

苦柏妇炎栓水提醇沉工艺优选

姚琳, 孙妍, 高菲, 王伟明*

(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

[摘要] 目的: 优选苦柏妇炎栓的提取、醇沉工艺。方法: 采用水提醇沉法, 以苦参碱、盐酸小檗碱、蛇床子素质量为指标, 通过正交试验考察料液比、提取次数及提取时间对苦柏妇炎栓水提取工艺的影响; 以苦参碱、盐酸小檗碱、蛇床子素质量的综合评分为指标, 通过正交试验考察浓缩液相对密度、醇沉浓度及放置时间对醇沉工艺的影响。结果: 优选的提取工艺为加 12 倍量水提取 3 次, 每次 2 h; 优选的醇沉工艺为提取液浓缩至相对密度 1.18 (25 ℃), 醇沉浓度 60%, 放置 12 h。结论: 优选的工艺稳定可行, 为苦柏妇炎栓的临床应用提供实验依据。

[关键词] 正交试验; 苦参碱; 盐酸小檗碱; 蛇床子素; 水提醇沉法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0066-04

[doi] 10.11653/syjf2013080066

Optimization of Water Extraction and Alcohol Precipitation Technology of Kubai Fuyan Suppositories

YAO Lin, SUN Yan, GAO Fei, WANG Wei-ming*

(Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Haerbin 150036, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize water extraction and alcohol precipitation technology of Kubai Fuyan suppositories. **Method:** Water extraction and alcohol precipitation method was adopted, with the quality of matrine, berberine and osthole as indexes, effects of liquid-solid ratio, extraction times and time on water extraction technology was investigated by orthogonal test; With composite score of the quality of matrine, berberine and osthole as index, the relatively density of concentrated liquid, the concentration of alcohol precipitation and storage time were chosen as factors, alcohol precipitation technology was optimized by orthogonal test. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted 3 times with 12 times the amount of water, 2 hours each time; Optimized alcohol precipitation technology was: the relative density of concentrated liquid 1.18 (25 ℃), the concentration of alcohol precipitation 60%, placed 12 hours. **Conclusion:** These optimized technologies was stable, reasonable and feasible, they could provide experimental basis for clinical application of Kubai Fuyan suppositories.

[Key words] orthogonal test; matrine; berberine; osthole; water extraction and alcohol precipitation method

苦柏妇炎栓为黑龙江省中医研究院临床经验方, 主要由黄柏、蛇床子、苦参碱等组成, 具有清热燥

湿、解毒杀虫、通淋化浊的功效, 主要用于湿热蕴结所致的带下病及阴道炎、慢性盆腔炎等症的治疗。体内药效学预试验表明, 不同提取工艺浸膏制成的栓剂以水提醇沉法效果最佳。因此, 本实验以盐酸小檗碱、苦参碱、蛇床子素质量为指标, 运用正交试验优选苦柏妇炎栓的提取、醇沉工艺条件。

1 材料

SCL-10A 型高效液相色谱仪 (日本岛津),

[收稿日期] 20121123(003)

[第一作者] 姚琳, 硕士, 主管药师, 从事中药制剂及新药研究, Tel: 0451-55665478, E-mail: yaoyao198003@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 王伟明, 博士, 研究员, 从事新药开发研究, Tel/Fax: 0451-55665478, E-mail: zyyjy@163.com

Bp211D型1/10万电子分析天平(赛多利斯公司),AE240型1/万电子分析天平(梅特勒公司),GZX-DH型电热恒温鼓风干燥箱(山东潍坊医疗器械厂),DK-98-1型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。中性氧化铝(上海杜园精细化工有限公司),蛇床子素、盐酸小檗碱、苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为110822-200406,110713-200609,110805-200306),乙腈、冰乙酸、三乙胺、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。黄柏、苦参、蛇床子等药材均购自安国市京业药业有限公司,经黑龙江省中医研究院王有志研究员鉴定符合2010年版《中国药典》一部有关规定。

2 方法及结果

2.1 盐酸小檗碱含量测定^[1]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱对照品5.25 mg,置50 mL量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取浓缩清膏适量,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入盐酸-甲醇(1:100)溶液25 mL,密塞,称定质量,于60℃水浴温热15 min,超声处理30 min,放冷,用盐酸-甲醇(1:100)溶液补足缺失的质量,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-水-冰乙酸-三乙胺(25:73:1:1),检测波长265 nm,进样量5 μL。

2.2 苦参碱含量测定^[2]

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱对照品5.85 mg,置25 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取浓缩清膏适量,精密称定,置具塞锥形瓶中,加浓氨试液0.5 mL,精密加入三氯甲烷20 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷,再称定质量,用三氯甲烷补足缺失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL,加至中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径1 cm)上,依次用三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3)混合溶液各20 mL洗脱,合并收集洗脱液,回收溶剂至干,残渣加无水乙醇适量使溶解,转移至10 mL量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-水(0.1%三乙胺,0.04%磷酸)(16:84),检测波长215 nm,进样量5 μL。

2.3 蛇床子素含量测定^[3]

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取蛇床子素对照品6.27 mg,置25 mL量瓶中,加乙醇使溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取浓缩清膏适量,精密称定,置具塞锥形瓶中,加无水乙醇25 mL,精密称定质量,放置2 h,超声处理30 min,放冷,再称定质量,用无水乙醇补足缺失的质量。精密量取上清液5 mL,置10 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-水(65:35),检测波长322 nm,进样量5 μL。

2.4 水提取工艺优化 以盐酸小檗碱、苦参碱和蛇床子素质量为指标,选取液料比、提取时间、提取次数为考察因素^[4]。称取处方量药材共9份,每份105 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,提取液浓缩至 $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,称重,按上述方法测定3种成分含量。因素水平见表1,试验安排及结果见表2,方差分析见表3。

表1 苦柏妇炎栓水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 液料比	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	8:1	1	1
1	10:1	2	2
3	12:1	3	3

由直观分析可知,各因素对盐酸小檗碱、苦参碱和蛇床子素提取率的影响大小均为 $C > A > B$,最优组合为 $A_3B_2C_3$ 。方差分析表明,液料比对盐酸小檗碱质量的影响极显著,提取次数影响显著,而提取时间则无显著影响;提取次数对蛇床子素质量的影响显著,其他因素则无显著影响;各因素对苦参碱质量的影响均未达显著水平;确定最佳提取工艺为 $A_3B_2C_3$,即加12倍量水煎煮3次,每次2 h。按上述工艺进行3次验证试验,结果提取液中盐酸小檗碱、苦参碱、蛇床子素平均质量分别为52.25(RSD 0.87%),310.8(RSD 1.12%),29.86(RSD 1.31%) mg;说明优选的工艺条件稳定可靠。

2.5 醇沉工艺的优化 选取放置时间、醇沉浓度及浓缩液相对密度为考察因素^[5]按处方比例称取药材共1.26 kg,按优选的工艺条件进行提取,提取液浓缩至1.26 L,分成9份,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验(每组药液的相对密度均在25℃测定),取上清液,回收乙醇并浓缩成 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的清膏,采用HPLC测定。由于不同指标成分在同一药液中含量差异较

表 2 苦柏妇炎栓水提取工艺正交试验安排 mg

No.	A	B	C	D (空白)	盐酸 小檗碱	苦参碱	蛇床 子素
1	1	1	1	1	20.27	228.90	7.91
2	1	2	2	2	36.02	281.40	17.51
3	1	3	3	3	39.38	271.95	15.12
4	2	1	2	3	35.08	279.30	20.88
5	2	2	3	1	44.62	308.70	27.39
6	2	3	1	2	19.68	268.80	9.84
7	3	1	3	2	49.06	301.35	27.90
8	3	2	1	3	33.40	261.45	13.94
9	3	3	2	1	43.57	309.75	20.42
盐酸小檗碱 K_1	31.890	34.803	24.450	36.153			
K_2	33.127	38.013	38.223	34.920			
K_3	42.010	34.210	44.353	35.953			
R	10.120	3.803	19.903	1.233			
蛇床子素 K_1	13.513	18.897	10.563	18.573			
K_2	19.370	19.613	19.603	18.417			
K_3	20.753	15.127	23.470	16.647			
R	7.240	4.486	12.907	1.926			
苦参碱 K_1	260.75	269.85	253.05	282.45			
K_2	285.60	283.85	290.15	283.85			
K_3	290.85	283.50	294.00	270.90			
R	30.10	14.00	40.95	12.95			

表 3 提取工艺方差分析

指标	变异来源	SS	f	MS	F	P
盐酸小檗碱	A	182.857	2	91.429	69.554	<0.05
	B	25.121	2	12.561	9.555	>0.05
	C	623.424	2	311.71	237.134	<0.01
	D(误差)	2.629	2	1.315		
蛇床子素	A	88.632	2	44.316	12.903	>0.05
	B	34.857	2	17.429	5.075	>0.05
	C	263.255	2	131.628	38.325	<0.05
	D(误差)	6.869	2	3.435		
苦参碱	A	1551.095	2	775.548	5.118	>0.05
	B	382.445	2	191.223	1.262	>0.05
	C	3068.135	2	1534.068	10.124	>0.05
	D(误差)	303.06	2	151.530		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.0$ (表 6 同)。

大,为消除此影响进行加权处理,即以指标成分的最大值为 100%,其余各值与之相除,并进行标准化处理。按照各指标地位给予不同的加权系数,综合评

分(Y) = 盐酸小檗碱 × 0.4 + (蛇床子素 + 苦参碱) × 0.3。因素水平见表 4,试验安排及结果见表 5,方差分析见表 6。

表 4 苦柏妇炎栓醇沉工艺正交试验因素水平

水平	A 相对密度	B 醇沉浓度/%	C 放置时间/h
1	1.06	60	6
2	1.12	70	12
3	1.18	80	24

表 5 苦柏妇炎栓醇沉工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	盐酸小檗 碱/mg	苦参碱 /mg	蛇床子素 /mg	综合 评分
1	1	1	1	1	50.32	366.8	8.53	69.1
2	1	2	2	2	61.07	280.0	8.83	68.9
3	1	3	3	3	52.87	270.2	8.65	62.9
4	2	1	2	3	66.08	249.2	15.79	76.5
5	2	2	3	1	41.87	358.4	5.10	59.8
6	2	3	1	2	52.72	235.2	29.46	81.2
7	3	1	3	2	56.26	254.8	10.51	65.6
8	3	2	1	3	60.77	334.6	10.12	74.4
9	3	3	2	1	64.05	341.6	12.94	79.9
K_1	66.967	70.400	74.900	69.600				
K_2	72.500	67.700	75.100	71.900				
K_3	73.300	74.667	62.767	71.267				
R	6.333	6.967	12.333	2.300				

表 6 醇沉工艺综合评分方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
A	71.369	2	35.685	8.427	>0.05
B	74.029	2	37.015	8.741	>0.05
C	299.369	2	149.685	35.349	<0.05
D(误差)	8.47	2	4.235		

由直观分析可知,各因素对醇沉工艺的影响顺序为 $C > B > A$; 方差分析表明因素 C 对试验结果具有显著性影响,其他因素则无显著性影响;确定最佳醇沉工艺为 $A_3B_1C_2$,即浓缩液相对密度 1.18,醇沉浓度 60%,放置 12 h。按比例称取药材粗粉 3 份,每份 140 g,按优选的工艺条件进行提取、醇沉,得到样品。测得盐酸小檗碱、苦参碱和蛇床子素平均质量分别为 66.52 (RSD 1.08%), 382.2 (RSD 1.03%), 30.13 (RSD 1.21%) mg; 证明优选的醇沉工艺条件稳定可行。

3 讨论

在预试验中,将全方分别采取水提醇沉、醇提水沉、部分药材醇提水沉及部分药材水提醇沉,合并

HPLC 测定布洛芬口服溶液中苯甲酸钠、安赛蜜含量

黎艳刚^{1*}, 段峰², 郭丽蓉¹, 程飞¹, 王真¹, 杨武亮³

- (1. 云南白药集团股份有限公司云南白药研究院, 昆明 650500;
2. 江西省吉安市食品药品检验所, 江西 吉安 343000;
3. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定布洛芬口服溶液中苯甲酸钠和安赛蜜含量的方法。方法: 采用 HPLC 测定, 色谱条件为 J'sphere ODS-H80 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 4.0 μm), 流动相 0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵-甲醇(85:15), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm, 进样量 10 μL。结果: 苯甲酸钠和安赛蜜可有效分离, 安赛蜜、苯甲酸钠线性范围依次为 15.75 ~ 110.25, 7.8 ~ 47.8 μg; 平均回收率依次为 100.51% (RSD 0.79%), 100.42% (RSD 1.56%)。结论: 该方法灵敏、简便、重复性好, 可为布洛芬口服溶液中苯甲酸钠和安赛蜜的含量测定提供参考。

[关键词] 布洛芬口服液; 苯甲酸钠; 安赛蜜; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1, R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0069-03

[doi] 10.11653/syjf2013080069

Content Determination of Sodium Benzoate and Acesulfame in Ibuprofen Oral Solution by HPLC

LI Yan-gang^{1*}, DUAN Feng², GUO Li-rong¹, CHENG Fei¹, WANG Zhen¹, YANG Wu-liang³

- (1. Academe of Yunnan Baiyao, Yunnan Baiyao Group Co. Ltd, Kunming 650500, China;
2. Ji'an Institute For Food and Drug Control, Ji'an 343000, China;
3. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for simultaneously determining the content of sodium benzoate and acesulfame in ibuprofen oral solution. **Method:** The content of sodium benzoate and acesulfame was determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: J'sphere ODS-H80 column (4.6 mm × 250

[收稿日期] 20121227(019)

[通讯作者] *黎艳刚, 硕士, 助理工程师, 从事药物分析研究, Tel: 0871-65934569, E-mail: jesseliyangang@163.com

提取物。将以上 3 种方法提取得到的浸膏做成栓剂, 进行体内药效学试验。结果表明采用水提醇沉法所得浸膏药效最佳。因此本试验未选择提取溶剂为考察因素, 而直接以水为提取溶剂。中药复方制剂成分复杂, 在工艺优化的过程中应尽可能选择多个已知的有效成分作为考察指标, 使试验结果更加准确可靠。

[参考文献]

[1] 冷玉杰, 刘兵, 张振秋. 高效液相色谱法测定抗感冒灵片中盐酸小檗碱的含量[J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34

(5): 640.

- [2] 刘为萍, 阮征, 白梅. HPLC 法测定复方神安颗粒中苦参碱含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1818.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 295.
- [4] 秦超, 容蓉, 杨勇, 等. 多指标正交试验优选麻黄附子细辛汤提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 35.
- [5] 侯林中, 张熙洁, 王玉, 等. 正交试验优选宽心口服液醇沉工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 32.

[责任编辑 全燕]