

2.10 样品测定 取天宁颗粒适量,在研钵中研成细粉,称取该细粉约0.3 g置于具塞锥形瓶中,加入甲醇50 mL,精密称定质量,超声处理30 min后,放至室温,用甲醇补足失重,筛孔内径0.45 μm微孔滤膜滤过,即得供试品溶液,取供试品溶液20 μL,高效液相色谱测定。采用外标法测定3批天宁颗粒中阿魏酸的含量。结果显示,3批天宁颗粒样品中的阿魏酸含量分别为1.73,1.70,和1.75 mg·g⁻¹。

3 讨论

实验中对阿魏酸的对照品溶液进行紫外扫描,发现阿魏酸在200~400 nm范围内有多个吸收峰。通过比较样品溶液的HPLC图谱,并结合文献方法^[4-5],最终选择杂质干扰少,灵敏度高的322 nm作为检测波长。

在选择流动相时,分别考察有机相甲醇和乙腈对样品分离的影响。实验表明,乙腈具有较高的柱效,使得阿魏酸与其他成分分离效果更好。

在样品的制备过程中,分别考察回流提取、超声提取2种方法对阿魏酸供试品提取效果的影响。经过比较,两种提取方法基本一致,均能有效地将样品中地阿魏酸提取出来。并且超声提取设备简单,操作简便,故选择超声提取制备供试品溶液。

阿魏酸为天宁颗粒的主要有效成分之一,其化学

性质不稳定,见光易分解^[4,6]。故对照品溶液应新鲜配制,并在实验过程中注意避光。但是,阿魏酸在供试品中12 h较为稳定,可能是溶液颜色较深,起到一定的避光效果,或者是制剂中的其他成分能够增加阿魏酸的稳定性。

本研究采用反相高效液相色谱法测定天宁颗粒中阿魏酸含量。该方法具有专属性强,操作简单,结果准确,重复性好等优点,可以用于测定川芎,以及天宁颗粒样品中的阿魏酸含量,为制剂的质量控制提供依据。

参考文献

[1] 赵东平,杨文钰,陈兴福.阿魏酸的研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(8):1839-1841.
 [2] 李全斌,何开勇,吴建萍.阿魏酸含量测定方法研究进展[J].中医药导报,2011,17(3):117-119.
 [3] 张延华,朱永红.含阿魏酸药物制剂含量分析及质量表征研究进展[J].武警医学院学报,2009,18(10):895-897.
 [4] 夏明,董晓焯.当归养血丸中阿魏酸的含量测定[J].医药导报,2010,29(1):103-104.
 [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:38.
 [6] 赵明,程璐,张耕.白灵片质量标准研究[J].医药导报,2010,29(5):660-661.

DOI 10.3870/yydb.2012.07.029

正交实验法优选苦瓜根总皂苷提取工艺

陈林^{1,2},何秀丽¹,朱海涛¹,方念伯²

(1.湖北医药学院附属太和医院药剂科,湖北十堰 442000;2.湖北中医药大学中药配伍与中药复方教育部重点实验室,武汉 430065)

摘要 目的 优选苦瓜根中苦瓜总皂苷的最佳提取工艺。方法 以提取液中苦瓜总皂苷含量为考察指标,分光光度法测定其含量,采用L₉(3⁴)正交实验法优选苦瓜根总皂苷的提取工艺。结果 苦瓜根中苦瓜总皂苷较优的提取工艺为提取2次,每次2 h,乙醇浓度60%,乙醇用量8倍,提取温度80℃。结论 优选得到的提取工艺稳定、可行、重复性好,可为苦瓜根总皂苷的提取提供参考。

关键词 苦瓜根;苦瓜总皂苷;提取工艺;正交实验

中图分类号 R284.2 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)07-0920-04

Optimization of Extraction Process for Saponins in the Roots of *Momordica charantia*. L by Orthogonal Design

CHEN Lin^{1,2}, HE Xiu-li¹, ZHU Hai-tao¹, FANG Nian-bo² (1. Department of Pharmacy, Taihe Hospital Affiliated with Hubei Medical University, Shiyan 442000, China; 2. The Ministry of Education Key Laboratory of Chinese Herbal Medicines and Traditional Chinese Medicine Compound, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT Objective To optimize the technology of extraction for saponins in the roots of *Momordica charantia*. L. Methods The total saponins of *Momordica charantia*. L and Ginsenoside were taken as indexes, which were detected by spectrometric method. And optimum extraction technology for the total saponins was studied by the L₉(3⁴) orthogonal test.

Results The optimum extraction technology was obtained as extracting twice, two hours for each, with 8 times 60% alcohol at 80 °C. **Conclusion** The optimized technology is stable, feasible and reproducible, which provides evidence for total saponins extraction from the roots of *Momordica charantia*. L.

KEY WORDS Roots of *Momordica charantia*. L; Total saponins of *Momordica charantia*. L; Extraction; Orthogonal design

苦瓜根为葫芦科苦瓜属植物苦瓜 (*Momordica charantia*. L) 的根,具有清热解毒的功效,用于治疗湿热泻痢、便血、疔疮肿毒、风火牙痛等症^[1]。近年来从苦瓜的果实、种子、根、叶中分离的化学成分有^[2]: 苦瓜素苷 F₁、苦瓜素苷 I、苦瓜素苷 G、胡萝卜甾醇、苦瓜皂苷、苦瓜蛋白、5-羟基色胺、多种氨基酸、果胶、类胰岛素等,其中苦瓜皂苷是苦瓜中的有效成分之一,具有降血糖、抗氧化、提高免疫力、抗肿瘤和抗艾滋病等生理功能^[3]。苦瓜的果实被广泛研究,但对苦瓜根的研究较少。对鄂西北地区民间用药调查发现,苦瓜根主要用来预防及治疗糖尿病。为了开发利用苦瓜根资源,采用正交实验法^[4],以提取液中苦瓜总皂苷含量为考察指标^[5-6],优选苦瓜根的提取工艺,为生产提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),JJ200 型精密电子天平(美国双杰兄弟有限公司),电子恒温不锈钢水浴锅(上海医疗器械厂),RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),KWY-102 型电热干燥箱(武汉市武昌实验仪器厂),微量加样器(上海求精生化试剂有限公司)。

1.2 材料 苦瓜根(采于湖北省十堰市,经湖北中医药大学中药资源教研室陈科力教授鉴定为葫芦科苦瓜属植物苦瓜 *Momordica charantia*. L 的根); 苦瓜皂苷对照品(三峡大学湖北省天然产物开发与利用重点实验室提供,含量 98.0%); 人参皂苷 R_{g₁} 对照品(供含量测定用,购于中国食品药品检定研究院,批号:110703-200424); 无水乙醇、石油醚、甲醇、正丁醇、丙酮、香草醛、冰醋酸、高氯酸均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 苦瓜总皂苷含量测定方法

2.1.1 供试品溶液的制备 将苦瓜根干燥、粉碎,称取 10.0 g 置于圆底烧瓶中,加入 60% 乙醇溶液 80 mL,

收稿日期 2011-12-05 修回日期 2012-02-03

作者简介 陈林(1967-),男,湖北十堰人,主任药师,副教授,中药研发与质量控制。电话:0719-8801157, E-mail: taihe0719@163.com。

通讯作者 方念伯,男,教授,博士生导师,从事中药配伍与中药复方研究。电话:027-68890247, E-mail: fangyushang@hotmail.com。

于 80 °C 回流提取 2 h, 过滤。滤液定容至 100 mL。精密量取提取液 1 mL, 置蒸发皿中, 水浴上蒸干, 加适量水将其溶解, 加入石油醚 20 mL 萃取脱脂, 重复 2 次, 再用水饱和正丁醇萃取 4 次(每次 10 mL), 合并正丁醇萃取液, 真空浓缩至干, 用甲醇溶解, 加入丙酮, 充分搅拌使之产生沉淀, 沉淀完全后离心 20 min (3 000 r · min⁻¹), 取上清液置水浴上挥干溶剂, 残渣加入新配制的 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.6 mL, 再加入高氯酸 5 mL, 摇匀, 于 80 °C 水浴中加热 15 min, 取出, 立即用水迅速冷却至室温, 作为供试品溶液。

2.1.2 苦瓜皂苷对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的苦瓜皂苷对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解定容, 得到含量为 0.882 mg · mL⁻¹ 的苦瓜皂苷对照品溶液。

2.1.3 人参皂苷 R_{g₁} 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的人参皂苷 R_{g₁} 对照品 10.1 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解定容, 得到含量为 1.01 mg · mL⁻¹ 的人参皂苷 R_{g₁} 对照品溶液。

2.1.4 最大吸收波长的选择 吸取苦瓜皂苷及人参皂苷对照品溶液各 0.15 mL, 分别加入具塞试管中, 水浴中挥干甲醇, 加新配制的 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.6 mL, 再加入高氯酸 5 mL, 摇匀, 于 80 °C 水浴中加热 15 min, 取出, 立即用水迅速冷却至室温。显色完全后, 以不加对照品的甲醇同法操作作为空白, 用紫外可见分光光度计于 400 ~ 700 nm 范围内进行扫描, 苦瓜皂苷及人参皂苷对照品溶液均在 531 nm 处出现最大吸收峰, 故选择 531 nm 作为测定波长。

2.1.5 标准曲线的建立 分别精密量取人参皂苷 R_{g₁} 对照品溶液 10, 20, 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 μL 置于具塞试管中, 其余同“2.1.4”项, 在 531 nm 处测定吸光度, 以对照品含量为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。标准曲线方程为 $Y = 6.5903X + 0.0075$, $r = 0.9995$, 表明人参皂苷在 0.0101 ~ 0.2525 mg 范围内呈现良好线性关系。

2.1.6 稳定性实验 精密吸取人参皂苷 R_{g₁} 对照品溶液 150 μL, 按“2.1.5”项方法显色后放置, 分别于 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 min 测定吸光度, RSD = 0.63%, 表明在显色后 3.5 h 内稳定。

2.1.7 精密度实验 取人参皂苷 R_{g₁} 对照品溶液显色后连续测定 6 次, RSD = 0.06%, 表明该方法精密度

良好。

2.1.8 重复性实验 精确称取同一批样品 5 份各 10 g,按“2.1.1”项下操作,测定吸光度,计算总皂苷的含量,RSD=1.05% (n=5)。

2.1.9 回收率实验 取同一药材粉末 6 份,精密称定,每份分别精密加入人参皂苷 Rg1 对照品溶液 (1.01 mg · mL⁻¹)150 μL,按“2.1.1”项下操作,计算苦瓜总皂苷含量,测得平均回收率为 97.06% ,RSD 为 1.71% (n=6)。

2.1.10 样品含量测定 样品溶液按“2.1.1”项下操作,于 531 nm 波长处测定吸光度,计算样品中总皂苷的含量。

2.2 正交实验

2.2.1 正交实验设计 影响苦瓜根总皂苷提取的因素很多,根据文献及预实验,选择乙醇浓度(A)、乙醇用量(B)、提取温度(C)、提取时间(D)作为考察因素,以总皂苷含量为指标,对提取工艺参数进行优化。实验方案见表 1。

表 1 因素水平表

Tab.1 Factors and levels

水平	乙醇浓度 (A)/%	乙醇用量 (B)/倍	提取温度 (C)/℃	提取时间 (D)/h
1	60	8	60	1
2	70	10	70	2
3	80	12	80	3

2.2.2 苦瓜根总皂苷的提取 称取苦瓜根粗粉(过一号筛)10.00 g,浸泡 30 min,按 L₉(3⁴)实验列号各条件分别回流提取、滤过,并浓缩定容到 100 mL,放置备用。

2.2.3 正交实验与结果 实验数据见表 2,方差分析见表 3。

2.2.4 结果分析 比较各因素的极差值,影响提取效果的因素顺序为 A>D>B>C。由直观分析可知较优的提取工艺是 A₁B₁C₃D₂。方差分析表明,乙醇浓度、乙醇用量、提取温度、提取时间对提取效果的影响均无统计学意义,综合分析结果,确定苦瓜根中苦瓜总皂苷较优的提取工艺条件为乙醇浓度 60%,乙醇用量 8 倍,提取温度 80 ℃,每次 2 h,提取前浸泡 30 min。即 A₁B₁C₃D₂。

2.2.5 验证实验 按照优化的条件进行工艺验证实验,重复 3 次,结果总皂苷含量为 0.621 8,0.621 6,0.600 2 mg · mL⁻¹,RSD=2.0% ,表明正交设计优选出

的工艺稳定可行。

表 2 正交实验结果

Tab.2 Results of orthogonal test

实验号	因素				总皂苷含量/ (mg · mL ⁻¹)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.564 7
2	1	2	2	2	0.620 7
3	1	3	3	3	0.573 1
4	2	1	2	3	0.621 7
5	2	2	3	1	0.570 2
6	2	3	1	2	0.565 3
7	3	1	3	2	0.565 9
8	3	2	1	3	0.424 8
9	3	3	2	1	0.258 5
\bar{k}_1	0.586	0.584	0.518	0.464	
\bar{k}_2	0.586	0.539	0.500	0.584	
\bar{k}_3	0.416	0.466	0.570	0.540	
R	0.170	0.118	0.069	0.120	

表 3 方差分析表

Tab.3 Analysis of variance

误差来源	SS	f	S	F	P
A	0.057 5	2	0.028 8	7.38	>0.05
B	0.021 4	2	0.010 7	2.75	>0.05
D	0.021 9	2	0.011 0	2.81	>0.05
误差 C	0.007 8	2	0.003 9	1.00	

$F_{0.05(2,2)} = 19.00; F_{0.01(2,2)} = 99.00$

2.2.6 提取次数的确定 按照优选出的工艺进行操作,分别提取 1,2,3,4 次,提取液分别浓缩到 100 mL,测定其总皂苷含量,结果皂苷含量分别为 0.620 6,0.648 8,0.649 0,0.621 0 mg · mL⁻¹。随着提取次数的增加,提取液中总皂苷的含量累计增加,但当提取次数大于 2 时,苦瓜总皂苷含量的增加已不明显。从节约溶剂和节省时间方面考虑,确定提取次数为 2 次。

3 讨论

苦瓜皂苷可溶于水,易溶于热水、稀醇中,故较低浓度的乙醇具有较好的提取效果。温度较低,苦瓜皂苷提取不充分,故选择 80 ℃ 提取。提取时间<2 h,苦瓜皂苷提取不完全,时间过长,杂质过多,因此每次的提取时间为 2 h。由于药材粉碎,提取前浸泡,提取时间较长,提取效果好,故提取次数对总皂苷含量影响不大。

实验采用了苦瓜皂苷对照品及人参皂苷 Rg₁ 对照品作对比,它们的最大吸收峰都与苦瓜根样品相同,故两者都可用于分光光度法测定苦瓜根总皂苷的含量,在无苦瓜皂苷对照品的情况下,也可以选择人参皂苷

Rg₁。

实验以最大限度提取药材中有效成分,避免有效成分的分解流失和无效成分的溶出为原则,通过系统的研究苦瓜根中总皂苷的提取工艺,为其提供了一种生产周期短、生产成本较低、操作简便、且无需增加企业设备投资的工艺参考。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大词典(上册) [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1769.
- [2] 邓向军, 徐斌, 董英. 苦瓜化学成分的研究进展[J]. 时珍

国医国药, 2006, 17(12): 2449-2451.

- [3] 潘国庆. 苦瓜的化学成分及药理作用[J]. 青海科技, 2004, 11(6): 30-31.
- [4] 祝国强, 滕海英, 黄平. 正交实验设计方法在医药学中的应用[J]. 数理医药学杂志, 2007, 4(20): 568.
- [5] 徐斌, 董英. 分光光度法测定苦瓜总皂苷含量[J]. 食品科学, 2005, 26(10): 167-168.
- [6] 陈勋, 于海宁, 唐德松, 等. 苦瓜皂苷快速分离纯化方法研究[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 115-116.

DOI 10.3870/yydb.2012.07.030

制霉菌素口腔贴膜的处方优选

叶继锋¹, 侯齐书¹, 戴伟伟¹, 林奕汎¹, 方翌²

(1. 温州医学院附属第二医院药剂科, 325000; 2. 浙江医药股份有限公司, 温州 325035)

摘要 目的 优选制备制霉菌素口腔双层贴膜的最优处方。方法 选择聚乙烯醇(PVA)和羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、壳聚糖作为载药膜的成膜材料, 采用 L₉(3⁴) 正交实验进一步筛选处方, 以膜的外观、粘附力、口腔粘附时间为考察指标, 选择载药膜的最优处方, 同时考察不同浓度乙基纤维素空白膜的外观、柔韧性、脱膜性和铺展性, 选择空白膜的最优配方。结果 2.5% 乙基纤维素乙醇液作为空白隔离层成膜液, 聚乙烯醇-羧甲基纤维素钠-壳聚糖(2:1:1) 制成的含药膜为最优处方, 粘附力适中, 外观性状良好。结论 乙基纤维素-制霉菌素-聚乙烯醇-羧甲基纤维素钠-壳聚糖口腔双层贴膜可作为口腔念珠菌感染的新型颊膜给药制剂。

关键词 制霉菌素; 双层膜; 口腔贴膜; 制备工艺

中图分类号 R978.5; TQ460.6

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)07-0923-03

口腔念珠菌病(oral candidiasis) 是真菌——念珠菌属感染所引起的口腔黏膜疾病。近年来, 由于抗生素和免疫抑制药在临床上的广泛应用, 发生菌群失调或免疫力降低, 而使内脏、皮肤、黏膜被真菌感染者日益增多, 口腔黏膜念珠菌病的发生率也相应增高。制霉菌素属于多烯类抗真菌药物, 具有广谱抗真菌作用, 对念珠菌抗菌活性尤其明显, 且重复用药不易产生耐药性。但口服易引起胃肠道不良反应, 肌内注射或静脉注射易引起局部刺激。目前我国制霉菌素剂型开发尚有不足, 尤其在口腔真菌感染方面缺乏有效的剂型。因此, 本研究将制霉菌素制成口腔双层贴膜, 膜剂可粘附于口腔患处, 延长药物在病变部位的滞留时间, 局部药物浓度增加, 提高药物的生物利用度, 而且双层膜可使药物不受唾液影响单侧释药而更具优势, 提高药效, 减少给药次数, 用药方便, 提高患者用药的顺应性。

1 仪器与试药

1.1 仪器 RC-6 溶出度测定仪(天津市光学仪器厂), SDKS-II 型电热恒温水浴锅(上海经济区沈荡中新电器厂), DF-107S 集热式磁力式加热搅拌器(常州市国立试验设备研究所), FA1004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司), 粘附力测定仪(自制)。

1.2 试药 制霉菌素原料药(浙江震元制药有限公司, 批号: 20101218), 制霉菌素标准品(中国食品药品检定研究院, 批号: 20101206), 聚乙烯醇(PVA, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20100810), 羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20100422), 乙基纤维素(国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20100902), 壳聚糖(国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20110102), 甘油(南京东德化工科技有限公司, 医药级, 批号: 20110103), 甲醇(天津四友精细化学品有限公司, 一级色谱纯, 批号: 20110113), 乙醇(天津四友精细化学品有限公司, 一级色谱纯, 批号: 20101216), 纯化水(自制)。

收稿日期 2011-12-05 修回日期 2012-01-19

作者简介 叶继锋(1983-), 女, 浙江温州人, 药师, 学士, 研究专业: 药剂学。电话: (0) 13858824860, E-mail: yjfl206@163.com。