

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.11.012

槐花颗粒配制工艺研究*

辛晓芳,梁志银,曾聪彦

(广州中医药大学附属中山中医院,广东 中山 528401)

摘要:目的 优选槐花颗粒的水提工艺和成型工艺。方法 以提取次数、提取时间、浸泡时间、加水量为考察因素,以干浸膏得率和芦丁含量为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化水提工艺,采用单因素分析对成型工艺中辅料、药物与辅料比例、干燥温度、润湿剂比例进行优化。结果 优选出的槐花颗粒最佳提取条件为,加10倍量水,浸泡20 min,提取3次,每次提取1.5 h;最佳成型工艺为,辅料选择糊精,药物与辅料比例1:1(m/m),干燥温度60℃,润湿剂选择95%乙醇。经验证试验证实,干浸膏得率和芦丁含量的RSD分别为0.79%及1.47%(n=3)。结论 优选的工艺参数稳定,方法合理、可行,所制备的产品质量稳定。

关键词:槐花颗粒;芦丁;提取工艺;成型工艺,优化;正交试验

中图分类号:R932;R283;TQ460.6

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)11-0043-04

Optimization of Preparation Process of Huaihua Granules

XIN Xiaofang, LIANG Zhiyin, ZENG Congyan

(Zhongshan TCM Hospital Affiliated to Guangzhou University of TCM, Zhongshan, Guangdong, China 528401)

Abstract: Objective To optimize the water extraction and forming process of Huaihua Granules. **Methods** $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to screen the water extraction process with the extraction times, extraction time, soaking time and water addition as the investigation factors, and with the dry extract yield and rutin content as the inspection indexes. The excipient, drugs-excipient ratio, drying temperature and lubricant proportion were optimized by the single-factor analysis. **Results** The optimal extraction conditions of Huaihua Granules were as follows: adding 10 times of water, soaking for 20 min, extracting for three times, 1.5 h each time. The best parameters of the forming process were as follows: dextrin was taking as the excipient, drug-excipient ratio was 1:1(m/m), drying temperature was 60℃, lubricant proportion was 95% ethanol. The RSDs of dry extract yield and rutin content were 0.79% and 1.47%(n=3), respectively. **Conclusion** The optimized process parameters are stable, the method is reasonable and feasible, and the quality of the products is stable.

Key words: Huaihua Granules; rutin; extraction process; forming process; optimization; orthogonal test

槐花颗粒为我院院内制剂,有凉血止血功效,用于便血、痔血、血痢、崩漏、吐血、肝热目赤、头痛、眩晕等症,由槐花、野菊花等中药材组方,方中君药槐花含有丰富的化学成分,具有抗氧化、抗菌、舒张血管、止血等作

用^[1-4],其主要药效成分包括黄酮、植物甾类、挥发油、鞣质^[5-9]等。芦丁为槐花的主要成分,故选取芦丁为考察指标^[10-12],对其提取工艺进行优选,并采用单因素分析法^[13-15]对其成型工艺进行优化。现报道如下。

*基金项目:广东省中山市卫生健康局医学科研项目[2020J127]。

第一作者:辛晓芳,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)sunnielovely@sina.com。

- [10] 李恒杰,毛慧,蔡文伟,等. 心脏骤停大鼠自主循环恢复后心肌损伤的特点[J]. 中华急诊医学杂志,2019,28(1):25-29.
- [11] SUN LC, JI SQ, XING JH. Inhibition of microRNA-155 Alleviates Neurological Dysfunction Following Transient Global Ischemia and Contribution of Neuroinflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus[J]. Curr Pharm Des, 2019, 25(40):4310-4317.
- [12] KIM YS, CHO JH, SHIN MC, et al. Effects of regional body temperature variation during asphyxial cardiac arrest on mortality and brain damage in a rat model[J]. J Therm Biol, 2020, 87: 102466.
- [13] HAWKES N. Adrenaline after cardiac arrest doubles risk of serious brain damage, finds trial[J]. BMJ, 2018, 362:k3145.
- [14] WELBOURN C, EFSTATHIOU N. How does the length of cardiopulmonary resuscitation affect brain damage in patients sur-

viving cardiac arrest? A systematic review[J]. Scand J Trauma Resusc Emerg Med, 2018, 26(1):77.

- [15] LI HB, ZHU L, FENG JW, et al. Hydrogen Sulfide Decreases Blood-Brain Barrier Damage via Regulating Protein Kinase C and Tight Junction After Cardiac Arrest in Rats[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(3):994-1006.
- [16] ZHANG WL, NEAL J, LIN L, et al. Mannitol in Critical Care and Surgery Over 50+ Years: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials and Complications With Meta-Analysis[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2019, 31(3):273-284.
- [17] SEO H, KIM E, JUNG H, et al. A prospective randomized trial of the optimal dose of mannitol for intraoperative brain relaxation in patients undergoing craniotomy for supratentorial brain tumor resection[J]. J Neurosurg, 2017, 126(6):1839-1846.

(收稿日期:2020-09-07)

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(安捷伦科技 < 中国 > 有限公司); BS224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司, 精度为 0.1 mg); CH1006 型电热恒温槽(上海衡平仪表厂); CRLB-1500S 型电炉(肇庆金雅乐电器有限公司)。

1.2 试药

芦丁对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 100080-201610, 含量为 91.9%); 所用中药材均由广州医科大学附属中山中医院制剂室提供; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺优化

正交试验设计: 水提工艺选取提取次数(因素 A)、提取时间(因素 B)、浸泡时间(因素 C)、加水量(因素 D)为考察因素, 每个因素设计 3 个水平, 按 $L_9(3^4)$ 正交试验表^[3]进行试验, 以干浸膏得率和芦丁含量为考察指标。因素水平见表 1。

表 1 水提工艺正交试验因素水平表

Tab 1 Factors and levels of the orthogonal test for water extraction process

水平	因素 A(次)	因素 B(h)	因素 C(h)	因素 D(倍)
1	1	0.5	10	8
2	2	1.0	20	10
3	3	1.5	30	12

试验方法与结果: 按处方比例称取药材, 共 9 份, 按表 2 进行试验, 测定干浸膏得率和芦丁含量, 对结果进行综合评分作为工艺优化评价指标。采用 SPSS 20.0 统计学软件对评分结果进行数据处理, 由直观分析和方差分析判断各因素对提取效果的影响程度, 筛选出在该试验条件下的优化提取参数。结果见表 3。

结果分析: 由直观分析可知, 影响提取效果的因素顺序为提取时间 > 提取次数 > 浸泡时间 > 加水量, 最佳工艺组合为 $A_3B_3C_2D_2$ 。由方差分析结果可知, 提取次数(因素 A)和提取时间(因素 B)对提取效果影响显著, 浸泡时间(因素 C)和加水量(因素 D)对提取效果影响不显著, 且 $A_3B_3C_2D_2$ 方案也符合制剂实际大规模生产, 故最终优选的提取工艺为 $A_3B_3C_2D_2$, 即加 10 倍量水, 浸泡 20 min, 提取 3 次, 每次提取 1.5 h。

验证试验: 为确定该工艺的优劣和稳定性, 根据筛选最佳条件, 进行 3 次提取验证试验, 结果干浸膏得率及芦丁含量的 RSD 分别为 0.79% 和 1.47% ($n=3$)。详见表 4。可见, 验证试验干浸膏得率和芦丁含量均较高, 重复性好。

2.2 干浸膏得率测定

精密吸取各样品浓缩液 10 mL, 置已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 照 2015 年版《中国药典(一部)》附录 IX G

表 2 水提工艺条件 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test for water extraction process

试验号	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	干浸膏得率(%)	芦丁含量($\mu\text{g/mL}$)	综合评分(分)
1	1	1	1	1	11.235 2	30.284 8	24.569 9
2	1	2	2	2	13.609 2	67.167 9	51.100 3
3	1	3	3	3	18.630 2	146.932 7	108.442 0
4	2	1	2	3	26.134 0	145.976 8	110.024 0
5	2	2	3	1	18.884 4	87.223 5	66.721 8
6	2	3	1	2	27.208 5	158.929 6	119.413 3
7	3	1	3	2	25.283 5	177.623 3	131.921 4
8	3	2	1	3	26.676 8	81.552 6	65.089 9
9	3	3	2	1	25.742 2	237.627 8	174.062 1
$\bar{K}_1$	61.371	88.838	69.691	88.451			
$\bar{K}_2$	98.720	60.971	111.729	100.812			
$\bar{K}_3$	123.691	133.972	102.362	94.519			
R	62.320	73.001	42.038	12.361			

注: 综合评分 = 干浸膏得率 $\times$ 30% + 芦丁含量 $\times$ 70%。

Note: Comprehensive score = dry extract yield $\times$ 30% + rutin content $\times$ 70%。

表 3 综合评分方差分析结果

Tab. 3 ANOVA results of comprehensive scores

因素	离差平方和	自由度	F 值	P
A	5 902.348	2	25.753	< 0.05
B	8 142.958	2	35.529	< 0.05
C	2 922.290	2	12.750	
D(误差)	229.194	2	1.000	

注: F 临界值为 19.000。

Note: The critical value of F is 19.000.

表 4 优选工艺验证试验结果 ($n=3$)

Tab. 4 Results of verification test of optimized process ($n=3$)

项目	1	2	3	$\bar{X}$
干浸膏得率(%)	29.549 8	29.631 2	29.990 5	29.723 8
芦丁含量($\mu\text{g/mL}$)	255.419 3	258.228 7	250.793 8	254.813 9

干燥失重测定法^[2]测定, 按公式计算干浸膏得率。

$$\text{干浸膏得率}(\%) = (W_2 - W_1) / W_1 \times n \times 100\%$$

式中, W_2 为蒸发皿与干浸膏质量, W_1 为蒸发皿质量, W_1 为药材重量, n 为稀释倍数。

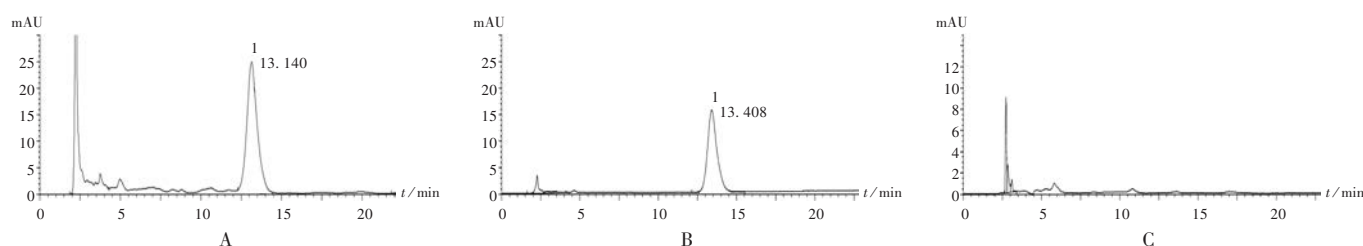
2.3 芦丁含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Agilent Zorbax EclipseXDB-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-1% 冰醋酸溶液(40:60, V/V); 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 257 nm; 进样量: 10 μL 。按拟订色谱条件进样测定, 结果芦丁对照品溶液和供试品溶液的分离度均大于 1.5, 对称因子均小于 1.05, 理论板数为 4 000 ~ 5 000。

2.3.2 溶液制备

样品制备: 按处方比例称取药材, 加水煎煮, 第 1 次



1. 芦丁

A. 供试品溶液 B. 对照品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. rutin

A. Test solution B. Reference solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

2 h, 第2次1.5 h, 滤过, 合并滤液并浓缩成清膏, 加蔗糖及辅料适量, 制成颗粒, 低温干燥成1000 g, 即得。

对照品溶液: 取芦丁对照品20 mg, 精密称定, 置250 mL容量瓶中, 加甲醇制成1 mL含80 μg的对照品溶液。

供试品溶液: 按处方比例称取药材, 并按正交试验因素水平表分别提取溶液, 即得。

阴性对照品溶液: 按处方比例称取除槐花以外的药材, 按优化后的最佳条件提取溶液, 即得。

2.3.3 方法学考察

专属性试验: 取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各适量, 按2.3.1项下色谱条件分别进样分析, 每次10 μL。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应保留时间处有色谱峰, 与其他组分基线分离良好, 且分离度大于1.5, 阴性对照无干扰, 表明供试品溶液的其他成分对测定结果无影响, 方法专属性强。色谱图见图1。

线性关系考察: 取芦丁对照品适量, 分别制备质量浓度为40, 80, 120, 160, 200, 240 μg/mL的系列对照品溶液, 并于257 nm波长处测定吸光度, 以峰面积(Y)为纵坐标、对照品质量浓度(X, μg/mL)为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 7.4460X + 18.5638$, $R^2 = 0.9997$ ($n = 6$)。结果表明, 芦丁质量浓度在40~240 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

检测限和定量限确定: 将信噪比(S/N)3时的质量浓度确定为检测限(LOD), S/N为10时的质量浓度确定为定量限(LOQ)。取芦丁对照品适量, 用甲醇配制成对照品贮备液, 取10 μL进样分析, 结果定量限为8 μg/mL, 检测限为2.67 μg/mL。

精密度试验: 取芦丁对照品溶液(质量浓度为80 μg/mL)6份, 分别进样。结果平均峰面积为935.7530, RSD为0.66% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取同一批样品6份, 依法制备供试品

溶液并进样测定。结果平均峰面积为719.7272, RSD为0.52% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 取同一批样品, 依法制备供试品溶液, 分别于0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h时进样测定。结果平均峰面积为846.2532, RSD为1.20% ($n = 7$), 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

加样回收试验: 取已知芦丁含量的样品(质量浓度为80.2075 μg/mL)1 mL, 共9份, 分别置5 mL容量瓶中, 并分别精密加入芦丁对照品溶液(质量浓度为80 μg/mL)0.5, 1.0, 1.5 mL, 平行3份, 分别吸取10 μL, 进样测定, 计算回收率。结果见表5。

表5 芦丁加样回收试验结果($n = 9$)

Tab. 5 Results of the recovery test of rutin ($n = 9$)

试验号	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
1	80.2075	40	121.2150	102.52		
2	80.2075	40	121.1172	102.27		
3	80.2075	40	120.0011	99.48		
4	80.2075	80	161.2306	101.28		
5	80.2075	80	160.8066	100.75	101.19	1.07
6	80.2075	80	161.9235	102.14		
7	80.2075	120	201.3464	100.95		
8	80.2075	120	199.8719	99.72		
9	80.2075	120	202.1321	101.60		

2.4 成型工艺研究

清膏提取: 按提取工艺优化最佳方案提取浸膏, 滤过, 合并滤液, 浓缩成清膏, 相对密度为1.08~1.12(60℃)。

评价指标: 参考文献[16], 选择成型率、成型性、溶化性、吸湿率为评价指标。计算公式如下。

成型率 = (过筛后能通过1号筛而不能通过5号筛的颗粒总质量 / 过筛前颗粒质量) × 100%

吸湿率 = (吸湿后质量 - 吸湿前质量) / 吸湿前质量 × 100%

辅料选择: 筛选辅料为麦芽糊精、可溶性淀粉、糊

精,辅料与清膏的比例为2:1(m/m),进行试验。结果选取糊精为辅料时颗粒可全部溶化,故选择辅料为糊精。清膏与辅料的关系见表6。

表6 清膏与辅料的关系

Tab. 6 Relationship between cream and excipients

辅料种类	成型性	溶化性
麦芽糊精	稍黏,易黏筛,颗粒不均匀	轻微浑浊
糊精	不黏,不黏筛,颗粒均匀	全部溶化
可溶性淀粉	不黏,易黏筛,颗粒不均匀	轻微浑浊

注:清膏与辅料的比例为2:1(m/m)。

Note: The cream - excipient ratio is 2:1(m/m).

药物与辅料比例选择:按清膏与糊精比例(1:1,1:2,2:1)分别进行制粒,考察其成型率、吸湿率、溶化性。结果清膏与糊精比例为1:1时,颗粒可全部溶化,故比例选择1:1。详见表7。

表7 药物与辅料比例的选择

Tab. 7 Selection of drug - excipient ratio

糊精:清膏(m/m)	成型率(%)	24 h 吸湿率(%)	溶化性
1:1	97.51	7.31	全部溶化
2:1	90.81	7.20	轻微浑浊
1:2	88.45	8.11	全部溶化

颗粒干燥温度:选取不同温度,分别低温干燥8 h,考察其干燥情况和水分,结果当干燥温度为60℃时,颗粒均匀,无结块,故选择干燥温度为60℃。详见表8。

表8 干燥温度选择

Tab. 8 Selection of drying temperature

干燥温度(℃)	水分(%)	干燥情况
50	6.93	颗粒稍黏,水分较高
60	2.21	颗粒均匀,无结块,水分合格
70	2.18	颗粒稍结块,水分合格

润湿剂比例:考察不同浓度的乙醇对颗粒的影响,结果当乙醇浓度为95%时,颗粒易过筛,故选择95%乙醇为最佳润湿剂比例。详见表9。

表9 润湿剂比例选择

Tab. 9 Selection of lubricant proportion

乙醇体积分数(%)	成型率(%)	吸湿率(%)	溶化性	颗粒情况
75	62.83	10.81	全部溶化	难过筛,颗粒结块,较硬
85	80.35	10.34	全部溶化	难过筛,颗粒结块,稍硬
95	95.92	10.03	全部溶化	易过筛,颗粒均匀

验证试验:按上述优化后的最佳工艺,制得3批样品,测得其成型率分别为97.33%,97.54%,97.81%,平均值为97.56%;吸湿率分别为7.28%,7.36%,7.45%,平均值为7.36%。结果表明,3批样品颗粒溶化性和成型性均良好。

3 讨论

槐花颗粒为我院协定处方,由槐花、野菊花等组方,用于治疗便血、痔血等疗效较好。试验前期,参考大量文献,对芦丁进行了全波段扫描,选择最佳检测波长为257 nm,芦丁峰形、峰面积均较理想;选择反相流动相甲醇,经前期试验考察,甲醇对目标峰并无影响,灵敏度高,且性价比较乙腈高,甲醇-0.1冰醋酸溶液(40:60, V/V)下的目标峰分离度大于1.5。本方法优选出的制备工艺可保证制剂的质量和功效,适合现代化大规模生产。

参考文献

- [1] 贾俊俊,苗明三. 槐花的化学、药理及临床应用[J]. 中医学报, 2014,29(5):716-717.
- [2] 刘琳,程伟. 槐花化学成分及现代药理研究新进展[J]. 中医药信息,2019,36(4):125-128.
- [3] 王笑,王雨,张冰. 槐不同药用部位本草学、化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药,2018,49(18):4461-4467.
- [4] 胡玉霞,余世春,王圣男,等. 凉血止血中药的研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2014,28(2):66-69.
- [5] 周朋,石美丽,周倩,等. HPLC法测定针叶樱桃提取物中芦丁的含量[J]. 贵阳学院学报(自然科学版),2018,13(4):60-61.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:370.
- [7] 方开泰,马长兴. 正交与均匀实验设计[M]. 北京:科学出版社,2001:144-230.
- [8] 刘琳,程伟. 槐花化学成分及现代药理研究新进展[J]. 中医药信息,2019,36(4):125-128.
- [9] 李铁纯,侯冬岩,刁全平,等. 干、鲜槐花挥发性成分的对比分析[J]. 鞍山师范学院学报,2017,19(2):32-35.
- [10] 张依,周泽纯,全锦秋,等. 槐米中芦丁的提取工艺优化及检识[J]. 中国医药科学,2020,10(3):38-41.
- [11] 于艳华,石美玲,陈海怡,等. 不同产地、部位的虎眼万年青中芦丁含量测定与分析[J]. 长春师范大学学报,2020,39(10):75-78.
- [12] 陈锋,孟庆海,赖新华,等. 高效液相色谱法测定痔复康颗粒中芦丁的含量[J]. 海峡药学,2020,32(9):55-57.
- [13] 孙嫣,业康,毛培江,等. 乌药叶中总黄酮的含量测定及提取工艺优选[J]. 浙江中医杂志,2020,55(10):774-775.
- [14] 贾颖,赵婧,冯前进,等. 黄芪复方总黄酮的提取工艺优化及其抗氧化、抑菌活性研究[J]. 中华中医药杂志, 2020,35(8):3858-3863.
- [15] 王晓静,路娟,彭纪铭,等. 密蒙花中4个化合物含量的多波长高效液相色谱法测定[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2329-2331.
- [16] 齐芳芳,颜美秋,鲁文杰. 复方野菊花降压颗粒提取工艺及制剂工艺研究[J]. 浙江中医药大学学报,2017,41(4):327-328.

(收稿日期:2020-09-30)