

湿疹喷雾剂醇沉纯化工艺的研究

孙梦锦¹, 何 群^{1*}, 赵碧清¹, 杨志波², 陈本超¹

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208;

2. 湖南中医药大学第二中医临床学院, 湖南 长沙 410005)

[摘要] 目的: 研究湿疹喷雾剂水提醇沉纯化工艺最优条件。方法: 以苦参碱含量为评价指标, 采用正交设计试验法对湿疹喷雾剂的水提液醇沉工艺进行优化。结果: 徐长卿、苦参醇沉最优工艺参数为: 水提取液浓缩至药材: 溶剂(g: mL) 为 1: 0.57, 含醇量 70%, 醇沉时间 12 h。结论: 该醇沉纯化工艺合理、可行, 可为湿疹喷雾剂工业化生产中药材前处理提供依据。

[关键词] 湿疹喷雾剂; 正交设计; 苦参碱; 醇沉

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)12-0045-03

Study on Alcohol Precipitation Techniques for Eczema spray

SUN Meng-jin¹, HE Qun^{1*}, ZHAO Bi-qing¹, YANG Zhi-bo², CHEN Ben-chao¹

(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China; 2. The second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha Hunan 410005, China)

[Abstract] **Objective:** To study the optimal conditions of the water extracting and alcohol precipitation techniques for Eczema Spray. **Methods:** The content of Matrine were used as the assessment markers. The water extracting and alcohol precipitation techniques for Eczema Spray was optimized with orthogonal design experiment. **Results:** The optimal technological parameters of the alcohol precipitation techniques for *Cynanchum paniculatum* and *Radix sophorae flavescentis* were as follows: the ratio between medicinal materials and solvent is 1 to 0.57, the percentage of alcohol is 70%, and the time of alcohol precipitation is 12 hours. **Conclusion:** The optimized extract conditions are reasonable and feasible, and it provides foundation for pre-preparation of crude material of eczema spray's industrialize production.

[Key words] eczema spray; orthogonal design experiment; matrine; alcohol precipitation techniques

湿疹喷雾剂处方来源于湖南中医药大学第二中医临床学院欧阳恒及杨志波教授几十年治疗慢性湿疹的外用经验方^[1], 由徐长卿、苦参等 8 味中药组成, 经外洗汤剂改剂型而得。原工艺根据药材性质及临床需要, 将药材部分水提, 部分醇提^[2], 但发现水提部分放置期间析出较多沉淀, 致使喷雾时堵塞喷嘴, 故进行纯化处理, 以除去杂质使制剂稳定。目

前中药水提液纯化方法较多^[3-6], 经文献调研及预试验, 本方药材适合用乙醇沉淀法。为优选水提醇沉工艺参数, 本文以苦参碱含量为评价指标, 采用正交设计试验法筛选最佳工艺条件。

1 仪器与试药

Waters1525 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters2487 紫外检测器(美国 Waters 公司); Breez 工作站、G-R3A 数据处理器; C₁₈-ODS 柱(美国 Phenomenex 公司); AR1140/C 型电子分析天平(上海天平仪器厂)。流动相所用乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余所用试剂均为分析纯, 化学对照品苦参碱由中国药品生物制品检定所提供(批号: 110805-200507)。徐长卿、地骨皮、苦参购自湖南中医药大

[收稿日期] 2009-03-23

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划课题(2008BA153B042)

[通讯作者] * 何 群, Tel: 13974930514; E-mail: hequn88@126.com

学附属一医院。徐长卿:产地河北,为萝藦科植物徐长卿的干燥根及根茎;地骨皮:产地河南,为茄科植物枸杞或宁夏枸杞的干燥根皮;苦参:产地河北,为豆科植物苦参的干燥根。经我校周日宝教授鉴定均符合 2005 版中国药典一部有关规定。

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱法测定湿疹喷雾剂中苦参碱的含量^[2]

2.1.1 色谱条件 C₁₈-ODS 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈:水=30:70(水中含 0.08% 三乙胺,磷酸调 pH7 左右);检测波长:215 nm;流速:1.0 mL · min⁻¹;柱温:30 °C;理论塔板数不低于 3 000;灵敏度:2AUFS。按高效液相色谱法^[7]测定。

2.1.2 对照品溶液的制备 取苦参碱对照品(置盛有五氧化二磷的干燥器中干燥 48 h)约 5.4 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,再精密吸取 2 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 中苦参碱含量为 43.2 μg)。

2.1.3 供试品溶液的制备与测定 精密吸取不同条件所得药物水提醇沉浓缩液 5 mL,加水 15 mL,滴加浓氨水数滴调 pH 7~8,加氯仿振摇萃取 3 次(30, 20, 20 mL),收集氯仿液,回收氯仿,挥干,残渣加适量甲醇超声溶解,并定容至 25 mL,再精密吸取 2 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液 5 μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积积分值,计算苦参碱含量。

2.2 浸膏得率的测定 精密吸取浓缩液 20 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,置于干燥箱中 105 °C 干燥 3 h,移至干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定重量,计算即得。

2.3 正交设计试验优选醇沉工艺参数

2.3.1 基本实验方法 将徐长卿、苦参饮片分别适当碎断,按处方比例量称取约 50 g,精密称定,徐长卿先水蒸汽蒸馏,提取液另器保存,药渣与苦参等药材合并,加水浸泡后煎煮 2 次,过滤,合并滤液,浓缩至一定程度,加乙醇使含醇量达一定浓度,静置一定时间,过滤,滤液减压浓缩至约 100 mL,定容备用。

2.3.2 正交设计试验因素水平表的确定 根据预实验及参考文献报道^[8-9],针对乙醇沉淀纯化工艺中影响显著的 3 个因素进行考察,每个因素取 3 个

水平,即选择浓缩液中药材与药液比(A)、药液含醇量(B)、醇沉时间(C)为考察因素,采用 L₉(3⁴) 正交设计试验表安排实验。以苦参碱含量为考察指标优选提取工艺,见表 1;采用 DPS 统计软件进行方差分析,结果见表 2 3 4。

表 1 湿疹喷雾剂醇沉因素水平表

水平	因素		
	A 浓缩液中药材 与药液比(g: mL)	B 药液 含醇量(%)	C 醇沉 时间(h)
1	1: 0.57	70	12
2	1: 1.07	60	24
3	1: 3.2	50	48

表 2 湿疹喷雾剂醇沉正交设计实验结果

实验号	A	B	C	D	苦参碱 含量(mg/g)
1	1	1	1	1	4.153
2	1	2	2	2	2.604
3	1	3	3	3	3.777
4	2	1	2	3	1.93
5	2	2	3	1	1.209
6	2	3	1	2	1.954
7	3	1	3	2	0.823
8	3	2	1	3	1.084
9	3	3	2	1	0.699
	k1	10.534	6.906	7.191	6.061
苦参碱 含量	k2	5.093	4.897	5.233	5.381
	k3	2.606	6.43	5.809	6.791
	R	7.928	2.009	1.958	1.41

表 3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	
苦参碱 含量	A	10.960 3	2	5.480 2	33.063 9	0.029 4
	B	0.734 7	2	0.367 4	2.216 5	0.310 9
	C	0.675 1	2	0.337 5	2.036 4	0.329 3
	D(误差)	0.331 5	2	0.165 7		

表 4 苦参碱因素 A 各水平间 LSD 法多重比较方差分析

水平	均值	1	2	3
1	3.511 3		0.0320	0.0155
2	1.6977	1.8137		0.1301
3	0.8687	2.6427	0.8290	

注:下三角为均值差,上三角为显著水平

2.4 结果分析 由表 2~3 结果表明:以苦参碱含量为考察指标时,其中因素 B、C 的影响无统计意义(P > 0.05),B、C 因素可取任意水平;由于乙醇浓度过低,冰片等成分无法溶解,故 B 因素应取 1 水平;A 因素的影响有统计意义(P < 0.05),对 A 因素采用 DPS 软件,LSD 法进行水平间的方差分析(表 4)可

知, A 因素 1 水平与 2 水平、1 水平与 3 水平皆有统计意义, 2 水平与 3 水平无统计意义, 故 A 因素取 1 水平为佳。综合分析, 从经济、省时、节约、降低成本角度考虑, 可知水提醇沉工艺的较优方案为 $A_1B_1C_1$, 即浓缩液中药材与药液比例为 1: 0.57(g/mL), 药液含醇量为 70%, 醇沉时间为 12 h。由于优选的工艺包括在正交设计表安排的实验中, 所以不必进行工艺的验证实验。

3 讨论

水提液中杂质较多, 故采用水提醇沉, 以去除杂质, 提高制剂的稳定性。

一般来说, 生物碱在 50% ~ 70% 的醇溶液中溶解较好^[10-12], 故本实验设计的含醇量为 50%、60%、70% 浓度的乙醇。虽经 EXCEL 分析及 DPS 软件复核, 得出无统计学意义, 可取任意水平, 但由于乙醇浓度过低, 湿疹喷雾剂中冰片等成分难于溶解, 故选用 70% 浓度乙醇。

在苦参碱含量测定过程中, 曾采用湿疹喷雾剂其他文献中所述方法乙腈: 水 = 20: 80(水中含 0.08% 三乙胺, 磷酸调 pH7 左右); 检测波长: 215 nm, 但出峰时间短, 且样品峰未能与杂质峰很好地分开, 经反复探索, 采用此文中流动相, 峰型好, 且基线平稳, 阴性无干扰。

本文仅采用醇沉法去除杂质, 未与其他纯化方法比较; 仅以化学指标优化工艺条件, 而未与药效学指标对比, 关于这部分内容, 有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 李小莎, 欧阳恒, 杨志波. 湿疹的中医药外治概况[J]. 湖南中医学院报, 2004, 24(1): 60-61.
- [2] 付成效, 何群, 周军, 等. 湿疹喷雾剂的蒸馏与水提取工艺研究[J]. 湖南中医学院报, 2005, 25(5): 24-26.
- [3] 欧兴长, 杜启云. 中药制剂工艺中超滤法应用的进展和问题[J]. 水处理技术, 1999, 25(3): 125-129.
- [4] 杨南林, 程翼宇, 翟海斌. 一种用于中药纯化过程的近红外光谱分析新方法[J]. 化学学报, 2003, 61(5): 742-747.
- [5] 张萍, 吴月国, 刘骅. ZFC 1+ 1-11 澄清剂用于中药水提液澄清[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 113-115.
- [6] 胡勇. 壳聚糖用于澄清中药提取液的研究[J]. 江苏药学与临床研究, 2002, 10(2): 23-25.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 33, VID.
- [8] 王桂玲, 房建强, 赵雪梅, 王茹. 麦冬多糖水提醇沉工艺研究麦冬[J]. 泰州医学院学报, 2007, 28(8): 603-605.
- [9] 张风雷, 李立纪, 吴荣祖, 刘培儒. 正交法用于附子水提醇沉工艺研究[J], 2005, 27(7): 833-834.
- [10] 惠军, 惠寿年. 正交实验法优选无叶假木贼生物碱的提取工艺[J], 2004, 23(3): 57-59.
- [11] 付敏, 张莉, 韩建伟, 李娟. 正交实验优选狗皮膏贴的乙醇渗漉提取工艺[J], 2008, 11(1): 75-76.
- [12] 王玉芹, 李晓静, 法洋, 项乐源, 金东海, 李亚尊. 峨眉千里光生物碱乙醇提取工艺研究[J], 2004, 26(10): 附 2-附 3.