

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.001

藿夏胶囊的提取和成型工艺研究*

梁丽莉¹, 王柳萍², 林忠秋³, 黄光明³, 谭承梅¹, 杨斌¹, 黄兴振^{1△}

(1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021; 2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530299;

3. 广西医科大学第一附属医院, 广西 南宁 530000)

摘要:目的 优选藿夏胶囊的提取和成型工艺。方法 以提取时间、水量、次数为3因素,以淫羊藿苷、迷迭香酸含量和干膏率为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选提取工艺;筛选填充剂的种类与比例、润湿剂的体积分数与用量、最适干燥温度、空胶囊规格,并测定堆密度和临界相对湿度。结果 最佳提取工艺为以10倍量水(首次为13倍)提取3次,每次2h;采用湿法制粒,以磷酸钙为填充剂,供试品与磷酸钙的比例为1:4(m/m),50%乙醇为润湿剂,供试品与50%乙醇的比例为1:0.48(m/V),干燥温度为60℃,颗粒临界相对湿度为63.83%,填入0号胶囊中得藿夏胶囊。结论 该工艺合理可行,所制得的颗粒成型较好。

关键词:藿夏胶囊;湿法制粒;提取工艺;成型工艺;工艺优化

中图分类号:R932;TQ460.6

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)16-001-04

Extraction Process and Molding Technology of Huoxia Capsules

LIANG Lili¹, WANG Liuping², LIN Zhongqiu³, HUANG Guangming³, TAN Chengmei¹, YANG Bin¹, HUANG Xingzhen¹

(1. College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, China 530021; 2. College of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530299; 3. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, China 530000)

Abstract: **Objective** To optimize the extraction process and molding technology of Huoxia Capsules. **Methods** The extraction process was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal test with taking the extraction time, water amount and extraction times as factors, and taking the contents of icariin, rosmarinic acid and dry cream as indexes. The types and ratio of stuffing bulking agent, volume fraction and dosage of wetting agent, optimum drying temperature and specification of empty capsules were screened, and the bulk density and critical relative humidity were detected. **Results** The optimum extraction process was as follows: extracted three times with 10 times the amount of water (13 times the amount of water for the first extraction) for 2 h each time. The wet granulation was adopted and the optimum molding technology was as follows: calcium phosphate was taken as the filling agent, the ratio of Huoxia powder and calcium phosphate was 1:4(m/m), and 50% ethanol was taken as the wetting agent, the ratio of the sample to 50% ethanol was 1:0.48(m/V), the drying temperature was 60℃, and the critical relative humidity of the granule was 63.83%. All of these were filled into No. 0 capsule to obtain the Huoxia Capsule. **Conclusion** The process is reasonable and feasible, and the prepared granules have good moldability.

Key words: Huoxia Capsules; wet granulation; extraction process; molding technology; process optimization

藿夏胶囊源于民间验方,主要由淫羊藿、夏枯草等中药提取物组方。方中淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim. 多用于高血压、乳房肿块等症的临床治疗。淫羊藿苷抗肿瘤作用显著,可抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞分化、促进细胞凋亡及增强机体免疫力等^[1]。夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 为唇形科双子叶植物夏枯草的干燥果穗,有软坚散结、清火明目功效^[2]。本课题组前期开展的安全性和药效学研究结果显示,在藿夏胶囊治疗剂量下,试验动物多项生理指标及临床检验指标均未显示出毒性反应。血清药理学试验结果表明,其含药血清对人大细胞肺癌 H460 细胞的抑制率 24 h 时达 65.7%,48 h 时达 68.84% ($P < 0.01$)。为建立藿夏胶囊的质量标准,本研究中采用正交试验法优选其提取工艺并确定成型工艺,为该制剂提供合理的提取和制剂成型方案。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); H2050R 型医用离心机(湖南湘仪实验仪器开发有限公司); 101-1 型电热鼓风恒温干燥箱(绍兴道墟浦鸿烘箱电炉厂); AL-104 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); BJ-800A 型多功能粉碎机(湖州德清拜杰电器有限公司); YP-GSD250 型综合药品稳定性试验箱(上海苏盈试验仪器有限公司)。

1.2 试药

淫羊藿、夏枯草药材(北海天润技术有限公司),经广西中医药大学药学院王柳萍教授鉴定为正品;淫羊藿苷对照品(批号为 110737-201516,含量为 95.0%)、迷迭香酸对照品(批号为 111871-201505,含量为

*基金项目:广西高校重点实验室建设项目[J16070]。

第一作者:梁丽莉,女,壮族,硕士研究生,研究方向为药学,(电子信箱)731206768@qq.com。

△通信作者:黄兴振,男,壮族,副教授,硕士研究生导师,研究方向为药物新制剂与新技术,(电子信箱)215997143@qq.com。

95.0%)，均购于中国食品药品检定研究院；乙腈、甲醇均为色谱纯，稀乙醇、三氟乙酸均为分析纯，硬脂酸镁、可溶性淀粉、糊精、磷酸钙等均为药用辅料级，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 提取工艺

2.1.1 吸水率试验

称取处方量药材(70.5 g, m_1)，加12倍量水，分别浸泡30, 60, 90, 120, 150, 180 min后滤过蒸干，并称定药材质量(m_2)。按公式 $W = (m_2 - m_1) / m_1 \times 100\%$ 计算药材的吸水率。结果药材的吸水率为处方量的3倍。

2.1.2 含量测定

溶液制备：称取处方量药材(70.5 g)，加3倍量水，浸泡30 min，回流提取，合并滤液，1 000 r/min离心10 min，减压抽滤，浓缩定容至250 mL，60℃烘干粉碎，得供试品，以水溶解，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液，置4℃保存，备用。取淫羊藿苷、迷迭香酸对照品各适量，分别加甲醇溶解，即得单一对照品溶液。

淫羊藿苷含量测定：色谱条件为色谱柱JADE-PAK ODS柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相乙腈-水(30:70, V/V)，流速1 mL/min，检测波长270 nm，柱温30℃，进样量10 μL。取淫羊藿苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成不同质量浓度的系列对照品溶液，按拟订色谱条件进样测定，记录峰面积，以峰面积积分值(Y)为纵坐标、质量浓度(X)为横坐标进行线性回归，得回归方程 $Y_1 = 0.000\ 013\ 22 X_1 - 0.064\ 32$ ($r = 0.999\ 3$)。结果表明，淫羊藿苷质量浓度在0.1~5.0 μg/mL范围内与峰面积积分值线性关系良好。取对照品溶液、供试品溶液各适量，按拟订色谱条件进样测定，记录色谱图，详见图1。结果理论板数按淫羊藿苷峰计大于6 000，分离度不小于1.5，基线分离良好。按标准进行精密度试验、稳定性试验、加样回收试验，结果日内、日间精密度的RSD分别为1.07%和1.36% ($n=6$)，稳定性试验的RSD为0.44% ($n=5$)，供试品溶液室温放置8 h内基本稳定；加样回收率为98.70%~100.50%，RSD为1.48% ($n=6$)。

迷迭香酸含量测定：色谱条件为色谱柱JADE-PAK ODS-AQ柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相甲醇-0.1%三氟乙酸溶液(42:58, V/V)，流速1 mL/min，检测波长330 nm，柱温35℃，进样量10 μL。取迷迭香酸对照品适量，加稀乙醇制成不同质量浓度的系列对照品溶液，按拟订色谱条件进样测定，记录峰面积，以峰面积积分值(Y)为纵坐标、质量浓度(X)为横坐标进行线性回归，得回归方程 $Y_2 = 0.000\ 015\ 00 X_2 + 0.114\ 9$ ($r = 0.999\ 4$)。结果表明，迷迭香酸质量浓度在0.5~10.0 μg/mL范围内与峰面积积分值线性关系良好。取对照品溶液、供试品溶液各适量，按拟订色谱条件进样测定，记录色谱图，详见图1。结果理论板数按迷迭香酸峰计大于6 000，分离度不小于1.5，基线分离良好。按标准进行精密度试验、稳定性试验、加样回收试验，结果日内、日间精密度的RSD分别为1.34%和1.57% ($n=6$)；稳定性试验的RSD为0.84% ($n=6$)，供试品溶液室温放置8 h内基本稳定；加样回收率为99.30%~101.40%，RSD为1.15% ($n=6$)。

样品含量测定：取供试品适量，依法制备供试品溶液，按拟订色谱条件进样测定，平行3次，记录峰面积并计算含量。

2.1.3 干膏率测定

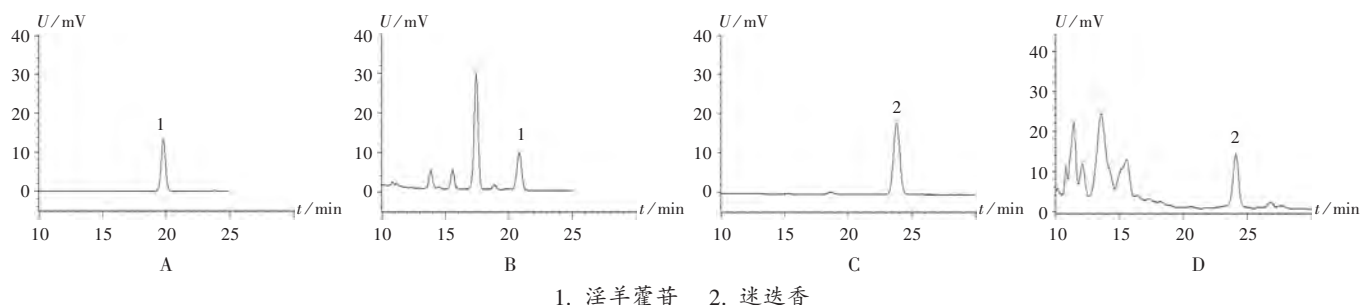
取供试品溶液100 mL，置蒸发皿中，80℃水浴锅蒸干水分，100~105℃烘箱中干燥3 h，移至干燥器中，放冷30 min，取干膏，精密称定，按公式 $W_1 = m_{\text{干膏}} / m_{\text{生药}} \times 100\%$ 计算供试品的干膏率(%), 式中 W_1 为干膏率， m 为质量。

2.1.4 单因素分析

参照文献[3-5]，对药材提取影响较大的因素为提取时间、提取次数和提取水量，故分别对其做单因素分析。选择3个因素最佳的3个水平，提取时间分别为1.0 h, 1.5 h, 2.0 h，提取水量分别为10倍, 12倍, 14倍，提取次数分别为1次, 2次, 3次。

2.1.5 正交试验

以提取时间(因素A)、提取水量(因素B)、提取次数(因素C)为3因素，采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选



1. 淫羊藿苷 2. 迷迭香
A、C. 对照品溶液 B、D. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

提取工艺。以淫羊藿苷含量(F_1)、迷迭香酸含量(F_2)及干膏率(F_3)的综合评分作为指标^[6-7],三者的权重系数分别为0.3, 0.3, 0.4。综合评分 = ($F_1 \times 0.3 + F_2 \times 0.3 + F_3 \times 0.4$) $\times 100\%$ 。因素与水平见表1,正交试验设计及结果见表2,方差分析结果见表3。可见,3个因素对有效成分的提取率均无显著影响。直观分析结果表明,影响水提效果强度的因素依次为提取次数>提取时间>提取水量。得提取工艺最优条件为 $A_3B_1C_3$ 。即10倍量水(首次为13倍)提取3次,每次2h。

表1 因素与水平

水平	因素 A(h)	因素 B(倍)	因素 C(次)
1	1.0	10	1
2	1.5	12	2
3	2.0	14	3

表2 正交试验设计及结果

试验号	因素				权重评分
	A(h)	B(倍)	C(次)	D	
1	1.0	10	1	1	43.94
2	1.0	12	2	2	68.34
3	1.0	14	3	3	63.50
4	1.5	10	2	3	65.44
5	1.5	12	3	1	74.94
6	1.5	14	1	2	54.61
7	2.0	10	3	2	100.00
8	2.0	12	1	3	60.20
9	2.0	14	2	1	75.95
K_1	58.59	69.79	52.91	64.94	
K_2	65.00	67.83	69.91	74.32	
K_3	78.71	64.69	79.48	63.05	
Max	78.71	69.79	79.48	74.32	
Min	58.59	64.69	52.91	63.05	
R_j	20.12	5.11	26.57	11.27	
SS_j	634.14	39.79	1086.25	218.46	

注:D为空白项。

表3 方差分析结果

因素	离差平方和	自由度	方差	F值	P
A	634.14	2	317.070	2.903	>0.05
B	39.79	2	19.895	0.182	>0.05
C	1086.25	2	543.125	4.972	>0.05

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

2.2 成型工艺

2.2.1 流动性考察

采用固定漏斗法测定^[8],平行3次。结果供试品的休止角平均值为 45.5° ($>40^\circ$),提示流动性不佳,不适合直接装填于空胶囊中。

2.2.2 填充剂种类

供试品黏性大,制粒困难,易吸湿,故需添加适宜的

填充剂^[9]。本试验中选用的填充剂分别为糊精、可溶性淀粉、硬脂酸镁和磷酸钙,供试品与各填充剂比例均为 $1:3(m/m)$,50%乙醇制软材后过14目筛制粒,60℃干燥。以软材质量、颗粒状态为指标进行考察。结果以磷酸钙作为填充剂时制得的软材质量好,颗粒成型性佳,故以其为填充剂制粒。

2.2.3 填充剂比例

在填充剂种类相同的前提下,填充剂比例的不同可能造成制得颗粒成型性出现差异。将供试品与磷酸钙分别按 $1:2, 1:3, 1:4, 1:5(m/m)$ 的比例混合^[10],50%乙醇制软材后过14目筛制粒,60℃干燥。以软材质量、颗粒状态为指标进行考察。结果当提取物与磷酸钙的比例为 $1:4(m/m)$ 时,所制得的软材质量好,颗粒成型性佳,故选择供试品与磷酸钙的混合比例为 $1:4(m/m)$ 。

2.2.4 润湿剂体积分数

在不使用黏合剂的情况下,润湿剂直接影响颗粒的质量^[11]。供试品与磷酸钙按 $1:4(m/m)$ 混合后,加入相同体积而体积分数不同的乙醇作为润湿剂。通过制粒情况、干燥后颗粒状态和相对湿度为50%时的吸湿率等指标对乙醇体积分数进行考察。结果见表4。可见,乙醇体积分数对吸湿性影响不大,但体积分数越高,含水量越少,颗粒越散,成型性越差。乙醇体积分数为50%时制粒情况最好,故本试验中选用50%乙醇作为润湿剂。

表4 不同乙醇体积分数的考察结果

乙醇体积分数	制粒情况	干燥后颗粒状态	吸湿率(%) [*]
50%	成型性好,粉末少	颗粒均匀,硬度适中	5.13
60%	成型性好,粉末较多	颗粒较均匀,硬度适中	5.46
70%	成型性差,粉末多	颗粒不均匀	5.75
80%	成型性差,粉末多	颗粒不均匀	5.28

注:*为相对湿度为50%时测得。表5同。

2.2.5 润湿剂用量

根据湿法制粒“握之成团、触之即散”的经验原则操作。供试品与磷酸钙以 $1:4(m/m)$ 混合后,分别以表5中不同比例的50%乙醇作为润湿剂,通过制粒情况、休止角、干燥后颗粒状态和相对湿度为50%时的吸湿率等指标对润湿剂乙醇的用量进行考察,结果见表5。可见,当供试品与乙醇润湿剂的比例为 $1:0.48(m/V, g/mL)$ 时

表5 乙醇用量的考察结果

料液比 (g/mL)	制粒情况	休止角 (°)	干燥后颗粒 状态	吸湿率 (%)
1:0.42	软材太散		颗粒不均匀,粉末较多	
1:0.44	软材较散	32.6	颗粒不均匀,粉末较多	2.24
1:0.46	无粘连,成型性较好	38.7	颗粒均匀,粉末少	2.34
1:0.48	稍有粘连,成型性较好	37.2	颗粒均匀,粉末少	1.96
1:0.50	有粘连,有长条状	37.2	颗粒不均匀,硬度较硬	2.27

制得的颗粒均匀,休止角小于 40° ,流动性较好,相对湿度为50%时吸湿率最低,故本试验中选用原料与乙醇的比例为 $1:0.48(m/V)$ 。

2.2.6 颗粒干燥温度

干燥温度也是影响颗粒成型质量的关键因素。取3份用上述方法制得的等量颗粒(30 g),分别置40,60,80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥箱干燥1 h,以颗粒状态、颗粒含水量为指标确定最适干燥温度,水分含量要求符合2015年版《中国药典(四部)》通则0103“胶囊剂”项下规定^[12]。结果干燥温度为60 $^{\circ}\text{C}$ 时,颗粒无黏连,含水量为5.64%。

2.2.7 颗粒临界相对湿度(CRH)^[13]

分别取若干份同等质量的供试品和颗粒,干燥至恒重后转入恒重称量瓶内,平铺于底部,分别放入恒温25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度分别为40%,50%,60%,70%,80%,90%的药物试验稳定箱中,12 h后取出,精密称定,计算吸湿百分率,以相对湿度为横坐标、颗粒吸湿百分率为纵坐标,作不同湿度条件下颗粒吸湿率的曲线图,用切线法求得CRH。结果见图2。在相同条件下,颗粒的吸湿率总是低于粉末的吸湿率,供试品与填充剂混合制成颗粒后吸湿性降低。由颗粒两端点的切线方程求得颗粒CRH为63.83%。因此在实际生产过程中,车间环境相对湿度应控制在该值以下。

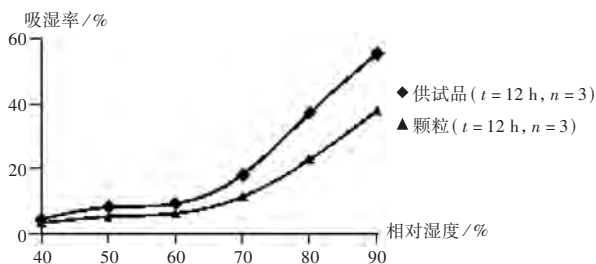


图2 浸膏粉末与颗粒的吸湿性对比

2.2.8 颗粒堆密度测定

采用量筒法^[14]。将制得的干燥颗粒缓慢加入干燥至恒重的10 mL量筒中,颗粒加至约9.6 mL,记录体积并称定总质量,精密称定,计算颗粒堆密度,平行操作6次。结果颗粒的堆密度为0.440 g/mL。

2.2.9 空胶囊的规格选择^[15]

民间验方的干膏用量应为每天1.2 g,结合颗粒的堆密度和填充剂的比例,按公式胶囊壳的可装量=颗粒的堆密度 $\times$ 胶囊壳的容积计算,本试验确定胶囊每粒装0.33 g,每天3次,每次6粒,故本试验中选用0号胶囊壳。

3 讨论

中药材多需经过炮制,且药材本身密度大,炮制后缝隙多,易吸水,为提高加液量的准确性,需确定药材本身的吸水率,故进行吸水性试验^[16]。由本试验结果可知,该处方自身的吸水率为处方量的3倍,故首次提取

需加13倍量水。

藿夏提取物多为糖类和黄酮类,黏性大,流动性不佳,制粒困难,故需加入适当的辅料使其容易制粒。通过对休止角、吸湿性和颗粒成型性的考察发现,磷酸钙可提高供试品吸湿性,因此选择磷酸钙作为辅料。与淀粉等辅料不同的是,磷酸钙作为脆性物料,其吸湿后可以形成结晶水,不会在很大程度上影响主药的形态,不仅利于主药的长期保存,同时也能使主药具有良好的成型性。

CRH可用于设定生产和贮存时的湿度范围,从而限制环境中水分对固体制剂的影响。经测定,颗粒的CRH为63.83%,因此,胶囊成型的环境相对湿度应控制在该值以下,防止颗粒吸湿而潮解导致药物降解变质,从而影响药物的疗效并减少不良反应。

综上所述,该工艺合理可行,所制得颗粒成型较好。

参考文献:

- [1] 朱燕辉,黄丽霞,石崇军. 淫羊藿苷对肝癌细胞株SMMC-7721增殖与凋亡的影响[J]. 中国普通外科杂志,2012,21(8):968-972.
- [2] 柏玉冰,李春,周亚敏,等. 夏枯草的化学成分及其三萜成分的抗肿瘤活性研究[J]. 中草药,2015,46(24):3623-3629.
- [3] 龙庚,陈亮,赵威,等. 淫羊藿苷的提取工艺研究进展[J]. 江苏调味副食品,2016,38(3):17-19.
- [4] 吴月国,张萍,孙洁胤,等. 补肾益精颗粒提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(10):2506-2507.
- [5] 彭红英,江涛,杨滨宾,等. 正交试验优化益骨颗粒的提取工艺[J]. 中国药房,2017,28(19):2684-2687.
- [6] 马建丽,李翔,段斯庭,等. 正交试验优化洋葱多糖提取工艺研究[J]. 中国药业,2018,27(22):5-7.
- [7] 张志超,王敏,曹青云,等. 正交试验优选参葛抗衰复方的提取工艺研究[J]. 中国药业,2017,26(7):5-8.
- [8] 章波,冯怡,徐德生,等. 粉体流动性的研究及其在中药制剂中的应用[J]. 中成药,2008,30(6):904-907.
- [9] 罗世江. 不同辅料对中药全浸膏制剂防潮效果探讨[J]. 中国医药导刊,2013,15(6):1087-1088.
- [10] 刘涛,戴德雄,林海波. 穿心莲软胶囊的生产工艺及其质量控制研究[J]. 中草药,2014,45(12):1722-1725.
- [11] 岳国超,严霞,赵映波,等. 湿法制粒工艺参数对颗粒成型性的影响[J]. 中南药学,2015,13(6):587-590.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:6-7.
- [13] 闫舒,仰榴青,赵婷,等. 五味子多糖胶囊的制备工艺研究[J]. 中成药,2010,32(9):1617-1619.
- [14] 蔡铮,林亚明. 小中风胶囊制剂工艺研究[J]. 时珍国医国药,2003,14(6):343-344.
- [15] 刘世军,高森,唐志书,等. 大枣多糖胶囊成型工艺研究[J]. 中南药学,2016,14(5):497-500.
- [16] 戴丽莉,葛朝伦,孙奇,等. 中药汤剂煎药机加液量数学模型的初步研究[J]. 中国药房,2016,27(1):18-22.

(收稿日期:2018-11-01)