

多指标综合优化南瓜多糖片的处方工艺

李晓娟¹, 李柱刚^{1*}, 王 珣¹, 韩俊岩¹, 张 擘¹, 唐彦武², 孙 伟², 付玉杰³, 赵承建³
(1. 黑龙江省农业科学院生物技术研究所以, 黑龙江省作物与家畜分子育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; 3. 东北林业大学生物资源生态利用国家重点实验室, 东北林业大学林木遗传育种国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 采用正交设计多指标综合评价法优化南瓜多糖片剂的处方工艺。**方法** 以累积溶出度、压片合格率以及压片颗粒流动性为指标, 运用正交设计法 $L_9(3^4)$, 结合变异系数法加权综合评价筛选制剂处方, 确定南瓜多糖片剂的制备工艺。**结果** 优化所得处方工艺为南瓜多糖 330.00 mg, 崩解剂聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP) 20.00 mg, 填充剂 CaHPO_4 200.00 mg, 5% 聚维酮 K_{30} (PVPK₃₀) 的 95% 乙醇水溶液作润湿剂和黏合剂, 1% 硬脂酸镁和 2% 微粉硅胶混合作润滑剂。以此处方制备的南瓜多糖片累积溶出百分比为 97.33%, 压片合格率为 79.63%, 休止角为 33.4°。**结论** 优选所得处方工艺简单可行, 稳定性好。
关键词: 变异系数法; 多指标综合; 南瓜多糖; 片剂; 处方工艺
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2015)12-2642-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.015

Optimizing the prescription process of Pumpkin Polysaccharides Tablets through data validation

LI Xiao-juan¹, LI Zhu-gang^{1*}, WANG Xun¹, HAN Jun-yan¹, ZHANG Bo¹, , TANG Yan-wu², SUN Wei², FU Yu-jie³, ZHAO Chun-jian³
(1. Biotechnology Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heilongjiang Key Laboratory for Molecular Breeding of Crop and Livestock, Harbin 150086, China; 2. School of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; 3. State Engineering Laboratory for Bio-Resource Eco-Utilization, State Key Laboratory for Tree Genetics and Breeding, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the preparation process of Pumpkin Polysaccharide Tablets (PPTs). **METHODS** With accumulated dissolution, rates of formability and mobility as indices, orthogonal test $L_9(3^4)$ combined with comprehensive coefficient of variation evaluation method was applied in screening the prescription, and the optimal preparation process of PPTs was verified. **RESULTS** The conditions for the best formula were determined, viz. 330.00 mg pumpkin polysaccharide, 20.00 mg PVPP (the disintegrating agent), 200.00 mg CaHPO_4 (the filler), 5% PVPK₃₀ 95% alcohol solution (the adhesive agent), 1% magnesium stearate and 2% superfine silica powder (the lubricators). For PPTs prepared by our preferable prescription, its accumulative release percentage, qualified rate, and angle of repose reached 97.88%, 79.63%, and 33.4°, respectively. **CONCLUSION** Besides the stable quality, this optimal process is simple and feasible to conduct.
KEY WORDS: coefficient of variation; multi-index comprehensive; pumpkin polysaccharide; tablet; prescription process

收稿日期: 2014-12-22
基金项目: 黑龙江省农业科技创新工程资助项目 (QN022); 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (201303112)
作者简介: 李晓娟 (1982—), 女, 博士, 助理研究员, 从事南瓜活性物质分析与利用方向的研究。Tel: (0451) 86668649, E-mail: xiaojuanli_2011@163.com
* 通信作者: 李柱刚 (1972—), 男, 博士, 研究员, 从事南瓜育种及其活性物质分析与利用方向的研究。Tel: (0451) 86661820, E-mail: lizhugang@163.com
2642

南瓜, 属葫芦科 Cucurbitaceae 南瓜属 *Cucurbita* 一年或多年生草本植物, 是夏秋时节重要的蔬菜。我国传统医学很早就发现了南瓜具有较高的药用价值和保健功效。中医史书《滇南本草》中记载, “南瓜性温, 味甘无味, 入脾、胃二经, 能润肺益气、化痰排脓、驱虫解毒, 治咳嗽、哮喘、肺痈、便秘等病症”。现代研究表明, 南瓜富含氨基酸、蛋白质、多糖、维生素、淀粉、纤维素及微量元素等多种功能性因子, 具有较高的食用价值^[1]。现代药理学和临床试验研究表明, 南瓜具有抗肿瘤^[2]、抗氧化^[3]、调血脂^[4]、降血压, 帮助消除前列腺和肝脏的炎症, 结合体内多余的胆固醇, 防治动脉硬化等多种作用^[5], 尤其在防治糖尿病方面功效显著, 实验表明南瓜多糖对大鼠、家兔、人等有非常显著的降血糖作用^[6-8]。作为营养保健食品和制药业的原料, 南瓜已引起国际卫生组织和国内外研究人员的关注, 有着十分广阔的开发和利用前景。陈立江等^[9]人对南瓜多糖口服液和颗粒剂的制备进行了研究, 但口服液和颗粒剂对生产设备、工艺条件、包装方法和材料的要求均较高, 且颗粒剂易潮解, 口服液不易携带。片剂具有成分稳定, 便于储存和携带等优点。因此, 研究通过正交设计多指标综合评分法筛选优化南瓜多糖片剂的处方, 确定片剂的制备工艺, 以期为进一步开发和利用南瓜这一药食两用的食材资源提供一条新的加工和应用途径。

1 仪器与材料

RE-52AA 旋转蒸发仪 (上海青浦沪西仪器厂); WK891 型烘干箱 (重庆四达实验仪器厂); HX-200A 粉碎机 (永康市溪岸五金药具厂); 22R 型高速离心机 (美国 Sigma-Aldrich); UV-1601 PC 型紫外分光光度计 (日本岛津制作社); ZP-19 型旋转式压片机 (上海天祥健台制药机械公司); ZRS-4 型智能溶出实验仪 (天津大学无线电厂)。

南瓜粉 (实验室自制); 葡萄糖对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110833-200904); 微晶纤维素 (MCC), PVPP, PVPK₃₀, 羟甲基纤维素钠 (CMC-Na), CaHPO₄, 硬脂酸镁 (均购自西安悦来医药科技公司); 甘露醇和山梨醇 (购自西安藻露堂药业集团康复医药公司); 其他辅料均为药用级; 硫酸、苯酚等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 辅料筛选 辅料的筛选要遵循不影响指标成分检出及定量测定的原则^[10]。常用辅料有淀粉类,

糖类, 纤维素类和无机盐类。采用苯酚-硫酸法^[11]对上述辅料进行处理, 结果表明, 可压性淀粉, MCC, CMC-Na, 甘露醇和山梨醇在测定多糖的吸收波长下有不同程度的紫外吸收, 会影响南瓜多糖的定量测定, 从而无法准确计算片剂的溶出度, 所以将其排除; 而 CaHPO₄, PVPK₃₀, PVPP, 硬脂酸镁和微粉硅胶对南瓜多糖测定无影响, 用于下面的实验。

2.2 正交试验设计 依据南瓜中有效组分南瓜多糖的理化性质及提取物特点, 结合辅料自身特性, 实验选择 CaHPO₄ 作填充剂, PVPP 作崩解剂, PVPK₃₀ 的 95% 乙醇水溶液作润湿剂和黏合剂, 硬脂酸镁和微粉硅胶混合作为润滑剂。在预试验基础上, 按正交试验方法, 对影响处方工艺的主要因素 CaHPO₄ 用量 (A), PVPP 用量 (B), PVPK₃₀ 浓度 (C) 以及硬脂酸镁和微粉硅胶用量比例 (D) 进行考察, 按照 L₉ (3⁴) 设计四因素三水平实验方案 (表 1), 以南瓜总多糖溶出度, 成型率及流动性为综合指标进行处方评价。

表 1 正交设计 L₉ (3⁴) 因素水平

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal test for PPTs				
	A	B	C	D
水平	CaHPO ₄	PVPP	PVPK ₃₀	硬脂酸镁和微粉硅
	用量/mg	用量/mg	浓度/%	胶用量比例
1	100	20	1	1 : 0.5
2	200	40	3	1 : 1
3	300	60	5	1 : 2

2.3 制备工艺

2.3.1 南瓜多糖的制备 选取新鲜完好的南瓜, 切片后置于烘箱中 80 ℃ 烘干, 粉碎, 过 100 目筛即得南瓜粉。取适量南瓜粉, 先用 95% 乙醇 60 ℃ 浸取 30 min 后离心 10 min, 以除去单糖、双糖和低聚糖等的影响。经预处理后的南瓜粉, 于蒸馏水 80 ℃ 回流搅拌提取 3 h, 过滤, 滤液离心, 取上清。将南瓜提取液真空减压回收至原体积的 1/3, 加入 80% 的乙醇沉淀, 多糖得率为 4.75%。南瓜多糖的提取方法是在前期实验结果的基础上确定的最佳提取条件。

2.3.2 片剂的制备 分别将干燥后的主药与辅料研细, 过 100 目筛, 按处方量采用等量递加法混匀, 搅拌时加入 95% 乙醇溶液制软材, 湿法制粒 (过 16 目筛), 60 ℃ 干燥, 过筛, 整粒, 加入润滑剂, 混合均匀, 压片, 即得。

2.4 考察指标

2.4.1 压片颗粒的流动性 流动性间接反映了机

械的磨损率，休止角越小说明摩擦力越小，片质量的差异就越小^[12]。实验采用固定漏斗法^[13]，将 3 只漏斗串联并固定于水平放置的坐标纸上方 1 cm 处，将混合样品沿漏斗壁倒入最上的漏斗中，依坐标纸测出圆锥体底部的半径（ R ），计算出休止角（ $\text{tg}\alpha = H/R$ ）。

2.4.2 压片合格率 片剂成型率是制粒，干燥，整粒后所得的合格片剂的比率。计算公式为：压片合格率 = （所得合格片剂质量/所用药粉与辅料质量） $\times 100\%$

2.4.3 累积溶出度 实验采用苯酚-硫酸法^[11]测定光密度，精密称取 20 mg 无水葡萄糖，用蒸馏水溶解定容至 100 mL，量取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 上述溶液，加蒸馏水至 1 mL，分别加入 5% 苯酚溶液 1 mL，浓硫酸 5 mL，摇匀，静置 5 min 后，置沸水浴加热 15 min 后取出，以浓硫酸补足减失质量。以蒸馏水做空白对照，在波长 490 nm 处测光密度。以葡萄糖质量浓度（mg/mL）为横坐标 X ，吸光值为纵坐标 Y 做标准曲线，进行线性回归，得糖浓度 - 吸光度方程： $Y = 27.9X - 0.0052$ ， $r^2 = 0.9848$ 。

按照《中国药典》2010 年版附录 X C 溶出度测定法，对南瓜多糖片剂中多糖的溶出度进行检测，以 900 mL 脱气蒸馏水为溶出介质，在 37℃ 恒温下，转速 50 r/min，45 min 后取出 5 mL，0.45 μm 微孔滤膜过滤。取滤液按上述方法显色方法检测，测定吸光值，计算溶出百分率。

2.5 加权综合评分法^[14-15] 运用综合评分法评价处方工艺。本实验以药物累积溶出百分率，压片合格率及流动性权重加和的综合评价作为指标，评价片剂的处方和制备工艺。权重代表了各个评价指标的重要性，本实验采用较为客观的变异系数法（Coefficient of variation method）确定权重系数，指标权重计算公式（1）如下：

$$W_i = \frac{V_i}{\sum_{i=1}^n V_i}$$

(1)

其中， W_i 为第 i 项指标的权重系数， V_i 是第 i 项指标的变异系数。计算结果表明，累积溶出度、片剂成型率和休止角的权重系数依次是 0.449，0.285 和 0.266。由此可见，累积溶出度是最重要的指标。片剂成型率和休止角的重要程度相当。

为消除不同指标间量纲不同的影响，采用极差标准化法对实验数据进行处理，正向指标（实验值越大越好）计算公式（2）和负向指标（实验值越小越好）计算公式（3）如下：

$$Y'_{ii} = \frac{Y_{ii} - Y_{i(\min)}}{Y_{i(\max)} - Y_{i(\min)}}$$

(2)

$$Y'_{ii} = \frac{Y_{i(\max)} - Y_{ii}}{Y_{i(\max)} - Y_{i(\min)}}$$

(3)

其中， Y'_{ii} 为第 i 项指标 Y_i 第 t 次试验值 Y_{ii} （ $t = 1、2、3 \cdots n$ ）的极差化值， $Y_{i(\min)}$ 为最小值， $Y_{i(\max)}$ 为最大值。

依下面公式（4）计算每次试验的综合指标：

$$Y_t = \sum W_i Y'_{ii}$$

(4)

其中， Y_t 为第 t 次试验的综合指标（加权极差化值）， W_i 为第 i 项指标的权重系数， Y'_{ii} 为第 i 项指标第 t 次试验的极差化值。

正交试验方案及结果见表 2，依 $\bar{k}_i$ 和极差值进行直观分析表明，以综合评分法为标准，在所选因素水平范围内，填充剂的加入量对该处方影响最大，黏合剂的加入量和润滑剂比例影响较小，崩解剂加入量的影响最小。

方差分析结果如表 3 所示，各因素的 F 值都小于 $F_{0.05}(2, 8)$ 分布值，说明各因素 F 值不显著，误差在显著水平允许范围内。 F 值越接近 F 检验临界值表明该因素对综合指标的影响越大，因此影响程度依次为： $A > C > D > B$ ，与极差分析结果一致。故确定最佳工艺条件为 $A_2B_1C_3D_3$ ，即南瓜多糖 330.00 mg，PVPP 20.00 mg， CaHPO_4 200.00 mg，5% PVPK₃₀ 溶液，润滑剂配比为 1：2。

2.6 验证试验

2.6.1 处方验证 按优选处方工艺 $A_2B_1C_3D_3$ 制备片剂进行正交验证试验，结果南瓜多糖溶出度为 97.88%，成型率为 79.63%，休止角为 33.4°，直观分析结果表明，该条件下的综合评分最高，说明选取结果合理。

2.6.2 溶出度曲线 取片剂 3 枚，照溶出度测定法分别于 3、10、20、30、45、60 min 时，取溶液 5 mL，滤过，同时补入溶出介质 5 mL 取滤液作为供试品溶液，按南瓜多糖定量测定方法测定，计算出每片不同时间的累积溶出量，绘制溶出曲线（图 1），结果表明 3 min 累积溶出量可达 80% 以上。

表 2 $L_9(3^4)$ 实验方案及加权综合评分试验结果

Tab. 2 $L_9(3^4)$ design and results of orthogonal test for PPTs

编号	因素 A/mg	因素 B/mg	因素 C/%	因素 D/%	溶出度/%	成型率/%	休止角/°	Y_i
1	1(100)	1(20)	1(1)	1(1 : 0.5)	88.70	74.83	34.0	0.629
2	1(100)	2(40)	2(3)	2(1 : 1)	87.22	72.07	33.8	0.682
3	1(100)	3(60)	3(5)	3(1 : 2)	96.11	77.65	33.5	0.938
4	2(200)	1(20)	2(3)	3(1 : 2)	97.78	78.82	34.7	0.816
5	2(200)	2(40)	3(5)	1(1 : 0.5)	89.89	76.67	35.2	0.857
6	2(200)	3(60)	1(1)	2(1 : 1)	93.03	77.59	35.6	0.740
7	3(300)	1(20)	3(5)	2(1 : 1)	76.85	69.48	38.2	0.429
8	3(300)	2(40)	1(1)	3(1 : 2)	94.62	67.59	37.6	0.100
9	3(300)	3(60)	2(3)	1(1 : 0.5)	74.25	68.34	38.6	0.050
$\overline{k_1}$	0.750	0.625	0.490	0.512				
$\overline{k_2}$	0.804	0.546	0.516	0.617				
$\overline{k_3}$	0.193	0.576	0.741	0.618				
R	0.611	0.078	0.251	0.106				

表 3 南瓜多糖片制备工艺正交设计实验方差分析结果

Tab. 3 Results of variance analysis for PPTs

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	$F_{0.05}(2,8)$ 分布值
A	0.687	2	3.299	4.46
B	0.009	2	0.043	
C	0.115	2	0.552	
D	0.022	2	0.106	
Errors	0.830	8		

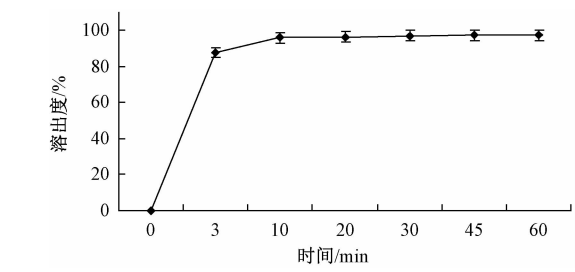


图 1 累积溶出曲线

Fig. 1 Cumulative dissolution curve

3 讨论

生产的前提是成型率，溶出度是片剂品质的保证，好的流动性才能保证片剂生产的稳定。故以溶出度，成型性和流动性为指标对南瓜多糖片剂的制备工艺进行了考察。由于 3 个指标难以确定统一的最优方案，因此将数据极差化处理，并运用加权综合评分法，数理表达片剂的处方可行性，并通过数理统计分析得到处方配比。实验结果表明，片剂成型良好，基于变异系数法的多指标加权综合评分法是可行的。

辅料的筛选是实验中遇到的难题，因为常用的片剂辅料大多为多糖类，可能对片剂主药的含量测定产生影响，因此，本实验采用苯酚-硫酸法对 10 种常用的辅料进行了处理，筛除对含量测定有影响

的辅料。前期实验中发现，多糖粉末本身较疏松，具有一定黏度，尝试用低体积分数的醇溶液配制 PVPK₃₀，但黏度较大，制粒过程中黏连严重，压片过程中出现黏冲现象，所以最终选择 95% 的醇溶液，此体积分数配制的 PVPK₃₀ 溶液作为黏合剂使用时，制粒及压片效果较好。

参考文献：

[1] 卢 颖,王永勤,任智捷. 南瓜功能成分研究的进展及在医药领域中的应用[J]. 食品与药品, 2005, 7(7): 29-32.

[2] 徐国华,韩志红,吴永芳,等. 南瓜多糖的抑瘤作用及对红细胞免疫功能的影响[J]. 江汉大学学报: 医学版, 2000, 28(4): 1-4.

[3] 柳 红,张 静. 不同南瓜多糖体外清除羟基自由基作用的研究[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(4): 356-359.

[4] 孔庆胜,王彦英,蒋 滢. 南瓜多糖的分离、纯化及其降血脂作用[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(3): 130-132.

[5] Fu C L, Shi H, Li Q H. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin [J]. *Plant Food Hum Nutr*, 2006, 61(2): 73-80.

[6] 李全宏,田 泽,蔡同一. 南瓜提取物对糖尿病大鼠降糖效果研究[J]. 营养学报, 2003, 25(1): 34-36.

[7] 熊学敏,石 扬,康 明,等. 南瓜多糖降糖有效部位的提取分离及降糖作用的研究[J]. 中成药, 2000, 22(8): 563-565.

[8] Adams G G, Shahwar I, Wang S, *et al.* The hypoglycaemic effect of pumpkins as anti-diabetic and functional medicines [J]. *Food Res Int*, 2011, 44(4): 862-867.

[9] 陈立江,焉喜臣,刘 宇,等. 南瓜多糖制剂的制备及其降糖作用的研究[J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2013, 40(3): 266-271.

[10] 陆 彬. 中药颗粒剂处方组成的探讨[J]. 华西药学杂志, 1995, 10(4): 229-233.

[11]

邢健敏, 李芬芳, 梁逸曾, 等. 聚乙二醇/硫酸铵双水相体系提取分离芦荟多糖及含量的测定[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(7): 541-544.

[12]

杨 昕, 元英进, 王春龙. 片剂生产中颗粒粉体学性质对压片质量影响的初步探讨[J]. 天津理工大学学报, 2008, 24(3): 85-88.

[13]

刘 元, 李星宇, 宋志钊, 等. 痔炎消颗粒的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 87-89.

[14]

刘先琼, 徐腊英. 多指标综合加权评分研究乌梅炭炮制工艺[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1898-1900.

[15]

王晓清, 别甜甜, 孙 飞, 等. 多指标正交试验法优选橘核的盐制工艺[J]. 中成药, 2014, 36(9): 1933-1936.