

引用:袁清照,胥骞,杨莹,仇湘中,张信成. 名老中医仇湘中验方补肝健腰方的制剂研究[J]. 湖南中医杂志,2022,38(3): 175-179.

名老中医仇湘中验方补肝健腰方的制剂研究

袁清照,胥 骞,杨 莹,仇湘中,张信成

(湖南省中医药研究院附属医院,湖南 长沙,410006)

[摘要] 目的:采用现代制剂工艺技术与科学评价方法,将补肝健腰方由传统汤剂开发为颗粒剂,优化制备工艺并建立制剂的专属质量标准。方法:通过多因素试验优选最佳工艺条件,确定制剂的提取、成型工艺;采用 TLC 鉴别对方中代表性药味进行定性鉴别。结果:优选了剂型及制剂工艺,建立了产品质量标准,按确定的工艺参数进行验证试验,各项指标均符合要求,表明该工艺及质量标准稳定可行。结论:新制剂较原方汤剂而言,具有储存运输与服用方便、稳定性好、质量可控、有效期长且药效显著等特点,为制剂的产业化提供了科学依据。

[关键词] 补肝健腰方;颗粒;工艺研究;质量标准

[中图分类号] R283 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2022.03.042

Development of the preparation for the famous old TCM doctor Qiu Xiangzhong's empirical prescription liver-tonifying and lumbar-invigorating prescription

YUAN Qingzhao, XU Qian, YANG Ying, QIU Xiangzhong, ZHANG Xincheng

(The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To develop the granules of liver-tonifying and lumbar-invigorating prescription using modern preparation techniques and scientific evaluation methods, to optimize the preparation process, and to establish the specific quality standard for this preparation. Methods: The multifactorial experiment was used to select the optimal process conditions and determine the extraction and forming techniques of the preparation, and thin layer chromatography was used for the qualitative identification of representative herbs in the prescription. Results: The formulation and preparation processes were optimized, and quality standard was established for the product. A validation test was performed according to the process parameters determined, and all indices met the requirements, suggesting that this process and quality standard were stable and feasible. Conclusion: Compared with the decoction of this prescription, the new preparation has the advantages of convenient transportation and medication, good stability, controllable quality, a long shelf life, and a marked clinical effect, which provides a scientific basis for the industrialization of this preparation.

[Keywords] liver-tonifying and lumbar-invigorating prescription; granule; process study; quality standard

补肝健腰方是我院名老中医专家仇湘中的临床经验方,临床疗效肯定,应用广泛。该方由炒酸枣仁、熟地黄、徐长卿、川芎、白芍、醋延胡索等 12

味中药组成,具有补肝养血、通络止痛的功效,临床常用于肝虚络痹所致的腰腿疼痛、麻木或腰膝酸软、乏力等^[1]。本研究旨在将该方进行药学研究,

基金项目:全国名老中医药专家仇湘中传承工作室建设项目(国中医药人教发[2016]42号);湖南省长沙市科技计划项目(长财教指[2019]84号,157号)

第一作者:袁清照,女,主管药师,研究方向:中药学及中药制剂研究

通讯作者:张信成,男,副主任医师,研究方向:中医药防治脊柱骨关节疾病, E-mail: zxc0556@163.com

确定最佳剂型、制备工艺及质量标准,为将其进一步开发成临床应用广泛、质量稳定的临床制剂奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Waters1525 Binary HPLC Pump/2489 型 PDA 检测器高效液相色谱仪(Waters); Goodlook-2000 型薄层色谱成像系统(上海科哲生化科技有限公司); Sartorius224-1CN 分析天平(赛多利斯科学北京仪器有限公司); EYELAN-1100 旋转蒸发仪(上海爱明仪器有限公司); GZX-9070MBE 电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与试药 酸枣仁对照药材(121517-201706)、白芍对照药材(120905-201808)、延胡索对照药材(120928-201609)、当归对照药材(120927-201617)、川芎对照药材(120918-201612)、木瓜对照药材(121003-201806)、熊果酸对照品(110742-201721)均购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙醇、乙醚、正丁醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯、丙酮、甲酸、冰醋酸等试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司); 糊精、甜菊糖苷均为药用辅料(湖南尔康制药股份有限公司)。

1.3 样品 按工艺制备 3 个批次颗粒剂,批号分别为 20200202、20200216、20200230,由我院制剂室自制。

2 方法与结果

2.1 制剂工艺研究 为确保与临床疗效一致,本品拟开发成颗粒剂。采用水提工艺,通过多因素试验结合干膏得率等指标优选最佳工艺条件,经成型工艺研究及工艺验证研究数据制订本品制法。

2.1.1 正交试验优选提取工艺

2.1.1.1 因素水平 为了探讨本品水提取工艺,试验以浸膏得率为考察指标,采用正交试验对提取时的加水量、浸泡时间、提取时间进行优选^[2]。因素水平表见表 1。采用 L₉(3⁴) 正交表安排试验,称取炒酸枣仁 12 g、熟地黄 12 g、白芍 6 g、川芎 6 g、盐杜仲 9 g、当归 9 g、炒僵蚕 6 g、徐长卿 9 g、麸炒白术 6 g、醋延胡索 6 g、木瓜 6 g、甘草 3 g,共 9 份,按设定方案进行提取,滤过,滤液合并,浓缩,定容至一定体积 V,进行浸膏得率的测定,结果见表 2。

表 1 水提因素水平表

因素水平	A 加水量(倍)	B 浸泡时间(h)	C 提取时间(h)
1	10,8	0	1.5,1
2	8,6	0.5	2,1.5
3	6,6	1.0	2.5,2

表 2 水提正交试验设计表及结果

序号	A	B	C	D	浸膏得率(%)
1	1	1	1	1	24.91
2	1	2	2	2	29.03
3	1	3	3	3	29.74
4	2	1	2	3	28.62
5	2	2	3	1	28.97
6	2	3	1	2	25.83
7	3	1	3	2	23.76
8	3	2	1	3	22.19
9	3	3	2	1	24.68
浸膏得率	I _j 83.68	II _j 83.42	III _j 80.25	80.55	9
					G = Σ y _i = 273.73
					i = 1
	R 13.05	2.36	9.54	1.99	CT = G ² /9 = 6279.5059

2.1.1.2 方差分析 将正交试验结果进行方差分析,以浸膏得率为考察指标,由表 3 中极差 R 值大小显示,各因素作用主次为 A > C > B; 方差分析结果表明: A、C 因素的影响均具有统计学意义(P < 0.05), B 因素的影响无统计学意义(P > 0.05), A 因素中 A₁ > A₂ > A₃, C 因素中 C₃ > C₂ > C₁, 以 A₁B₃C₃ 组合为好。但浸膏得率 A₁ 与 A₂、C₂ 与 C₃ 数值接近,从大生产中节能省时考虑, A 因素选择 A₂, C 因素选择 C₂, B 因素选择 B₁, 综合考虑,选择 A₂B₁C₂ 组合为最佳工艺,即药材加水煎煮 2 次,第 1 次加 8 倍量水,提取 2 h; 第 2 次加 6 倍量水,提取 1.5 h。

表 3 水提浸膏得率方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	37.11	2	18.55	43.4350	<0.05
B	1.91	2	0.95	2.2339	>0.05
C	19.93	2	9.97	23.3321	<0.05
D	0.85	2	0.43		

2.1.1.3 验证试验 根据优选的工艺方案,进行验证试验。取与正交试验同批药材 3 份,按正交试验优选的水提工艺条件进行验证试验,结果重复性较好,样品浸膏得率约为 28.84%。因此,确定最佳提取工艺为组方药材加水回流提取 2 次,第 1 次加 8 倍量水,提取 2 h; 第 2 次加 6 倍量水,提取 1.5 h。

2.1.2 成型工艺研究

2.1.2.1 辅料种类及用量选择 试验拟选用糊精、乳糖、麦芽糊精作为筛选对象,用 85%乙醇作润湿剂制粒,软材挤压过 12 目筛,干燥整粒,观察软

材制粒情况、颗粒收率、粒度、溶化性和口感^[3],结果见表 4。选糊精作为本品的辅料,因本品干膏粉粘性不强,原料粉:糊精为 1:1 时,软材及制粒情况良好,颗粒收率及粒度的百分率符合要求。

表 4 辅料的选择与用量

序号	原料与辅料用量	制粒情况	颗粒收率(%)	粒度(%)	溶化性	口感
1	原料+糊精(50 g+50 g)	颗粒成型性较好,粘性适中,松紧适宜,易过筛	97.62	14.34	全溶	味苦
2	原料+乳糖(50 g+50 g)	颗粒成型性较好,粘性适中,松紧适宜,易过筛	96.98	12.01	全溶	味苦
3	原料+麦芽糊精(50 g+50 g)	颗粒粘性较强,少量堵筛网、结块,不易过筛	70.17	16.94	全溶	味苦

2.1.2.2 矫味剂及其用量优选 本品为颗粒剂,全中药材干浸膏入药,味苦。拟加入少量矫味剂,改善口感。甜菊糖苷溶化性较好,为颗粒剂常用矫味剂,故选用甜菊糖苷,以口感为考查指标,优选最适宜的用量,结果表明,甜菊糖苷用量为 0.2%时口感微甜,较好保留了原始口感,故选用 0.2%矫味剂的用量最适合。(见表 5)

表 5 矫味剂用量的优选

配方	干膏+糊精(g)	甜菊糖苷用量(g)	口感
1	100	0.1	味苦
2	100	0.2	微甜
3	100	0.3	较甜

2.1.2.3 湿颗粒干燥条件的选择 考虑到本品含浸膏粉,采用湿法制粒,受热易熔化粘于盘底结板,故制粒后湿颗粒置于 50~60℃条件下干燥,干燥程度以控制水分在 3%~5%为宜。

2.1.3 工艺研究小结 以上 12 味,加水煎煮 2 次,第 1 次加 8 倍量,煎煮 2 h,第 2 次加 6 倍量,煎煮 1.5 h,滤过,合并煎液,减压浓缩至相对密度 1.05~1.10(60℃),离心,离心液减压浓缩至相对密度 1.25~1.30(60℃),真空干燥成干膏,粉碎,加入糊精混合均匀,再加入甜菊糖苷,制成颗粒,干燥,分装即得。

2.2 制剂薄层鉴别研究

2.2.1 炒酸枣仁 取本品 10 g,研细,加乙醚 50 ml,加热回流 1 h,弃去乙醚液,滤渣挥干溶剂,加甲醇 50 ml,加热回流 2 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 ml 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次 30 ml,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 40 ml,弃去氨试液,再用正丁醇饱和的水 40 ml 洗涤 1 次,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 10 ml 使溶解,加入中性氧化铝柱(100~200 目,6 g,内径 1 cm)上,先用甲醇 50 ml 洗脱,弃去,再用 70%甲醇

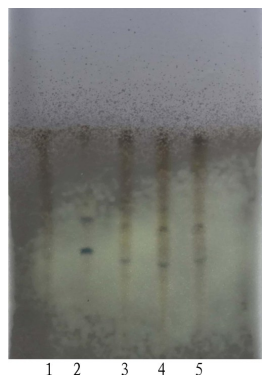
50 ml 洗脱,弃去,继用 50%甲醇 50 ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。同时按处方配比称取缺炒酸枣仁的其他药味适量,按制法制成缺炒酸枣仁的阴性样品,同供试品溶液的制备方法制备缺炒酸枣仁的阴性样品溶液。另取酸枣仁对照药材 1 g,加水 30 ml,加热回流 30 min,滤过,滤液用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 20 ml,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 10 ml,取正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2020 年版四部通则 0502,以下同)试验,吸取上述两种溶液各 10 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,立即检视^[4-5]。

结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上可见两个相同颜色的斑点。阴性样品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上无相同颜色的斑点,阴性无干扰。(见图 1)

2.2.2 白芍 取本品 8 g,研细,加甲醇 50 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 ml 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇提取液,用水洗涤 2 次,每次 20 ml,弃去水洗液,正丁醇液置水浴上蒸干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,加中性氧化铝 1 g,搅匀,置水浴上蒸干,加于已处理好的中性氧化铝柱(100~120 目,5 g,内径 1 cm,干法装柱)上,用乙醇 80 ml 洗脱,收集洗脱液,置水浴上蒸干,残渣加乙醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。按处方配比称取缺白芍的其他药味适量,按制法制成缺白芍的阴性样品,同供试品溶液的制备方法制备缺白芍的阴性样品溶液。另取白芍对照药材 1 g,加水 30 ml,加热回流 30 min,蒸干,同法制备对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取

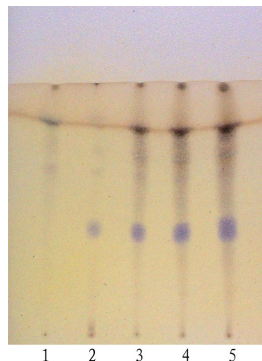
上述两种溶液各 10 μl , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸 (40:5:10:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤至斑点显色清晰。

结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色斑点。阴性样品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上无相同颜色的斑点, 说明无阴性干扰。(见图 2)



1—缺酸枣仁阴性样品
2—酸枣仁对照药材
3—供试品 1
4—供试品 2
5—供试品 3

图 1 炒酸枣仁 TLC



1—缺白芍阴性样品
2—白芍对照药材
3—供试品 1
4—供试品 2
5—供试品 3

图 2 白芍 TLC

2.2.3 醋延胡索 取本品 10 g, 研细, 加甲醇 60 ml, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 ml 使溶解, 加浓氨试液调至碱性, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 10 ml, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 ml 使溶解, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺延胡索的其他药味适量, 按制法制成缺延胡索的阴性样品, 同供试品溶液的制备方法制备缺延胡索的阴性样品溶液。另取延胡索对照药材 0.5 g, 加水 30 ml, 回流提取 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 5 ml 使溶解, 蒸干, 残渣加水 10 ml 使溶解, 加浓氨试液调至碱性, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 10 ml, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 ml 使溶解, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 10 μl , 分别点于同一以 1% 氢氧化钠溶液制备

的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮 (9:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置碘缸中熏 3 min, 挥干, 置于紫外灯 365 nm 下检视。结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色斑点。阴性样品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上无相同颜色的斑点, 说明无阴性干扰, 具有专属性。(见图 3)

2.2.4 当归、川芎 取本品 10 g, 研细, 加水 60 ml 使溶解, 用乙酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 20 ml, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 ml 使溶解, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺当归、川芎的其他药味适量, 按制法制成缺当归、川芎的阴性样品, 同供试品溶液的制备方法制备缺当归、川芎的阴性样品溶液。另分别取当归、川芎对照药材 0.5 g, 加水 30 ml, 回流提取 30 min, 滤过, 滤液用乙酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 20 ml, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 ml 使溶解, 分别作为当归、川芎对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μl , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯 (4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置于紫外灯 365 nm 下检视。

结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色斑点。阴性样品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上无相同颜色的斑点, 说明无阴性干扰, 具有专属性。(见图 4)

2.2.5 木瓜 取本品 16 g, 研细, 加二氯甲烷 60 ml, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇-二氯甲烷 (3:1) 混合溶液 1 ml 使溶解, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺木瓜的其他药味适量, 按制法制成缺木瓜的阴性样品, 同供试品溶液的制备方法制备缺木瓜的阴性样品溶液。另取木瓜对照药材 0.5 g, 加水 30 ml, 回流提取 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 加二氯甲烷 10 ml, 轻晃后放置 5 min, 蒸干, 残渣加甲醇-二氯甲烷 (3:1) 混合溶液 1 ml 使溶解, 作为对照药材溶液。再取熊果酸对照品, 加甲醇制成 0.5 mg/ml 的对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μl , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸 (6:0.5:1:0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 置于日光和紫外灯 365 nm 下检视。结果供试品色谱中。在与对照品和对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。阴性样品色谱中, 在相应的位置上无相同颜色的

斑点,说明无阴性干扰,具有专属性。(见图5)

2.3 工艺稳定性考查 为了考查工艺的稳定性,按优选的工艺制备了3批中试样品,并按质量标准的规定对产品进行了检测,结果工艺参数稳定可行,制剂质量合格,标准可控。

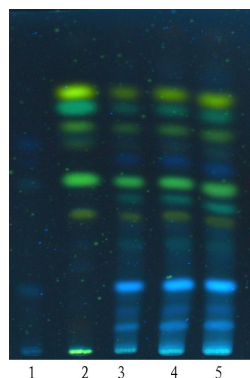


图3 醋延胡索 TLC(365 nm)

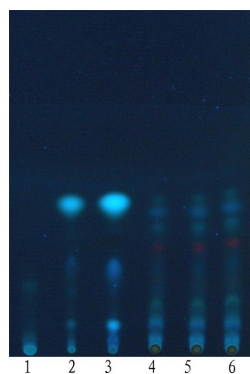


图4 当归、川芎 TLC(365 nm)

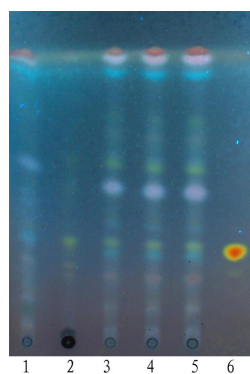


图5 木瓜 TLC(365 nm)

3 讨论

中医经验方是当代名老中医在临床实践过程中形成的确有疗效的方剂,体现了中医对疾病发生发展规律及核心病机的认识,是组方用药规律的宝贵经验,是新药研发和科技创新的主要源头^[6]。传承名老中医的学术思想和临床经验,挖掘、整理名

老中医经验方,开发出实用的医院制剂及中药新药具有重大的现实意义。

目前补肝健腰方在临床上仍以汤剂形式使用,存在煎煮耗能、不易携带、储存周期短、质量难以控制等问题。口服剂型中药物吸收的快慢顺序为:溶液剂>混悬剂>散剂>颗粒剂>胶囊剂>片剂,散剂粉尘大,黏附性强;胶囊剂、片剂的日服生药量小,故本品制成颗粒剂最贴近传统剂型。

本研究运用现代制剂技术将传统汤剂开发新剂型,以载药量最大的颗粒剂为开发剂型,有效地避免了汤剂的弊端。为保证颗粒剂质量与临床疗效,筛选组方药材进行薄层色谱定性鉴别,重现性好,特征性强。同时参照《中国药典》2020年版四部通则0104颗粒剂项下规定制定了产品质量标准,稳定性研究表明该工艺稳定,质量可控,为制剂的后续开发提供了科学依据。

参考文献

- [1] 仇杰,仇湘中,蒋盛昶,等. 补肝通络法内外并治腰椎间盘突出性腰痛60例临床观察[J]. 湖南中医杂志,2019,20(2):58-60.
- [2] 沈丹丹,顾志荣,马天翔,等. 扶正救肺颗粒成型工艺的均匀设计优选[J]. 时珍国医国药,2019,30(5):1122-1124.
- [3] 蔡霏,肖作奇,王哲明,等. 盆炎灵颗粒剂成型工艺及辅料筛选的研究[J]. 解放军药学学报,2018,34(2):131-133.
- [4] 苗明三,秦振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版·四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [6] 肖桂兰. 中药颗粒剂的研究现状及应用前景[J]. 中国中医药现代远程教育,2013,11(15):130.

(收稿日期:2021-06-21)

冬瓜全身都是药

冬瓜子又称白瓜子、冬瓜仁、瓜犀,为冬瓜的种子。其味甘、性凉,可润肺化痰,消痈利水,益肝明目,常用于治疗视物昏花、肺病、痰热咳嗽、肠痈、痔疾、湿疹、疮疖、女子湿热带下等。冬瓜叶味甘、性凉,有清热止泻、解毒之功,内服可治疗消渴、泄泻等,外用可治蚊虫叮咬、蜂螫、肿毒。冬瓜皮味甘、性凉,功能利水消肿。内服治疗肾炎水肿,又可利湿、消暑、止泻;水煎后外洗还可治痈肿疮毒、软组织扭挫伤。冬瓜藤为冬瓜的茎,味苦、性寒,水煎服可治肺热多痰。冬瓜瓢味甘、性平,内服有清热止渴、利水消肿之效,外用可消皮肤热毒红肿、烧烫伤。

(马建国, <http://www.cntcm.com.cn/news.html?aid=193936>)