

·制备工艺·

# 养阴生肌膜工艺条件的筛选

李喜香\*, 罗燕梅, 罗文蓉, 杨小源, 贾秀梅, 刘盈骅, 詹文强  
(甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050)

**[摘要]** 目的: 确定养阴生肌膜的制备工艺条件。方法: 用正交试验法优选提取和制膜的工艺条件。结果: 提取最佳工艺为  $A_3B_1C_3$ , 即加 12 倍量水, 每次煮 1.0 h, 煎煮 3 次。最佳成膜处方为  $A_1B_3C_2D_1$  即  $PVA_{0588}:PVA_{1788}$  为 4:1.5, 中药提取液 30 mL,  $CMC-Na$  为 0.25 g。结论: 为养阴生肌膜工艺条件的确定提供了科学的实验依据。

**[关键词]** 养阴生肌膜; 成型工艺; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)08-0043-03

养阴生肌散为我院的协定处方, 临床已使用多年, 系由黄柏、龙胆草等多味中药组成的复方制剂, 具有收敛止痛、去腐生肌等功效, 用于治疗口腔溃疡。本文以盐酸小檗碱提取量、浸膏得率等为考察指标, 采用正交试验设计, 对提取工艺条件进行了优化, 对成膜处方进行了优选。

## 1 仪器与材料

高效液相色谱仪, 包括 600 泵及其控制器、717 自动进样器、486 检测器、PC800 色谱工作站(美国 Waters 公司); ME240 双量程电子分析天平(瑞士 Mettler 公司)。盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0713-2001073); 养阴生肌膜由甘肃省中医院药剂科自制, 甲醇、乙腈均为色谱纯, 磷酸二氢钠为分析纯, 水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 盐酸小檗碱的含量测定<sup>[1]</sup>

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱:  $C_{18}$  (200 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-0.033 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (40:60); 流速: 1.0 ml·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 345 nm, 进样量: 10  $\mu$ L, 柱温: 24  $^{\circ}$ C。

**2.1.2 对照品溶液的配制** 精密称取在 105  $^{\circ}$ C 干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品(批号 714-9404 中检所提供) 适量, 加甲醇配成每 1 mL 中约含 8  $\mu$ g 的溶液, 作为对照品溶液。

**2.1.3 线性范围** 精密量取对照品溶液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 照上述色谱条件各进样 10  $\mu$ L, 记录色谱峰图。以峰面积  $A$  为纵坐标, 以进样量为横坐标, 得回归方程为:  $A = 1.337 \times 10^4 C + 2.899 \times 10^6$  ( $n = 6$ ),  $r = 0.99998$ 。结果表明, 盐酸小檗碱在 10.87~108.70  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> 浓度范围内线性关系良好。

**2.1.4 样品的含量测定** 将提取液滤过后, 精密吸

[收稿日期] 2008-12-22

[通讯作者] \* 李喜香, Tel: 13716784508

取 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 充分振荡后, 作为供试品溶液。按上述给定条件测定, 每次进样 10  $\mu$ L, 每个样品进样 3 次, 测得峰面积值, 计算含量。

**2.2 正交试验设计** 经过预实验后, 设计考察溶媒量(因素 A) 和提取时间(因素 B), 提取次数(C) 三因素, 每因素取三个水平, 设计  $L_9(3^4)$  正交试验, 见表 1 按处方比例称取黄柏等中药饮片, 按正交试验因素水平表提取, 加入 50% 乙醇, 静置 24 h, 滤过得澄清提取液, 将提取液置于蒸发皿中水浴蒸干, 得干浸膏重量, 结果见表 2。按上述色谱条件测定盐酸小檗碱的含量, 结果见表 2。

表 1 因素水平表

因素水平	A 加水量(倍)	B 煎煮时间(h)	C 煎煮次数
1	8	1	1
2	10	1.5	2
3	12	2	3

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验结果

试验号	因素水平				盐酸小檗碱提取量(mg)	干浸膏重量(g)
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	0.247 5	0.677 3
2	1	2	2	2	0.294 9	2.276 5
3	1	3	3	3	0.414 3	4.363 0
4	2	1	2	3	0.291 8	3.511 2
5	2	2	3	1	0.351 8	5.097 0
6	2	3	1	2	0.214 7	2.642 9
7	3	1	3	2	0.484 2	4.265 4
8	3	2	1	3	0.195 8	2.660 9
9	3	3	2	1	0.350 4	4.463 3
盐酸小檗碱提取量						
K1	0.956 7	1.023 5	0.658	0.949 7		
K2	0.858 3	0.842 5	0.939 7	0.993 8		
K3	1.030 4	0.979 4	1.250 3	0.901 9		
R	0.172 1	0.181	0.592 7	0.091 9		
干浸膏重量						
K1	7.316 7	8.453 9	5.981 0	10.237 1		
K2	11.250 7	10.033 9	10.251 0	9.184 8		
K3	11.389 6	11.469 2	13.724 9	10.535 0		
R	4.072 9	3.015 3	7.743 9	1.350 2		

**2.3 方差分析结果** 将计算出的 1~ 9 号试验盐酸

小檗碱提取量和干浸膏重量进行方差分析, 结果见表 3、4。以盐酸小檗碱提取量为考察指标, 由表 2 可知, 各因素的影响程度为 C> B> A, 由表 4 方差分析结果看出, C 因素对盐酸小檗碱提取量具有显著意义, A、B 因素影响较小, 无显著意义。以干浸膏重量为考察指标, 由表 2 可知, 各因素的影响程度为 C> A> B, 由表 4 方差分析结果看出, C 因素对干浸膏重量具有显著意义, A、B 因素影响较小, 无显著意义。提取工艺以  $A_3B_3C_3$  为佳, 综合考虑, 以中药提取液中有有效成份的含量为主要考察因素, 兼顾节约时间提高效率, 最终选用的提取工艺为  $A_3B_1C_3$ 。即加 12 倍量水, 每次煮 1.0 h, 煎煮 3 次。

表 3 盐酸小檗碱提取量方差分析表

误差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	0.005 0	2	0.002 5	3.571	> 0.05
B	0.005 9	2	0.003 0	4.280 0	> 0.05
C	0.060 2	2	0.030 1	43.000 0	< 0.05
误差 D	0.001 4	2	0.000 7		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19$$

**2.4 验证试验** 按最佳提取工艺制备 3 批样品, 测定盐酸小檗碱提取量转移率, 测定样品中盐酸小檗碱提取量和干浸膏重量, 验证结果见表 5。

表 4 干浸膏重量方差分析表

误差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	3.561 6	2	1.780 8	10.747 1	> 0.05
B	1.512 8	2	0.756 4	4.564 9	> 0.05
C	10.025 9	2	5.013 0	30.253 2	< 0.05
误差 D	0.331 4	2	0.165 7		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19$$

表 5 验证试验结果

试验号	盐酸小檗碱提取量(mg)	干浸膏重量(g)
1	0.415 9	4.509 4
2	0.425 2	4.464 7
3	0.420 0	4.410 9

结果表明, 3 次测定结果均优于试验中的任意一组, 说明该工艺稳定可行。

### 3 成膜处方的筛选<sup>[1]</sup>

通过预试验及资料查询, 选定聚乙烯醇(PVA<sub>0588</sub>/PVA<sub>1788</sub>)、CMC-Na 为成膜材料的基本处方, 采用  $L_9(3^4)$  正交表安排三因素三水平正交实验, 以膜剂的外观质量、粘附力、膜溶解时间为指标综合评价膜剂的成膜条件。按加权系数评分法进行综合评

分, 评定工艺的优劣。综合评分为总分 100 分来评定, 分数越高越好。评价指标及方法: 外观质量包括膜的柔软性、抗粒强度等, 质量由好到差分别计分 5 ~ 1, 为便于统计处理, 分别以质量最好者计为 10 分, 其余与其相比计算分值; 粘附力测定: 取药膜用少许水湿润两面后置于表层粘有橡皮层的两个不锈钢盘之间, 稍压紧 1 min 后在智能电子拉力试验机上测定拉开药膜与橡皮粘贴所需的力; 膜溶解时间测定: 药膜 1 cm<sup>2</sup> 用水湿润后轻压粘在溶出杯壁 (1 000 mL) 上, 粘贴处距杯底 (垂直) 7.5 cm, 与浆的上边缘同高, 加入 37 °C 的纯化水 1 000 mL, 搅浆速度为 50 r·min<sup>-1</sup>。记录膜剂全部溶解的时间<sup>[3]</sup>; 依据各指标的重要性确定其权重系数分别为: 0.3, 0.3, 0.4 加权。总分 = 粘附力 × 0.3 + 外观质量评分 × 0.3 + 膜溶解时间 × 0.4。结果见表 6, 表 7, 表 8。

表 6 因素水平表

因素水平	A PVA <sub>0588</sub> : PVA <sub>1788</sub>	B 药液 (mL)	C CMC-Na (g)
1	3: 75: 1: 75	30	0.25
2	4: 1: 25	40	0.50
3	4: 1: 5	50	0.75

表 7 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验结果

试验号	因素				外观质量评分	粘附力 (N)	膜溶解时间 (min)	综合评分
	1 A	2 B	3 C	4 D				
1	1	1	1	1	10	26.9	45.5	29.27
2	1	2	2	2	2	12.71	37.56	19.43
3	1	3	3	3	4	14.48	37.56	19.96
4	2	1	2	3	10	29.56	52.91	33.03
5	2	2	3	1	4	20.10	37.56	22.25
6	2	3	1	2	8	19.51	45.5	26.45
7	3	1	3	2	8	18.03	45.5	26.00
8	3	2	1	3	2	12.12	37.56	19.26
9	3	3	2	1	4	19.12	30.16	19.02
K1	68.66	88.30	74.98	70.54				
K2	81.73	60.94	71.48	71.88				
K3	64.28	65.43	68.21	72.25				
R	17.45	27.36	6.77	1.71				

表 8 方差分析表

误差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	54.94	2	27.47	101.17	< 0.01
B	143.52	2	71.76	265.78	< 0.01
C	7.64	2	3.82	14.15	> 0.05
误差 (D)	0.53	2	0.27		

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

由表 7、表 8 的结果分析看, B 因素对膜剂的制备具有显著性影响 ( $P < 0.05$ )。上述三因素对膜剂质量影响因素由大到小次序为 B > A > C。采用最佳工艺条件 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>, 即以 PVA<sub>0588</sub>: PVA<sub>1788</sub> 的配比为 4: 1.25; 中药提取液 30 mL, CMC-Na 为 0.25 g。

#### 4 讨论

黄柏为芸香科植物黄皮树或黄檗的干燥树皮, 前者习称“川黄柏”, 后者习称“关黄柏”, 具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮之功效, 其中含有多种生物碱, 以盐酸小檗碱为最主要成分。故选择以盐酸小檗碱提取量和干浸膏重量为观察指标。本实验结果为养阴生肌膜中有效成分的提取工艺条件提供了参考依据。

PVA 是常用的成膜材料, 通过对 PVA<sub>0124</sub>、PVA<sub>0486</sub>、PVA<sub>0588</sub>、PVA<sub>1788</sub> 几种膜材单独或混和使用的预试验发现, 采用 PVA<sub>0588</sub> 制成的膜剂, 其韧性、抗粒强度较好, 采用 PVA<sub>1788</sub> 可增加膜剂在口腔中的融化时间, PVA<sub>0588</sub> 和 PVA<sub>1788</sub> 混合使用可同时满足膜剂柔韧性和融化时间的要求。CMC-Na 易溶, 制备简单, 制成的药膜牢固, 不翻卷, 还可以增加膜剂的粘附性和柔韧性, 保证药物在患处有足够的停留时间, 保证局部较高的药物浓度, 充分发挥其疗效, 局部涂抹鱼肝油, 对久不愈合的慢性溃疡有较好的治疗作用, 本膜剂采用鱼肝油作脱膜剂, 既可将鱼肝油渗入药膜, 又能起到脱膜作用, 优于使用液体石蜡脱膜。

#### [参考文献]

- [1] 佟少辉, 李娜, 蔡玉华. 高效液相色谱法测定五柏参洗液中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国医药导报, 2008, 5 (12): 19.
- [2] 刘建平, 赵陆华, 李志强. 口腔溃疡复平膜剂的研究[J]. 中成药, 2003, 25(2): 102.
- [3] 王俏, 张望刚, 陈国神. 口腔溃疡膜的研制[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(6): 346.