

# 知柏八味颗粒澄清工艺研究

付佳乐

(陕西国际商贸学院, 陕西 咸阳 712046)

**摘要:**目的:探讨知柏八味颗粒的澄清工艺。方法:采用正交试验法对知柏八味颗粒的澄清工艺进行优化,研究壳聚糖加入量、药液 pH 值和药液浓度三个基本因素的影响,探讨醇沉工艺和壳聚糖絮凝工艺对于浸膏得率和小檗碱含量的影响。结果:壳聚糖絮凝工艺与醇沉工艺相比,浸膏得率更高,小檗碱保留率更低,且药液浓度对于絮凝效果的影响较为明显,但两种澄清工艺总体比较无统计学差异( $P>0.05$ )。结论:醇沉工艺和壳聚糖絮凝工艺作用相当,均可作为知柏八味颗粒的澄清工艺。

**关键词:**知柏八味;颗粒;澄清工艺

中图分类号:R286;TQ461

文献标识码:A

文章编号:1673-2197(2014)04-0050-02

知柏八味方由山茱萸、生地、黄柏和知母等八味中药组成,具有补肾明目、滋阴降火之功效,临床上常用于干眼症、慢性结膜炎、慢性葡萄膜炎、视网膜脉络膜病变和视网膜静脉周围炎等水亏火旺性眼病和肾阴不足等疾病的治疗。知柏八味方由经典的六味地黄方加黄柏、知母而得,现有口服液、颗粒剂、丸剂等多种剂型。作为原料药材的提取纯化工艺,水提醇沉法是知柏八味颗粒剂传统的澄清生产工艺,但该澄清工艺具有有效成分严重流失、生产安全性差、成本较高和生产周期较长等缺陷。因此本文对壳聚糖絮凝工艺替代乙醇沉淀法在知柏八味颗粒剂澄清中应用的可行性进行了分析,也为后续的实验研究工作奠定了理论基础,现将结果报道如下。

## 1 材料

### 1.1 试剂与药品

选用陕西兴盛药材有限公司生产的山茱萸、生地、黄柏和知母等八味药材作为本次实验研究的药材;壳聚糖脱乙酰度为 90%,相对分子质量为 210 000,浙江澳兴生物科技有限公司生产;乙腈为色谱纯;水为蒸馏水;中国食品药品检定研究院生产的盐酸小檗碱(批号 110713-200911);其他试剂均选择分析纯。

### 1.2 仪器设备

上海一恒科技有限公司生产的恒温仪;上海梅特勒-托利多有限公司生产的 320pH 计;Sartorius 公司生产的 BT 125D 电子分析天平;美国 Agilent 公司生产的 Agilent 1100 高效液相色谱仪和相应的化学工作站。

## 2 方法与结果

### 2.1 制备壳聚糖溶液和水提液

絮凝剂制备:称取壳聚糖 1g,加 1%醋酸 100mL,静置

24h,混合搅拌均匀,配置成浓度为 1%的壳聚糖溶液。

水提液制备:依据处方称取适量的山茱萸、生地、黄柏、知母等八味药材,使用温水浸泡约 30min 后,进行 2 次煎煮,每次煎煮 2h,第 1 次加 10 倍量水,第 2 次加 8 倍量水,滤过,合并两次煎煮滤液,并对过滤液进行适当浓缩,留取备用。

### 2.2 水提液壳聚糖絮凝工艺

絮凝剂对水提液的纯化处理:取一定浓度的水提浓缩液 100mL,置于 250mL 烧杯中,调 pH 至一定值,置于磁力搅拌器上加热至一定温度,在恒定搅拌速度下加入一定量的 1%壳聚糖溶液,搅拌 10min,静置 24h 后,离心抽滤,得滤液,定容至 100mL。

絮凝澄清条件优化:根据相关文献研究及预实验的结果,取上述水提液,选择因素 A(药液浓度)、因素 B(壳聚糖用量)和因素 C(药液 pH 值)三项观察指标作为本次正交试验的考察因素,各个分析指标水平如表 1 所示。依据  $L_9(3^4)$  正交表在 50℃下进行正交试验,将壳聚糖溶液加入水提液,离心、静置、搅匀,并留取上层清液,将样品溶液定容为每毫升中含有 1.0g 左右原药材的药液。对各个样品溶液的浸膏得率和小檗碱含量分别进行测定。

表 1 药材水提液壳聚糖絮凝工艺因素-水平

| 水平 | 因素           |                |           |
|----|--------------|----------------|-----------|
|    | A 药液浓度(g/mL) | B 壳聚糖使用量(mL/g) | C 药液 pH 值 |
| 1  | 1 : 1        | 0.4            | 4         |
| 2  | 1 : 2        | 0.6            | 5         |
| 3  | 1 : 3        | 0.8            | 6         |

### 2.3 浸膏得率测定

精密量取 20mL 药液,置于恒重且干燥的蒸发器皿中,于 70℃下蒸干,后在 105℃下干燥至恒重,待其逐渐降温后,

收稿日期:2013-05-17

作者简介:付佳乐(1984—),女,陕西国际商贸学院助教,研究方向为中药复方的物质基础研究。

转移至干燥的器皿中冷却 30min,后取出进行精密称重,并对浸膏得率进行计算,如表 2 所示。

## 2.4 盐酸小檗碱含量测定

色谱条件:进样量:10 $\mu$ L;检测波长:265nm;流速:1mL/min;柱温:20 $^{\circ}$ C;流动相:乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾(32:68);色谱柱:Diamondsil C<sub>18</sub>柱(4.6mm $\times$ 250mm,5 $\mu$ m)<sup>[1]</sup>;理论塔板数以盐酸小檗碱峰计算不低于 4 000。

供试品溶液制备:精密吸取 1mL 药液,置于 25mL 容量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即为供试品溶液。

对照品溶液制备:取适量盐酸小檗碱对照品,对其进行精密称定,配制成每毫升含 80 $\mu$ g 盐酸小檗碱的溶液,留作储备液。

阴性对照溶液制备:按处方称取不含芍药的药材,照供试品溶液制备的方法制备即得。

对照药材溶液制备:取黄柏药材粉末(过三号筛)约 0.1g,精密称定,置于 100mL 容量瓶中,加流动相 80mL,超声处理(功率 250W,频率 40kHz)40min,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液即得。

标准曲线绘制方法:分别精密量取上述储备液 1mL、1.5mL、2mL、2.5mL、3mL、3.5mL、4mL,置于 10mL 容量瓶中,采用流动相定容,进样前摇匀。标准曲线的横坐标为样品浓度,纵坐标为小檗碱的峰面积<sup>[3]</sup>。

样品含量测定方法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 $\mu$ L,将其注入液相色谱仪中,以上述设定的色谱条件进行测定,并计算小檗碱含量<sup>[2]</sup>,如表 2 所示。

小檗碱的线性回归方程为  $A = 42.3559C - 32.62$ ,  $r = 0.9999$ ,在 7.12~28.48 $\mu$ g/mL 浓度范围内,小檗碱浓度与峰面积呈现良好的线性关系。

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验方法和结果分析

| 试验号 | 因素 |         |         |         | 浸膏得率 小檗碱含量 |         |
|-----|----|---------|---------|---------|------------|---------|
|     | A  | B       | C       | D       | (%)        | (mg/mL) |
| 1   | 1  | 1       | 1       | 1       | 15.88      | 0.279 8 |
| 2   | 1  | 2       | 2       | 2       | 16.11      | 0.220 2 |
| 3   | 1  | 3       | 3       | 3       | 24.30      | 0.290 9 |
| 4   | 2  | 1       | 2       | 3       | 21.19      | 0.302 3 |
| 5   | 2  | 2       | 3       | 1       | 23.58      | 0.305 3 |
| 6   | 2  | 3       | 1       | 2       | 22.16      | 0.396 9 |
| 7   | 3  | 1       | 3       | 2       | 22.34      | 0.334 7 |
| 8   | 3  | 2       | 1       | 3       | 23.09      | 0.410 2 |
| 9   | 3  | 3       | 2       | 1       | 23.52      | 0.350 1 |
| 含量  | K1 | 0.263 6 | 0.305 6 | 0.362 3 | 0.311 7    |         |
|     | K2 | 0.334 8 | 0.311 9 | 0.290 9 | 0.317 3    |         |
|     | K3 | 0.365 0 | 0.346 0 | 0.310 3 | 0.334 5    |         |
|     | R  | 0.101 4 | 0.040 4 | 0.071 4 | 0.022 7    |         |
| 得率  | K1 | 18.76   | 19.80   | 20.38   | 20.99      |         |
|     | K2 | 22.31   | 20.93   | 20.27   | 20.20      |         |
|     | K3 | 22.98   | 23.33   | 23.41   | 22.86      |         |
|     | R  | 4.22    | 3.52    | 3.13    | 2.66       |         |

由表 2 可以看出,以小檗碱含量为指标,最佳工艺为 A3B3C1;以干膏得率为指标,最佳工艺为 A3B3C3。结合正交试验结果,调整最佳纯化工艺为 A3B3C2,即水提液浓缩至每毫升含 3g 生药,调节至 pH=5,加热至 50 $^{\circ}$ C,每克生药加入 0.8mL 壳聚糖溶液,以 1 600r $\cdot$ min<sup>-1</sup>搅拌 10min,冷藏 24h,离心。

## 2.5 醇沉工艺与壳聚糖絮凝工艺对比

取上述水提液浓缩液,加乙醇使含醇量为 60%,搅匀,静置 24h,离心,定容至 100mL,即得醇沉的处理液体液。取与醇沉处理液等量的 1:3 的水提液,加 80mL 1.0% 壳聚糖溶液,按上述最佳工艺条件制备,离心,定容至 100mL,得壳聚糖澄清的处理液,然后进行浸膏得率和小檗碱含量测定,考虑到浸膏得率和小檗碱含量对实验的影响有所不同,分别将其权重,进行综合评分,结果如表 3 所示。

表 3 两种澄清工艺对比分析

| 方法      | 浸膏得率<br>(%) | 小檗碱含量<br>(mg/mL) | 综合评定<br>(%) |
|---------|-------------|------------------|-------------|
| 壳聚糖絮凝工艺 | 23.56       | 0.423 8          | 88.16       |
| 醇沉工艺    | 18.39       | 0.498 9          | 88.74       |
| 离心法(对照) | 24.85       | 0.506 2          | —           |

## 3 讨论

采用壳聚糖絮凝工艺对中药制剂进行澄清处理,该法具有成本较低、安全性高、生产周期短和操作简单等显著优势,因而临床上对于这一澄清工艺的研究也较为深入。随着我国现代化改革的逐渐深入,壳聚糖絮凝工艺逐渐替代了传统的醇沉工艺,成为了中药制剂首选的澄清方法<sup>[4]</sup>。

知柏八味颗粒剂的主要成分为小檗碱,因而在两种澄清工艺的对比分析中,将小檗碱含量及浸出物得率作为主要的评价指标<sup>[5]</sup>。中药治疗采用多靶点、多组分的作用方式,且其药效活性成分和作用机制尚不十分明确,因而通常认为澄清过度会对其有效成分造成不良影响<sup>[6]</sup>,壳聚糖絮凝工艺刚好克服了这一缺陷,适合推广应用。

## 参考文献:

- [1] 李静,王晓义,蒲玉红,等.健儿消食口服液澄清工艺的实验研究[J].中成药,2011,1(3):158-159.
- [2] 彭燕,李冬,胡辉.“网脱 1 号”口服液的壳聚糖絮凝除杂工艺研究[J].中国药师,2010,13(10):1420-1421.
- [3] 胡包容,哈利,李晓红.壳聚糖絮凝法澄清双黄连提取液的工艺研究[J].中国中医药科技,2008,31(2):221-222.
- [4] 甄冬琴,温树东,陈亚发.知柏八味口服液治疗眼科慢性炎症验案 3 则[J].新中医,2000,32(10):52-53.
- [5] 赵军,沈纪元,李先林,等.芍药肝口服液澄清工艺的研究[J].中国现代应用药学杂志,2004,21(5):411-412.
- [6] 陈伟,林新华.茛菪防感颗粒水提液澄清工艺研究[J].中成药,2005,27(7):825-826.

(责任编辑:尹晨茹)