

壳聚糖在金灯山根口服液制备中的实验研究

刘瑾, 曹妹芳, 李世芳
(上海市曙光医院, 上海 200021)

摘要:目的: 研究壳聚糖澄清法在金灯山根口服液制备工艺中的除杂效果及保留有效成分的作用。方法: 以苦参碱作为评价指标, 通过正交试验优选澄清条件, 并与醇沉方法进行比较。结果: 澄清法所制备样品中的苦参碱含量 TLC 鉴别和稳定性与醇沉法比较均无显著性差异。结论: 壳聚糖澄清法具有简化工艺, 缩短生产周期, 提高制剂稳定性的优点, 可用于金灯山根口服液的制备。

关键词: 壳聚糖; 金灯山根口服液; 苦参碱

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)04-0005-03

Study on the Clarified Effect of the Preparation of JDSG Oral Liquid Used the Clarification of Chitosan

LIU Jin, CAO Meifang, LI Shifang

(Shanghai Shuguang Hospital, Shanghai 200021, China)

Abstract: Aim: To study the clarifications effect of removing the impurity and reserving the effective substances. Method: Select the best clarify condition. Compare the effect of clarification and alcohol-settled. Result: there is no significantly difference on content of Matrine, TLC-identification and stability between clarification and alcohol-settled. Conclusion: The clarification method provide better stability, lower cost and shorter production cycle.

Key words: Chitosan JDSG Oral liquid; Matrine

金灯山根口服液是根据著名中医喉科专家张赞臣的经验方“金灯山根汤”研制而成, 其处方由挂金灯、山豆根、牛蒡子、桔梗、射干、生甘草等六味中药制成, 金灯山根口服具有泻肺胃热毒的功效, 临床上用于咽喉部急性感染的治疗, 疗效确切。长期以来, 对该口服液的制备工艺一直采用传统的水提醇沉方法。近来, 絮凝澄清剂壳聚糖在中药水提液纯化中得到了应用, 不仅能保留较多的有效成分, 且澄清效果也较为肯定^[1]。为此将壳聚糖澄清法应用于金灯山根口服液的制备, 并对制备工艺进行了研究。同时将絮凝澄清法与水提醇沉法制成的两种成品在苦参碱的含量、主要成分的鉴别及稳定性方面进行比较研究。

1 实验材料

壳聚糖由华东理工大学提供; 硅胶 G 购于青岛海洋化工厂; 标准品: 苦参碱、牛蒡子苷、甘草酸单胺均购于中国生物制品检验所; 中药材均购于卢湾饮片厂; 其余试剂均为化学纯。

2 实验方法

2.1 1% 的壳聚糖的配制^[2] 取壳聚糖 1g, 加 1% 的醋酸溶液至 100ml, 放置过夜, 每隔一段时间搅拌一次, 直至溶解。

2.2 水提液的制备 按处方比例称取原药材, 加水煎煮两次, 第一次加水 10 倍量, 煎煮 45min, 第二次加水 8 倍量, 煎煮 30min。合并煎液, 滤过, 浓缩药液至规定量, 得水提液, 备用。

2.3 供试液中苦参碱含量测定方法^[3] 将水提液水浴加热至 75℃, 加入 1% 壳聚糖适量, 搅拌数分钟, 放置过夜, 滤过, 滤液配至每 ml 含生药 1.4g。精密吸取 10.0ml, 置 50ml 具塞三角烧瓶中, 加浓氨 1.5ml, 放置 1h。用氯仿萃取 4 次, 每次 20ml。合并氯仿液, 氯仿层加水 20ml 洗涤后, 减压回收至干。残余物用少量氯仿溶解, 移入 2ml 量瓶中, 加氯仿定容至 2ml, 供点样用。取供试液 3μl 于硅胶 C 薄层板上, 以苯-丙酮-乙酸乙酯-浓氨水(2:3:4:0.2) 为展开剂展开。取出晾干, 喷以改良碘化铋钾溶液显色。在室温晾干后, 将苦参碱斑点刮下, 倒入三角烧瓶中, 加入 10ml 95% 乙醇(含浓氨水 0.2ml), 振摇, 放

置 1h, 滤过并用 5ml 95% 乙醇(含浓氨水 0.1ml) 洗涤, 滤液收集于 50ml 具塞三角瓶中, 水浴蒸干。加 2×10^{-4} mol/L 溴麝香草酚蓝 pH7.6 的缓冲液(用 0.1mol/L 磷酸二氢钠溶液 50ml 加 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 42.4ml, 再加水 7.6ml, 用 pH 计校正 pH 至 7.6) 6.0ml 和氯仿 6.0ml, 密塞剧烈振摇 2min, 移入 50ml 分液漏斗中, 静置约 2h。待水层与氯仿层完全分离后, 分出氯仿层, 在 412nm 波长处进行测定, 并同时用溴麝香草酚蓝 pH7.6 缓冲液 6.0ml 加氯仿 6.0ml, 如上振摇后, 分出的氯仿层作为比色空白。

2.4 正交设计优选壳聚糖最佳澄清条件 根据表 1 所设计因素水平进行正交试验, 结果见表 2 表 3。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素		
	生药: 药液体积 (g/ml) (A)	pH 值 (B)	加入澄清剂 (ml/42g 生药) (C)
1	0.5: 1	3.8	3
2	1: 1	4.8	6
3	1.4: 1	5.8	9

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	苦参碱收率(mg/10ml)
1	1	1	1	1	5.37
2	1	2	2	2	5.55
3	1	3	3	3	6.07
4	2	1	2	3	4.97
5	2	2	3	1	5.57
6	2	3	1	2	5.77
7	3	1	3	2	4.75
8	3	2	1	3	5.41
9	3	3	2	1	5.13
K1	16.99	15.09	16.55	16.07	
K2	16.31	16.53	15.65	16.07	
K3	15.29	16.97	16.39	16.45	
k1	5.66	5.03	5.52	5.36	
k2	5.44	5.51	5.22	5.36	
K3	5.10	5.66	5.46	5.48	
R	0.56	0.63	0.3	0.12	

经直观分析和方差分析可知 $B_3A_1C_1$ 为最佳絮凝澄清条件, 3 个因素中, B 因素的 pH 值为显著性因素, 故生产过程中在加澄清剂前应严格控制水提液的酸碱度。A 因素为次要因素, 因考虑到本口服液成品浓度为每 ml 含 1.4g 生药, 所以 A 因素选择了 A_3 , 以结合生产实际。C 因素也是次要因素, 结合直观分析选择 1 水平。所以金灯山根口服液的最佳

提取工艺为 $B_3A_3C_1$, 即浓缩比例为 1.4: 1(g/ml), pH 值为 5.8, 壳聚糖加入量为 3ml/42g 生药。

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F
A	0.49	2	0.25	16.67
B	0.64	2	0.32	21.33*
C	0.15	2	0.075	5
误差	0.03	2	0.015	

注: 显著性差异* $P < 0.05$

3 二种提取工艺的比较

按 2.1.4 选取的最优澄清条件, 制备絮凝供试液, 备用。按醇沉法制备醇沉供试液, 醇沉浓度为 55%, 备用。

3.1 苦参碱含量的比较 结果见表 4。

表 4 金灯山根口服液中苦参碱的含量比较(n=3)

指标	水煎醇沉液	絮凝测澄清液*
苦参碱含量(mg/10ml)	7.23	7.14

结果表明, 金灯山根口服液中苦参碱的含量, 水煎醇沉法与絮凝法无显著性差异。

3.2 薄层色谱比较

3.2.1 山豆根的薄层色谱分析 供试品溶液的制备: 吸取样品溶液各 30ml, 分别置于 100ml 的容量瓶中, 加浓氨 1.5ml, 摇匀放置 1h, 加氯仿萃取 4 次, 每次 20ml, 合并提取液, 蒸干氯仿, 残留物加氯仿 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。对照品溶液的制备: 取苦参碱对照品少量, 加无水乙醇溶解, 得标准品对照液。

吸取上述供试品和对照品溶液各 2 μ l, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以苯: 丙酮: 乙酸乙酯: 浓氨水(2: 3: 4: 0.2) 为展开剂, 展距 14cm, 取出晾干, 喷改良碘化铋钾溶液显色, 结果二种供试品色谱斑点相同, 且与对照品色谱相应的位置上显相同的橙黄色斑点, 见图 1。

3.2.2 牛蒡子的薄层色谱分析 供试品溶液的制备, 吸取样品溶液各 10ml, 水浴蒸干, 分别加 95% 的乙醇 25ml, 水浴温浸 4h, 趁热滤过, 滤液蒸干, 残留物加 95% 乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。对照品溶液的制备: 取牛蒡子对照品少量, 加 95% 乙醇溶解, 得标准品对照溶液。

吸取上述供试品溶液各 10 μ l 和对照品溶液 1 μ l, 分别点于同一块硅胶 G 板上, 以氯仿: 甲醇: 水(40: 8: 0.6) 为展开剂, 展距为 13cm, 取出晾干, 喷 10%

H₂SO₄ 乙醇溶液显色, 110℃烘 5min, 结果二种供试品色谱斑点相同, 且在对照品色谱相应的位置上显相同的紫灰色斑点。见图 2。

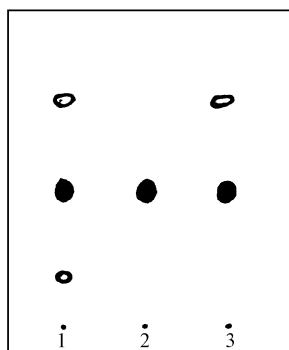


图 1 山豆根的 TLC 图

1. 水提醇沉液; 2. 苦参碱标准液; 3. 絮凝液

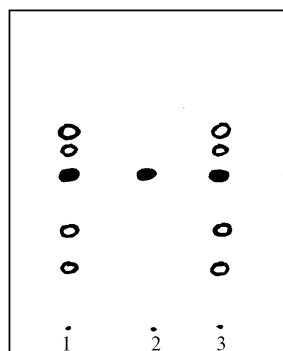


图 2 牛蒡子的 TLC 图

1. 水提醇沉液; 2. 牛蒡子苷标准液; 3. 絮凝液

3.2.3 甘草的薄层色谱分析 供试品溶液的制备: 吸取样品溶液各 10ml, 拌入少量硅藻土, 烘干, 加甲醇 30ml, 超声 30min, 滤液水浴挥干, 残渣加水 40ml 溶解, 用正丁醇提取 2 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 用水 20ml 洗涤一次, 正丁醇回收, 残渣加甲醇 2ml 使溶解, 作为供试品溶液。对照品溶液的制备: 取甘草酸单胺对照品少量, 加甲醇溶解, 得标准品溶液。

吸取上述供试品各 5μl 和对照品溶液 1μl, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以正丁醇: 3N 氨水: 乙醇 (5: 2: 1) 为展开剂, 展距为 9cm, 取出晾干, 喷 50% H₂SO₄ 与 1% 香兰素的乙醇溶液显色, 110℃烘 5min, 结果二种供试品色谱斑点相同, 且在对照品色谱相应的位置上显相同的紫兰色斑点。见图 3。

3.3 稳定性观察 将两种工艺制成的口服液灭菌处理, 室温放置 3 个月, 观察其澄明度、色泽和 pH 值变化, 结果两种工艺制剂均稳定, 澄明度、色泽和 pH 值均无变化。

4 讨论与小结

4.1 用壳聚糖处理的金灯山根口服液与水提醇沉液相比较, TLC 检测在相同位置上有相同的斑点, 基

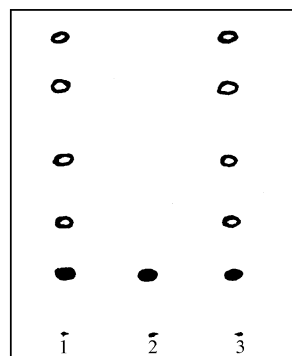


图 3 甘草的 TLC 图

1. 水提醇沉液; 2. 甘草酸单胺标准液; 3. 絮凝液

本保持了与醇沉法相同的组分, 没有引起自身物质的改变, 在外观上两者也符合该成品的质量标准的

要求。
4.2 目前, 对壳聚糖絮凝澄清的研究常有报道, 但由于不同中药复方的化学成分复杂, 因此造成不同中药, 特别是中药复方的絮凝澄清的理化环境也不尽相同, 因此对特定的中药复方需要通过实验研究以确定最佳的澄清条件。

文献报道, 壳聚糖絮凝澄清法与醇沉法相比, 壳聚糖絮凝澄清法对水溶性化学成分(如多糖、水溶性总酚等)的影响较小, 而对脂溶性成分保留效果影响较大^[1,4]。对于通过水溶性化学成分起作用的中药在纯化过程中尽量多地保留有效成分, 是非常有意义的。

在本实验中, 所选的指标成分是脂溶性成分苦参碱, 但絮凝澄清法仍能使澄清液中苦参碱有较好的保留(与醇沉无显著性差异)。

4.3 在本实验中, 由于絮凝澄清法苦参碱的含量与醇沉法相比差异不显著, TLC 检测结果说明絮凝澄清法未使复方化学组成发生改变。同时絮凝澄清法较醇沉法比较, 具有简化工艺, 缩短生产周期, 提高制剂稳定性的优点。因而我们认为可用絮凝澄清法来替代水醇法制备金灯山根口服液。

参考文献:

- [1] 杜成安, 严襄陵, 方剑文, 等. 吸附澄清法在中药水提液澄清中的应用研究[J]. 中成药, 1993, 15(11): 2-5.
- [2] 张文清, 杜晨捷. 絮凝法在丹参口服液制备中的应用[J]. 华东理工大学学报, 1996, 22(1): 108-113.
- [3] 章育中, 张淑蓉, 崔建芳, 等. 苦参及其制剂中生物碱的薄层分离和含量测定[J]. 药学学报, 1981, 16(4): 283-285.
- [4] 杜晨捷, 金鑫荣, 张文清, 等. PCC-絮凝法在感冒退热冲剂制备中的研究与应用[J]. 中成药, 1997, 19(6): 5-7.