

肝宝胶囊浸膏微波真空干燥工艺的优化

范 兴¹, 杨成梓², 吴淑英², 黄德福^{1*}

(1. 福建医科大学孟超肝胆医院, 福建 福州 350025; 2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

摘要: 目的 优化肝宝胶囊浸膏微波真空干燥工艺。方法 在单因素试验基础上, 以浸膏相对密度、微波功率、干燥时间为影响因素, 芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有量及含水量为评价指标, 正交试验优化微波真空干燥工艺。结果 最佳条件为浸膏相对密度 1.15 g/mL, 微波功率 8 kW, 干燥时间 60 min, 3 种成分含有量分别为 2.168、10.931、1.850 mg/g, 含水量为 2.95%。结论 该方法稳定可行, 可用于微波真空干燥肝宝胶囊浸膏。

关键词: 肝宝胶囊浸膏; 微波真空干燥; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2018)04-0840-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.04.014

Optimization of microwave vacuum drying technique for Ganbao Capsules extract

FAN Xing¹, YANG Cheng-zi², WU Shu-ying², HUANG De-fu^{1*}

(1. Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China; 2. Collage of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

KEY WORDS: Ganbao Capsules extract; microwave vacuum drying; orthogonal test

肝宝胶囊为福建医科大学孟超肝胆医院院内制剂, 由青果、虎杖、谷芽、麦芽、莱菔子 5 味中药组成, 适用于非酒精性脂肪肝及急、慢性肝炎之肝热积滞证^[1-2], 其疗效突出, 服用安全。但由于浸膏量大、黏性强, 需与辅料多次混合烘干后粉碎制粒, 而且干燥时间长, 导致整个生产周期长、效率低, 随着用量增加已无法满足临床基本需求, 因此高效干燥对其制备有重大意义。

微波真空干燥是微波加热和真空干燥相结合的复合干燥方式, 具有干燥温度低、时间短、不影响产品质量、干燥产品膨胀松脆、易于粉碎、收率高等优点^[3-4], 已广泛应用于中医药领域^[5-7]。因此, 本实验采用正交试验, 选择芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有量及含水量作为评价指标, 浸膏相对密度、微波功率、干燥时间作为影响因素, 对肝宝胶囊浸膏微波真空干燥工艺进行优化。

1 材料

1.1 仪器 LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛

津公司); WBZ-25 型智能化静态微波真空干燥机 (贵阳新奇微波工业有限责任公司); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); BAS224S-CW 型电子分析天平 (北京赛多利斯天平有限公司); DHG-9240 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 试药 芥子碱硫氰酸盐 (批号 111702-200501)、虎杖苷 (批号 111575-200502)、大黄素 (批号 110756-200110) 对照品购自中国食品药品检定研究院, 含有量均 ≥ 98%。虎杖、谷芽、麦芽、莱菔子等中药饮片购自福建省药材有限公司, 经福建中医药大学杨成梓教授鉴定为正品, 均符合 2015 年版《中国药典》规定。甲醇、乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 正交试验 在单因素试验基础上, 以浸膏相对密度 (A)、微波功率 (B)、干燥时间 (C) 为影响因素, 芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有

收稿日期: 2017-07-07
基金项目: 福州市科技计划项目 (2017-S-131-2); 福建省卫生计生青年科研课题 (2017-2-61)
作者简介: 范 兴 (1987—), 男, 硕士, 中药师, 从事中药制剂与分析研究。Tel: 15806020326, E-mail: FXTCM2007@126.com
* 通信作者: 黄德福 (1975—), 男, 副主任药师, 从事药物制剂研究。Tel: (0591) 88116143, E-mail: hdf8833@126.com

量及含水量为评价指标，采用 $L_9(3^4)$ 正交表优化微波真空干燥工艺，因素水平见表 1。

表 1 因素水平
Tab. 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 浸膏相对密度/($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	B 微波功率/ kW	C 干燥时间/ min
1	1.05	4	40
2	1.15	6	50
3	1.25	8	60

2.2 芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有量测定

2.2.1 色谱条件^[8-11] Platisil- C_{18} 色谱柱 ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$)；流动相乙腈-0.1% 磷酸，梯度洗脱 (0~20 min, 15% 乙腈；20~60 min, 15%→35% 乙腈；60~75 min, 35%→65% 乙腈；75~90 min, 65%→70% 乙腈)；体积流量 1.0 mL/min ；柱温 $30\text{ }^\circ\text{C}$ ；检测波长 300 nm ；进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，置于棕色量瓶中，甲醇配制成 200、1 320、211.2 $\mu\text{g/mL}$ ，即得。

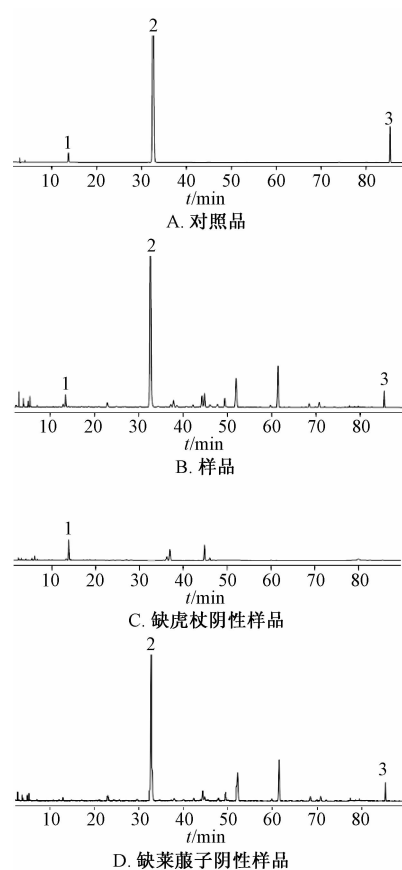
2.2.3 供试品溶液制备 精密称取干燥粉末约 0.5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 甲醇，超声 30 min ($50\text{ }^\circ\text{C}$ 、250 W、40 kHz)，放冷，甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2.4 阴性样品溶液制备 按处方组成比例与制备工艺及“2.2.3”项下方法，分别制备不含虎杖、莱菔子的阴性样品溶液。

2.2.5 专属性试验 精密吸取对照品、样品、阴性样品溶液各 $10\text{ }\mu\text{L}$ ，在“2.2.1”项色谱条件下测定，结果见图 1。由图可知，样品溶液与对照品在相应位置上有相同保留时间色谱峰，阴性无干扰。

2.2.6 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 0.15、0.40、0.65、0.90、1.15、1.40 mL，置于 10 mL 棕色量瓶中，甲醇稀释至刻度，摇匀，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以进样量为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归，得回归方程分别为芥子碱硫氰酸盐 $Y=11\,498X-10\,195$ ($r=0.999\,6$)、虎杖苷 $Y=65\,240X+40\,067$ ($r=0.995\,0$)、大黄素 $Y=28\,367X+702.63$ ($r=0.999\,5$)，分别在 30~280、198~1 848、32~296 ng 范围内呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取同一份对照品溶液，



1. 芥子碱硫氰酸盐 2. 虎杖苷 3. 大黄素
1. sinapine thiocyanate 2. polydatin 3. emodin

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

在“2.2.1”项色谱条件下进样 6 次，测得芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素峰面积 RSD 分别为 0.3%、0.2%、0.3%，表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下于 0、2、4、8、12、24 h 测定，测得芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素峰面积 RSD 分别为 0.7%、0.5%、0.8%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 精密称定同一批干燥样品 6 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下测定，测得芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有量 RSD 分别为 1.3%、1.2%、1.5%，表明该方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取含有量已知的同一批干燥样品 9 份，每份 0.25 g，平均分为 3 组，以 80%、100%、120% 水平精密加入对照品溶液：芥子碱硫氰酸盐 (0.20 g/L) 4.3、5.4、6.5 mL，虎杖苷 (1.32 g/L) 3.1、3.9、4.7 mL，大黄素 (0.211 2 g/L) 3.4、4.2、5.1 mL，按

“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下测定，测得平均加样回收率分别为99.38%、99.34%、98.67%，RSD 分别为1.32%、1.46%、1.03%。

2.2.11 含有量测定 取表1正交试验设计所得的样品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下测定，计算含有量。

2.3 含水量测定^[12] 按2015年版《中国药典》四部水分测定法项下第二法（烘干法）测定。

2.4 数据处理 采用SPSS 19.0软件，对正交试

验结果进行分析。

2.5 正交试验 选择芥子碱硫氰酸盐、虎杖苷、大黄素含有量及含水量作为评价指标，采用综合加权评分法进行处理，根据肝宝胶囊君臣佐使组方原则，设定综合评分=虎杖苷含有量/最高含有量×0.35×100+大黄素含有量/最高含有量×0.3×100+芥子碱硫氰酸盐含有量/最高含有量×0.2×100+（1-含水量/最高含水量）×0.15×100。结果见表2，方差分析见表3。

表 2 试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of tests

试验号	因素				指标				
	A	B	C	D	芥子碱硫氰酸盐/ (mg·g ⁻¹)	虎杖苷/ (mg·g ⁻¹)	大黄素/ (mg·g ⁻¹)	含水量/%	综合 评分
1	1	1	1	1	1.701	8.721	1.570	13.38	69.78
2	1	2	2	2	1.930	9.631	1.594	10.48	78.51
3	1	3	3	3	2.117	9.863	1.614	8.79	83.25
4	2	1	2	3	1.952	10.045	1.716	7.53	85.35
5	2	2	3	1	2.029	10.894	1.711	3.45	93.30
6	2	3	1	2	1.939	10.135	1.654	3.63	88.88
7	3	1	3	2	1.830	9.870	1.691	4.14	87.03
8	3	2	1	3	1.981	10.020	1.664	6.54	85.81
9	3	3	2	1	1.893	8.490	1.833	1.28	88.72
K ₁	231.54	242.16	244.47	251.80					
K ₂	267.53	257.62	252.58	254.42					
K ₃	261.56	260.85	263.58	254.41					
R	35.99	18.69	19.11	2.62					

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	248.013	2	124.007	163.207	<0.01
B	66.529	2	33.264	43.780	<0.05
C	61.329	2	30.665	40.358	<0.05
D(误差)	1.520	2	0.760	—	—

注： $F_{0.05}(2,2)=19$ ， $F_{0.01}(2,2)=99$

由此可知，各因素影响程度依次为A（浸膏相对密度）>C（干燥时间）>B（微波功率），其中因素A有极显著性影响（ $P<0.01$ ），B、C有显著性影响（ $P<0.05$ ），最终选择微波真空干燥最佳条件为A₂B₃C₃，即浸膏相对密度1.15 g/mL，微

波功率8 kW，干燥时间60 min。

2.6 验证试验 取同一批浸膏3份，根据“2.5”项下最优工艺进行3批验证试验，结果见表4，可知该工艺稳定可行。

表 4 验证试验结果（n=3）

Tab. 4 Results of verification tests（n=3）

试验号	芥子碱硫氰酸盐/(mg·g ⁻¹)	虎杖苷/(mg·g ⁻¹)	大黄素/(mg·g ⁻¹)	含水量/%	综合评分
1	2.131	10.899	1.819	3.26	96.26
2	2.173	10.983	1.896	3.03	98.45
3	2.201	10.911	1.835	2.55	98.02
平均值	2.168	10.931	1.850	2.95	97.58

3 讨论

3.1 色谱条件优化 本实验考察了乙腈-水、甲

醇-0.1%磷酸、乙腈-3%冰醋酸、乙腈-0.1%磷酸等组合，发现以乙腈-0.1%磷酸为流动相进行梯度

洗脱时分离效果最佳。各成分最大吸收波长分别为芥子碱硫氰酸盐 326 nm、虎杖苷 306 nm、大黄素 254 nm，综合考虑各吸收峰分离度、响应值、峰形，最终确定 300 nm 作为检测波长。

3.2 评价指标选择 肝宝胶囊由 5 味中药组成，根据制备工艺可知^[13]，青果与虎杖均为其君药，但前者在制粒阶段加入，故该制剂浸膏由虎杖、谷芽、麦芽、莱菔子制备而成。其中，君药虎杖具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛、止咳化痰功效，所含的虎杖苷、大黄素是主要活性成分，能对非酒精性脂肪肝起到较好的改善作用^[14-15]，同时由于前者含有量高，故其权重系数最大，设定为 0.35，而后者设定为 0.3；佐使药莱菔子能消食除胀、降气化痰，使脾胃之机得以平衡协调，其主要有效成分为芥子碱硫氰酸盐，故其权重系数设定为 0.2；干膏含水量少则产品稳定性好，同时易打粉，不易互相黏连，但并非越低越好，还应保证有效成分含有量，故其权重系数最小，设定为 0.15。

3.3 干燥方法选择 前期预实验考察了热风循环烘箱干燥和喷雾干燥，发现前者干燥时间长，而且干燥产物为致密坚硬块状，打粉易黏连，而后者易发生粘壁现象，故两者均不适合。本实验采用微波真空干燥，该方法时间短，产品质量好，效率高，可大大缩短肝宝胶囊生产周期以满足临床供应需求。

参考文献：

[1] 李 丹, 潘 晨. 肝宝胶囊治疗脂肪肝的临床研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2008, 18(6): 330-331, 334.

[2] 高依卿, 潘 晨, 孙 镛, 等. 肝宝对脂肪性肝炎和慢性乙型肝炎合并脂肪性肝炎的治疗作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2003, 13(1): 15-16.

[3] 梁新丽, 王光发, 廖正根, 等. 中药提取物的微波真空干燥工艺研究[J]. 中成药, 2010, 32(6): 946-949.

[4] 刘利辉, 张永萍, 徐 剑. 微波干燥技术在中药领域的研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2015, 37(1): 89-91.

[5] 王 莹, 李页瑞, 刘雪松, 等. 赤芍浸膏微波真空低温干燥特性及动力学模型研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(12): 921-925.

[6] 刘世琪, 董自亮, 肖礼娥. 降脂灵片微波真空干燥工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 8-11.

[7] 李 菁, 郑玉光, 潘红梅, 等. 微波真空干燥对金银花品质的影响[J]. 中药材, 2016, 39(5): 1032-1034.

[8] 谢清春, 吕竹芬, 林世源, 等. 三子养亲汤中白芥子-莱菔子合并提取工艺的正交试验优化[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(9): 2164-2166.

[9] 陈 帅, 王慧竹, 薛健飞, 等. HPLC-DAD 法同时测定四季三黄丸中 9 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1727-1731.

[10] 李红伟, 王婷婷, 孟祥乐, 等. 响应面法优化炒南葶苈子配方颗粒提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(24): 2831-2838.

[11] 马 赟, 王起文, 徐国华, 等. HPLC 法同时测定降脂颗粒中 5 种成分[J]. 中成药, 2017, 39(3): 532-535.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 104.

[13] 孙 塘, 高依卿, 郑秀奇. 肝宝胶囊的制备及临床疗效观察[J]. 医药产业资讯, 2005, 2(18): 58-59.

[14] 陈剑明, 张声生, 吴震宇, 等. 虎杖苷对非酒精性脂肪肝保护作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(5): 1188-1191, 1295.

[15] 张征波, 薛博瑜. 大黄素对非酒精性脂肪肝小鼠肝脂质沉积的作用及机制[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9): 2423-2425.