁用内容的仍应保留。

3. 必须含“驾驶机、车、船、从事高空作业、机械作业及操作精密仪器者工作期间慎用”。

4. 在所有口服制剂中增加“严格按用法用量服用,本品不宜长期服用。”在非口服制剂中增加“本品应严格按用法用量使用,不宜长期使用。”

三、[不良反应]项必须含以下内容:偶见恶心、眩晕、乏力、头晕、呕吐、皮疹、头痛、心悸、口干、胸闷、呼吸困难。剂量过大可致嗜睡与锥体外系症状。

四、[药物相互作用]项必须含以下内容:与其他中枢神经系统抑制药(如一些镇静安眠药)同服,可引起嗜睡,严重者可致呼吸抑制。