

丹黄凝胶提取物的溶解性能考察

李俊松¹,陈新民¹,陈丽华²,彭稳稳¹,李文^{3*}

(1. 南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室,南京 210029;

2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004; 3. 南京市中医院,南京 210001)

[摘要] 目的:考察丹黄凝胶提取物及其指标成分大黄酚和小檗碱在外用制剂常用溶媒中的溶解性,同时测定提取物中大黄酚和小檗碱的油水分分配系数。方法:运用沉淀法、指标成分溶解量法测定提取物及其主要活性成分大黄酚和小檗碱的溶解性,采用摇瓶法测定提取物中大黄酚和小檗碱的油水分分配系数。结果:丹黄凝胶提取物及大黄酚和小檗碱在丙二醇中溶解性最好,溶解度分别为 8.25,60.17,353.01 mg·L⁻¹;提取物中大黄酚和小檗碱的油水分分配系数受 pH 影响较大。结论:丙二醇和乙醇能较好地溶解提取物及其活性成分大黄酚和小檗碱;适宜 pH 可使大黄酚和小檗碱具有一定的脂溶性和水溶性,有利于其透皮吸收。

[关键词] 丹黄凝胶;提取物;溶解性能;油水分分配系数

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)21-0037-03

Investigation of Dissolvability of Danhuang Gel Extract

LI Jun-song¹, CHEN Xin-min¹, CHEN Li-hua², PENG Wen-wen¹, LI Wen^{3*}

(1. Jiangsu Province Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Key Laboratory of Modern Preparation of

Treditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3. Nanjing Hospital of TCM, Nanjing 210001, China)

[Abstract] Objective: To investigate dissolvability of Danhuang gel extract and its active components (chrysophanol and berberine) in commonly used solvents in topical preparations, and to determine oil-water partition coefficient of chrysophanol and berberine in Danhuang gel extract. Method: Dissolvability of Danhuang gel extract and its index components (chrysophanol and berberine) were determined by precipitation method and dissolvability method, oil-water partition coefficient of chrysophanol and berberine were determined by shaking flask method. Result: Danhuang gel extract, chrysophanol and berberine had optimum solubility in propylene glycol, solubility of them were 8.25, 60.17, 353.01 mg · L⁻¹; Oil-water partition coefficients of chrysophanol and berberine in Danhuang gel extract were affected by pH. Conclusion: Danhuang gel extract and its index components could be better dissolved in propylene glycol and ethanol; Chrysophanol and berberine had certain fat-soluble and water-soluble in suitable pH, which was beneficial for transdermal absorption.

[Key words] Danhuang gel; extract; dissolvability; oil-water partition coefficient

丹黄凝胶为南京市中医院临床应用多年的制剂,由大黄、黄连、黄芩、丹参等 8 味中药组成,含有醌类、生物碱类和黄酮类等多种成分,临床上用于治疗痤疮。丹黄凝胶提取物是药材经提取、浓缩、干燥、粉碎所得的粉末,在凝胶剂制备过程中,提取物及其主要有效成分的基本理化性质决定了辅料的选

[收稿日期] 20120516(003)
[基金项目] 江苏省中医药局科技项目(LB09081)
[第一作者] 李俊松,博士,硕士生导师,从事中药制剂与炮制研究,Tel:025-86798281,E-mail:lijunsong1964@163.com
[通讯作者] *李文,主任中药师,从事中药制剂与新药研究,Tel:025-52275118,E-mail:njzyliwen@sohu.com

择,同时决定了其在皮肤内的转运速度及制剂的稳定性。因此,对提取物及其主要有效成分的基本性质考察是对药物释放性能和皮肤渗透性研究的基础,同时是开展药物处方设计和筛选的依据。本试验采用沉淀法和指标成分溶解量法考察丹黄凝胶提取物在外用制剂常用溶媒中溶解情况,同时对提取物中指标成分大黄酚和小檗碱的油水分分配系数进行测定,为丹黄凝胶剂处方设计及制备提供实验依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(Agilent 科技有限公司),AG285 型电子天平(Switzer Land 公司),PHS-3C 型精密 pH 计(上海康仪仪器有限公司),DZF-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),TDL80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器厂),异丙醇(国药集团化学试剂有限公司),磷酸二氢钠(上海荣润化工有限公司),三乙醇胺(上海凌峰化学试剂有限公司),正辛醇(成都市科龙化工试剂厂),丹黄凝胶提取物(自制,批号 100831-1),盐酸小檗碱、大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110713-200208,0796-200005),乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分含量测定^[1]

2.1.1 色谱条件 Kromasil 100-5C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.5% 三乙醇胺溶液(B)(磷酸调 pH 至 3.5)梯度洗脱(0~5 min,25%~33% A;5~12 min,33%~40% A;12~18 min,40%~80% A;18~28 min,80%~88% A;28~32 min,88%~25% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30℃,进样量 20 μL,大黄酚、小檗碱的检测波长分别为 254,265 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄酚、盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇溶解并配制成质量浓度分别为 88.40,115.00 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液,备用。

2.1.3 线性关系考察 精密吸取上述混合对照品溶液适量,将其稀释成 88.40,35.36,14.14,5.66,2.26,0.91,0.36 mg·L⁻¹ (大黄酚)和 115.00,46.00,18.40,7.36,2.94,1.18,0.47 mg·L⁻¹ (小檗碱)的系列混合对照品溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液 20 μL,按上述色谱条件检测。以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程大黄酚 $Y = 78.217X - 4.4946 (r = 0.9999)$,线性范围 0.36~88.40 mg·L⁻¹;盐酸小檗碱 $Y = 47.545X -$

2.3224 ($r = 0.9999$),线性范围 0.47~115.00 mg·L⁻¹。

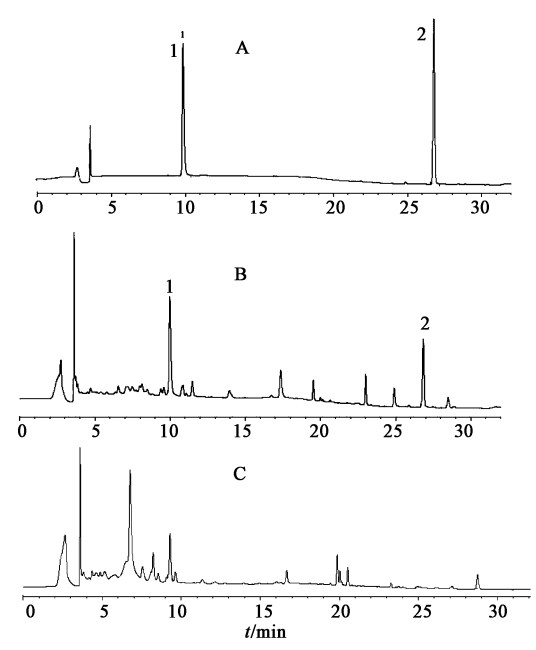
2.2 溶解性考察^[2-4]

2.2.1 沉淀法 取丹黄凝胶提取物 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,分别加入不同考察溶剂,即水、生理盐水、无水乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、丙二醇及不同 pH (5.03,6.01,7.02,8.05,9.09) 磷酸盐缓冲溶液(PBS)各 20 mL,超声 20 min,冷却至室温,定容,滤过,沉淀物于 50℃ 真空干燥箱中烘干恒重,按下式计算溶解量。

$$\text{溶解量} = (W_{\text{溶质加入量}} - W_{\text{未溶解溶质量}}) / V_{\text{溶剂体积}}$$

结果测得平衡溶解度分别为 6.29,5.98,3.53,1.76,1.92,8.25,5.91,6.15,6.28,6.13,5.63 g·L⁻¹。说明在不同溶剂中丹黄凝胶提取物的溶解度依次为丙二醇>水>生理盐水>无水乙醇>乙酸乙酯>异丙醇,而在不同 pH PBS 中溶解度随 pH 升高先增大后减小,在 pH 7.02 时达最大值。

2.2.2 溶解量法 分别精密量取上述沉淀法过滤后的上清液 2 mL,置 10 mL 量瓶,加甲醇 6 mL,超声 10 min,放至室温,用甲醇定容,离心(8 000 r·min⁻¹,10 min),取上清液 20 μL,按上述指标成分含量测定方法进行测定,色谱图见图 1,计算指标成分的溶解量。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照溶液; 1. 小檗碱; 2. 大黄酚
图 1 丹黄凝胶提取物 HPLC

结果在不同溶剂及不同 pH 的 PBS 中大黄酚溶解量分别为 2.07,1.70,46.67,39.54,29.86,60.17,

1.51,2.30,4.62,3.28,2.51 mg·L⁻¹;小檗碱溶解量依次为28.87,35.44,159.70,61.88,10.73,353.01,31.63,33.20,39.31,31.69,28.59 mg·L⁻¹。说明不同溶剂对大黄酚的溶解能力为丙二醇>无水乙醇>异丙醇>乙酸乙酯>水>生理盐水,对小檗碱的溶解能力为丙二醇>无水乙醇>异丙醇>生理盐水>水>乙酸乙酯;大黄酚和小檗碱在不同pH的PBS中溶解度均随pH升高先增大,pH 7.02时最大,之后开始下降。

2.2.3 油/水分配系数测定方法^[5-8] 选择正辛醇为油相,pH分别为5.05,6.00,6.99,8.03,9.04的PBS及蒸馏水为水相,取丹黄凝胶提取物0.2 g,溶解于被水饱和的正辛醇中,制成提取物的正辛醇溶液,精密吸取该溶液1 mL置于10 mL具塞塑料管中,分别加入用正辛醇饱和的水及系列pH的PBS 5 mL中,将此溶液置于(37±1)℃恒温台式摇瓶机中(转速100 r·min⁻¹)振摇7 h直至平衡,8 000 r·min⁻¹离心10 min,分别取油相0.5 mL和水相1 mL置5 mL量瓶中,用甲醇定容,4 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液20 μL,按上述含量测定方法进行测定,记录峰面积并计算浓度,并按下列公式计算表观油水分配系数。

$$P = \frac{C_o}{C_w}$$

其中P为分配系数;C_o为油相中药物质量浓度;C_w水相中药物质量浓度。

结果大黄酚的油水分配系数分别为11.15,70.45,68.75,50.46,49.85,52.25;小檗碱油水分配系数依次为2.17,1.15,1.54,5.17,6.17,8.85。说明大黄酚的油水分配系数随pH升高而减小,但变化不大,可能是在低pH条件下大黄酚主要以分子形态存在,亲脂性较强,随pH升高部分以离子态存在;而小檗碱油水分配系数随pH升高而增大,且变化较大,可能是酸性条件下小檗碱主要以离子态存在,亲水性较强,随pH升高逐渐转化为分子形态,亲脂性增强。药物要具有一定的脂溶性和水溶性是透皮吸收的关键所在,本试验结果表明大黄酚和小檗碱的极性受pH影响较大,因此,调节指标成分供药体系的pH可能增强其透皮效果。

3 讨论

有关混合物的溶解性能研究主要出现在食品、化工、化学等领域,研究的方法主要有沉淀法、电导率法、粒径法等,其原理主要是测定混合物质的饱和溶解度,而中药领域里有关提取物溶解性能研究的报道很少。本试验采用文献报道的沉淀法和指标成分溶解量法研究丹黄凝胶提取物在透皮制剂常用溶剂中的溶解情况,为类似的试验提供参考。

药物的油水分配系数可用来预测其透皮速率,本试验选择正辛醇作为油相,以水和不同pH的磷酸盐缓冲溶液为水相,采用摇瓶法进行试验,测定丹黄凝胶提取物中指标成分大黄酚和小檗碱的油水分配系数。结果表明大黄酚和小檗碱的极性受pH影响较大,提示调节指标成分供药体系pH,可使两者都具有一定的脂溶性和水溶性,从而增强其透皮效果。

[参考文献]

- [1] 陈新民,李文,李俊松,等. 均匀设计优选丹黄凝胶方的提取工艺[J]. 药学服务与研究, 2011, 11(1): 401.
- [2] 徐文,孙进,张婷婷,等. HPLC法测定冬凌草甲素的平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 沈阳药科大学学报, 2007,24(4):220.
- [3] 张霄潇,莫荣喜,管咏梅,等. 中药提取物溶解性能的几种考察方法比较[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 2996.
- [4] 管咏梅,张霄潇,朱卫丰,等. 雷公藤提取物溶解性能的研究[J]. 中成药, 2008, 30(4): 501.
- [5] 陆慧,贾晓斌,韦英杰,等. 灵芝三萜表观油水分配系数的测定及在体肠吸收[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(21):12.
- [6] 刘丹,奉建芳. 蟾酥中3种蟾毒配基组合物的表观溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. 中国中药杂志, 2008,33(11):1256.
- [7] 宋桂军,柳茵,冯芳,等. 替米沙坦油水分配系数的测定及其意义[J]. 药物分析杂志, 2007,27(11):1704.
- [8] 封传华,张国松,罗晓健,等. 柴胡皂苷昔提取物制剂前的评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):12.

[责任编辑 全燕]