

# 鞣酸不同级分作为合成原料对鞣酸小檗碱膜溶化时限的影响

张智<sup>1,2</sup>, 乔德龙<sup>1</sup>, 李维民<sup>1</sup>, 张政<sup>1,2</sup>, 卢英<sup>1,2</sup>, 徐小山<sup>1,2</sup>, 邓月婷<sup>1,2\*</sup> (1.甘肃陇神戎发药业股份有限公司, 兰州 730102; 2.甘肃省中药固体分散剂重点实验室, 兰州 730102)

**摘要:** 目的 通过鞣酸小檗碱的合成原料控制改善鞣酸小檗碱膜的溶化时限。方法 通过对 73% 的粗制鞣酸进行不同极性溶剂的分离提取, 得到不同级分的鞣酸, 与盐酸小檗碱反应制备鞣酸小檗碱, 然后涂膜检测各自的溶化时限, 以寻找最佳级分的鞣酸作为鞣酸小檗碱膜合成原料。结果 鞣酸的水级分以及水级分剩余物作为原料制备的鞣酸小檗碱使得鞣酸小檗碱膜的溶化时限缩短至 <5 min, 完全符合中国药典 2015 年版膜剂相关要求。结论 经过工艺优化后生产的鞣酸小檗碱原料药可以使鞣酸小檗碱膜溶化时限明显缩短, 改善膜剂的分散性能。

**关键词:** 鞣酸; 级分; 溶化时限; 小檗碱; 膜剂

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)10-1201-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.10.008

引用本文: 张智, 乔德龙, 李维民, 等. 鞣酸不同级分作为合成原料对鞣酸小檗碱膜溶化时限的影响[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(10): 1201-1204.

## Effects of Different Fractions of Tannic Acid as the Raw Material on the Dissolution Time of Berberine Tannate Pellicles

ZHANG Zhi<sup>1,2</sup>, QIAO Delong<sup>1</sup>, LI Weimin<sup>1</sup>, ZHANG Zheng<sup>1,2</sup>, LU Ying<sup>1,2</sup>, XU Xiaoshan<sup>1,2</sup>, DENG Yueting<sup>1,2\*</sup> (1. Gansu Longshenrongfa Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Lanzhou 730102, China; 2. Gansu Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Solid Dispersible Preparation, Lanzhou 730102, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To improve the dissolution time of berberine tannate pellicles by controlling the synthetic material of berberine tannate. **METHODS** After separation and extraction of 73% crude tannic acid with different polar solvents, different fractions of tannic acid were obtained and reacted with berberine hydrochloride to prepare berberine tannate. Then, the dissolution time of each coating was detected to find the best fraction of tannic acid as the raw material for the synthesis of berberine tannate pellicles. **RESULTS** The berberine tannate prepared from the water fraction of tannic acid and the remaining water fraction as raw materials shortened the dissolution time of berberine tannate pellicles to <5 min, which fully met the requirements of pellicles of Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition. **CONCLUSION** The berberine tannate active pharmaceutical ingredient produced after the process optimization can shorten the dissolution time of berberine tannate pellicles significantly and improve the dispersive property of film agent.

**KEYWORDS:** tannic acid; fraction; dissolution time; berberine; membrane

鞣酸小檗碱膜又名斯娜格膜, 是一种以鞣酸小檗碱作为原料, 治疗敏感细菌引起的宫颈糜烂的局部用药, 贴敷于糜烂面上后缓慢释放出游离的鞣酸与小檗碱<sup>[1]</sup>, 只有少量经黏膜吸收, 多数起到防腐、收敛凝固炎症表面蛋白的作用<sup>[2-3]</sup>。

目前市场上生产鞣酸小檗碱原料药的厂家很少, 且均处于停产状态, 因此课题组对鞣酸小檗碱的合成工艺进行了摸索, 在小试过程中发现, 使用不同纯度的鞣酸合成的鞣酸小檗碱对鞣酸小檗碱膜的溶化时限、炽灼残渣等检测指标有很大影响, 很多未能达到国家标准<sup>[4]</sup>。这表明鞣酸小檗碱的膜剂需要更高质量的原料药, 因此要对膜剂

用鞣酸小檗碱的合成过程进行更严格的控制才能得到最终合格的产品。

众多研究表明, 鞣酸在体内主要通过与其蛋白质的结合起到收敛、抗菌的作用<sup>[5-8]</sup>, 而不同极性的溶剂提取出的鞣酸分子量差异较大, 低极性溶剂如乙醚提取出的鞣酸分子量较小, 随着提取溶剂极性的增加, 鞣酸分子量逐渐增大<sup>[9-11]</sup>, 而只有分子量>500 时才会与蛋白质牢固结合<sup>[12]</sup>, 分子量越大的鞣酸与蛋白质的结合能力越强<sup>[13]</sup>。低分子量的鞣酸与蛋白质结合能力很弱, 容易发生解离<sup>[14-15]</sup>, 因此抑菌效果较弱, 在药物中的含量应该尽量控制。此外, 在中药妇科类直接接触类药

作者简介: 张智, 男, 硕士, 实验员 Tel: (0931)2143683  
工程师 Tel: (0931)2143382 E-mail: dyt1220@163.com

E-mail: zhang999zhi@sina.com

\*通信作者: 邓月婷, 女, 硕士, 高级工程师

物的实际应用中,药物的持久释放是一个重点考察的因素<sup>[16]</sup>,这将有利于药效的局部发挥,减小人体刺激。

由以上鞣酸的特性可知,不同分子量的鞣酸与生物碱的结合能力也会不同,其相应的结晶形态可能会有所不同,从而导致溶化时限<sup>[17]</sup>、在人体腔道内的释放时长也会有所不同。本研究通过对不同极性溶剂提取出的鞣酸与盐酸小檗碱进行合成,以溶化时限作为指标寻找最适分子量范围的鞣酸作为合成原料,达到最终缩短溶化时限、提高药效的目的。

## 1 仪器与试剂

HWCL-3 集热式磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司);MS205DU 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];TU-1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

鞣酸(天津凯信化学工业有限公司,分析纯,纯度:88%;批号:20140703);鞣酸(张家界九瑞生物科技有限公司,药用级,纯度:92%;批号:F-3220180321001);鞣酸(纯度:95%;批号:F-8120160801001)、鞣酸(纯度:98%;批号:F-8120160912001)均购自五峰赤诚生物科技有限公司;鞣酸(苏州华航化工科技有限公司,纯度:73%;批号:F-3220180621001);盐酸小檗碱(什邡市川泰植物原料有限公司,纯度:98%;批号:F-3120180626001);碳酸钠(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);氯化铁(分析纯,烟台市双双化工有限公司);重铬酸钾(优级纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);甲醇(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 鞣酸小檗碱膜含量检测

**2.1.1 对照品溶液的配制** 精密称取在 120 °C 干燥至恒重的重铬酸钾(基准物)0.2 g,置 1 000 mL 量瓶中,用适量纯化水溶解后,加 1 mol·L<sup>-1</sup> 的硫酸溶液 10 mL,加水至刻度,摇匀,即得。

**2.1.2 供试品溶液的配制** 取本品 4 片,精密称定、剪碎,精密称取适量(约相当于鞣酸小檗碱 50 mg)置小烧瓶中,用甲醇 50 mL 及 1 mol·L<sup>-1</sup> 的盐酸溶液 2 mL 的混合液于 60 °C 水浴,提取 3 次,合并提取液移至 1 000 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

**2.1.3 测定法** 将供试品溶液和对照品溶液分别在 422 nm 处测定吸收度,并按照下式计算:

$$\text{小檗碱含量(\%)} = \frac{\text{重铬酸钾(mg)} \times \frac{\text{供试品溶液吸收度}}{\text{对照品溶液吸收度}} \times \frac{1}{10.69}}{\text{鞣酸小檗碱称量质量(mg)}} \times 100\%$$

### 2.2 鞣酸小檗碱膜的制备<sup>[18]</sup>

取鞣酸小檗碱原料药适量,粉碎,过 60 目筛,称取 10 g 备用。再称取 5 g 聚乙烯醇,加入 20 g 水,加热至 60 °C 搅拌 4 h 充分溶解。称取 10 g 乙醇,对鞣酸小檗碱充分湿润,随后加入聚乙烯醇溶液、甘油,搅拌 3 h 充分混匀。用 200 目滤网过滤混合液,弃去杂质,滤液放冷备用。准备 1 张 20.0 cm×20.0 cm 的玻璃板,洗净、擦干,涂上少许液体石蜡,将滤液倒在玻璃板上平铺均匀,自然风干至恒重,将薄膜从平板上刮下,压膜 48 h,再分割成 4.5 cm×4.5 cm 的薄膜。

### 2.3 鞣酸小檗碱膜溶化时限检测

配制 0.9% 氯化钠溶液 250 mL,放入合适的烧杯中,(37±1)°C 水浴至恒温,取药膜 3 片,分别平放于烧杯的液面上,开始计时,放置过程中应吸水膨胀,继而呈丝状下沉或溶散于液面。待完全溶化时停止计时。

### 2.4 鞣酸小檗碱合成

#### 2.4.1 不同纯度的鞣酸对鞣酸小檗碱合成的影响

称取 88%, 92%, 95%, 98% 的鞣酸各 33.3 g,分别加水制成 15% 鞣酸。在 4 个 1 L 三口瓶中分别加入 600 mL 纯化水,将 600 mL 纯化水分别加热至 50 °C,在搅拌下 1 次各自加入 10 g 盐酸小檗碱,逐渐升温至 80~85 °C,待盐酸小檗碱全部溶解后,冷却至 70 °C,缓慢滴加一定量的 10% 碳酸钠溶液,当 pH=8 停止滴加,继续搅拌 20 min,降温至 60 °C 开始滴加 15% 鞣酸溶液,滴加完毕后搅拌 60 min,逐步降温至 30 °C,静置 2 h 逐步析出沉淀,过滤沉淀,滤饼用纯化水洗涤至用三氯化铁试液检测无蓝色反应为止,60 °C 烘干至恒重得鞣酸小檗碱。计算得收率=鞣酸小檗碱质量/盐酸小檗碱投料质量×100%。考察不同纯度、不同用途的鞣酸对鞣酸小檗碱合成的影响。

结果显示,随着鞣酸纯度的不断提高,产量与小檗碱含量并未逐步提升,反而呈现略微下降的趋势,并且>92%的鞣酸在过滤时非常困难,需耗时很长才能过滤完毕。结果见表 1。

表 1 不同纯度的鞣酸对鞣酸小檗碱合成的影响

Tab. 1 Effects of tannic acid with different purity on the synthesis of berberine tannate

鞣酸含量/%	洗涤速度	收率/%	溶化时限/min	小檗碱含量/%
98	慢	41.9	67	25.1
95	慢	42.3	65	25.6
92	慢	45.2	65	26.2
88	快	133.4	3	31.2

**2.4.2 不同萃取级分鞣酸的制备** 考虑到鞣酸是一种天然提取的不同聚合度的混合物，不同纯度的鞣酸在不同方式的提取过程中可能保留的主要成分聚合度不一致，从而导致分子量不一致。因此对不同溶剂提取的不同级分的鞣酸进行实验以确定不同聚合度的鞣酸对鞣酸小檗碱合成的影响。鞣酸小檗碱膜的制备按“2.2”项下方法进行，溶化时限按“2.3”项下方法检测，小檗碱含量按照“2.1”项下鞣酸小檗碱膜含量检测方法检测。

称取纯度为 73%，88%，95%的鞣酸各 100 g，加入 2×100 mL 石油醚常温机械搅拌 1 h 脱脂，过滤并收集，合并滤液，将石油醚旋干获得石油醚萃取级分鞣酸，剩余物质干燥获得石油醚萃取剩余物。再加入 3×100 mL 乙醚常温机械搅拌提取 2 h，过滤并收集、合并滤液，旋干后获得乙醚萃取级分鞣酸，剩余物质干燥获得固体。再加入 3×100 mL 乙酸乙酯常温机械搅拌提取 2 h，过滤并收集、合并滤液，旋干后获得乙酸乙酯萃取级分鞣酸，剩余物干燥获得固体。在剩余固体物中加入 100 mL 蒸馏水常温机械搅拌提取 3 h，溶液过滤去除不溶物旋干水相得到水萃取级分鞣酸放置于冰箱备用。

称量上述得到的石油醚级分鞣酸、乙醚级分鞣酸、乙酸乙酯级分鞣酸、水级分鞣酸，计算鞣酸质量占比=各溶剂级分鞣酸质量/不同纯度鞣酸的投料总质量×100%，得到图 1。

结果可知，73%鞣酸当中石油醚萃取级分占比比较大，88%鞣酸及 95%鞣酸的石油醚级分占比逐渐缩小。而 73%鞣酸在乙醚级分的占比最小，88%鞣酸次之，95%鞣酸最大。95%鞣酸在乙酸乙酯级分当中的占比最大，88%鞣酸次之，73%鞣酸最小。水级分当中 73%鞣酸占比最高，95%鞣酸最少，88%鞣酸居中。结果见图 1。综上所述，95%鞣酸在处理过程中去除了水级分及水级分剩余物，所含鞣酸主要为小分子与中等分子量部分；88%鞣酸

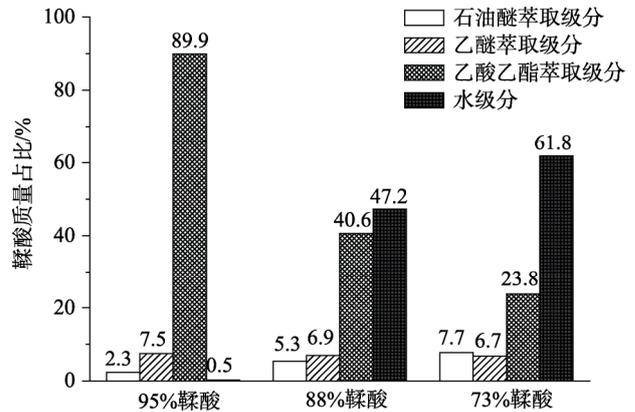


图 1 不同级分鞣酸的制备

Fig. 1 Preparation of tannic acid of different grades

水级分占比与乙酸乙酯级分占比相当，说明其所含鞣酸主要为中等分子量及高分子量部分；73%鞣酸各部分比例分配最为均匀，因此选用 73%鞣酸的各级分进行下一步鞣酸小檗碱的合成试验。

**2.4.3 不同级分的鞣酸合成鞣酸小檗碱** 称取“2.4.2”项下 73%鞣酸中石油醚提取剩余物、乙醚萃取级分、乙醚提取剩余物、乙酸乙酯萃取级分、乙酸乙酯提取剩余物、水级分各 5 g，按“2.4.1”项下鞣酸小檗碱合成方法进行合成。合成结束后，称取不同级分鞣酸合成的鞣酸小檗碱各 2 g，按“2.1”项下鞣酸小檗碱膜含量检测方法检测小檗碱含量。结果见表 2。

表 2 不同级分的鞣酸对鞣酸小檗碱合成的影响

Tab. 2 Effects of tannic acid with different grades on the synthesis of berberine tannate

鞣酸分级	洗涤速度	收率/%	溶化时限/min	小檗碱含量/%
73%纯度	快	142.7	6	30.3
石油醚提取剩余物	快	136.5	7	29.5
乙醚萃取级分	慢	53.6	73	46.2
乙醚提取剩余物	快	133.4	3	29.8
乙酸乙酯萃取级分	慢	67.7	68	25.3
乙酸乙酯提取剩余物	快	217.5	5	28.6
水级分	快	236.7	3	27.5

结果显示，乙醚级分、乙酸乙酯级分所得产品抽滤十分困难，需长时间洗涤才能彻底洗净鞣酸，且收率很少，参考文献[9-11]指出乙醚级分以及乙酸乙酯级分提取物为中小型分子量的鞣酸，这有可能是鞣酸成分当中小分子量与中等分子量物质所合成的鞣酸小檗碱结晶颗粒较小，易堵塞抽滤设备，其他鞣酸级分随着小分子量物质比例的逐渐减少，所得产品结晶颗粒明显增大，不易堵塞抽滤设备，从而导致后处理过程逐渐变得顺利。

### 3 讨论

综上,鞣酸水级分相对其他级分来说是制备鞣酸小檗碱的最佳原料,可以使鞣酸小檗碱膜的溶化时限缩短至 3 min,收率提升为 236.7%。不同级分的鞣酸对鞣酸小檗碱原料药的合成有明显影响,低极性以及中等极性溶剂提取出的鞣酸产量低、难以过滤,只有水相中提取出的鞣酸才能达到合适收率与过滤速度,这可能是因为中、低分子量的鞣酸对生物碱的结合能力较弱导致的。与此相对应的鞣酸小檗碱膜成品的溶化时限也受到类似的影响,中、低分子量的鞣酸导致成膜的溶化时限偏长,甚至不合格,较高分子量的鞣酸导致成膜的溶化时限极短。而目前市场上药用级鞣酸往往在乙酸乙酯中就能全部溶解,应该是鞣酸的中等分子量部分,目前对其纯度中国药典历年各部均未做出明确规定<sup>[19]</sup>,只有林业的行业标准<sup>[20]</sup>,文献对市售药用级鞣酸报道的纯度从 68%到 93%不等<sup>[21-23]</sup>,其分子量分布情况亦未见报道,这说明市场上所销售的药用级鞣酸质量并不一致。因此出现使用药用级鞣酸制备的鞣酸小檗碱原料药制膜后溶化时限较长的问题。这很有可能是中高级分子量鞣酸与小檗碱结合能力较强、结晶稳定、解离速度较慢,而中低级分子量鞣酸与小檗碱结合较弱、解离过快产生过多游离鞣酸与膜相互作用导致的。

溶化时限的缩短有利于本品在作用部位的均匀分布,并且中等及较高分子量的鞣酸在解离后对蛋白的结合能力最强,有助于本品凝固炎症表面蛋白,减少分泌物,加速溃疡面愈合。

鞣酸类药物是一类有效的经天然提取再合成的复合药物,是传统中药与现代药物结合的典型案例,具有化学药品所不具备的一些特殊疗效,但是由于其分子量分布的复杂性,对其进行质量标准控制变得非常困难,从而也限制了这一类药物的广泛生产与应用。

因此,需要进一步研究不同分子量鞣酸的药理特性以及相应的质量控制方法,以期为这一类药物的精细化利用以及推广提供参考。

### REFERENCES

[1] 陈焕基,张芳. 利普刀联合鞣酸小檗碱膜对中重度宫颈糜烂治疗的临床效果[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2017, 4(24): 87-88.  
[2] 方虹,王晶. 斯娜格膜对宫颈 LEEP 刀、冷刀锥切术后创面愈合的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(3): 56-57.

[3] 周淑青,杨黎. 5%鞣酸软膏制备方法的改进[J]. 中国现代应用药学, 2005, 22(S2): 794.  
[4] 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S]. WS1-(X-036)-2003Z.  
[5] ZHANG W B, CAO Y Q, ZHANG M M, et al. Physicochemical properties and applications of tannins[J]. West Leather(西部皮革), 2014, 36(14): 24-29.  
[6] BIAN Y Q, MA Y D, DAI D Y, et al. Biological characteristics of tannic acid and its application value in medicine and stomatology[J]. Chin J Tiss Eng Res(中国组织工程研究), 2019, 23(2): 284-290.  
[7] MA Z H, LU Z B, SHI B. Chemical properties and application of tannic acid[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2003, 15(1): 87-91.  
[8] 陈学斌, Nicola Panciroli. 植物单宁的生物活性及在动物饲料中应用[J]. 广东饲料, 2016, 25(12): 38-41.  
[9] SHEN H Y, SHEN Z B, CHEN X, et al. Study on tannins from black wattle bark ii. molecular weight and its distribution of proanthocyanidins from black wattle bark[J]. Chem Ind For Prod(林产化学与工业), 1990, 10(1): 11-20, 59.  
[10] CHEN W Y, LI Y, ZHANG W D. Mn and tanning power of tannin fractions from bark of picealikiangensis pritz[J]. China Leather(中国皮革), 1991, 20(8): 6-10.  
[11] CHEN W Y, ZHONG K J. Tanning power of tannin fractions from bark of *Abies fabri*[J]. Chem Ind For Prod(林产化学与工业), 1989, 9(3): 59-65.  
[12] QIAN C H. The study of tannin's extraction, fractions and characters from rapeseed shell[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2004.  
[13] HE H Y, LI H J, YANG J. The physiological activation of tannin[J]. Guangzhou Food Sci Technol(广州食品工业科技), 2001, 17(2): 26-28, 35.  
[14] 吕远平,姚开,石碧,等. 植物单宁不同级分生理活性的研究[J]. 四川食品与发酵, 2000, 36(3): 44-47.  
[15] YAO K, LÜ Y P, HE Q, et al. Biological activities of various fractions of black wattle bark tannins[J]. J Beijing For Univ(北京林业大学学报), 2002, 24(2): 20-23.  
[16] SHEN W, XIA C K, JIANG D L, et al. Preparation and content determination of Shuanghuang fule suppository[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(12): 1529-1532.  
[17] 卢来春,葛勤,普艳芳,等. 药物多晶型[J]. 中国现代应用药学, 2002, 19(S1): 108-112.  
[18] 刘建红,张沫. 青黛膜的制备和应用[J]. 中国现代应用药学, 1999, 16(6): 59-60.  
[19] 中国药典. 二部[S]. 1963: 24-25.  
[20] 国家林业局. 中华人民共和国林业行业标准: 药用单宁酸 LY/T 1640—2005[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.  
[21] 林秀英,杨钊,程秀民,等. 紫外分光光度法测定药用鞣酸及其制剂中的含量[J]. 山东医药工业, 1994, 13(4): 18-19.  
[22] CHEN J H, WANG Y M, WU D M, et al. Study and application of purification technology for tannic acid[J]. Mod Chem Ind(现代化工), 2008, 28(S2): 301-304.  
[23] 刘文江,李凤双,王卫平,等. 鞣酸小檗碱的制备工艺改进[J]. 中国医药工业杂志, 1998, 29(6): 12, 20.

收稿日期: 2020-08-11

(本文责编: 陈怡心)