

奇智胶囊制备工艺研究*

彭利霞¹, 冯汉鸽², 罗焜¹, 向楠²

(1. 湖北中医学院 2004 级硕士研究生, 湖北 武汉 430065; 2. 湖北省中医院, 湖北 武汉 430061)

摘要: 目的: 优选奇智胶囊的提取工艺。方法: 以方中君药黄芪的主要有效成分黄芪甲苷为指标, 用正交设计法对黄芪甲苷的制备工艺进行优选。结果: 奇智胶囊的最佳醇沉工艺为 A₂B₁C₂, 即浓缩至 1:1, 50% 醇沉浓度, 放置 24 小时。结论: 优选出的最佳工艺科学、合理。

关键词: 奇智胶囊; 黄芪甲苷; HPLC-ELSD 法; 正交实验

中图分类号: R283 文献标识码: A 文章编号: 1000-0704(2007)03-0052-02

奇智胶囊是由水蛭、黄芪、石菖蒲等五味中药组成的纯中药复方制剂, 具有益气活血, 化痰开窍的功能, 主治血管性痴呆(气虚血瘀痰阻型)^[1]。血管性痴呆是最常见的老年痴呆之一, 主要是由于脑血管因素引起的脑组织血液循环障碍、脑部机能减退而致的一种认知功能缺损综合征。随着社会向老龄化发展和脑血管病的发病率的不断提高, 血管性痴呆的发病率呈指数上升, 已成为亚洲等国家最常见的痴呆之一^[2]。中医理论认为老年痴呆是由于脏腑亏虚气虚血瘀所致, 治疗以补脾益气活血、化痰开窍为主, 从整体着眼, 调和阴阳, 达阴平阳秘, 防治并重。笔者采用水煎醇沉工艺, 通过正交试验, 以制剂中黄芪甲苷的含量为指标, 对奇智胶囊的制备工艺进行了研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪 Agilent 1100 Series 检测器 SEDEX ELSD 75, CAG Bootp Server 化学工作站, KQ-100A 型超声波清洗器(昆山超声波仪器厂), 万分之一分析天平(OHAUS)。

1.2 试药

奇智胶囊中各味药材购自湖北省中医院药剂科, 经鉴定符合《中国药典》2005 版规定, 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所), 水为双蒸水, 甲醇、乙腈(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心), 氨水、正丁醇及其它试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 制备工艺

方中具有挥发性的两味药物按 2005 版药典一部 XD 法提取挥发油, 通过正交试验优选最佳工艺即将石菖蒲、川芎粉碎为粗粉, 加 8 倍量水, 提取 8h, 收集挥发油, β-环糊精包合待用; 余药水煎煮, 煎煮 2 次, 药渣(石菖蒲、川芎粗粉)参与第二次水煎煮, 每次 1 小时, 加 10 倍量水, 过滤, 合并滤

液; 滤液用醇沉法精制, 将滤液浓缩至 1:1 的比例其相对密度为 1.10(室温), 加乙醇使含醇量达 50%, 放置 24h 过滤醇沉液, 回收乙醇, 挥至无醇味, 浓缩为干浸膏, 加入辅料微晶纤维素、淀粉及 β-环糊精包合物混匀, 制成 500g, 加适宜浓度的乙醇制成软材, 过 20 目筛制颗粒, 60℃ 烤干, 装 0 号胶囊。

2.2 黄芪甲苷含量的测定

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验: 色谱柱: ODS Agilent C₁₈ 柱(5μm, 4.6mm×250mm), 流动相乙腈-水(36:64)^[3], 流速 1.0ml/min, 蒸发光散射检测器, 漂移管温度 40℃, 压力 3.5Bar^[4,5]。

2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取黄芪甲苷 2.7mg 至 10ml 容量瓶中加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.27mg·ml⁻¹ 溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备: 取样品 20ml, 水饱和正丁醇萃取 4 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 20ml, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解定容至 10ml^[6,7]。

3 结果

3.1 标准曲线的绘制

精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10、15、20μl 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值的自然对数为横坐标, 黄芪甲苷的量(μg) 为纵坐标绘制标准曲线, 计算回归方程, Y = -11.1187 + 1.678813lnX, r = 0.9999, 结果表明, 黄芪甲苷在 0.5357 ~ 5.4036μg/μl 范围内呈良好线性关系。

3.2 加样回收率试验

精密取 5 号样品 5 份每份 20ml, 分别加入不同浓度的黄芪甲苷对照品溶液一定量, 摇匀, 按供试品制备方法制备, 精密吸取上述 5 个不同样品供试品各 20μl 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算黄芪甲苷回收率。结果平均回收率为

* 基金项目: 湖北省科技厅攻关项目(2002AA301C12)。

97.74%, RSD=1.13%。

3.3 重现性试验

取样品,按供试品制备方法,平行制备5份供试品溶液后按样品测定项下方法测定, RSD=0.93% (n=5),表明本方法重现性良好。

3.4 正交试验

按 $L_9(3^4)$ 正交表试验,以黄芪甲苷为指标,考察浓缩比例(A)、醇沉浓度(B)、放置时间(C)三因素,每个因素设三个水平。其因素水平表见表1。

表1 正交设计表

水平	浓缩比例 A	醇沉浓度 B(%)	放置时间 C(h)
1	1:0.65	50	12
2	1:1	60	24
3	1:1.5	70	48

按正交试验设计要求,称取处方量的饮片9份,按上述制备工艺水煎煮,过滤,浓缩。将滤液浓缩至1:2的比例即每2ml含药材1g,平均分成9份,然后按正交因素表采用醇沉法进行精制。

3.5 正交试验结果

精密吸取样品1~9号各20 μ l,分别注入液相色谱仪,同对照品条件测定峰面积,计算样品中黄芪甲苷的含量,结果见表2~3。

表2 正交实验结果及数据分析

实验号	因素			黄芪甲苷含量 (mg/ml)
	A	B	C	
1	1	1	1	2.3029
2	1	2	2	1.9329
3	1	3	3	2.1627
4	2	1	2	3.3585
5	2	2	3	2.3957
6	2	3	1	3.1774
7	3	1	3	2.2084
8	3	2	1	1.8164
9	3	3	2	2.2927
K1	6.3985	7.8698	7.2967	
K2	8.9316	6.1450	7.5841	
K3	6.3175	7.6328	6.7668	
R	2.6141	1.7248	0.8173	
SS	1.4730	0.5827	0.1146	
KMAX	8.9316	7.8698	7.5841	
KMIN	6.3175	6.1450	6.7668	
$\sum y_i$	21.6476	21.6476	21.6476	

表3 方差分析表

	SS	f	S	F	P
A	1.4730	2.0000	0.7365	58.2784	$P < 0.05$
B	0.5827	2.0000	0.2914	23.0563	$P < 0.05$
C	0.1146	2.0000	0.0126	4.5341	$P > 0.05$

3.6 实验结果分析

表2和表3结果表明,浓缩比例和醇沉浓度对黄芪甲苷含量有显著影响($P < 0.05$),放置时间对黄芪甲苷的含量无显著意义($P > 0.05$),即因素A、B对试验结果有显著性影响,因素C对试验结果无显著性影响。影响黄芪甲苷因素的顺序依次为 $A > B > C$,即浓缩比例 $>$ 醇沉浓度 $>$ 放置时间,故在实验过程中要保证浓缩比例和醇沉浓度,最佳制备工艺为 $A_2B_1C_2$,即浓缩至1:1,50%醇沉浓度,放置24小时。

4 讨论

由于黄芪甲苷的紫外吸收为末端吸收,高效液相用紫外检测器其操作条件十分严格,噪音对结果影响大,灵敏度也较低,使高效液相未能广泛用于黄芪甲苷含量测定。蒸发光散射检测是使流动相溶剂喷雾汽化,进入加热管后溶剂挥发,而被分析检测的物质颗粒经镭射光产生散射,散射光由光电倍增管收集得到响应,由被分析物质的颗粒的数量和大小决定光散射检测器的响应大小,不受流动相溶剂的干扰。HPLC-ELSD法对黄芪甲苷的含量测定,灵敏度高,分离好,干扰少,是一种较好的黄芪甲苷含量测定方法,但其前处理较麻烦。

比较浸膏量,50%醇沉浓度显著比70%醇沉浓度的浸膏量多,可能由于醇沉浓度较高成分损失较多,且50%醇沉浓度的糖分液较多。在过滤醇沉液时,放置12h的较难过滤,过滤速度慢,而放置24h和48h的过滤速度都较快。

本试验确定的奇智胶囊黄芪中黄芪甲苷的最佳醇沉提取方案为:浓缩至1:1,50%醇沉浓度,放置24h。

参考文献:

- [1] 桂裕江. 黄芪在心血管疾病中的应用[J]. 湖北中医杂志, 2004, 26(8): 40-41.
- [2] 刘胜坚. 中医对老年痴呆的研究[J]. 光明中医, 2006, 21(1): 13-14.
- [3] 张国罡. 黄芪甲苷定量方法概况[J]. 湖北中医杂志, 2001, 23(5): 52-53.
- [4] 邹节明, 孟杰, 王登斌. HPLC-ELSD测定三金结肠康胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(11): 1115-1116.
- [5] 王传茂, 朱丽华, 李启启. HPLC-ELSD法测定芪通颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(5): 388-391.
- [6] 罗苑苑. RP-HPLC法测定玉屏风口服液黄芪甲苷的含量[J]. 广东药学, 2004, 14(3): 10-11.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典2005版一部[S]. 北京: 化学工业出版社.

(收稿日期: 2006-11-30 编辑: 郑晓屏)