

鼻窦炎滴丸工艺流程的正交筛选

唐斌¹, 杨扬², 赵益斌¹, 刘江¹, 唐冰¹ (1. 成都军区昆明总医院药剂科, 云南昆明 650032; 2. 昆明医学院药理学系 99 级实习生)

摘要 目的: 优选鼻窦炎滴丸提取条件。方法: 采用正交试验法, 以黄芪甲苷的提取率为主要评价指标, 考察加水量、提取次数、醇沉浓度、煎煮时间等四个条件的影响, 用 HPLC 法测定黄芪甲苷含量, 采用 DELTA-PAK_{C18} 柱, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液 (33:67), 在 201nm 紫外光下检测。结果: 回归方程 $A=69\ 633.018V+1\ 290.434$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 0.044~0.440mg/mL, 平均加样回收率为 92.58%, RSD 值为 1.50% ($n=5$)。结论: 实验结果表明, 该方法灵敏准确、专属性强, 结果可靠、稳定、重现性好、精密度高, 可作为鼻窦炎滴丸的质量控制标准, 并且达到了用正交法筛选最佳工艺流程的目的。

关键词 滴丸; 黄芪; 正交试验; 黄芪甲苷

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2004)04-0220-03

Orthogonal design for technical process of nasal sinusitis dripping pills

TANG Bin¹, YANG Yang², ZHAO Yi-bin¹, LIU jiang¹, TANG Bing¹ (1. Department of pharmacy, Kunming General Hospital of Chengdu Military Region, Kunming 650032, China; 2. Trainee of Grade 99, Department of Pharmacy, Kun Ming Medical College)

ABSTRACT Objective: To choice the distilling condition of astragaloside in nasal sinusitis dripping pills(NSDP). **Methods:** Investigating the influence of the four condition (including water volume, distilling times, concentration for ethanel precipitation and time of decoction) by adopting orthogonal design method, using the withdraw rate of astragaloside A as a main evaluation standard. The content of astragaloside A in NSDP was determined by HPLC. The mobile phase was acetonitrile; 0.1% phosphoric acid (33:67) and detected on DELTA-PAK C₁₈ column at the wavelength of 201nm. **Results:** The regression equation within the spotted range of 0.044~0.440mg/mL was $A=69\ 633.018V+1\ 290.434$ with good linearity, $r=0.9998$. The average recovery rate was 92.58% and $RSD=1.50\%$ ($n=5$). **Conclusion:** The experiment result prove that the way is intelligent, accurate, specific, reliable, stability, precise, which is suitable for the quality control of NSDP. And we obtain the best technical process of NSDP with orthogonal design.

KEY WORDS dripping pills; *Astragalus membranaceus*; orthogonal design; astragaloside A

鼻窦炎滴丸为成都军区昆明总医院医院制剂, 是由黄芪、金银花等八味中药制成, 具有宣通鼻窍, 抗炎消肿, 治疗鼻窦炎之功效。我们利用正交试验法, 对其工艺的主要影响因素进行研究, 为确定最佳提取工艺条件提供依据。

1 仪器与试剂

除色谱用溶剂为色谱纯外均为分析纯, 中药材经成都军区昆明总医院中医科邓富药师鉴定。

1.1 仪器 Waters 2695-2996 型高效液相色谱仪 (DAD 检测器), 上海 RE-52A 旋转蒸发器, SHZ-D (III) 型循环水式真空泵, 天津 98-1-B 型电子调温电热套, 江苏省 HH-S 型电热恒温水浴锅, 江苏省 UV-4 型多功能 2531/3650A 四用紫外线分析仪。

1.2 试剂 甲醇为分析纯和色谱纯, 乙醇、正丁醇、浓氨水、二甲基硅油均为分析纯, 黄芪甲苷标准品 (批号: 0781-200111 购于中国药品生物制品检定所)。

2 方法与结果

2.1 正交设计及工艺研究 根据黄芪中有效成分黄芪甲苷的易溶于水及含水稀醇等理化性质^[1], 采用水为溶媒进行提取。筛选出加水量 (A)、提取次数 (B)、醇沉浓度 (C)、煎煮时间 (D) 4 个试验因素, 每个因素分 3 个水平, 故选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表, 结果见表 1。

根据正交试验方案, 拟形成 9 个正交试验处方, 每份样品均按以下步骤提取。

表1 因素水平表

水平	加水量(倍)	提取次数(t)	醇沉浓度(%)	煎煮时间(h)
1	6	1	55	1.0
2	8	2	75	1.5
3	10	3	95	2.0

2.1.1 挥发油的提取 把金银花、辛夷等含有挥发性成分的药材,装入1000mL的圆底烧瓶中,加入适量水,用水蒸气蒸馏法提取挥发油于50mL的三角烧瓶中,再将得到的挥发油浓缩为2mL,每份样品均按2.1.1步骤,得到编号分别为1~9号的浓缩挥发油。

2.1.2 煎煮过程 将黄芪等药材加入到2.1.1的药渣中,按照正交试验方案,加入一定量的水,煎煮一定的时间,提取一定的次数。

2.1.3 醇沉过程 将2.1.2的药液过滤,用旋转蒸发仪浓缩成每mL相当于1g的药液,用不同浓度的乙醇进行沉淀,将得到的絮状沉淀用循环水式真空泵抽滤,再将沉淀用烘箱于60℃烘干,研成细粉。每份样品均按2.1.3步骤,得到编号为1~9号的药粉备用。

2.1.4 滴丸制作过程 精称聚乙二醇6000 2g,加热融化,加入精称2.1.3药粉1g搅拌均匀,再加入浓缩挥发油0.5mL(温度控制在80℃,防止挥发油挥发),搅拌均匀后在二甲基硅油中进行滴丸,冰浴冷却。每份样品均按2.1.4步骤,得到编号为1~9号的滴丸备用。

2.2 测定方法

2.2.1 定量检测(HPLC法)

2.2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品2.2mg,用甲醇溶解,定容至5mL,浓度为0.440mg/mL。

2.2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取滴丸1g,加入适量甲醇,冷浸过夜,再加入适量甲醇索氏提取4h,将甲醇溶液浓缩至干,加入10mL水溶解,分出水溶液,用水饱和的正丁醇溶液萃取3次,每次20mL,合并正丁醇溶液,用氨试液(浓氨水40mL,加水至100mL,即可)萃取2次,每次20mL,弃去氨液,蒸干正丁醇溶液,用甲醇定容至1mL。每份滴丸样品均按该步骤操作,得到编号为1~9号的待测供试品。

2.2.1.3 色谱条件 DELTA-PAK C₁₈柱(5μm, 3.9×150mm),流动相为乙腈-0.1%磷酸(33:67),流速0.5mL/min,检测波长201nm,柱温为室温。

2.2.1.4 标准曲线 精密称取黄芪甲苷对照品2.20mg,用甲醇溶解,并定容于5mL容量瓶中,分

别进样10、20、40、60、80、100μL,并用甲醇溶液作为空白对照。按上述色谱条件测定,以峰面积(A)为纵坐标,黄芪甲苷标准品溶液进样体积(V)为横坐标,进行线性回归,得回归方程A=69633.018V+1290.434,r=0.9998。标准品色谱图见图1。

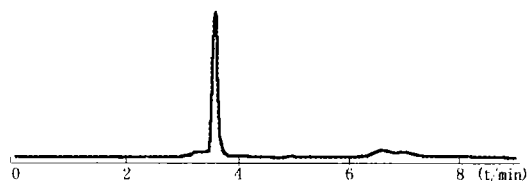


图1 黄芪甲苷标准品 HPLC 色谱图

2.2.1.5 含量测定及正交试验结果 按上述色谱条件测定1~9号样品黄芪甲苷的含量,见表2。样品色谱图见图2。



图2 鼻窦炎滴丸(9号样品)HPLC 色谱图

表2 正交试验实验数据表

试验号	A	B	C	D	黄芪甲苷含量(%)
1	1	1	1	1	0.31
2	1	2	2	2	0.39
3	1	3	3	3	0.61
4	2	1	2	3	0.44
5	2	2	3	1	0.67
6	2	3	1	2	0.32
7	3	1	3	2	0.56
8	3	2	1	3	0.38
9	3	3	2	1	0.53
K ₁	1.31	1.31	1.01	1.52	
K ₂	1.43	1.14	1.35	1.27	
K ₃	1.47	1.46	1.85	1.42	
R	0.05	0.05	0.28	0.08	

由表2可知,R_C>R_D>R_A>R_B,影响因素大小顺序为C>D>A>B,其中C是影响黄芪甲苷含量的最重要因素,同时考虑到节约能源和降低成本等方面的因素,最佳提取条件为C₃D₁A₂B₂,即药材加8倍量水浸泡,煎煮1h,提取2次,用95%乙醇沉淀。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取4号样品溶液,重复进样5次,结果黄芪甲苷平均含量为0.44%,RSD为0.85%,可见仪器精密度良好,见表3。

表3 精密度试验数据(4号样品)

粉末重(g)	黄芪甲苷含量(%)	平均值(%)	RSD值(%)
1.01	0.44		
1.01	0.45		
1.01	0.44	0.44	0.85
1.01	0.43		
1.01	0.43		

2.3.2 稳定性试验 取5号样品溶液,分别在10、20、30、40、50、60、80、100min时间点测定。*RSD*值为0.43%,说明黄芪甲苷的甲醇溶液具有良好的稳定性。见表4。

表4 稳定性试验数据

时间(min)	10	20	30	40	50	60	80	100
含量(%)	0.67	0.67	0.68	0.67	0.68	0.67	0.67	0.67

2.3.3 重复性试验 分别精密称定5份3号药粉各0.5g,按2.1.4项制备滴丸,按2.2.1.2项制备供试品,按2.2.1.5项操作并测定,结果平均含量为0.62%,*RSD*为2.9%,见表5。

表5 重复性试验数据(3号样品)

粉末重(g)	黄芪甲苷含量(%)	平均值(%)	<i>RSD</i> 值(%)
0.50	0.58		
0.51	0.64		
0.50	0.62	0.62	2.9
0.50	0.58		
0.51	0.63		

2.3.4 加样回收率试验 分别精密称定5份3号药粉各0.5g,每份药粉加入黄芪甲苷标准品0.2mg(可先精称黄芪甲苷标准品2.0mg,用甲醇定容至10mL,分别精密吸取1mL于药粉中,待挥干)按2.1.4项制备滴丸,按2.2.1.2项制备供试品,按2.2.1.5项操作并测定,结果平均含量为92.58%,*RSD*为1.50%,见表6。

3 讨论

3.1 黄芪中含有大量皂苷类成分,其中黄芪甲苷有抗炎、降压、镇痛、镇静等药理作用,是黄芪中具有代表性的活性成分。考虑鼻窦炎滴丸的适应证,所以在实验中选择黄芪甲苷的含量为指标,优选提取

工艺。

表6 加样回收率试验数据(3号样品)

药粉重(g)	黄芪甲苷含量(%)	加样重(mg)	加样后含量(%)	回收率(%)	平均值(%)	<i>RSD</i> 值(%)
0.50		0.20	0.38	90.89		
0.50		0.20	0.39	94.22		
0.51	0.61	0.20	0.39	93.99	92.58	1.50
0.50		0.20	0.39	92.43		
0.50		0.20	0.38	91.37		

3.2 文献报道黄芪甲苷的含量测定方法较多,根据样品的不同,处理方法各有差异,本实验采用正丁醇萃取,碱性洗涤,能有效去除黄芪中所含氨基酸、酚性成分及糖类的影响,纯化效果较好,适用于含黄芪制剂的含量测定。

3.3 由于黄芪甲苷无特征的紫外吸收,所以用紫外检测时,只有利用黄芪甲苷的末端吸收波长(200nm左右)测定。从波长扫描的结果来看,小于201nm灵敏度高,但基线不稳定,噪音大;大于201nm噪音变小,但分离效果变差,并开始出现肩峰。故本实验采用201nm为测定波长。

3.4 在流动相的选择上,曾用乙腈-0.05%磷酸二氢钾(15:85)、乙腈-0.1%磷酸(33:67,15:85,25:75)等为流动相,结果表明流动相乙腈-0.1%磷酸(33:67)分离度最高。

参考文献:

- [1] 吴素香.长必安胶囊中黄芪提取工艺研究[J].浙江中医杂志,2000,9(15):410.
- [2] 张国正.黄芪甲苷定量方法概况[J].湖北中医杂志,2001,23(5):51.
- [3] 中国药典2000年版[S].一部.2000:249.

收稿日期:2003-11-04

口腔溃疡油的制备及质量控制

阮文幼,吴晓晔,曹国建(浙江省绍兴市人民医院,浙江绍兴312000)

摘要 目的:研究口腔溃疡油的制备及质量标准。**方法:**采用中西药组成复方制剂,用紫外分光光度法测定氧氟沙星含量。**结果:**本制剂疗效确切,有效成分的鉴别及含量测定特征性强,重现性好。**结论:**组方、提取及配制工艺设计合理,制剂稳定,质量控制方法准确可靠。

关键词 口腔溃疡油;制备工艺;质量控制

中图分类号:R944.1

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2004)04-0222-02

口腔溃疡油是我院根据口腔溃疡、牙龈炎、牙周炎的发病机制,结合中西医理论研制而成的一种外