

正交试验优选黄连紫草膏的成型工艺

刘丽花, 翟来超, 陈天朝*

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 优选黄连紫草膏的成型工艺。方法: 以阿魏酸、小檗碱及黄柏碱释药速率的综合评分为指标, 采用 HPLC 测定指标成分含量, 选取羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、甘油、丙二醇及氮酮用量为考察因素, 通过正交试验和体外释药性考察, 筛选黄连紫草膏的最佳配方。结果: 最佳配方为 CMC-Na 4%, 甘油 8%, 丙二醇 6%, 氮酮 4%。结论: 优选的成型工艺稳定性良好, 影响体外释药的主要因素为基质用量, 其次为甘油、丙二醇用量, 而氮酮的影响较小。

[关键词] 成型工艺; 正交试验; 体外释药

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0032-03

[doi] 10.11653/syjf2013110032

Optimization of Forming Technology for Huanglian Zicao Ointments by Orthogonal Test

LIU Li-hua, ZHAI Lai-chao, CHEN Tian-chao*

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize forming technology of Huanglian Zicao ointments by orthogonal test. **Method:** With release rate of ferulic acid, berberine and phellodendrine as comprehensive evaluation index, the content of indicators ingredients was determined by HPLC, the amount of CMC-Na, glycerol, propylene glycol and azone were selected as factors, prescription of Huanglian Zicao ointments was investigated by orthogonal test and *in vitro* release properties test. **Result:** The best formula was as following: CMC-Na 4%, glycerin 8%, propylene glycol 6%, azone 4%. **Conclusion:** This optimized forming technology had good stability, the main factor of *in vitro* release was matrix dosage, followed by the dosage of glycerin and propylene glycol, and azone had less effect.

[Key words] forming technology; orthogonal test; *in vitro* release

黄连紫草膏为河南中医学院第一附属医院院内制剂, 由黄连、黄柏、地黄、当归、紫草 5 味药材组成, 常用于治疗烧伤、烫伤、湿疹等疾病。为提高患者顺应性, 克服油腻、污染衣物等缺点, 拟将其改制成凝

胶剂。在单因素试验筛选凝胶基质基础上, 通过正交试验和体外释药特性考察, 筛选黄连紫草膏的最佳配方, 为其临床推广提供实验依据。

1 材料

LC-10A TVP 型高效液相色谱仪(日本岛津), CP2250D 型电子天平(德国 Sartorius 公司), DS-671 型电子称(日本寺冈)。

盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110713-200208), 盐酸黄柏碱、阿魏酸对照品(四川维克奇生物制品公司, 批号分别为 100409, 100409), 卡波姆 934P (CP934P)、羟丙甲基纤维素(HPMC)、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)均购于美国陶

[收稿日期] 20121119(005)

[基金项目] 河南中医学院院级课题(2008kj14)

[第一作者] 刘丽花, 本科, 药师, 从事中药制剂及临床药学研究, Tel: 13676986452, E-mail: liulihua321@sohu.com

[通讯作者] * 陈天朝, 主任药师, 从事中药剂型研究, E-mail: 364031558@qq.com

氏公司,乙腈为色谱纯,聚山梨酯-80(tween-80)、甘油、氮酮为药用级,其他试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 溶出方法及条件的拟定 在预试验基础上,拟定溶出条件为 37 ℃,转速 100 r·min⁻¹,采用转篮法,将凝胶装入透析袋中,两头扎紧,以 0.5% tween-80 和 10% 乙醇溶液为接收液,拟定取样时间点为 0.5,1,3,6,9,12 h。于每组样品溶出液中精密吸取 5 mL,并同时补加等体积空白接收液。

2.2 指标性成分含量的测定

2.2.1 色谱条件^[3] Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-50 mmol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(B)梯度洗脱(0~21 min,10.5% A;21~35 min,11.5% A;35~55 min,25.5% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 284(黄柏碱)、316(阿魏酸)、345 nm(小檗碱),进样量 10 μL。

2.2.2 标准曲线的制备 分别精密称定盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、阿魏酸对照品 2.56,2.32,2.14 mg,置 50 mL 量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。分别精密量取混合对照品溶液 0.01,0.1,0.5,1,2 mL 定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样 10 μL,以质量浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得线性方程为 $Y_{\text{盐酸小檗碱}} = 27\ 289X + 35\ 114 (r = 0.999\ 9)$,线性范围 0.051 2~10.24 mg·L⁻¹; $Y_{\text{阿魏酸}} = 25\ 826X + 18\ 186 (r = 0.999\ 8)$,线性范围 0.042 8~8.56 mg·L⁻¹; $Y_{\text{黄柏碱}} = 6\ 999.1X + 269.56 (r = 0.999\ 8)$,线性范围 0.046 4~9.28 mg·L⁻¹。

2.2.3 稳定性试验 取同批样品溶液于某一时间点内的溶出液,分别于 0,1,2,4,8,12,24 h 进样 10 μL,结果盐酸小檗碱、黄柏碱、阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 0.55%,2.69%,4.64%,表明样品在 24 h 内稳定。

2.2.4 重复性试验 取同批样品溶液于某一时间点内的溶出液,连续进样 10 μL,结果盐酸小檗碱、黄柏碱、阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 0.30%,2.80%,2.59% (n=6),表明该方法重复性良好。

2.2.5 阴性对照考察 取处方量药材缺少黄连、黄柏、当归,经提取精制制备凝胶,取凝胶 0.557 5 g,按溶出释放方法制备样品液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样 10 μL,记录色谱图,表明阴性无干扰。

2.3 释药曲线的绘制 计算各时间点的累计释药量 Q,以 Q 为纵坐标,以 t_{1/2} 为横坐标,绘制 Q-t_{1/2} 曲

线,回归方程即为 Higuchi 方程,直线斜率即为释药速率(J)。

$$0.5\text{ h}: Q_1 = C_1 DV_{200};$$

$$1\text{ h}: Q_2 = C_2 DV_{200} + V_5 C_1 D;$$

$$3\text{ h}: Q_3 = C_3 DV_{200} + V_5 (C_1 + C_2) D;$$

$$6\text{ h}: Q_4 = C_4 DV_{200} + V_5 (C_1 + C_2 + C_3) D;$$

.....

$$\text{累积释放量 } Q_n = C_n DV_{200} + V_5 (C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_{n-1}) D$$

$$\text{累积释放率} = \text{累积释放量} / \text{投料量} \times 100\%$$

其中 Q_n 为各指标成分在该取样时间点的释放量,C_n 为各指标成分在该取样时间点的浓度,D 为样品的稀释倍数,V₂₀₀ 为经脱气处理的溶出介质的体积 200 mL,V₅ 为每次取出释放液的体积 5 mL。

2.4 层次分析法计算权重系数

2.4.1 建立评价目标树^[5-6] 对成型工艺的评价通过盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、阿魏酸的释药曲线斜率 3 个次级指标作为评价标准。

2.4.2 构成两两比较优先矩阵 比较同一层次目标的相对重要性,并构成两两比较矩阵。在各项指标两两比较判断矩阵中,各指标成分的评分标准见下表。根据处方中各药物在临床药效中发挥君、臣、佐、使的作用,目标树中 3 项目标成对比较的判断优先矩阵如下,见表 1。计算各指标成分的初始权重系数。

表 1 各项目标成对比较判断优先矩阵

目标	盐酸小檗碱	盐酸黄柏碱	阿魏酸
盐酸小檗碱	1	3	3
盐酸黄柏碱	1/3	1	1
阿魏酸	1/3	1	1

初始权重系数公式 $w'_i = \sqrt[m]{a_{i1} a_{i2} a_{i3} a_{i4}}$, m=3, 结果 $w'_1 = \sqrt[4]{1 \times 3 \times 3 \times 5} = 2.080\ 0$,同理得 $w'_2 = 0.693\ 4$, $w'_3 = 0.693\ 4$ 。按公式 $W_i = w'_i / \sum_{i=1}^m w'_i$ 计算归一化权重系数 W_i。结果 W₁ = 2.590 0 / (2.080 0 + 0.693 4 + 0.693 4) = 0.6, W₂ = 0.2, W₃ = 0.2。一致性检验 λ_{max} = 3, CI = -0.333 3, CR = -0.370 4 < 0.1,满足一致性要求,表明所得权重系数有效。

2.5 正交试验设计^[1-2] 在单因素试验基础上,采用 CMC-Na 作为基质制备凝胶,并对凝胶累积释药速率影响较大的因素进行筛选,因素水平见表 2。各水平凝胶为 100 g,取实验组 CMC-Na 适量,加入水中,充分溶胀,再加入药材提取物、甘油、丙二醇及

氮酮,充分搅拌,即得。按处方中不同加入量制备 9 组凝胶,以小檗碱、阿魏酸及黄柏碱释药速率的综合评分(J)为考核指标,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 2 黄连紫草膏配方优选正交试验因素水平

水平	A CMC-Na/g	B 甘油/g	C 丙二醇/g	D 氮酮/g
1	4	7	2	0
2	5	8	4	2
3	6	9	6	4

表 3 黄连紫草膏配方优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	小檗碱 (J_1)	黄柏碱 (J_2)	阿魏酸 (J_3)	综合指标 (J)
1	4	7	2	0	394.10	35.430	14.522	246.450
2	4	8	4	2	392.18	41.184	9.788	245.502
3	4	9	6	4	357.33	39.975	14.573	225.308
4	5	7	4	4	393.60	30.549	18.645	245.999
5	5	8	6	0	441.95	39.354	25.958	278.232
6	5	9	2	2	330.68	39.339	16.930	209.662
7	6	7	6	2	287.19	13.787	15.872	178.246
8	6	8	2	4	290.40	25.868	18.970	183.208
9	6	9	4	0	210.62	27.783	13.824	134.693
K_1	239.087	226.898	213.107	219.792				
K_2	244.631	235.648	208.732	214.470				
K_3	168.716	189.888	230.595	218.173				
R	75.915	45.760	21.864	5.322				

表 4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	10 745.992	2	240.67	<0.05
B	3 540.307	2	79.29	<0.05
C	803.018	2	17.98	>0.05
D(误差)	44.651	2	1.00	

由直观分析可知,影响体外释药的主要因素为 A,其次为 B, C,而 D 因素影响较小,配方以 $A_1B_2C_3D_1$ 为佳。以极值最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明 A, B 因素对成型工艺有显著影响, C 因素则无显著影响,优选的配方为 CMC-Na 4%,甘油 8%,丙二醇 6%,氮酮 4%。

3 讨论

本研究采用新型制剂工艺对医院老传统制剂进行二次研究,摒弃原准备工艺,选择了凝胶剂型,结合正交试验以最终药物的释药速率作为评价指标,不失为一种较好的方法,对今后的剂型改革有一定的指导意义,在筛选组方时,较多的获得信息,是解决中药复方制剂优劣的重点,但也无须非常严格地对任何单一的指标进行测定,要尊重处方是个有机统一的整体原则。

[参考文献]

- [1] 曾祖平,何薇,杜雯,等. 正交设计法优选芩柏凝胶基质配方[J]. 中成药,2007,29(6):833.
- [2] 段晓颖,闫艳仓,高卫芳,等. 乳疾宁胶囊成型工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(4):4.
- [3] 刘丽花,翟来超,陈天朝. 均匀设计优选黄连紫草膏中黄连、黄柏、当归水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):33.
- [4] 任爱农,卢爱玲,田耀洲. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(4):372.
- [5] 王晖,陈丽,陈垦,等. 多指标综合评价方法及权重系数的选择[J]. 广东药学院学报,2007,23(5):583.
- [6] 杨铭,周昕,谢瑞芳,等. 用层次分析法结合 CRITIC 法研究复方自身清颗粒提取工艺的多指标权重[J]. 药学服务与研究,2009,9(1):36.

[责任编辑 仝燕]