

- [8] Yuan J R, Yuan H. The studies of quality control methods for traditional Chinese medicines [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2001, 36(8): 566-569.
- [9] Bai G, Fujiwara K, Tanimori H, *et al.* Development and application of a sandwich enzyme immunoassay for *Radix Glycyrrhizae* protein (RGP) using monoclonal antibodies [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(12): 1224-1228.
- [10] Bai G, Yang W B, Cao X L, *et al.* Using immunological method for detection and quantitative measurement of the contents of *Radix Glycyrrhizae* component composing traditional Chinese medicines [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankai* (南开大学学报), 2002, 35(3): 87-90.

Ⅲ型山东药圣 1+1 澄清剂用于抗流感滴鼻剂的澄清工艺

张会宗, 潘明云, 张若石, 李大明

(辽宁省中医研究院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要:目的 考察抗流感滴鼻剂的絮凝除杂工艺条件。方法 以澄清效果为指标, 对影响Ⅲ型山东药圣 1+1 澄清剂絮凝除杂的 5 种因素进行了考察。以栀子苷量为定量考察指标, 木兰脂素、栀子苷的 TLC 检识为表观考察指标, 对Ⅲ型山东药圣 1+1 澄清剂絮凝、50%乙醇醇沉、75%乙醇醇沉除杂情况进行对比, 确定最佳的除杂工艺条件。结果 采用优化后的絮凝除杂工艺条件, 絮凝组中栀子苷含量明显高于 50%、75%乙醇醇沉组; TLC 显示, 絮凝除杂组与原液组斑点基本一致。结论 Ⅲ型山东药圣 1+1 澄清剂在抗流感滴鼻剂的除杂工艺中, 具有活性成分保留率高, 操作简便, 成本低廉, 工艺稳定等优点, 是较理想的除杂方法之一。

关键词:抗流感滴鼻剂; Ⅲ型山东药圣 1+1 澄清剂; 栀子苷; 木兰脂素; 高效液相色谱; 薄层色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)10-1112-04

Application of Shandong Yaosheng 1+1 (Ⅲ) clarificant in clarifying process of Anti-flu Nose Drops

ZHANG Hui-zong, PAN Ming-yun, ZHANG Ruo-shi, LI Da-ming

(Liaoning Academy of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China)

Abstract: **Object** To investigate the process of flocculation impurity removal for the Anti-flu Nose Drops (AND). **Methods** Five kind of effective factors on flocculation impurity removal with the index of clarifying results were studied. Comparative tests for Shandong Yaosheng 1+1 (Ⅲ) clarificant, 50% alcohol precipitation, and 75% alcohol precipitation were performed with the quantitative index of gardenoside contents, the qualitative index of magnolin and gardenoside TLC chromatograms. The optimum process condition was selected out. **Results** Under the optimum process condition of flocculation impurity removal, gardenoside contents in the flocculation group is higher than those in 50%, 75% alcohol groups. TLC chromatograms showed that the spots of flocculation group are the same as those in the original liquid group. **Conclusion** Shandong Yaosheng 1+1 (Ⅲ) clarificant has following advantages: high reserved rate of active components, simple operation, cheap cost, stable process, which is a ideal method for the impurity removal.

Key words: Anti-flu Nose Drops (AND); Shandong Yaosheng 1+1 (Ⅲ) clarificant; gardenoside; magnolin; HPLC; TLC

自 20 世纪 50 年代末有机高分子絮凝剂制成以来^[1], 吸附澄清技术逐渐应用于食品、医药领域。特别在中药除杂方面, 絮凝剂通过架桥吸附, 选择性地去除杂质, 克服醇沉脱水因物质的溶解度改变而造成活性成分遗失, 客观上与中医的整体观、中药多靶点发挥作用的内在机制相吻合。抗流感滴鼻剂由白

芷、辛夷等 4 味中药组成, 具有辛凉解表、疏散风热之功效, 临床用于风热证流感。辛夷挥发油有抗组胺样作用^[2], 白芷中香豆素类有治疗头痛作用^[3]。该制剂的提取工艺为提取挥发油后, 对药渣进行水煎, 因此水煎液的除杂问题成为直接影响制剂澄清度和药物稳定性的关键问题之一。为了寻求最佳除杂工艺

收稿日期: 2003-12-25

基金项目: 辽宁省科技厅资助项目 (00226003)

作者简介: 张会宗 (1971—), 男, 助理研究员, 辽宁省凌源市人, 现在攻读辽宁中医学院药学硕士学位, 主要从事中药新制剂的研制开发工作。Tel: (024) 86110027 E-mail: hzzhanglzyk@vip.sina.com

条件,本实验考察了Ⅲ型山东药圣1+1澄清剂对抗流感滴鼻剂的除杂工艺的影响。

1 仪器、试剂与材料

LC—10A 高效液相色谱仪(大连江申),LC—10P 液相色谱,JS—3030 色谱工作站;GSP 型磁力搅拌器(江苏泰县姜埭无线电厂);超级恒温水浴锅(辽阳市恒温仪器厂);PHS—2A 型精密酸度计(厦门第二分析仪器厂);定量毛细管(Drummond Sci,美国)。

栀子苷、木兰脂素(中国药品生物制品检定所提供,供含量测定用,批号分别为:749-200108;883-200102);硅胶 G、硅胶 H(青岛海洋化工厂);乙腈(色谱纯),水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯,山东药圣1+1澄清剂(山东药圣生物科技有限公司)。

2 澄清工艺考察

2.1 水提液的制备:按照处方配伍比例,称取白芷、辛夷等药材,加10倍量水,水蒸气蒸馏提取挥发油4h,所得挥发油、提取液另器保存;药渣加10倍量水提取2次,每次30min,提取液合并、滤过,滤液减压浓缩至水与生药比4:1,用酸度计测定pH值,备用。

2.2 药圣1+1澄清剂的制备:取A组份1g,蒸馏水少量搅拌成糊状,然后加蒸馏水,溶胀24h,搅拌,滤过,配成1% A组份溶液,备用;取B组份1g,缓缓加入1%醋酸溶液,搅匀,溶胀24h,即得B组份溶液。

2.3 药液质量浓度对澄清效果的影响:取不同质量浓度的水提液(pH 4.2) 50 mL 5份,80℃水浴下依次加入1% A、B组份溶液,分别快速搅拌1min,再缓慢搅拌10min(30 r/min),停止搅拌,静置12h,观察并记录絮体产生及沉降情况。用定量滤纸滤过,观察滤液的澄明度,并对滤液进行蛋白质、鞣质定性考察^[2],结果见表1。

表1 药物质量浓度对体系澄清效果的影响

Table 1 Effect of sample concentration on clarifying

项 目	1号杯	2号杯	3号杯	4号杯	5号杯
药液(生药:水)	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12
絮凝剂加入量	1.0 mL A, 2.0 mL B	0.65 mL A, 1.3 mL B	0.5 mL A, 0.1 mL B	0.4 mL A, 0.8 mL B	0.38 mL A, 0.65 mL B
絮体形态	带状,颗粒状, 量少	丝状,颗粒状, 量少	颗粒状,量多	颗粒状,量多	细小颗粒,量少
沉降时间	5 h	60 min	15 min	10 min	15 min
滤过速度	较慢	较慢	较快	快	快
滤液澄明情况	乳光重	乳光轻	澄清	澄清	澄清
双缩脲试验	+	+	+	—	—
氯化钠-明胶试验	+	+	—	—	—
观察小结	最差	较差	优	最优	较优

2.4 体系pH值对澄清效果的影响:各取水提液(生药:水为1:10) 50 mL,装入100 mL烧杯中,80℃水浴下调整各烧杯的pH值分别为4.0、5.0、6.0、7.0、8.0(用稀盐酸溶液和1 mol/L氢氧化钠溶液调整)后,依次加入0.4 mL 1% A组份溶液,0.8 mL B组份溶液,同上操作,结果见表2。

表2 体系pH值对澄清效果的影响

Table 2 Effect of solution pH value on clarifying

项 目	1号杯	2号杯	3号杯	4号杯	5号杯
药液 pH 值	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
絮体形态	带状,细颗粒 状,量少	丝状,细颗粒 状,量少	颗粒状,量 少	颗粒状,量 多	絮状,颗粒 状,量多
沉降时间/min	30	30	20	10	10
滤过速度	较慢	较慢	较快	较快	快
滤液澄明情况	乳光重	乳光轻	澄清	澄清	澄清
双缩脲试验	—	—	—	—	—
氯化钠-明胶试验	+	—	—	—	—
观察小结	最差	较差	优	优	最优

2.5 澄清剂加入量对澄清效果的影响:各取水提液(生药:水为1:10) 50 mL,装入100 mL烧杯中,80℃水浴下各烧杯的pH值调为8.0(用1 mol/L氢氧化钠溶液调整),依次加入不同体积的澄清剂,同上操作,结果见表3。

表3 澄清剂加入量对澄清效果的影响

Table 3 Effect of clarificant volume on clarifying

项 目	1号杯	2号杯	3号杯	4号杯	5号杯
澄清剂加入量	0.25 mL A, 0.5 mL B	0.3 mL A, 0.6 mL B	0.35 mL A, 0.7 mL B	0.4 mL A, 0.8 mL B	0.45 mL A, 0.9 mL B
絮体形态	极细小颗粒状, 量少	细颗粒状, 量少	颗粒状, 量多	絮状,颗粒 状,量多	颗粒状, 量多
沉降时间/min	50	40	20	10	10
滤过速度	较慢	较慢	较快	快	快
滤液澄明情况	乳光重	乳光轻	乳光轻	澄清	澄清
双缩脲试验	+	—	—	—	—
氯化钠-明胶试验	+	+	—	—	—
观察小结	最差	较差	优	最优	优

2.6 澄清温度对体系澄明度的影响:各取水提液(生药:水为1:10) 50 mL,装入100 mL烧杯中,不同水浴温度下调整pH值为8.0,依次加入0.4 mL 1% A组份溶液,0.8 mL B组份溶液,同上操作,结果见表4。

2.7 搅拌速度对体系澄明效果的影响:各取水提液(生药:水为1:10) 50 mL,装入100 mL烧杯中,80℃水浴下调整pH值为8.0,依次加入0.4 mL 1% A组份溶液,0.8 mL B组份溶液,分别快速搅拌1min,再以不同速度搅拌10min,同上操作,结果见表5。

3 栀子苷的测定

3.1 色谱条件:色谱柱:Hypersil ODS2C₁₈柱(200

表 4 澄清温度对体系澄清效果的影响

Table 4 Effect of temperature on clarifying

项 目	1号杯	2号杯	3号杯	4号杯
体系温度/℃	40	60	80	100
絮体形态描述	带状,极细小颗粒,量少	细颗粒状,量少	絮状,颗粒状,量多	颗粒状,量多
沉降时间	5 h	30 min	10 min	15 min
滤过速度	较慢	较慢	快	快
滤液澄清情况	乳光重	乳光轻	澄清	澄清
双缩脲试验	+	-	-	-
氯化钠-明胶试验	+	-	-	-
观察小结	较差	优	最优	优

表 5 搅拌速度对体系澄清效果的影响

Table 5 Effect of stirring speed on clarifying

项 目	1号杯	2号杯	3号杯	4号杯
搅拌速度/(r·min ⁻¹)	80	100	120	140
絮体形态	带状,极细小颗粒,量少	颗粒状,量多	絮状,颗粒状,量多	细颗粒状,量多
沉降时间/min	40	12	10	15
滤过速度	较慢	快	快	快
滤液澄清情况	乳光轻	乳光轻	澄清	澄清
双缩脲试验	-	-	-	-
氯化钠-明胶试验	-	-	-	-
观察小结	较差	优	最优	优

mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(8:92); 检测波长: 238 nm; 柱温: 室温; 体积流量: 0.6 mL/min。以栀子苷计, 理论塔板数不得低于 4 000。

3.2 对照品溶液的制备: 精密称取栀子苷对照品适量, 加甲醇制成 22.4 μg/mL 的溶液, 即得。

3.3 供试品溶液的制备: 取提取液 200 mL, 分别平均置于 4 个烧杯中, 第 1 个烧杯为原液, 第 2 个烧杯用 50% 乙醇沉淀, 第 3 个烧杯用 75% 乙醇沉淀, 第 4 个烧杯用澄清剂絮凝, 放置 2 h, 滤过, 滤液分别浓缩, 定容于 50 mL 量瓶中(M 液); 精密吸取 3 mL 定容于 10 mL 量瓶, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

3.4 标准曲线的制备: 取栀子苷对照品溶液依次进样 2.5、5.0、10.0、25.50 μL, 测定峰面积。以进样量对相应峰面积进行回归, 得线性回归方程 $Y = 6\,828\,794.282 X - 188\,377.35$, $r = 0.999\,2$ 。表明栀子苷在 0.056~1.120 μg 时与峰面积呈良好的线性关系。

3.5 测定: 分别精密吸取上述各供试品溶液和对照品溶液 10 μL 进样, 测定, 结果见表 6。

4 定性考察

4.1 栀子的 TLC 鉴别: 分别取 3.3 项下 M 液, 作为供试品溶液。另取栀子苷对照品, 加乙醇制成 1.12 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。另按工艺制备缺栀子的阴性对照溶液。照薄层色谱法试验, 取上

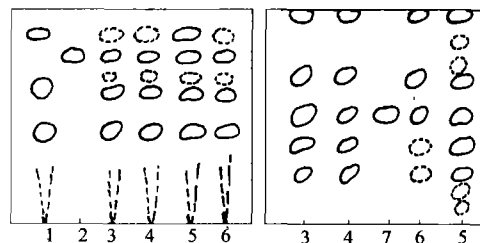
表 6 不同除杂工艺得栀子苷含量及出膏率考察结果

Table 6 Results on total saponins, gardenoside, and solid quantity percentage by different process of impurity removal

项 目	50%乙醇沉淀	75%乙醇沉淀	澄清剂	原液
絮体出现时间	立即	立即	立即	
絮体形态	棉絮状	棉絮状	小絮状或大颗粒状	
沉降时间	1.5 h	1 h	15 min	
滤过速度	快	快	快	慢
滤液颜色	棕红色	棕红色	深棕红色	棕黄色
栀子苷/(mg·mL ⁻¹)	0.164	0.222	0.362	0.492
栀子苷保留率/%	33.33	45.12	73.57	100.00
出膏率/%	20.1	15.5	18.0	22.16
双缩脲试验	+	+	-	+
氯化钠-明胶试验	+	+	-	+

述溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以硫酸乙醇(5→10)溶液, 110 ℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点(图 1)。

4.2 辛夷的 TLC 鉴别: 分别取 3.3 项下 M 液, 作为供试品溶液。取木兰脂素对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法吸取上述溶液各 10 μL, 分别点于同一羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上, 以氯仿-乙醚(5:1)为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 90 ℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同紫色斑点(图 1)。



1-阴性对照 2-栀子苷对照品 3-50%乙醇醇沉液

4-75%乙醇醇沉液 5-原液 6-Ⅲ型山东药圣 1+1

澄清剂絮凝液 7-木兰脂素对照品

1-negative sample 2-gardenoside 3-50% alcohol

precipitation solution 4-75% alcohol precipitation solution

5-original solution 6-Shandong Yaosheng 1+1 (Ⅲ)

flocculation precipitation solution 7-magnolin

图 1 栀子(A)和辛夷(B)的 TLC 图

Fig. 1 TLC chromatograms of *Fructus Gardeniae* (A) and *Flos Magnoliae* (B)

5 小结与讨论

5.1 澄清工艺结果显示: 按生药与水 1:10 比例, 调整 pH 8.0 后, 加热至 80 ℃, 依次加入 1% A 组份、B 组份, 分别快搅 1 min, 再慢搅(120 r/min) 10

min, 静置 48 h, 滤过, 即得。HPLC 法测得栀子苷的保留率依次为原液组>絮凝组>75%乙醇醇沉组>50%乙醇醇沉组, 通过氯化钠-明胶试验及双缩脲反应检识, 絮凝组中鞣质和蛋白质已除杂完全, 而醇沉组仍为阳性; TLC 显示, 絮凝组、醇沉组与原液组相比, 相同 R_f 处斑点颜色一致, 大小略有不同, 表明各种除杂的保留成分基本一致。但在辛夷的 TLC 谱中, 醇沉组与絮沉组斑点要较原液组斑点为少, 说明除杂工艺对脂溶性成分有一定的影响。

5.2 絮凝除杂过程, 药物浓度过大, 溶液黏稠, 加入澄清剂后, 不利于大分子分散, 使得电中和、吸附架桥、卷扫及网捕作用不完全, 故出现带状及细小颗粒状絮体; 而浓度过低时, 又会使胶体颗粒稀稠, 吸附架桥几率变小, 故颗粒较小, 沉淀量少。抗流感滴鼻剂药液的 pH 值在弱碱性时, 对于山东药圣 1+1 澄清剂吸附架桥作用可能更完全, 同时, pH 8.0 时, 也有利于栀子苷的溶出, 从而有利于有效成分的留存。随着澄清剂加入量的增加, 体系中胶体粒子与澄清剂分子的接触机率增大, 架桥吸附、电中和、卷扫和网捕作用更充分, 澄清效果更佳, 但澄清剂加入量过大, 就使得体系的胶体颗粒被完全包裹, 失去与其他

大分子架桥的机会, 且因澄清分子链间静电排斥作用, 反而起到分散作用, 故颗粒较小, 絮体量少。随着体系的温度升高, 颗粒的布朗运动加快, 与高分子的碰撞机率增强, 架桥吸附作用较充分, 澄清效果较好。但当温度达到 100 ℃ 时, 可能使得分子老化^[1]或灭活, 从而影响澄清效果。搅拌速度过慢, 会使絮凝分子分散较慢, 易自身缠绕成团, 形成带状絮体; 同时分散的少量大分子又因剂量不足而使絮体颗粒细小, 絮凝不足, 澄清效果较差。同时, 试验还考察了絮凝恒温保存时间和温度对澄清效果的影响, 发现本实验采用的温度和时间较适合絮体的生成, 增强澄清效果; 并通过活性成分保留率的比较, 最后确定的澄清工艺较醇沉工艺除杂更充分, 工艺更稳定, 成本更低廉, 是较理想的除杂方法之一。

References:

- [1] Dong F Y. *Modern Practical New Preparation and Technology of Chinese Materia Medica* (现代实用中药新剂型新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.
- [2] Zhou D X. Studies on anti-slow reaction substance and antiallergic effect of volatile oil from *Flos Magnoliae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(2): 81.
- [3] Wei Y P. Studies on evaluation index of extracting process of *Radix Angelicae Dahuricae* used in headache treatment [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(4): 318.

促透剂对青藤碱凝胶经皮渗透作用的研究

张先洲¹, 周 健¹, 何 文¹, 吴 峰²

(1. 武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060; 2. 武汉市医学会, 湖北 武汉 430014)

摘要:目的 考察不同促透剂对青藤碱凝胶经皮渗透作用的影响。方法 采用改良 Franz 扩散池, 以离体大鼠皮肤为透皮屏障, 采用 HPLC 法测定青藤碱的经皮渗透量, 分别考察含氮酮、薄荷脑、油酸的青藤碱凝胶的渗透情况。结果 几种促透剂对青藤碱凝胶透皮速率均有明显作用, 其促透强度依次为氮酮>薄荷脑>油酸, 其中以 2% 氮酮和 10% 油酸混合物的促透作用最强。结论 2% 氮酮和 10% 油酸混合物为青藤碱凝胶的最佳促透剂。

关键词:青藤碱凝胶; 经皮渗透; 氮酮; 薄荷脑; 油酸; 青藤碱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)10-1115-03

Penetration of transdermal enhancers on percutaneous permeation of Sinomenine Gels *in vitro*

ZHANG Xian-zhou¹, ZHOU Jian¹, HE Wen¹, WU Feng²

(1. Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2. Wuhan Medical Association, Wuhan 430014, China)

Abstract: **Object** To observe the effects of several transdermal enhancers on the permeation of sinomenine in Sinomenine Gels (SG). **Methods** The transdermal penetration in Franz diffusion cell for isolated rat skin of SG by different content enhancers with Azone, mentha camphor, and oleic acid, respectively was studied. The content of sinomenine was determined by HPLC. **Results** The above-

收稿日期: 2003-12-15

作者简介: 张先洲(1966—), 男, 湖北仙桃人, 副主任药师, 硕士, 主要从事药物新剂型研究。Tel: (027) 88041919-8380

E-mail: zhangxianzhou663@sina.com