

清宫消炎栓提取工艺优选

赵红霞^{*}, 白卫国, 汪文来

(中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 用正交实验优选清宫消炎栓中苦参等药材水提醇沉的最佳工艺条件。方法: 采用正交设计法, 以苦参碱、氧化苦参碱含量为考察指标, 对清宫消炎栓中君药苦参水提取的煎煮时间、煎煮次数、加水倍量三因素进行优选研究。结果: 苦参等药材水提取工艺优选结果为 $A_2B_3C_2$, 即药材煎煮 3 次, 加 8 倍水, 每次煎煮 1.5 h; 醇沉前药液浓缩至原药材 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 药液, 醇沉至乙醇含量为 70%。结论: 煎煮次数是影响苦参中苦参碱、氧化苦参碱提取的主要因素, 经验证, 优选工艺重现性好, 稳定可行, 适合工业化生产。

[关键词] 清宫消炎栓; 苦参碱; 氧化苦参碱; 正交实验

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)10-0017-03

Optimization of Extraction Process of Qinggongxiaoyan Suppository

ZHAO Hong-xia^{*}, BAI Wei-guo, WANG Wen-lai

(Institute of Basic Theory, China Academy of Traditional Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction technique of Qinggongxiaoyan Suppository. **Methods:** The extraction technique was optimized by orthogonal experimental design and the contents of matrine and oxymatrine were used as the inspecting marks. **Results:** The optimal extraction technique was that the material was extracted with water whose volume was 8 times than that of the material for 3 times and lasting 1.5 h for each time. **Conclusion:** The times for extraction is the main parameter affecting the contents of matrine and oxymatrine.

[Key words] Qinggongxiaoyan Suppository; matrine; oxymatrine; orthogonal test

清宫消炎栓系由苦参等中药组成, 具有清热解毒, 活血止痛的作用, 用于湿热下注, 热毒熏蒸, 损伤血络导致的赤白带下, 量多, 质黏腻, 阴部瘙痒, 少腹隐痛等症。相当于现代医学的急、慢性宫颈炎症。苦参为君药, 具有清热燥湿, 祛风杀虫的功效。苦参碱、氧化苦参碱为其主要成分, 有文献报道^[1], 20% 乙醇 (6~ 8) 倍量提取率高。本文采用水提醇沉的提取方法, 通过对苦参水提取煎煮时间、煎煮次数、加水量的考察, 优选出最佳提取工艺后, 又考察了水提取药液浓缩比例、醇沉浓度, 优选确定了苦参中苦参碱、氧化苦参碱的提取工艺。

1 仪器与材料

美国 HP1100 高效液相色谱仪(美国, 安捷伦公司), G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。鼓风干燥箱。

无水乙醇、乙腈(色谱纯), 高纯水, 浓氨水, 氯仿。

苦参碱对照品(110805-200306)、氧化苦参碱对照品(110780-200405)由中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用。

2 实验和结果

2.1 色谱条件 氨基键合硅胶色谱柱; 柱温: 25 ℃; 流动相为乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80: 11: 9); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 220 nm; 理论板数按氧化苦参碱峰计算应不低于 2 000。进样量对照品溶液及供试品溶液各 3 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱对照品 5.06 mg, 氧化苦参碱对照品 5.79 mg, 分别加乙腈-无水乙醇(80: 20)溶解, 制成每 1 mL 含苦参碱 0.506 L·mg⁻¹, 氧化苦参碱 0.579 mg 的溶液。精密吸取苦参碱溶液 2 mL、氧化苦参碱溶液 1 mL, 制成每 1 mL 含苦参碱 0.101 2 mg、氧化苦参碱 0.057 9 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过 40 目筛)约 0.1 g, 精密称定, 置 100 mL 烧杯中, 加 30 mL 水, 超声溶解, 加 1 mL 浓氨水碱化后转移至 50 mL 分液漏斗中, 摇匀, 用氯仿萃取 4 次, 每次 25 mL, 减压回收氯仿, 用无水乙醇转移至 10 mL 容量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过。

2.4 样品制备 按一定比例的处方量, 称取含有苦参复方药材 120 g, 各 9 份, 按下述正交试验表设计

条件提取, 采用水煎煮提取, 按表内药液浓缩, 减压真空干燥成干膏, 得(1~ 9)号样品, 采用高效液相色谱法测定苦参碱、氧化苦参碱含量。

2.5 水提取正交试验设计 选用 L₉(3⁴) 正交试验表, 以苦参碱、氧化苦参碱含量为指标, 选取煎煮时间、煎煮次数、加水量对其影响。因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因 素		
	A	B	C
	煎煮时间(h)	煎煮次数(次)	加水量(倍数)
1	1.0	1	6
2	1.5	2	8
3	2.0	3	10

2.6 水提取实验数据统计与方差分析 表 2 和表 3 的试验结果表明, 煎煮次数(B)对于苦参碱、氧化苦参碱提取率有显著性影响, 影响因素 B₃ > B₂ > B₁, 且 A₃B₃C₃ 为佳。从试验结果看出, B 因素对苦参碱、氧化苦参碱含量影响最显著, 故 B 因素选择 B₃ 水平; 煎煮时间(A)、加水量(C)对实验结果无显著影响, 考虑节约生产成本, A 因素选择 A₂ 水平; C 因素选择 C₂ 水平。故最佳工艺为 A₂B₃C₂, 即用 8 倍量水煎煮提取 3 次, 每次 1.5 h。

表 2 L₉(3⁴) 正交试验结果

实验号	A	B	C	D	苦参碱、氧化苦参碱含量(%)
	煎煮时间	煎煮次数	加水倍数	空白	
1	1	1	1	1	0.73
2	1	2	2	2	1.58
3	1	3	3	3	1.93
4	2	1	2	3	0.94
5	2	2	3	1	1.56
6	2	3	1	2	1.76
7	3	1	3	2	1.10
8	3	2	1	3	1.17
9	3	3	2	1	1.82
I ₁	4.24	2.77	4.20	4.11	
I ₂	4.26	4.85	4.34	4.44	
I ₃	4.63	5.51	4.59	4.58	
R	0.39	2.74	0.39	0.47	

表 3 苦参碱、氧化苦参碱方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
A	0.032 2	2	0.016 1	0.829 9	> 0.05	
B	1.363 3	2	0.681 7	35.139 2	< 0.05	*
C	0.026 0	2	0.013 0	0.670 1	> 0.05	
误差	0.038 8	2	0.019 4			

$F_{0.05}(2, 2) = 19$, * 显著差异。

2.7 水提醇沉条件优选

2.7.1 样品制备 按一定比例的处方量,称取含有苦参复方药材 120 g,用上述水煎煮提取的最佳条件,即加水 8 倍量,提取 3 次,每次 1.5 h。药液按下述试验表设计药液浓缩的相对密度,加入乙醇沉淀,乙醇液按表内药液浓缩,减压真空干燥成干膏,得 1~9 号样品,采用高效液相色谱法测定苦参碱、氧化苦参碱含量。色谱条件,对照品溶液、供试品溶液制备条件同前。

2.7.2 试验结果 表 4 的试验结果表明,水煮药液浓缩至相对密度为 1.10~1.15(50 °C),醇沉浓度为 70%,苦参碱、氧化苦参碱含量最高。故最佳醇沉工艺为,水煮浓缩至药液相对密度为 1.10~1.15(50 °C),使含醇量达 70%。

表 4 水煮醇沉试验结果

实验号	相对密度	乙醇浓度 (%)	苦参碱、氧化苦参碱含量 (%)	出膏率 (%)
1	1.03~1.08	50	1.46	12.96
2	1.10~1.15	50	1.45	13.15
3	1.16~1.20	50	1.39	12.61
4	1.03~1.08	60	1.58	13.48
5	1.10~1.15	60	1.87	14.93
6	1.16~1.20	60	1.77	14.09
7	1.03~1.08	70	1.67	12.16
8	1.10~1.15	70	2.07	15.64
9	1.16~1.20	70	1.88	14.48

2.7.3 水提醇沉试验的验证实验 按一定比例的处方量,称取含有苦参复方药材 120 g,各 3 份,按照正交优选的最佳工艺,分别加水煎煮 3 次,每次 8 倍

量,煎煮时间为 1.5 h,药液分别滤过并浓缩至相对密度为 1.10~1.15(50 °C),加乙醇使含醇量达 70%,滤过,乙醇液减压浓缩至稠膏,真空干燥,得干燥物。3 份干浸膏苦参碱、氧化苦参碱含量测定结果见表 5,表明 3 批试验重现性较好,工艺稳定,水提醇沉工艺可行。

表 5 水提醇沉最佳工艺验证结果

批次	总投药量 (g)	苦参投药量 (g)	出膏率 (%)	苦参碱、氧化苦参碱含量 (%)
1	120	45	12.93	1.76
2	120	45	13.00	1.85
3	120	45	13.03	1.93
平均				1.85

3 讨论

从水提取正交实验分析结果表明,最佳工艺为 B>A, C, B 煎煮次数是影响苦参中苦参碱、氧化苦参碱提取率的最主要因素。煎煮时间、加水量对实验结果无显著影响。考虑节约生产成本,故最佳工艺为 8 倍量水,提取 3 次,每次 1.5 h。

水提醇沉试验结果表明,药液水煮浓缩至相对密度为 1.10~1.15(50 °C),使含醇量达 70%,苦参碱、氧化苦参碱含量最高。故最佳醇沉工艺为,药液水煮浓缩至相对密度为 1.10~1.15(50 °C),使含醇量达 70%。水提醇沉验证实验结果表明,苦参碱、氧化苦参碱的平均含量为 1.85%。该工艺方法简单,适合工业化生产。

实验是在复方中以苦参碱、氧化苦参碱含量为指标进行的水煎煮正交试验优选,并在最佳工艺基础上,进行了药液浓缩比例、醇沉浓度的优选,为含有苦参的复方测定苦参碱、氧化苦参碱提供了实验基础。

[参考文献]

- [1] 仵博万,刘建宁,于新桥.苦参中有效成分的提取工艺研究[J].沈阳药科大学学报,1999,16(6):87-88.