

麻藤微型灌肠剂的澄清工艺研究

高越¹, 冯汉鸽^{2*}

(1. 湖北中医学院药学院 2006级硕士研究生, 湖北 武汉 430065)

2. 湖北中医学院附属医院, 湖北 武汉 430061)

关键词: 麻黄碱; 正交试验; HPLC法

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-0704(2009)03-0055-03

麻藤微型灌肠剂是由麻黄、甘松、地龙、钩藤组成的中药复方制剂。全方温而不燥, 凉而不寒, 攻不伤正, 可熄风止痉、宣肺散寒、行气定喘、兼以清坚。临床用于治疗小儿支气管哮喘病。为方便临床使用, 已改汤剂为微型灌肠剂。微型灌肠剂为高浓度液体制剂, 在制备过程中必须在除去药液中杂质的同时, 最大程度地保留有效成分, 因此需要对其提取澄清工艺进行研究。

天然澄清剂是近年来出现的新型澄清剂, 用于中药制剂的除杂已有报道^[1]。笔者根据本方的特点, 选择天然澄清剂进行除杂, 并与传统除杂水醇法进行比较。

1 实验仪器与试剂

美国 Waters600-2996高效液相色谱仪, Empower化学工作站, Agilent Zorbax Extend C₁₈柱(5 μ m, 4.6mm \times 250mm), pH计(梅特勒-托利多 320-S), KQ-100A型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司产), LD4-2型离心机(0-4000转/分钟北京医用离心机厂产);

甲醇、乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯; 盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所), IV型 ZTC1+1天然澄清剂(天津正大高科技公司产), 聚凝净(上海伟康生物保健品公司产); 所用药材均取自湖北省中医院药房。

2 实验方法

2.1 麻藤微型灌肠剂原液的制备

按处方量称取九付药, 麻黄、甘松等用水蒸气蒸馏法提取芳香水, 地龙等加水煎煮2次, 钩藤后下, 合并煎液, 浓缩成比例为1:1(即药液体积 mL: 生药体积 g)的浓缩液, 加入芳香水, 用蒸馏水调至微型灌肠剂原液的比例为1:1均分九份, 实验编号分别为①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧、⑨。

2.2 聚凝净法

用1%的醋酸液配制成1%的聚凝净澄清剂^[2]。取麻藤微型灌肠剂原液3份, 标号①、②、③号, ①号不调, 测得 pH值为5.3②、③号分别用40%的 NaOH调 pH值为6.5 7.5①、②、③号分别加入1%聚凝净, 使其含量达10%, 边加边搅拌, 60℃水浴加热5min放置过夜, 抽滤, 灌装, 灭菌, 制成浓缩比例为1:1的①、②、③号药液。

2.3 ZTC1+1澄清剂法

ZTC1+1天然澄清剂的配制: 用蒸馏水配制成1%的 A组份; 用1%的醋酸液配制成1%的 B组份^[3]。取麻藤微型灌肠剂原液3份, 标号④、⑤、⑥号, ④号不调, 测得 pH值为5.3⑤、⑥号分别用40%的 NaOH调 pH值为6.5 7.5在60℃水浴中加入ZTC1+1天然澄清剂 B组份, 边加边搅拌, 静置2h再于60℃水浴中加入IV型 ZTC1+1天然澄清剂 A组份, 使IV型 ZTC1+1天然澄清剂的含量达10%^[4], 边加边搅拌, 放置过夜, 抽滤, 灌装, 灭菌, 制成浓缩比例为1:1的④、⑤、⑥号药液。

2.4 水醇法

取麻藤微型灌肠剂原液3份, 加95%乙醇使含醇量达50%、60%、70%, 沉降过夜, 过滤, 取上清液, 回收乙醇至无醇味, 加蒸馏水溶解并定容, 灌装, 灭菌, 制成浓缩比例为1:1的⑦、⑧、⑨号药液。

以上9种药液用 HPLC法测定盐酸麻黄碱含量^[5]。结果见表3

2.5 结果

以盐酸麻黄碱含量为指标, 观察溶液澄清度, 结果见表1(盐酸麻黄碱含量单位为 mg \cdot mL⁻¹)

基金项目: 湖北省科技厅资助项目(2007AA301B10-2)

* 通讯作者: 冯汉鸽, 湖北中医学院附属医院主任药师, 教授。电话: 88929175

©1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 溶液澄清度

| 考察指标 | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ | ⑦ | ⑧ | ⑨ |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 盐酸麻黄碱含量 | 0.254 | 0.321 | 0.268 | 0.170 | 0.227 | 0.196 | 0.103 | 0.128 | 0.156 |
| 澄清度(7天) | -- | -- | -- | + | - | - | - | -- | -- |

+ 有少量沉淀 - 澄清度较好 -- 澄清度很好

以上盐酸麻黄碱含量均为 3次测量的平均值。

由表 1可知盐酸麻黄碱含量: 聚凝净法 > ZTC1+1澄清剂法

>水醇法

3 正交试验法筛选聚凝净的澄清工艺

3.1 麻藤微型灌肠剂原液的制备

本法的制备方法同 2.1项。

3.2 聚凝净法

根据正交设计表(见表 2), 将原液制备成样①—样⑨, 盐酸

麻黄碱含量测定结果见表 3.表 4

3.3 正交试验与分析

表 2 试验因素水平表 $I_3(3^4)$

| 水平 | 因素 | | | |
|----|-----|-------|---------|---|
| | A | B | C | D |
| | pH值 | 用量(%) | 放置时间(h) | |
| 1 | 5.3 | 8 | 12 | 0 |
| 2 | 6.5 | 10 | 24 | 0 |
| 3 | 7.5 | 12 | 48 | 0 |

表 3 正交试验设计及结果

| 实验号 | 因素 | | | | 盐酸麻黄碱含量%(mg/mL) |
|------------|--------|--------|--------|--------|-----------------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 24.0 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 14.7 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 23.1 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 16.3 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 18.0 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 17.2 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 29.5 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 22.7 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 16.8 |
| K_1 | 20.600 | 23.267 | 21.300 | 19.600 | |
| K_2 | 17.167 | 18.467 | 15.933 | 20.467 | |
| K_3 | 23.000 | 19.033 | 23.533 | 20.700 | |
| R | 5.833 | 4.800 | 7.600 | 1.100 | |
| SS | 51.576 | 41.282 | 91.549 | 2.016 | |
| K_{MAX} | 23.000 | 23.267 | 23.533 | 20.700 | |
| K_{MIN} | 17.167 | 18.467 | 15.933 | 19.600 | |
| $\sum y_i$ | 182.3 | 182.3 | 182.3 | 182.3 | |

表 4 方差分析表

| | SS | f | F | P |
|---|--------|--------|--------|------------|
| A | 51.576 | 2.0000 | 25.583 | $P < 0.05$ |
| B | 41.282 | 2.0000 | 20.477 | $P < 0.05$ |
| C | 91.549 | 2.0000 | 45.411 | $P < 0.05$ |
| D | 2.016 | 2.0000 | 1.000 | |

$$F_{1-0.05}(2, 2) = 19.00 \quad F_{1-0.01}(2, 2) = 99.00$$

方差分析结果表明, 三个因素对本品的提取影响均很显著。

4 HPLC法测定麻藤提取液中盐酸麻黄碱的含量

4.1 溶液的制备

对照品溶液的制备: 精密称取盐酸麻黄碱对照品 10mg 置 100mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1mL 含麻黄碱 100μg)对照品浓溶液。精密量取对照品浓溶液 2mL 置 10mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液(每 1mL 含麻黄碱 20μg)。

样品溶液的制备: 精密量取各个实验项下的麻藤微型灌肠剂药液 2mL 上中性氧化铝柱(100—200目, 1.5mm, 10μ, 50%)的甲醇洗脱, 收集洗脱液 24mL, 加 50% 的甲醇定容至 25mL, 加磷酸 1滴, 摇匀, 0.45μm 微孔滤膜滤过, 即得样品供试液。

4.2 色谱条件的选择

色谱柱: Agilent Zorbax Extend C_{18} 柱(5μm, 4.6mm × 250mm), 流动相: 乙腈—0.1% 磷酸溶液(10:90)为流动相, 流速: 1.0mL·min⁻¹, 柱温: 25°C, 检测波长: 210nm, 进样量: 10μL。

4.3 线性关系的考察

精密称取盐酸麻黄碱对照品 10mg 置 100mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取上述溶液 1mL, 2mL, 4mL, 6mL, 8mL, 分别置于 10mL 容量瓶中, 加流动相至刻度, 作为标准品溶液。取此标准品溶液各 10μL 注入高效液相色谱仪, 每份进样 3次, 按上述色谱条件分别测定盐酸麻黄碱峰面积积分值。以积分值为纵坐标 Y 以麻黄碱含量为横坐标 X 作线性回归, 得回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X - 14426$, $r = 0.9996$ 盐酸麻黄碱在 0.1—0.8μg 范围内, 有良好的线性关系。

4.4 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液及样品供试液各 10μL 注入高效液相色谱仪, 测定盐酸麻黄碱峰面积, 计算不同制备工艺所得样品中盐酸麻黄碱的含量, 并记录澄清度。结果见表 1.表 3。

延龄草中薯蓣皂苷元的提取工艺研究

崔瑾瑾¹, 刘合刚², 孙弘¹

(1. 湖北中医学院药学院 2006级硕士研究生, 湖北 武汉 430065)

2. 湖北中医学院药学院, 湖北 武汉 430065)

关键词: 延龄草; 薯蓣皂苷元; 提取工艺

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-0704(2009)03-0057-02

延龄草是百合科延龄草属植物, 药用其根及根茎, 为珍稀民间药物, 具有镇静止痛, 止血, 解毒的功效, 主要活性成分是以薯蓣皂苷元(diosgenin)的糖苷为苷元的主要存在形式的甾体皂苷。笔者采用乙醇回流提取的方法, 用 $L_9(3^4)$ 正交表设计实验, 优化延龄草的最佳提取工艺。

1 仪器与材料

U-2001紫外/可见分光光度仪(日本 Hitachi Ltd); 薯蓣皂苷元对照品(批号: 1539-200001)购自中国药品生物制品检定

所; 延龄草药材采自湖北省神龙架地区, 由湖北中医学院刘合刚教授鉴定, 为百合科延龄草属植物延龄草 *Trillium tschonoskii* Maxim 的干燥根茎; 水为双蒸水, 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

对延龄草药材粉末采用醇提法, 选用乙醇浓度、提取时间和提取温度作考察因素, 每个因素选择 3 个水平, 用 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验设计(见表 1)。

5 讨论

本实验通过对麻藤微型灌肠剂的澄清工艺的研究结果表明, 传统水醇法与聚凝净法制得的药液的澄清度均较好, 但水醇法的有效成分的保留量太低, 而聚凝净法的有效成分保留量均较其他两种方法高, 澄清度也很好。综合评价后选取聚凝净为该制剂的澄清剂, 其最佳澄清工艺为: pH 值 7.5 用量为 8%, 放置时间为 48h

文献报道: 壳聚糖在稀酸中会慢慢水解, 故壳聚糖最好随用随配^[9]。

现代中药制剂一般采用水提醇沉、澄清剂、大孔树脂、膜分离、超速离心等方法进行除杂。文献报道表明, 澄清剂主要去除中草药中的鞣质、蛋白质、叶绿素、油脂、蜡树脂、淀粉等成分, 且对有效成分如苷类、黄酮类、有机酸、生物碱、皂苷类、萜类、多糖、氨基酸等不影响^[7]。实验研究并确定了聚凝净澄清剂除杂的工艺, 同时与水提醇沉除杂工艺进行对比, 结果表明: 运用聚凝净澄清剂除杂有效成分保留率较 ZTC+1 澄清剂和传统水提取醇沉法高, 且澄清后的药液澄明度较好, 为后期的成型工艺奠定了基础。此外, 该工艺还具有操作简便、成本低廉的特点。实验结果表明, 聚凝净澄清剂用于本制剂除杂具有可行性。

: 87), 乙腈-水(10:90)、乙腈-水(15:85)、乙腈: 0.1% 磷酸二氢钾溶液(10:90) 乙腈-0.1% 磷酸溶液(10:90) 乙腈-0.1% 磷酸溶液含 0.1% 三乙胺(20:80)等作为流动相进行了比较, 确定选用乙腈-0.1% 磷酸溶液(10:90)作为流动相, 峰形最好, 出峰时间较短, 分离效果理想。

参考文献:

- [1] 杜成安, 严襄陵, 方敏文, 等. 吸附澄清法中药水提液澄清中的应用研究[J]. 中成药, 1993 15(11): 2
- [2] 杜其捷. PCC-聚凝净在感冒退热冲剂制备中的研究与应用[J]. 中成药, 1997 19(6): 7
- [3] 卞益民, 徐晓梅. IV型 ZTC+1天然澄清剂在中草药制剂生产中的应用研究[J]. 中草药, 1998 29(8): 523
- [4] 北京正天成澄清技术有限公司. ZTC+1天然澄清剂产品性能及使用说明[S].
- [5] 黄伟勋. 高效液相色谱法测定喘咳宁片中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中华现代临床医学杂志, 2007 5(3): 240
- [6] 周庆芬, 林军, 刘冬生. 壳聚糖澄清吸附作用的研究进展[J]. 中国药业, 2003 12(15): 26
- [7] 颜红. 天然澄清剂在中药水提液澄清工艺中的应用[J]. 中医学报, 2005 11(1): 80

试验中曾比较了多种流动相, 如: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(13

(收稿日期: 2008-09-10 编辑: 郑晓屏)