

参柏洗剂的制备工艺

陈卉^{1,2}, 施之琪², 王洛临^{2*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510405;

2. 广东省中医药工程技术研究院, 广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095)

[摘要] **目的:**优选参柏洗剂的制备工艺,为该制剂的工业化生产提供参考。**方法:**采用水蒸气蒸馏法提取松叶、荆芥中挥发油,通过单因素试验优选提取工艺。以总生物碱质量浓度和固形物总量的综合评分为指标,通过正交试验考察加水量、提取时间、提取次数对参柏洗剂水提工艺的影响,并通过单因素试验筛选浓缩工艺及成型工艺。**结果:**最佳制备工艺条件为加14倍量水提取5 h,收集含挥发油蒸馏液,加0.1%聚山梨酯80增溶;药渣与其余4味药材加8倍量水煎煮3次,每次1 h,常压或减压浓缩,加入0.3%苯甲酸钠防腐,冷藏48 h除杂。总生物碱质量浓度不低于 $195 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,保留率不低于85%。**结论:**该工艺稳定可行,可为参柏洗剂的规范化生产提供实验依据。

[关键词] 参柏洗剂;苦参碱;氧化苦参碱;成型工艺;防腐剂;乳化剂

[中图分类号] R283.6;R284.1;R284.2;R944.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0009-04

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015130009

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150512.1119.007.html>

[网络出版时间] 2015-05-12 11:19

Preparation Technology of Shenbo Lotion CHEN Hui^{1,2}, SHI Zhi-qi², WANG Luo-lin^{2*} (1. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China*; 2. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Research and Development, Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangzhou 510095, China*)

[Abstract] **Objective:** To provide theoretical and experimental basis for industrial production of Shenbo lotion by optimizing its preparation technology. **Method:** Volatile oil from pine needle and Schizonepetae Herba was extracted by steam distillation method, extraction technology of volatile oil was optimized through single-factor test. With comprehensive score of total alkaloids concentration and solid content as index, orthogonal design was optimized water extraction process by taking water consumption, extracting times and time as factors, concentrating and molding processes were screened by single factor test. **Result:** Optimum preparation process was as following: extracted 5 h with 14 times the amount of water, added 0.1% polysorbate 80 to solubilizing oil. The rest medical materials with herb residue were boiled thrice with 8 times the amount of water, 1 hour for each time. Filtrate was concentrated by atmospheric pressure or reduced pressure, then adding 0.3% sodium benzoate as preservative and purifying after refrigerating 48 hours. The concentration of total alkaloids was no less than $195 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and its retention rate was no less than 85%. **Conclusion:** This preparation technology is stable and feasible, it serves as a theoretical basis for standardized production of Shenbo lotion.

[Key words] Shenbo lotion; matrine; oxymatrine; molding process; preservative; emulsifier

参柏洗剂为广东省第二中医院的外用经验方,由苦参、松叶、荆芥等6味药组成,具有清热祛湿、杀

菌止痒的功效,主治湿热蕴结型湿疮,临床主要用于治疗湿疮、体癣、牛皮癣、毛囊炎等皮肤性疾病。经

[收稿日期] 20140923(009)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2012A030100017)

[第一作者] 陈卉,在读博士,从事中药制剂研究, Tel:13631433952, E-mail:chenhuicherry1987@163.com

[通讯作者] *王洛临,主任中药师,从事中药制剂研究, Tel:020-83501292, E-mail:13925086031@163.com

多年临床应用并验证,该洗剂使用方便、疗效良好,尚未发现明显不良反应,年使用量 > 15 000 支。苦参为方中君药之一,松叶、荆芥为方中臣药。现代药理学研究表明苦参中苦参碱、氧化苦参碱是抗菌的活性成分^[1-3];荆芥挥发油具有明显抗炎、镇痛作用,抑制绿色木霉、链格孢属类真菌、长穗双极菌、枝孢霉等真菌菌丝生长的作用确切^[4-6];药用松叶的挥发油也具有良好的抗菌活性^[7-9]。本实验采用水蒸气蒸馏法提取松叶、荆芥挥发油,药渣与苦参等药材进行水煎煮法提取,以苦参碱、氧化苦参碱总含量及固形物总量为综合评价指标,通过正交试验优选参柏洗剂的水提工艺,通过单因素试验考察浓缩工艺和成型工艺,为该制剂的规模化生产提供参考。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),XS205 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),JJ300 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂),DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司),LXJ-IIB 型离心机(上海安亭科学仪器厂),DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。苦参等药材均购自广东省药材公司中药饮片厂,经广东省中医药工程技术研究院王洛临主任中药师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关规定;苦参碱、氧化苦参碱(含 $C_{15}H_{24}N_2O_2$ 以 92.3% 计)对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110805-200508,110780-201007),乙腈、无水乙醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

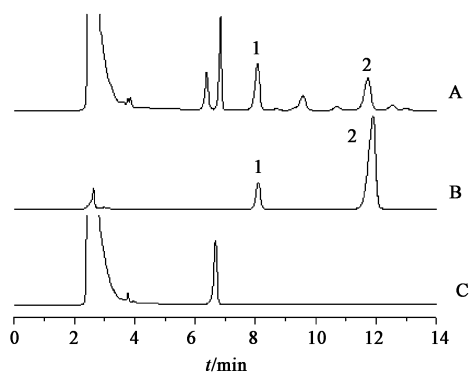
2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 在预试验基础上,测得挥发油相对密度 < 1.0。按处方比例称取松叶、荆芥 2 味药材共 150 g,以挥发油提取量为评价指标,照《中国药典》2010 年版一部附录 X D 挥发油测定法第一法提取,采用单因素试验考察浸泡时间、提取时间和加水量对提取工艺的影响,确定挥发油最佳提取工艺为加 14 倍量水回流提取 5 h,以水为接收液收集挥发油。

2.2 固形物总量的测定 取各浓缩液 25 mL,置于 105 °C 烘箱干燥至恒重,取出,干燥器中放冷,精密称定质量,计算固形物总量。

2.3 苦参碱、氧化苦参碱的含量测定

2.3.1 色谱条件 Spherisorb® NH₂ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80:10:10),检测波长 220 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按氧化苦参碱峰计算不低于 2 000。见图 1。



A. 供试品; B. 对照品; C. 阴性样品; 1. 苦参碱; 2. 氧化苦参碱
图 1 参柏洗剂 HPLC

Fig. 1 HPLC of Shenbo lotion

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱、氧化苦参碱对照品适量,分别置于 25 mL 量瓶中,加乙腈-无水乙醇(80:20)混合液稀释至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 389.2, 387.3 mg·L⁻¹ 的对照品贮备液。分别精密吸取苦参碱、氧化苦参碱对照品贮备液 1, 5 mL, 置于同一 10 mL 量瓶中,加乙腈-无水乙醇(80:20)混合液稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。

2.3.3 标准曲线的绘制 精密量取混合对照品溶液 1, 2, 4, 8, 12, 16 μL, 按 2.3.1 项下条件进样,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得苦参碱和氧化苦参碱的回归方程分别为 $Y = 0.5284X - 0.1729$ ($r = 0.9999$), $Y = 0.6011X + 1.1832$ ($r = 0.9999$), 线性范围依次为 38.92 ~ 622.72, 193.65 ~ 3 089.4 ng。

2.3.4 供试品溶液的制备 精密吸取各提取浓缩液 5 mL, 置于具塞锥形瓶中, 60 °C 真空干燥, 加入浓氨试液 0.5 mL 和三氯甲烷 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(250 W, 33 kHz) 30 min, 放冷, 加三氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL 加在中性氧化铝柱(100 ~ 200 目, 5 g, 内径 1 cm) 上, 依次加三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3) 混合液各 20 mL 洗脱, 合并洗脱液, 回收溶剂至干, 残渣加无水乙醇适量使溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.5 阴性样品溶液的制备 按处方比例称取除苦参外的各味药材 150 g, 加 10 倍量水煎煮 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 常压浓缩并加水定容至 500 mL, 按 2.3.4 项下方法制备阴性样品溶液。

2.4 水提工艺优选 选择加水量、提取时间、提取次数为考察因素, 以总生物碱质量浓度(苦参碱和

氧化苦参碱总质量浓度)和固形物总量的综合评分为指标,加权系数分别为 0.6,0.4。按处方比例称取苦参、松叶、荆芥等药材共 180 g,共 9 份,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行提取,滤过,合并滤液,常压浓缩并定容至 500 mL。试验安排及结果见表 1,方差分

析见表 2。由直观分析可知,各因素对水提工艺的影响顺序为 $C > B > A$ 。方差分析表明因素 C 对水提工艺有极显著影响,因素 A, B 则均无显著性影响。综合考虑,最佳工艺条件选择 $A_1B_1C_3$,即加 8 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h。

表 1 参柏洗剂水提工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of water extraction technology for Shenbo lotion

No.	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取数/次	D(空白)	总生物碱/mg·L ⁻¹	固形物总量/g	综合评分/分
1	8	1.0	1	1	164.0	17.28	61.52
2	8	1.5	2	2	207.1	24.81	81.31
3	8	2.0	3	3	222.5	30.42	91.95
4	10	1.0	2	3	177.6	25.95	75.41
5	10	1.5	3	1	243.1	31.91	98.84
6	10	2.0	1	2	153.2	19.96	62.11
7	12	1.0	3	2	235.2	32.87	98.06
8	12	1.5	1	3	167.4	21.20	67.12
9	12	2.0	2	1	179.6	26.97	77.16

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

变异来源	SS	MS	F	P
A	10.61	5.30	1.29	>0.05
B	46.93	23.47	5.72	>0.05
C	1 611.66	805.83	196.32	<0.01
D(误差)	8.21	4.10	1.00	

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

2.5 验证试验 按处方比例称取松叶、荆芥药材 3 份,每份 60 g,分别加 14 倍量水,加热回流提取 5 h,收集挥发油,测定挥发油体积分别为 0.65,0.64,0.65 mL。按处方比例称取苦参等其余 4 味药材 3 份,每份 120 g,分别与上述蒸馏过的药渣置容器内,按最佳工艺条件进行水提,滤过,滤液浓缩并定容至 500 mL,结果总生物碱质量浓度依次为 240.6,229.3,233.3 mg·L⁻¹,固形物总量分别为 31.68,32.64,32.08 g。计算挥发油、固形物平均得率分别为 1.08%,17.85%,表明优选的工艺参数稳定可行。

2.6 浓缩工艺考察 准确量取水提液 2 份(总生物碱质量浓度 47.508 mg·L⁻¹),每份 1 L,1 份置旋转蒸发仪中减压浓缩并定容至 200 mL(浓缩条件 -0.085 MPa,50~60℃),另外 1 份常压浓缩并定容至 200 mL,测定浓缩液的相对密度及其总生物碱质量浓度,计算浓缩过程总生物碱保留率。精密吸取

提取液 25 mL,置于具塞锥形瓶中,按 2.3.4 项下自“60℃真空干燥”开始制备样品溶液。精密吸取减压浓缩液、常压浓缩液各 5 mL,同法制备 2 种浓缩液的供试品溶液。结果减压和常压浓缩液相对密度(20℃)分别为 1.034,1.036;总生物碱质量浓度分别为 205.78,205.23 mg·L⁻¹;总生物碱保留率分别为 86.63%,86.40%。说明提取液采用常压浓缩或减压浓缩,其生物碱总含量无明显差异。

2.7 成型工艺考察

2.7.1 乳化剂的种类及用量 聚山梨酯 80 为《中国药典》2010 年版二部收载的用作增溶剂和乳化剂的药用辅料,亲水亲油平衡值(hydrophile lipophilic balance,HLB)15,无毒、无刺激性,故选择其作为本品的乳化剂。取含挥发油的蒸馏液 100 mL(相当于松针和荆芥各 60 g 的提取量),搅拌下逐步加入聚山梨酯 80,直至上部挥发油滴均匀分散为止,结果折算成制剂每 1 L 中加入聚山梨酯 80 用量 1 g。

2.7.2 防腐剂用量 选择苯甲酸钠为防腐剂,参照《中国药典》2010 年版一部附录 I J 合剂项下有关苯甲酸钠用量的要求,确定苯甲酸钠用量 0.3%。

2.7.3 洗剂的澄明度 取相当于处方量药材 360 g 的浓缩液,浓缩至约 850 mL,加入苯甲酸钠 3 g,加热至沸并保持微沸 30 min,放冷,加入提取挥发油后的蒸馏液 100 mL(加有聚山梨酯 80 1 g,搅拌使挥发油滴均匀分散),加水至 1 L,混匀,均分为 4 份,常温(25~27℃)静置 48 h,其中 2 份分别采用 150,

200目筛网滤过,其余2份分别采用离心机以不同转速($1\ 500, 3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心15 min,取滤液或离心液分别装入小瓶中,常温放置7 d,检测药液pH均为4.75,各除杂药液常温存放7 d后均有可摇散的沉淀(分级分别为4+,3+,2+,1+),符合洗涤剂的要求;但就除杂效果而言,离心的除杂效果优于滤过,且转速越高除杂效果越好,故生产中可根据条件采用不少于200目筛网滤过除杂或不低于 $1\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心除杂。

取相当于处方量药材180 g的浓缩液,浓缩至约420 mL,加入苯甲酸钠1.5 g,加热至沸腾并保持微沸30 min,放冷,加入提取挥发油后的蒸馏液50 mL(加有聚山梨酯80 0.5 g,搅拌使挥发油滴均匀分散),加水至500 mL,混匀,均分为2份,分别常温($25\sim 27\ ^\circ\text{C}$)静置48 h和冷藏($4\sim 7\ ^\circ\text{C}$)48 h,于 $1\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取离心液,分别装入小瓶中,常温放置7 d,结果药液均有可摇散的沉淀产生,分级依次为2+,1+。符合洗涤剂的要求,但冷藏除杂效果优于常温除杂,故选择采用冷藏除杂工艺。

3 讨论

采用单因素试验考察挥发油提取工艺时,发现浸泡时间对挥发油的提取无明显影响,故选取不浸泡进行挥发油提取;挥发油提取6 h与5 h的收油量相比已基本无增加,提取5 h的累积挥发油得率已达99.27%,故确定提取时间5 h;随加水量的增大,挥发油提取率逐渐增加,在14~16倍量时增加缓慢,故确定加水量14倍。

参考《中国药典》2010年版一部苦参项下含量

测定中供试品溶液的制备方法,采用HPLC测定苦参碱和氧化苦参碱的含量,结果二者色谱峰对称性良好,与相邻色谱峰的分离度 >1.5 ,阴性样品对本测定无干扰。提取液经浓缩、除杂工艺处理后,总生物碱质量浓度不低于 $195\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,保留率不低于85%。通过留样观察,制备的样品各项指标均符合要求,说明该工艺合理可行。

[参考文献]

- [1] 张翅,马悦,高慧敏,等.苦参化学成分研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(4):205-214.
- [2] 顾关云,肖年生,蒋昱.苦参的化学成分、生物活性和药理作用[J].现代药物与临床,2009,24(5):265-271.
- [3] 苗抗立,张建中,董颖,等.苦参的化学成分及药理的研究进展[J].天然产物研究与开发,2001,13(2):69-73.
- [4] 劳业兴,张冰若,苏薇薇.松针化学成分及药理研究进展[J].中药材,2003,26(9):681-683.
- [5] 张志琴,肖培云,刘光明.松针的化学成分和药理活性研究进展[J].现代药物与临床,2011,26(4):278-281.
- [6] 刘东彦,石晓峰.药用松针的研究进展[J].中药材,2012,35(10):1701-1705.
- [7] 赵立子,魏建和.中药荆芥最新研究进展[J].中国农学通报,2013,29(4):39-43.
- [8] 泽仁拉姆,普珍,卓玛东智,等.荆芥的化学成分和药理作用[J].现代医药卫生,2014,30(2):215-217.
- [9] 周丽娜.荆芥的化学成分及药理作用研究[J].中医药学刊,2004,22(10):1935,1945.

[责任编辑 刘德文]