

正交试验优选当归补血口服液的超滤工艺[△]

余 琰^{1*}, 范凌云^{1#}, 魏舒畅¹, 高建德¹, 马立新²(1.甘肃中医学院药学院, 兰州 730000; 2.兰州佛慈制药股份有限公司, 兰州 730046))

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3665-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.06

摘要 目的: 优选当归补血口服液超滤工艺。方法: 以黄芪甲苷、总多糖保留率为考察指标, 以工作压力、药液温度、药材与提取液质量比为考察因素, 采用正交试验优选当归补血口服液的超滤工艺。结果: 优选工艺条件为超滤温度 30 ℃, 压强 0.75 Mpa, 药材与提取液质量比为 1:8。结论: 优选出的超滤工艺有效成分保留率高、质量稳定、便于操作。

关键词 正交试验; 超滤工艺; 当归补血口服液; 黄芪甲苷; 总多糖

Optimization of Ultrafiltration Technology of Danggui Buxue Oral Liquid by Orthogonal Test

YU Yan¹, FAN Ling-yun¹, WEI Shu-chang¹, GAO Jian-de¹, MA Li-xin²(1.School of Pharmacy, Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China; 2.Lanzhou Foci Pharmaceutical Corporation Limited, Lanzhou 730046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the ultrafiltration technology of Danggui buxue oral liquid. METHODS: Ultrafiltration technology of Danggui buxue oral liquid was optimized by orthogonal test with the retention rate of astragaloside IV and total polysaccharides as index using pressure intensity, temperature and mass ratio of medicinal materials to extract as factors. RESULTS: The optimal technology was as follows: ultrafiltration temperature 30℃, trans-membrane pressure 0.75 MPa, the ratio of material to water 1:8. CONCLUSIONS: Optimal technology is stable in quality and easy to operation with high retention rate.

KEYWORDS Orthogonal test; Ultrafiltration technology; Danggui buxue oral liquid; Astragaloside IV; Total polysaccharides

当归补血口服液是由当归和黄芪两味中药组成, 收载于 2010 年版《中国药典》(一部)^[1], 具有补养气血, 提高机体免疫功能的作用, 且疗效确切、应用十分广泛。传统纯化方法采用醇沉法, 但工艺流程长、产品黏度大, 且含有大量的微粒、亚微粒和絮状物等沉淀^[2], 放置时间久也易产生沉淀, 从而影响产品质量外观。为避免有效成分的损失并提高产品的外观质量, 本研究采用超滤工艺对其进行纯化并优选最佳工艺参数以提高当归补血口服液的品质, 并对超滤法在该制剂中的应用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1100 型液相色谱仪, 包括 1100 系列二元泵、ELSD·2000 型蒸发光散射检测器、Agilent Chemstation 色谱工作站(美国 Agilent 公司); UV-1800PC 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); KQ-250 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); LQ10-2.4 型低速离心机(北京医疗仪器修理厂); LG10-2.4A 型高速离心机(北京时代北利离心机有限公司); 中空纤维超滤装置(天津膜天膜工程技术有限公司)。

[△]基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81060345); 甘肃省教育厅科研项目(No.1006B-02); 甘肃中医学院中青年科研基金资助项目(No.09ZQ-3)

*副教授, 硕士。研究方向: 药学教育、中药新剂型与新制剂。电话: 0931-8765391。E-mail: lzdxuyuan@126.com

#通信作者: 副教授, 硕士。研究方向: 药学教育、中药新剂型与新制剂。E-mail: fly216216@sina.com

1.2 药材

当归、黄芪购于兰州黄河药市, 经兰州佛慈制药股份有限公司马立新高级工程师鉴定为真品。

1.3 试剂

黄芪甲苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 106541-201106); 乙腈为色谱纯, 葡萄糖、乙醇等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药液的制备

按处方比例准确称取药材 1 600 g, 加 12 倍量水煎煮提取 2 次, 每次 2 h^[9], 合并提取液。提取液以离心半径为 15 cm、3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

2.2 黄芪甲苷含量的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 以甲醇溶解并稀释制备成质量浓度为 59.12 μg/ml 的黄芪甲苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取当归补血口服液 10 ml, 用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 20 ml, 合并正丁醇液, 加氨试液 30 ml, 振摇, 放置 2 h 以上, 分取正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 ml 量瓶中, 加甲醇定容、摇匀、滤过, 取续滤液, 即得^[9]。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取当归饮片适量, 按“2.1”项下方法制备缺黄芪的阴性样品贮备液, 精密量取阴性样品贮备液 10 ml, 按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2.4 色谱条件和系统适用性试验 色谱柱: 依利特 ODS-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(36:64, V/V), 流

速:1.0 ml/min;柱温:室温;进样量:10 μ l;漂移管温度:75 $^{\circ}$ C;载气(氮气)流量:2.8 L/min。理论塔板数按黄芪甲苷峰计算应不低于4 000。以上述色谱条件分别进样测定对照品溶液、供试品溶液。结果,黄芪甲苷主峰与其他色谱峰分离良好,表明本法具有较强的专属性。色谱见图1。

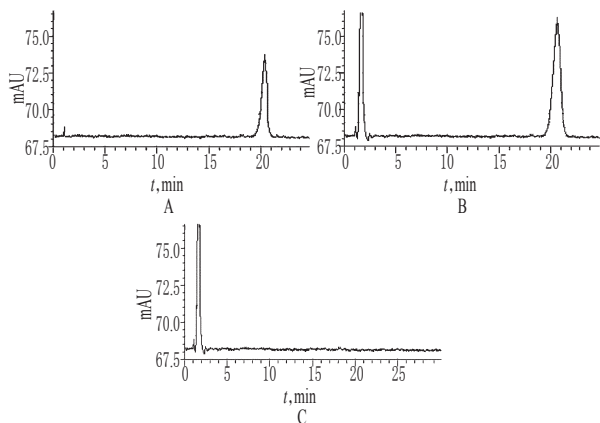


图1 高效液相色谱图

A.黄芪甲苷对照品;B.当归补血口服液样品;C.阴性样品

Fig 1 HPLC chromatograms

A.astragaloside IV control; B.Danggui buxue oral liquid; C. negative sample

2.2.5 标准曲线的制备 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液1、2、4、6、10 μ l,分别按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以黄芪甲苷进样量(x ,ng)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=1.319x+3.048$ ($r=0.9998, n=5$)。结果表明,黄芪甲苷进样量在59.12~591.2 ng范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.6 精密度的试验 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液10 μ l,连续进样6次,按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD=1.03%($n=6$),表明仪器精密程度良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标两点法计算样品中黄芪甲苷的含量。结果,黄芪甲苷的RSD=0.76%,表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密量取已知黄芪甲苷含量(0.1398 mg/ml)的当归补血口服液5 ml,共6份,分别精密加入黄芪甲苷对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率($n=6$)。加样回收率试验结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

编号	样品中黄芪甲苷含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1	0.699 0	0.295 6	0.987 2	99.26		
2	0.699 0	0.295 6	0.984 0	98.93		
3	0.699 0	0.591 2	1.280 8	99.27	99.37	0.27
4	0.699 0	0.591 2	1.285 6	99.64		
5	0.699 0	0.886 8	1.581 2	99.71		
6	0.699 0	0.886 8	1.576 0	99.38		

2.2.9 样品含量测定 取样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,测得峰面积积分值结果带入标准曲线方程,计算黄芪甲苷

含量。

2.3 总多糖的测定

2.3.1 标准曲线的制备 精密称取105 $^{\circ}$ C下干燥至恒质量的葡萄糖25.4 mg,参考文献方法^[6],在490 nm波长处测吸光度(A)。以总多糖质量浓度(c)为横坐标, A 为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=16.2058c+0.0175$ ($r=0.9998$)。结果表明,总多糖质量浓度在0.010 17~0.061 02 mg/ml范围内与 A 呈良好线性关系。

2.3.2 总多糖样品的制备 分别精密吸取“2.1”项下提取液12.5 ml,加入无水乙醇5.0 ml使含醇量达85%,静置24 h后,以离心半径5 cm、3 700 r/min离心10 min,沉淀加纯化水溶解,转移至25 ml量瓶中,以纯净水定容。

2.3.3 总多糖的含量测定 精密吸取总多糖样品液2.0 ml,在490 nm波长处测 A ,由回归方程计算出总多糖含量。

2.4 超滤工艺的优选

以影响超滤效果的工作压强(A)、药液温度(B)、药材与提取液质量比(C)为考察因素,每个因素选取3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。考核指标采用综合评分法,以超滤前药液所含总多糖、总皂苷的量计为100分,以超滤后的总多糖、总皂苷保留率依次评分。综合得分=总多糖保留率得分 \times 60%+黄芪甲苷保留率得分 \times 40%。因素与水平见表2;正交试验结果见表3;方差分析结果见表4。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A,MPa	B, $^{\circ}$ C	C
1	0.05	25	1:12
2	0.75	30	1:10
3	0.10	40	1:8

表3 正交试验结果

Tab 3 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	黄芪甲苷保留率得分	总多糖保留率得分	综合评分
1	1	1	1	1	86	62	71.4
2	1	2	2	2	90	71	73.2
3	1	3	3	3	92	85	73.8
4	2	1	2	3	97	83	76.0
5	2	2	3	1	89	78	86.0
6	2	3	1	2	97	66	76.1
7	3	1	3	2	96	62	75.7
8	3	2	1	3	98	59	76.2
9	3	3	2	1	56	76	66.0
K_1	218.4	223.1	223.7	223.4			
K_2	238.1	235.4	215.2	225.0			
K_3	217.9	215.9	235.5	226.0			
R	20.2	19.5	20.3	2.6			

表4 方差分析结果

Tab 4 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	88.49	2	44.24	77.17	<0.05
B	64.82	2	32.41	56.53	<0.05
C	69.29	2	34.64	60.42	<0.05
D(误差)	1.15	2	0.57	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$

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

动态流变学评价芩榆烧伤凝胶的凝胶特性[△]

贺金华*, 谭 为, 康雨彤, 戎晓娟, 毛 艳, 蔡晓翠(新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

中图分类号 R94 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3667-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.07

摘要 目的:应用动态流变学评定芩榆烧伤凝胶的流变性质,评价其凝胶特性。方法:采用剪切速率、频率扫描测定凝胶的流变学参数;采用蠕变方法测定凝胶的黏弹性;采用模拟贮存、运输、使用模式考察凝胶的稳定性。结果:该凝胶为剪切变稀的假塑性流体,具有良好的弹性和黏性,且稳定性良好。结论:动态流变试验能准确的表征芩榆烧伤凝胶的胶凝性质,可作为产品体外评价及质量控制的依据。

关键词 芩榆烧伤凝胶;假塑性流体;动态流变学

Evaluation of Gelling Properties of Qinyu Burns Gel by Dynamic Rheology

HE Jin-hua, TAN Wei, KANG Yu-tong, RONG Xiao-juan, MAO Yan, CAI Xiao-cui(Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate rheological property of Qinyu burns gel by using dynamic rheology, and to evaluate gelling properties. METHODS: Rheological parameters were determined by shear rate and frequency scanning; viscoelasticity was determined by creep experiment. The stability of the gel was evaluated by stimulant modes of storage, transportation and application. RESULTS: Qinyu burns gel was shear-thinning pseudoplastic fluid. Its elasticity, viscosity and stability were satisfactory. CONCLUSIONS: The dynamic rheological experiments can characterize the gelling properties of Qinyu burns gel and provide basis for evaluation in vitro and quality control of products.

KEYWORDS Qinyu burns gel; Pseudoplastic fluid; Dynamic rheology

由表2~表4可知,优选的超滤工艺条件为A₂B₂C₃,即工作压力0.75 MPa,药液温度30℃,药材与提取液质量比1:8(m/m)。

2.5 工艺验证试验

分别按处方比例准确称取药材1 600 g,共3批,采用上述优选工艺所得参数对最佳超滤工艺条件进行复核。结果表明,优选超滤工艺综合评分平均为91分,且所得工艺稳定。验证试验结果见表5。

表5 验证试验结果

Tab 5 Results of validation tests

试验号	黄芪甲苷,mg/ml	总多糖含量,mg/g生药	综合评分	平均分
1	0.1393	56.95	92.5	
2	0.1369	55.33	90.3	91
3	0.1401	55.18	91.0	

3 讨论

当归补血口服液药理学研究表明,当归中的多糖、黄芪中的多糖类、黄芪甲苷是非常重要的药效成分,且有研究表明多糖部分的补血活性强于非多糖部分^[6]。因此,本研究在考察超滤纯化工艺时以黄芪甲苷、总多糖保留率为指标,且加大多糖的权重系数,能较好地反映超滤液的内在品质。

考虑到多糖分子量较大,又是本方中的重要药效成分之

一,在参考了文献后^[7-9],本研究选择分子截留量为10万的超滤膜,既能达到较好的纯化效果,还能较好地保留有效成分,提高当归补血口服液的内在品质。

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会.新药转正标准:第34册[S].北京:人民卫生出版社,1997:15.
- [2] 李霞,马家骅,李楠,等.当归补血汤相状态的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):1.
- [3] 王永禄,王丽瑶,张东旭.正交实验法优选当归补血汤提取工艺的研究[J].时珍国医国药,2008,18(6):1 435.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:687、616.
- [5] 杨莉,王志华,陶健生.黄芪中黄芪多糖含量测定方法的比较[J].中国医药工业杂志,2005,36(9):562.
- [6] 范颖.当归补血汤的实验研究进展[J].中医药学刊,2006,24(9):1 643.
- [7] 杨祖金,江燕斌,葛发欢,等.超滤膜技术分离灵芝多糖的研究[J].中草药,2009,32(1):126.
- [8] 魏舒畅,余琰,王志旺,等.补阳还五汤超滤工艺优选条件的评价与优化[J].中成药,2009,31(2):304.
- [9] 陈彦佐,冯怡,徐德生,等.膜技术在多糖分离应用中存在问题探讨[J].中草药,2009,40(6):991.

(收稿日期:2013-11-08 修回日期:2014-01-06)

△基金项目:新疆维吾尔自治区科技计划项目(No.201110105)

*研究员,硕士。研究方向:维吾尔药活性成分筛选及质量标准。电话:0991-2326572。E-mail:hejh1216@163.com.