

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.06.03

生产工艺对博落回口服液质量稳定性影响研究

郁建生^{1,2}, 郁建平³, 胡美忠^{1,2}, 梁浩^{1,2}, 钱玺丞^{1,2}, 吴浪^{1,2}

(1. 铜仁职业技术学院药学院, 贵州 铜仁 554300; 2. 民族中兽药分离纯化技术国家地方联合工程研究中心, 贵州 铜仁 554300;

3. 贵州大学生化营养研究所, 贵州 贵阳 550025)

[收稿日期] 2020-03-21 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 06-0020-06 [中图分类号] S853.7

[摘要] 博落回口服液生产工艺简单, 生产成本低, 给药方便, 节约大量人力物力, 特别适合规模化养殖防控用药, 是值得研究开发的一种兽药新制剂。生物碱类化合物是博落回口服液中含量最多、最主要的有效成分, 直接影响口服液的质量稳定性。研究表明, 不同提取生产工艺对博落回生物碱质量稳定性影响较大, 提取率从高到低依次为酸性乙醇浸提法 > 乙醇浸提法 > 酸水浸提法 > 沸水煮沸浸提法。在七种不同浓度乙醇的浸提中, 以 80% ~ 90% 的乙醇对博落回生物碱提取率高, 均在 90% 以上, 效果好, 质量稳定。三批口服液样品在灭菌后生物碱含量平均下降 0.15 mg/mL, 占总量的 2.8%。pH 值对博落回口服液生产过程中质量稳定性影响较大, 研究表明, 口服液的 pH 值在 4 ~ 6 时生物碱含量高较稳定。在八种常用口服液的附加剂中以硫代硫酸钠、亚硫酸钠、偏重亚硫酸钠对博落回生物碱的稳定性影响较大, 可使生物碱含量降低 0.67 ~ 0.37 mg/100mL。

[关键词] 博落回; 口服液; 生产工艺; 质量稳定性; 影响; 博落回生物碱

Study on the Influence of Production Technology on the Quality and Stability of Veterinary Oral Liquid Made *Macleaya cordata*

YU Jian-sheng^{1,2}, YU Jian-ping³, HU Mei-zhong^{1,2}, LIANG Hao^{1,2}, QIAN Xi-cheng^{1,2}, WU Lang^{1,2}

(1. Tongren Vocational and Technical College, Tongren, Guizhou 554300, China;

2. National Local Joint Engineering Research Center for the Separation and Purification Technology of National Veterinary

Drugs, Tongren, Guizhou 554300, China; 3. Institute of Biochemistry and Nutrition, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: The oral liquid made *Macleaya cordata* has the advantages of simple production process, low production cost, convenient administration, and large amount of human and material resources saving. It is especially suitable for large-scale breeding, prevention and control of drugs. It is a new veterinary drug preparation worthy of research and development. Alkaloids are the most important and effective components in the oral liquid, which

基金项目: “民族中兽药分离纯化技术西部地区创新能力建设项目” [发改办高技(2016)2195 号]; “国家民委中兽药重点开放实验室”项目 [民委发(2019)28 号]; “贵州省民族中兽药与生态畜牧业人才基地”项目 [黔人领发(2020)2 号]

作者简介: 郁建生, 教授, 主要从事植物药有效成分提取分离、药物制剂、科研平台建设等方面研究。E-mail: yujiansheng555@163.com

directly affect the quality and stability of the oral liquid. The research showed that different extraction technology had great influence on the quality and stability of the total alkaloids from *Macleaya cordata*. The order of extraction rate was acid ethanol extraction > ethanol extraction > acid water extraction > boiling water extraction. Among the seven extractions with different ethanol concentrations, the extraction rate of alkaloids from *Macleaya cordata* was high with 80% - 90% ethanol, all above 90%. good effect and stable quality.

After sterilization, the content of total alkaloids in three batches of oral liquid decreased by 0.15 mg / mL, accounting for 2.8% of the total. The pH value has a great influence on the quality stability in the production process of The oral liquid made *Macleaya cordata*. The results showed that the total alkaloid content of the oral liquid was high and stable at pH 4 ~ 6. Among the eight commonly used oral liquid additives, sodium thiosulfate, sodium sulfite and sodium sulfite have great influence on the stability of the total alkaloid of *Macleaya cordata*, which can reduce the total alkaloid content by 0.67 ~ 0.37 mg/100 mL.

Key words: *Macleaya cordata*; production process; oral liquid; stability; influence; alkaloids from *Macleaya cordata*

中药博落回又名号筒杆, 勃勒回, 山梧桐等, 系罂粟科植物博落回[*Macleaya cordata* (willd) R. B.]的带根全草入药, 广泛分布于长江流域以南各省, 特别是云、贵、川较多见, 遍生于荒山野坡, 随处可见, 并可人工种植。民间用其治疗痈肿疔毒, 恶疮溃疡, 烫伤顽癣、风湿痹症、跌打损伤、疥疮等体表疾患, 因其大毒, 不作内用^[1]。现代医学研究表明, 博落回的有效药用成分为生物碱, 也提取分离出血根碱(*sanguinarine*)、白屈菜红碱(*chelerythrine*)、博落回碱(*bocconoline*)、原阿片碱(*protopine*)、别隐品碱(*allocryptopine*)、小檗碱(*berberine*)等多种, 均属异喹啉类生物碱^[1-2,6]。博落回生物碱是一种具有抗菌消炎、清热解暑、增强免疫功能、抑制多种病原菌、抗病毒、抗肿瘤等多种功效作用, 广泛用于人、畜多种感染性疾病治疗^[3-5]。

提取博落回生物碱(主要有血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱)后将其制成口服液用以治疗仔猪下痢、家禽肠炎等畜禽消化道疾病取得较好效果^[4,6], 试验表明, 采用液体口服给药, 药物直接进入胃肠道对肠道疾病效果好, 口服液给药一是能极大的方便投药, 节约大量人力物力, 特别适合规模化养殖防控用药, 二是生产工艺简化, 降低生产成本, 是博落回兽药产品中值得研究开发的一种新制剂。由于血根碱、白屈菜红碱分子中含有不稳定

的环氧基、芳香季胺等基团, 影响其生物碱的稳定性^[7], 而博落回生物碱质量稳定性直接影响着口服液的质量稳定性。稳定性是保证口服液质量及有效期时间的重要技术指标。为了更好的考察博落回生物碱类化合物在口服液中的稳定性, 本研究进行了口服液质量稳定性试验。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验用博落回果均采自贵州省松桃县大兴镇大兴村同一地点, 由铜仁职业技术学院兽药研究所进行鉴定及采用统一的干燥方法加工制样。

博落回口服液由铜仁职业技术学院兽药研究所、民族中兽药分离纯化技术国家地方联合工程研究中心研制, 铜仁民族兽药厂生产。由博落回果莢经提取有效成分生物碱后精制而成(成品每毫升含有效成分总生物碱不低于 5 mg)。

1.2 实验试剂 标准品血根碱(sigma, 98%), 白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱、小檗碱均为上海源叶生物科技有限公司产品、纯度大于 98%, HPLC 用试剂乙腈为色谱纯, 其它试剂: H₂SO₄、NaOH、NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaHSO₃、NaSO₃、EDTA、吐温-80 等均为分析纯, 乙醇为 95% 食用酒精。

1.3 实验仪器 Agilent1290 高效液相色谱仪(安捷能科技有限公司), TU—1901 紫外可见分光光度

计(北京普析),50/100 mL 玻璃反应釜(上海普渡生化科技有限公司),RE—52 旋转蒸发仪(上海亚荣),PHSJ—3F 精密酸度计(上海雷磁),电子天平(美国奥豪斯),LC—3000 药物稳定实验箱(上海医疗器械厂),微高压药汁提取机(上海泰压格),ALG5/100 自动灌装封口机(上海国彩),液体自动混合机(北京长安仪器厂),鼓风干燥箱(上海实验仪器厂),植株样本粉碎机(上海实验仪器厂)。

1.4 实验方法

1.4.1 博落回生物碱含量测定方法 博落回总碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量采用高效液相色谱法测定,色谱条件(色谱柱为 C18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为 0.2% 三乙胺溶液与乙腈,测定波长 271 nm)、对照品溶液制备、供试品溶液制备、测定方法等均按农业部兽药评审中心主编的“兽医质量标准汇编”(2006—2011 年)方法进行测定^[2,8]。

博落回总生物碱得率 = 博落回总生物碱质量/博落回果荚质量 × 100%,博落回生物碱单体得率 = 博落回生物碱单体质量/博落回总生物碱质量 × 100%^[9]。

1.4.2 博落回口服液生产工艺^[10,11] 由博落回果荚经提取有效成分生物碱后精制而成。采用液体生产法,经正交试验优选生产工艺如下:取博落回果荚制粗粉过 40 目筛后精密称取 1 kg 放入反应釜,用 85% 酸性乙醇 60 ℃ 保温搅拌浸提二次(每次 1 h,乙醇用量为药材量 8—10 倍),冷却,合并醇浸提液过滤,滤液减压回收乙醇,得浓缩液(含醇量 30%),冷却过滤,滤液用 10% H₂SO₄ 调 PH4—5 后加热至 90~100 ℃ 保持 10~20 min 后减压回收乙醇至尽,冷却过滤,加入口服液总量 1.5% 的吐温—80 及口服液总量 5% 的葡萄糖,加口服用水至足量,调 PH,精滤,灌装、熔封、摄氏 100 度流通蒸汽灭菌 30 min 即得(使成品每毫升含有效成分总生物碱不低于 5 mg,含葡萄糖不低于 5 mg)。

1.4.3 不同提取工艺对博落回口服液质量稳定性影响 取干燥后博落回果荚粗粉粹过 40 目筛备用,精密称取处理好的博落回果荚干燥粗粉各五

份,每份 1 kg,分别采取酸水浸提法、乙醇浸提法、酸性乙醇浸提法提取博落回生物碱,各得提取液 500 mL,按 1.4.1 法测定总生物碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量。

1.4.4 不同乙醇浓度对博落回口服液质量稳定性影响^[2,11] 精密称取处理好的博落回果荚干燥粗粉七份,每份 100 g,分别置 1000 mL 三角瓶中,对应加入浓度分别为 30%,40%,60%,70%,70%,80%,90% 的乙醇 100 mL 后于电动振荡机上,频率 120 次/min,间隔振摇 2 h 后滤出,定容,按 1.4.1 法测定总生物碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量。

1.4.5 灭菌对博落回口服液质量稳定性影响^[11] 取按 1.4.2 法制成的口服液三批,每批 500 mL,按 1.4.1 法测定灭菌前后博落回总生物碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量及博落回口服液在不同的温度、时间下存放后生物碱含量变化。

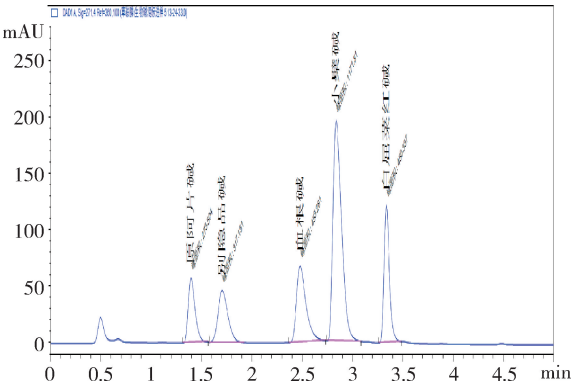
1.4.6 不同 pH 值对博落回口服液质量稳定性的影响^[11] 取处理好博落回果荚干燥粗粉,按 1.4.2 方法制成口服液,分取口服液八份,每份 50 mL,分别用 4% NaOH 液及 10% H₂SO₄ 液调不同的 pH 值后制成口服液,100℃ 灭菌 30 min,按 1.4.1 方法测定总生物碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量。

1.4.7 不同附加剂对博落回口服液质量稳定性的影响^[11] 取处理好博落回果荚干燥粗粉,按 1.4.2 方法制成口服液,分取口服液八份,每份 50 mL,分别加入不同的附加剂(加入量 EDTA 为 0.01%,其余均为 0.2%)后制成口服液,100℃ 灭菌 30 min,按 1.4.1 方法测定总生物碱及血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱含量。

2 结果与分析

2.1 血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱的测定 见下图 1、图 2

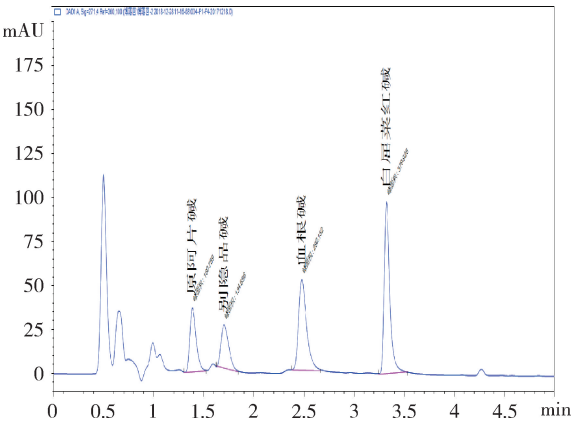
2.2 不同提取工艺对博落回口服液质量稳定性影响 见下图 3。



(从左到右 原阿片碱,别隐品碱,血根碱,小檗碱,白屈菜红碱)

图 1 博落回提取物对照品 HPLC 图

Fig 1 HPLC of *Macleaya cordata* extract reference substance



(从左到右 原阿片碱,别隐品碱,血根碱,白屈菜红碱)

图 2 博落回口服液样品 HPLC 图

Fig 2 HPLC of sample of oral liquid made *Macleaya cordata*

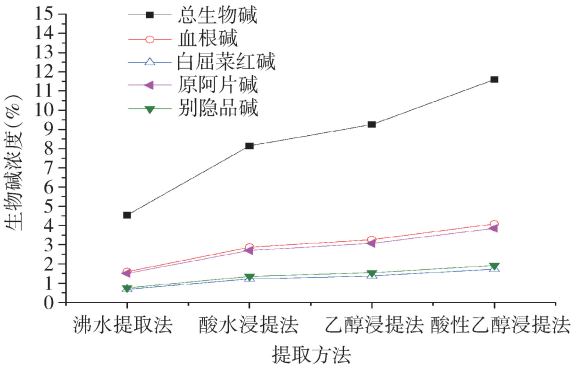


图 3 不同提取工艺对博落回口服液质量稳定性影响

Fig 3 Effect of different extraction process on the quality and stability of oral liquid made *Macleaya cordata*

由图 3 可知:不同提取工艺对生物碱浓度影响较大,生物碱浓度以酸性乙醇浸提法最高,总碱提取率可达到 11.6%,血根碱提取率 4.8%,白屈菜红碱提取率 1.73%,原阿片碱提取率达 3.85%,别隐品碱提取率 1.92%。生物碱浓度从小到大顺序为沸水提取法<酸水浸提法<乙醇浸提法<酸性乙醇浸提法。

2.3 乙醇浓度对博落回口服液质量稳定性影响,结果见下图 4。

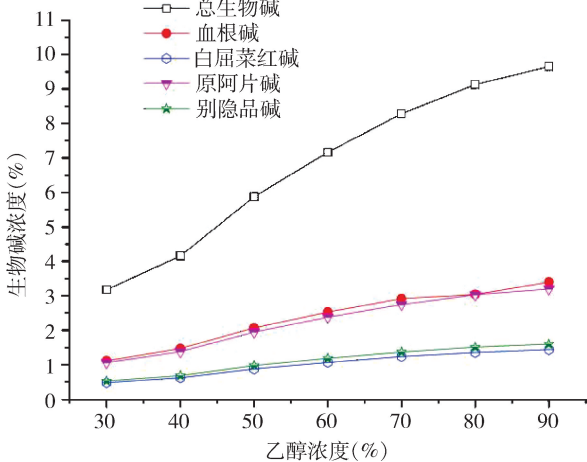


图 4 乙醇浓度对博落回口服液质量稳定性影响

Fig 4 Effect of ethanol concentration on the quality and stability of oral liquid made *Macleaya cordata*

由图 4 可知:90%的乙醇对博落回总生物碱提取率均在 9.65%,血根碱提取率 3.40%,白屈菜红碱提取率 1.44%,原阿片碱提取率 3.20%,别隐品碱提取率 1.60%。乙醇浓度越高,博落回生物碱提取率越高,效果越好,质量越稳定。

2.4 灭菌对博落回口服液质量稳定性影响 博落回口服液 100℃灭菌前后生物碱质量变化,见下表 1。

从表 1 可见,灭菌后三批口服液样品总生物碱含量平均下降 0.15 mg/100 mL,占总量的 2.8%;血根碱含量平均下降 0.06 mg/100 mL,占总量的 3.1%;白屈菜红碱含量平均下降 0.02 mg/100 mL,占总量的 2.8%;原阿片碱含量平均下降 0.05 mg/100 mL,占总量的 2.8%;别隐品碱含量平均下降 0.02 mg/100 mL,占总量的 2.2%,变化小是非常稳定的。

表 1 博落回口服液灭菌前后质量稳定性变化

序号样品	灭菌前浓度					灭菌后浓度				
	总生物碱	血根碱	白屈菜红碱	原阿片碱	别隐品碱	总生物碱	血根碱	白屈菜红碱	原阿片碱	别隐品碱
	/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%
0405	5.66	1.99	0.85	1.88	0.94	5.38	1.89	0.80	1.79	0.89
0406	5.02	1.77	0.75	1.67	0.83	4.93	1.74	0.74	1.64	0.82
0407	5.64	1.99	0.84	1.87	0.94	5.57	1.96	0.83	1.85	0.92
平均值	5.44	1.92	0.81	1.81	0.90	5.29	1.86	0.79	1.76	0.88

2.5 不同 pH 值对博落回口服液质量稳定性的影响 不同 pH 值对博落回口服液质量稳定性的影响结果见下图 5。

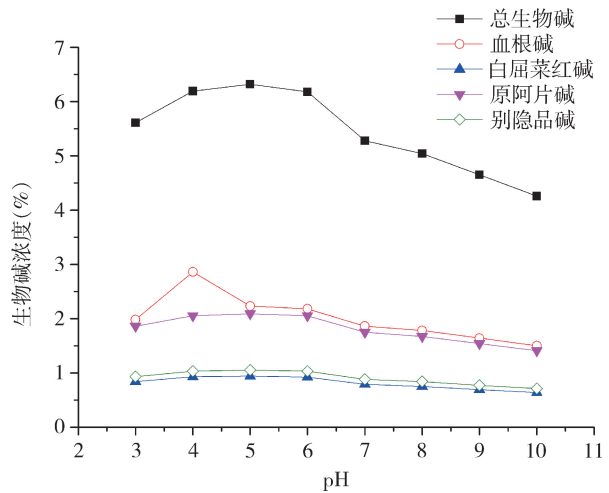


图 5 不同 pH 值对博落回口服液稳定性影响
Fig 5 Effect of different pH value on the stability of the oral liquid made *Macleaya cordata*

由图 5 可知:口服液的 pH 值在 5 时博落回总生物碱浓度在 6.32%,血根碱浓度 2.23%,白屈菜红碱浓度 0.94%,原阿片碱浓度 2.09%,别隐品碱浓度 1.05%。口服液 pH 值在 4 时血根碱浓度 2.86%,以 pH 值在 4~6 时生物碱含量最高,最稳定。

2.6 不同附加剂^[8]对博落回口服液质量稳定性的影响 由图 6 可知:硫代硫酸钠、亚硫酸钠、偏重亚硫酸钠对总生物碱的质量稳定性影响较大,可使总生物碱质量降低 0.37~0.67 mg/100 mL,血根碱浓度降低 0.02~0.22 mg/100 mL,白屈菜红碱浓度降低 0.06~0.1 mg/100 mL,原阿片碱浓度降低 0.13~

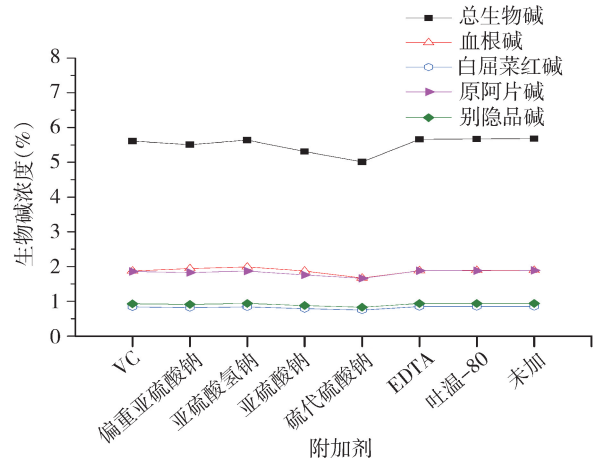


图 6 不同添加剂对博落回口服液质量稳定性影响
Fig 6 Effect of different additives on the quality and stability of oral liquid made *Macleaya cordata*

0.23 mg/100 mL,别隐品碱浓度降低 0.06~0.11 mg/100 mL,在生产中应避免使用;而 EDTA、吐温-80、Vc、亚硫酸氢钠等附加剂对总生物碱质量稳定性影响甚小,适合选用。

3 讨论与结论

目前,以天然植物博落回所含生物碱类为原料研发生产的兽药制剂有博落回注射液、博落回散等,但博落回口服液尚无产品上市,博落回制剂是一种纯天然绿色兽药产品,用以治疗仔猪下痢、家禽肠炎等畜禽消化道疾病及促进猪、鸡生长取得较好效果^[4,6],更是当前“替抗”产品的优秀品种。试验表明,采用口服给药,药物直接进入胃肠道对肠道疾病效果好,口服液给药能极大的方便投药,节约大量人力物力,特别适合规模化养殖防控用药,是一种值得研究开发的博落回兽药新制剂。本法采用液体生

产法生产口服液,可减少博落回生物碱提取纯化干燥工序,节约人力物力时间,降低生产成本。

博落回在兽药领域的应用关键难题之一是生物碱的提取分离。研究表明,4 种提取生产工艺对生物碱提取得率影响较大,最高为 11.6%,最低为 8.15%,提取率从低到高依次为沸水提取法 < 酸水浸提法 < 乙醇浸提法 < 酸性乙醇浸提法。而酸性乙醇为博落回生物碱首选提取液,乙醇浓度增高,提取率逐渐增大,80~90%的乙醇提取率均在 90% 以上。

博落回口服液是以植物博落回为原料经提取生物碱后制成,主要含血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱等生物碱。研究表明,三批口服液样品在灭菌后生物碱含量平均下降 0.15 mg/100 mL,占总量的 2.8%;所以生物碱含量是比较稳定的,变化小。

pH 值是口服液质量稳定的一项重要指标,研究表明,pH 值变化对博落回口服液生产过程中生物碱含量稳定性影响较大,口服液的 pH 值在 4~6 时生物碱含量高较稳定。

在口服液的生产中,常常加入抗氧化剂及金属络合剂等附加剂以防止和延缓药物的氧化分解,加入助溶剂以增加药液的澄明度。而这些附加剂的加入既要保护药物的有效成分不受氧化分解,又要不影响药物制剂的稳定性、澄明度和疗效。研究表明,硫代硫酸钠、亚硫酸钠、偏重亚硫酸钠对生物碱的质量稳定性影响较大,可使生物碱质量降低 0.67~0.37 mg/100 mL,在生产中应避免使用;而 EDTA、吐温-80、Vc、亚硫酸氢钠等附加剂对生物碱质量稳定性影响较小,适合选用。加入抗氧化剂后可使口服液的颜色浅淡而改善药液的澄明度。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997. 2286.
Jiangsu new medical college. Dictionary of traditional Chinese medicine (I) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1997.
- [2] 郁建生. 博落回总生物碱提取与纯化工艺研究[J]. 中药材, 2007,30(8):1008.
Yu Jiansheng. Study on Extraction and purification of total alka-

loids from *Macleaya cordata* [J]. Chinese herbal medicine, 2007,30 (8): 1008.

- [3] 赵东华,郁建平,周晓秋,等. 博落回总生物碱的抑菌作用研究[J]. 食品科学,2005,26(1):45.
Zhao D H, Yu J P, Zhou X Q, *et al.* Study on Bacteriostasis of total alkaloids of *Macleaya cordata* [J]. food science, 2005, 26 (1): 45.
- [4] 郁建生. 博落回制剂对禽霍乱、仔猪白痢的对比治疗试验[J],黑龙江畜牧兽医,2007,(2):91.
Yu J H. The comparative treatment experiment of *Macleaya cordata* preparation on fowl cholera and piglet diarrhea [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and veterinary, 2007, (2): 91.
- [5] 王浴生,邓文龙,薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:714.
Wang Y Sh, Deng W L, Xue C Sh. Pharmacology and application of traditional Chinese medicine [M], Beijing: People's Health Press, 2000:714
- [6] 曾建国,刘 华. 博落回主要功能成分及其在动物生产中的应用[J]. 饲料工业, 2019,40(7):1.
Zeng J G, Liu H. Main functional components of *Macleaya cordata* and its application in animal production [J]. Feed industry, 2019, 40 (7): 1
- [7] 李春梅,陈 旭,李文兰,等. 博落回中血根碱和白屈菜赤碱的稳定性研究[J]. 化学与生物工程, 2019,36(3):18.
Li Ch M, Chen X, Li WL, *et al.* Study on the stability of sanguinarine and chelerythrine in *Macleaya cordata* [J]. Chemical and Bioengineering, 2019,36 (3): 18
- [8] 农业部兽药评审中心. 兽医质量标准汇编(2006-2011 年)[M]. 北京:中国农业出版社,2013:308.
Veterinary medicine evaluation center, Ministry of agriculture. Veterinary quality standards collection (2006-2011) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2013:308.
- [9] 蔡建国,张 涛,陈 岚. 超临界 CO 流体萃取博落回总生物碱的研究[J]. 中草药, 2006,37(6):852.
Cai J G, Zhang T, Chen L. Supercritical CO fluid extraction of total alkaloids from *Macleaya cordata* [J]. Chinese herbal medicine, 2006,37 (6): 852.
- [10] 郁建生. 博落回注射液, 国家发明专利, 专利号: 2005100204090.
Yu J Sh. *Macleaya cordata* injection, national invention patent, patent No.: 2005100204090.
- [11] 郁建生. 兽用博落回注射液质量稳定性研究,2013 年中国药学会暨第十三届中国药师周论文集[C].
Yu J Sh. Study on the quality and stability of *Macleaya cordata* injection for animal use, 2013 China Pharmaceutical Congress and the 13th China pharmacist weekly treatise[C].

(编辑:陈 希)