茯苓多糖提取过程优化及制剂稳定性研究

孙岑 1　赵延武 [1]　尚海宾 [2]　乔晓芳 [*3]

1. 河南医药健康技师学院；2. 白云山汤阴东泰药业有限责任公司；3. 河南省药品审评查验中心

摘要：以茯苓多糖提取率为指标，通过单因子测试和正交测试，考察了料液比、提取温度、提取时间、提取次数等因素。确定了茯苓多糖的最佳提取工艺：料液比为 1:20，提取温度设定为 80℃，提取时间为 3 h，提取次数为 3 次。该工艺操作简单、提取率高、稳定性好。同时，研究了不同温度和湿度对茯苓多糖制剂含量和外观性状的影响，为茯苓多糖的开发、利用和质量控制提供了参考依据。

关键词：茯苓多糖；提取工艺优化；制剂稳定性

0　引言

中药材茯苓的应用历史源远流长，具有利水渗湿、健脾宁心的功效（见图 1）。现代科学研究揭示了茯苓中天然活性成分——茯苓多糖的多种益处，包括免疫调节、抗肿瘤、抗炎和抗氧化等作用，这使得茯苓多糖在医药研发和功能性食品开发等领域展现出巨大的应用前景 [1]。然而，茯苓多糖的提取工艺和制剂稳定性研究仍面临挑战，如提取率低、工艺复杂、制剂稳定性差等问题，这些因素限制了其进一步的开发和应用。因此，深入研究和开发茯苓多糖，优化其提取工艺，并对其制剂稳定性进行系统研究，以提高提取效率，具有重要的现实意义 [2]。

作者简介：第一作者孙岑，就职于河南医药健康技师学院，一级实习指导教师，技师，执业药师，研究方向为中药、药物制剂；第二作者赵延武，就职于河南医药健康技师学院，河南省中药炮制大师工作室领衔人，高级实习指导教师，高级技师，执业药师，研究方向为中药、药物制剂；第三作者尚海宾，就职于白云山汤阴东泰药业有限责任公司，高级技师，工程师，研究方向为药物制剂研发；第四作者兼通讯作者乔晓芳，高级工程师，研究方向为药械审评查验。

课题名称：基于风险考量的化学药品上市后变更管理研究，编号：2023sj69。

课题名称：基于全生命周期的药品上市后变更研究技术要求，编号：242400411243。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

本研究使用的茯苓药材购自河南禹州市药材市场，并经过鉴定确认为干燥的菌核，属于多孔菌科真菌茯苓属。本试验所用试剂，包括无水乙醇、石油醚、硫酸、苯酚、葡萄糖等，均达到了纯化分析的级别，满足了纯化研究的需求，目前研究已进入纯化阶段。

1.2　仪器与设备

试验中使用了电子天平、恒温水浴锅、旋转式蒸发仪（见图 2）、真空干燥箱、紫外可见分光度计、高效液相色谱仪和稳定性试验箱等仪器设备。

2　茯苓多糖提取

2.1　预处理

将茯苓药材研碎，60 目过筛，以油醚 60 度倒流去脂 2 h，滤去油醚，挥发去渣，待用。

2.2　单因素试验

分别研究物质与液体的比例在 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30（g/ ml）下，以及在提取温度为 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃，提取时间 1 h、2 h、3 h、4 h、5 h 和提取次数 1 次、2 次、3 次、4 次、5 次时，茯苓多糖的提取率受到的影响。固定其他条件，每个因素设置 5 个水平，按以下步骤进行提取：称取 5.00 g 茯苓粉，加入适量蒸馏水，在设定温度下提取一定时间，过滤并收集滤液。接着，将相应次数的残渣按相同条件重复提取，合并所有滤液后，通过减压浓缩的方式将体积减少至 50 ml。然后，在浓缩液中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混合均匀后静置一夜。最后，将醇沉浓缩液进行离心处理：转速设定为 4000 转 / 分，离心完成后，使用无水乙醇收集离心管底部的沉淀物，洗 3 次，真空干燥后，即可获得茯苓粗多糖。

2.3　正交试验

在单因素试验基础上，选取对茯苓多糖提取效果影响较大的四个关键因素：料液比、提取温度、提取时间、提取次数，分别设置三个不同等级——水

平 1、水平 2、水平 3，采用 L9(3^4) 正交试验进一步优化提取工艺，如表 1 所示。

表 1　茯苓多糖提取正交表

因素	水平 1	水平 2	水平 3
料液比（g/ml）	1:15	1:20	1:25
提取温度（℃）	70	80	90
提取时间（h）	2	3	4
提取次数（次）	2	3	4

2.4　结果与分析

2.4.1　单因素试验结果

在优化茯苓多糖提取工艺的过程中，我们首先对各个单一因素进行了试验，以研究它们对提取效率的影响。以下是详细结果。

2.4.1.1　料液比对提取率的影响

提取率在料液比为 1:20 时达到最高，为 18.5%。若继续提高料液比，提取率略有下降。可能的原因是药液配比过少，导致药剂不能充分浸润药材，使得提取的糖分过多而未充分浸润；而料液比过大虽然有利于多糖的溶出，但会增加后续浓缩和分离的难度，同时降低多糖浓度，影响提取率。具体检查结果见表 2。

表 2　料液比对提取率的影响结果

料液比（g/ml）	提取率（%）
1:10	16.2
1:15	17.8
1:20	18.5
1:25	18.2
1:30	17.9

2.4.1.2　提取温度对提取率的影响

茯苓多糖的提取速度受提取温度的显著影响 [3]。在 60℃～ 80℃范围内，提取率随温度升高而逐渐增加，80℃时达到最高 20.3%。原因分析：高温可能导致多糖分子结构破坏，对多糖从药材中的溶出过程产生不利影响。当温度超过 80℃时，提取率呈下降趋势。提取温度对提取率的影响结果见表 3。

2.4.1.3　提取时间对提取率的影响

茯苓多糖的提取率随着提取时间的延长而逐渐提高，在 3 h 时达到最高 20.1%。继续延长提取时间，提取率提升不明显。原因分析：在一定时间内，多糖能够充分溶解在溶剂中，但随着时间进一步延长，可能发生多糖降解或其他副反应，导致提取率不再增加。提取时间对提取率的影响结果见表 4。

表 3　提取温度对提取率的影响结果

提取温度（℃）	提取率（%）
60	17.2
70	18.8
80	20.3
90	19.5
100	18.0

表 4　提取时间对提取率的影响结果

提取时间（h）	提取率（%）
1	16.5
2	18.9
3	20.1
4	19.8
5	19.6

2.4.1.4　提取次数对提取率的影响

茯苓多糖提取次数对提取率的影响如下：提取 1 次时，提取率较低，为 12.5%；提取次数增加到 3 次时，提取率明显上升至 20.0%；继续增加提取次数，提取率增加不明显。考虑到提取次数过多会增加成本和时间，因此选择提取 3 次为宜。提取次数对提取率的影响结果见表 5。

表 5　提取次数对提取率的影响结果

提取次数	提取率（%）
1	12.5
2	17.0
3	20.0
4	19.8
5	19.5

2.4.2　正交试验结果

正交试验结果显示，影响最大的因素是提取温度，其次是提取时间和料液比，提取次数影响最小。经过详细的数据分析和反复验证，确定最佳提取工艺条件为：料液比 1:20，提取温度 80℃，提取时间 3 h，提取 3 次。在最佳工艺条件下进行验证试验，茯苓多糖的平均提取率为 20.5%，表明该工艺条件稳定可靠。正交试验结果见表 6。

表 6　正交试验结果

试验号	A（料液比）	B(温度)	C(时间)
1	1:15	70℃	2 h
2	1:15	80℃	3 h
3	1:15	90℃	4 h
4	1:20	70℃	3 h
5	1:20	80℃	4 h
6	1:20	90℃	2 h
7	1:25	70℃	4 h
8	1:25	80℃	2 h
9	1:25	90℃	3 h

3　茯苓多糖制剂稳定性

3.1　茯苓多糖含量的测定

采用苯酚 - 硫酸法进行茯苓多糖的测定。以葡萄糖作为对照品，使用电子天平精确称取 100 mg 葡萄糖对照品，并小心转移至 100 ml 容量瓶中。缓慢加入蒸馏水直至溶液体积达到刻度线，充分摇匀后，成功配制出浓度为 1 mg/ ml 的葡萄糖对照品储备液。接着，使用移液枪精确移取 0.2 ml、0.4 ml、0.6 ml、0.8 ml、1.0 ml、1.2 ml 的对照品储备液，分别置于 10 ml 容量瓶中，加蒸馏水定容并摇匀。从上述稀释后的溶液中各取 1.0 ml 进行精密处理，并转移到特定试管中，以制备稀释后的溶液。向试管中逐滴加入 5% 苯酚溶液 1.0 ml，轻摇均匀后迅速加入浓硫酸 5.0 ml，再次摇匀混合。将试管静置 10 min 后，放入沸水中，中火加热 15 min，热处理后立即取出并迅速冷却至常温。使用紫外可见分光光度计测定吸光度，以波长 490 nm 处的吸光度作为测量值，并以相应试剂作为空白对照。以吸光度为纵坐标，葡萄糖溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，得出回归方程为 Y=7.856x+0.012，R=0.998。精确称取适量茯苓粗多糖，加水溶解并定容至 100 ml，然后精确吸取 1.0 ml 溶液，

按照标准曲线计算茯苓多糖含量的苯酚 - 硫酸法操作步骤进行测定。

3.2 茯苓多糖制剂的制备

茯苓多糖经过优化提取工艺制得后，加入适量辅料 (如淀粉、糊精等)，茯苓多糖与辅料的质量比为 1:2。采用湿法粒法工艺制成颗粒剂，即茯苓多糖制剂，将颗粒剂装入铝塑面膜包装中，每板 10 粒，每盒 10 粒 / 板。

3.3 茯苓多糖制剂稳定性研究

3.3.1 高温高湿试验

高温高湿试验条件为温度 80℃、湿度 92.5%RH。在第 0 天、第 5 天、第 10 天、第 15 天和第 30 天，测定制剂中多糖类物质的含量，并观察其外观变化 (如色泽、吸湿性、结块等)。检查结果见表 7。

表 7 高温高湿试验检查结果

时间 (天)	多糖含量 (%)	外观变化
0	95.0	无变化
5	94.5	无明显变化
10	92.8	无明显变化
15	89.2	颜色加深、少有结块
30	82.6	颜色加深、明显结块

结果分析：在高温高湿条件下，随着时间的延长，茯苓多糖制剂中多糖含量逐渐下降，外观性状也发生变化，出现颜色加深、结块等现象。放置 30 天后，多糖含量从初始的 95.0% 下降至 82.6%。制剂的吸湿性明显增加。

3.3.2 加速试验

加速试验条件为温度 40±2℃，相对湿度 75±5%RH。在第 0、第 1、第 2、第 3 和第 6 个月，按照影响因素试验和观察外观性状的方法，分别取样测定多糖含量，共放置 6 个月。加速试验检查结果见表 8.

表 8 加速试验检查结果

时间（月）	多糖含量（%）	外观变化
0	95.0	无变化
1	94.5	无明显变化
2	93.8	无明显变化
3	93.0	无明显变化
6	92.0	无明显变化

结果分析：茯苓多糖制剂在加速试验条件下，放置 6 个月后含量略有下降，从 95.0% 下降到 92.0%，但仍在规定范围内，且无明显外观性状异常，表明制剂在加速试验条件下具有一定的稳定性。

3.3.3 长期试验

长期试验条件为温度 30±2℃，相对湿度 65%±5%RH。在第 0、第 3、第 6、第 9 和第 12 个月，分别取样测定多糖含量，观察外观性状。长期试验检查结果见表 9。

表 9 长期试验检查结果

时间（月）	茯苓多糖含量（%）	外观变化
0	95.0	无变化
3	94.5	无变化
6	94.0	无变化
9	93.5	无变化
12	93.0	无变化

结果分析：放置 12 个月后，茯苓多糖制剂在长期试验条件下，多糖含量缓慢下降，从 95.0% 下降到 93.0%，外观性状保持较好，没有明显的吸湿性和结块现象。这表明该制剂在常温条件下具有较好的稳定性，可满足一定时间内储存和使用要求。

4 结论与讨论

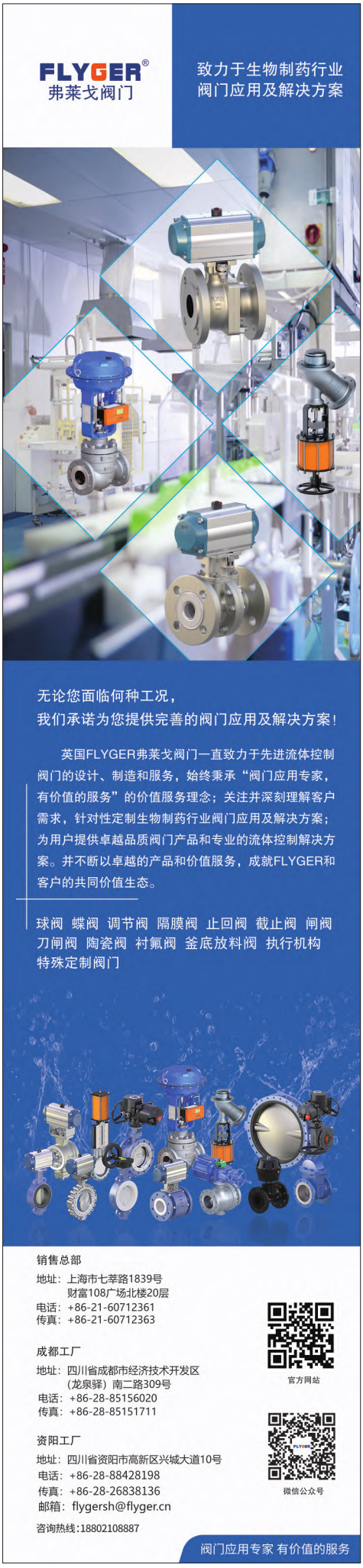
茯苓多糖的最佳提取工艺为：料液比控制在 1:20，提取温度 80℃，提取时间 3 h，提取次数 3 次。该提取工艺具有操作简单、提取率高、稳定性好等优点。制剂稳定性研究发现：高温和高湿会引起多糖含量下降，外观性状发生变化。因此，在存放和运输时，应对温湿度加以控制。

参考文献：

[1] 杨宇 . 《茯苓质量评价及其醇提物调节脂代谢紊乱的质量标志物研究》[D]. 云南中医药大学，2023.

[2] 王进，彭浩，解修超，等 . 响应曲面法优化茯苓多糖微波辅助提取工艺 [J]. 安康学院学报，2024,36(4):122-128.

[3] 尚海宾，宋国清 . 丹参提取液浓缩工艺技术改进 [J]. 化工与医药工程，2015,36(05):41-43.



广告