

甲壳素用于提高杞菊地黄口服液澄清度的研究

★ 许锦珍 廖群 (江中药业股份有限公司技术中心 南昌 330096)

摘要:目的:考察甲壳素吸附澄清剂和乙醇醇沉工艺对杞菊地黄口服液中芍药苷的含量和澄清度的影响。方法:采用甲壳素和乙醇醇沉工艺制备杞菊地黄口服液,利用高效液相色谱法分析其中芍药苷的含量、薄层色谱法对丹皮酚和菊花进行定性鉴别,并对澄清度进行比较。结果:甲壳素澄清剂处理制得的成品中芍药苷含量相对醇沉工艺明显下降,澄清度也较差。结论:甲壳素作为天然絮凝澄清剂不适用于杞菊地黄口服液的澄清处理,不能代替原醇沉工艺。

关键词:甲壳素;杞菊地黄口服液;澄清度

中图分类号:TQ 460.6 **文献标识码:**A

杞菊地黄口服液,原生产工艺采用水煎醇沉除杂需耗大量的乙醇,工艺流程长,成本高,且储存后易产生沉淀,目前大多厂家采用选择改变醇沉浓度、药液 pH 值、冷藏温度与时间等方法来改善沉淀问题^[1~3],但均不能从根本上很好的解决这一问题,大量文献报道表明甲壳素用于各种中药口服液的澄清的效果优于醇沉除杂工艺,对有效成分影响小^[4~7],且不影响芍药苷的含量^[8]。为了明确甲壳素对杞菊地黄口服液的澄清效果,本实验致力于探讨了甲壳素用于杞菊地黄口服液澄清的可行性。

1 仪器与试剂

数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)、KDM 型调温电热套(山东鄞城化鲁仪器)、AB204-N 精密电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)、METTLER AE240 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)、ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾村光电仪器厂)、TD25-WS 多架自动平衡离心机(长沙湘仪离心机有限公司)、高效液相色谱仪(WATERS 600E 泵、WATERS 486 检测器、大连依利特工作站)。

甲壳素由金湖甲壳制品有限公司提供,丹皮酚对照品、菊花对照药材、芍药苷对照品均由中国药品生物制品检定所提供,药材均为经鉴定符合《中国药典》2005 年版各品种项下标准。除乙腈、甲醇为色谱纯外,其余试剂均为分析纯。

2 实验方法和结果

2.1 处方

枸杞子 33 g,菊花 33 g,熟地 130 g,山茱萸(制)65 g,牡丹皮 50 g,山药 65 g,茯苓 50 g,泽泻 50 g。

2.2 原工艺制法

以上 8 味,菊花、牡丹皮加药材 20 倍量水水蒸气蒸馏 4 小时,蒸馏液再进行重蒸馏,收集蒸馏液适量,药渣加 10 倍药材加水量煎煮 1.5 小时,滤过,药液备用。枸杞子、熟地黄、山茱萸、山药、泽泻加药材 8 倍量水煎煮两次,第 1 次 2 小时,第 2 次 1.5 小时,合并煎液,滤过,滤液与菊花、牡丹皮水煎液合并,浓缩至约 880 mL,放冷,加乙醇使含醇量达到

70%,搅匀,静置 48 小时,滤过,回收乙醇得浓缩液。茯苓加 20 倍量水煎煮 2 次,第 1 次 2 小时,第 2 次 1.5 小时,合并煎液,滤过,滤液浓缩至适量得茯苓液。将蒸馏液与上述各药液合并,加单糖浆 250 mL,苯甲酸钠 2.5 g,加水至 1 000 mL,搅匀,滤过,灌封,即得。

2.3 本实验的供试样品的制法(制备 4 个处方量)

2.3.1 蒸馏液 A 的制备 按原工艺收集蒸馏液 A 1 160 mL,备用,煎煮液过滤,滤液另器储存备用,为滤液①。

2.3.2 茯苓液 B 的制备 按原工艺煎煮茯苓,浓缩煎煮液,得茯苓浓缩液 B 272 mL,备用。

2.3.3 群药煎煮浓缩液 C 的制备 称取枸杞子、熟地、山茱萸、山药、泽泻等 5 味药材加 8 倍量水煎煮 2 次,第 1 次 2 小时,第 2 次 1.5 小时,合并煎煮液,过滤,滤液与滤液①合并,浓缩,得浓缩液 C,将浓缩液 C 均分为 4 份,各份按如下方法操作:

(1)一份浓缩至相对密度约为 1.15,醇沉,加乙醇使含醇量为 70%,静置 48 小时,滤过,取上清液回收乙醇至无醇味,离心,得浓缩液 C₁。

(2)一份按工艺要求浓缩至约 440 mL,醇沉,加乙醇使含醇量为 70%,静置 48 小时,滤过,取上清液回收乙醇至无醇味,离心,得浓缩液 C₂。

(3)一份添加甲壳素溶液(1%)使含甲壳素的量为 0.2%,静置,沉降 24 小时,离心取上清液,浓缩至约成品量的四分之一,离心,得浓缩液 C₃。

(4)一份添加甲壳素溶液(1%)使含甲壳素的量为 0.3% 静置,沉降 24 小时,离心取上清液,浓缩至约成品量的四分之一,离心,得浓缩液 C₄。

2.3.4 成品的配制 以上制得的蒸馏液 A 及浓缩液 B 都均分为 8 份,与各法制得的浓缩液 C 混合,其中样 2、4、5、7 再添加适量的甲壳素,见表 1。

3 成品质量的考察

3.1 定性鉴别

3.1.1 丹皮酚的 TLC 鉴别 取表 1 配制的 8 个样品各 20 mL, 加乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并, 低温蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为供试品, 另取丹皮酚对照品加甲醇制成每 1 mL 含丹皮酚 0.1 mg 的溶液作为对照品溶液, 吸取上述溶液各 10 μ L 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(3:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液, 观察供试品色谱中, 在与对照品色谱相对应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且各样品的斑点无明显差异。

表 1 成品的配置处方

样品编号	蒸馏液 A/mL	茯苓液 B/mL	浓缩液 C/mL	浓缩液加甲 壳素情况
1	145	34	1/2C ₁ (醇沉)	未加
2	145	34	1/2C ₁ (醇沉)	0.2%
3	145	34	1/2C ₂ (醇沉)	未加
4	145	34	1/2C ₂ (醇沉)	0.2%
5	145	34	1/2C ₃ (加甲壳素)	0.2%
6	145	34	1/2C ₃ (加甲壳素)	未加
7	145	34	1/2C ₄ (加甲壳素)	0.2%
8	145	34	1/2C ₄ (加甲壳素)	未加

注: 以上配制的各样品均加单糖浆 125 mL、苯甲酸钠 1.25 g, 加蒸馏水适量使至 500 mL, 离心(转速 4 000 r/min, 25 分钟), 取上清液得成品。

3.1.2 菊花的 TLC 鉴别 取表 1 配制的 8 个样品各 20 mL, 上聚酰胺柱(3 g, 30~60 目, 1 cm)依次用水、10% 乙醇、30% 乙醇各 50 mL 洗脱, 收集乙醇洗脱液, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为供试品, 另取菊花对照药材 1g, 加乙醇回流提取 1 小时, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 溶解, 同供试品的方法制备, 得对照品溶液, 吸取上述溶液各 10 μ L 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(5:5:2:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液, 观察供试品色谱中, 在与对照品色谱相对应的位置上显相同颜色的斑点, 且各样品的斑点无明显差异。

3.2 含量测定

3.2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ODS C₁₈ 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)。

流动相: 乙腈-水(12:88); 检测波长: 230 nm; 柱温: 28℃; 流速: 1 mL/min。

3.2.2 对照品溶液的配制 取芍药苷对照品适量配成每毫升含芍药苷 19.7 μ g 的溶液, 作为对照品溶液。

3.2.3 供试品溶液的配制 取以上表 1 配制的 8 个样品各 5 mL, 加水 5 mL 稀释, 加水饱和的正丁醇萃取 4 次, 每次 10 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为供试品溶液, 分别吸取上述样品和对照品各 5 μ L 注入液相色谱仪进行检测, 所得结果见表 2。结果表明, 添加澄清剂甲壳素后对芍药苷的含量影响很大。

3.3 澄清度观察

将以上表 1 制得的样品静置于常温下观察, 结果见表 2, 样 5~8 为用甲壳素处理的样品常温放置 5 天即出现明显沉

淀, 而样 1~4 为醇沉处理的样品常温放置 20 天后仍未见有明显沉淀, 且透明度明显高于样 5~8, 说明甲壳素对杞菊地黄口服液澄清效果不如醇沉工艺。

表 2 成品芍药苷含量测定和澄清度观察结果

样品 编号	芍药苷含量 /mg·L ⁻¹ ($\bar{x} \pm s$)	澄清度的观察		浓缩液 制备方法	浓缩液加 甲壳素情况
		静置 5 天	静置 20 天		
1	72.2 $\pm$ 0.427	—	—	醇沉	未加
2	67.5 $\pm$ 0.611	—	—	醇沉	0.2%
3	70.9 $\pm$ 0.218	—	—	醇沉	未加
4	58.6 $\pm$ 1.66	—	—	醇沉	0.2%
5	62.7 $\pm$ 2.35	+	++	加甲壳素	0.2%
6	68.5 $\pm$ 0.153	+	++	加甲壳素	未加
7	59 $\pm$ 2.17	+	++	加甲壳素	0.2%
8	61.4 $\pm$ 0.551	+	++	加甲壳素	未加

注: + 为产生沉淀, - 为未见沉淀产生。

4 讨论

本实验探讨了甲壳素用于杞菊地黄口服液澄清的可行性, 由表 1 和表 2 可以看出, 样品 1~4 中的浓缩液 C 由醇沉工艺制得, 在成品配制的过程中样品 2、4 添加了甲壳素, 测得的芍药苷的含量明显低于未加甲壳素的样品 1、3, 样品 5~8 中的浓缩液 C 由甲壳素处理制得, 样品 5、6 添加甲壳素的量为 0.2%, 而样 7、8 添加甲壳素的量为 0.3%, 在成品配制时样 5 和样 7 添加了 0.2% 的甲壳素, 样 6 和样 8 未再添加, 由芍药苷的测定结果可以看出, 甲壳素添加的量越大, 芍药苷的含量越低, 而不同的醇沉参数对芍药苷的含量没有明显影响, 对澄清度也没有显著的影响。

由以上实验证明, 各种文献报道应用广泛的对芍药苷含量基本无影响的吸附澄清剂甲壳素对杞菊地黄口服液中的芍药苷的含量影响很大, 使芍药苷的含量大大降低, 同时澄清度也大大降低, 不适用于杞菊地黄口服液的澄清, 不能替代醇沉工艺, 这可能是与不同的处方成分之间的相互影响有关, 具体原因有待进一步的研究。

甲壳素用于口服液的澄清要根据具体的品种进行相关的研究, 不可盲目应用。

参考文献

- [1] 冯芳等. 用正交法优选杞菊地黄口服液工艺[J]. 中国中药杂志, 1991, 17(5): 282
- [2] 李海燕. 正交设计探讨杞菊地黄口服液制备工艺[J]. 中成药, 1992, 14(2): 5
- [3] 吕长江. 杞菊地黄口服液澄清因素的探讨[J]. 浙江中西医结合杂志, 2001, (11): 8
- [4] 罗兴洪, 周进东. 甲壳素用于咳嗽宁口服液澄清工艺的研究[J]. 中成药, 2002, 5(24): 5
- [5] 陈昕. 甲壳素作为中药水提取液中絮凝澄清剂的研究[J]. 中医药研究, 2002, (18): 6
- [6] 杨忠英. 壳聚糖用于何首乌水提液澄清效果的研究[J]. 中国医学理论与实践(临床药理学与药理学), 2003, 7(2003): 7
- [7] 周庆芬, 林军, 刘冬生. 壳聚糖澄清吸附作用的研究进展[J]. 综述报告, 2003, 12(12): 5
- [8] 祝连彩, 王伯初. 甲壳素在中药药液澄清中的应用[J]. 重庆大学学报, 2003, 12(26): 12

(收稿日期: 2006-10-10)