

马钱子膨化炮制工艺优选*

朱舟¹, 伍朝君^{2△}, 陈玲¹

(1. 重庆市中医院, 重庆 400021; 2. 四川省乐山职业技术学院, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 优选马钱子膨化炮制的最佳工艺。方法 选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排试验, 以膨化压强和保温时间为考察因素, 以土的宁氮氧化物、马钱子碱氮氧化物的含量为指标考察工艺条件。结果 最佳膨化条件为, 膨化压强 2.0 kg/cm^2 , 膨化保温时间 4 min 。结论 经验证, 优选出的膨化工艺条件结果稳定, 土的宁氮氧化物、马钱子碱氮氧化物含量均处于较高水平, 且较之生品及砂炒品均有较大增加。

关键词: 马钱子; 膨化炮制; 土的宁氮氧化物; 马钱子碱氮氧化物; 正交试验; 工艺优选

中图分类号: R932; R283; TQ460.6

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)10-0006-03

Optimization of Expanded Process of *Strychnos Nuxvomica*

ZHU Zhou¹, WU Chaojun², CHEN Ling¹

(1. Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing, China 400021; 2. Leshan Vocational and Technical College, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: **Objective** To optimize the expanded process of *Strychnos nuxvomica*. **Methods** $L_9(3^4)$ orthogonal test table was used to arrange the test. The expanded pressure and holding time were taken as the indexes, and the content of strychnine N-oxide and brucine N-oxide were taken as the indexes to investigate the technological conditions. **Results** The optimum conditions of expanded process were as follows: the expanded pressure was 2.0 kg/cm^2 and the expanded holding time was 4 min . **Conclusion** After verification, the results of the optimized expanded process are stable, and the content of strychnine N-oxide and brucine N-oxide is at a high level, which is higher than that of original medicinal materials and sand scalding products.

Key words: *Strychnos nuxvomica*; expanded process; strychnine N-oxide; brucine N-oxide; orthogonal test; process optimization

马钱子为马钱科植物马钱 *Strychnos nuxvomica* L. 的干燥成熟种子, 是有毒中药, 临床一般用其炮制品^[1-2]。我院的医院制剂黄马酒治疗癌痛起效快, 效果明显。马钱子为方中主药, 入药时用砂烫品, 为降低马钱子的毒性而不降低疗效, 采用膨化法炮制马钱子。与砂烫法相比, 膨化法操作简便, 只需掌握压力和时间即可, 既缩短了加工周期, 又避免了砂烫法烟熏、灰尘及挥发气体对操作人员身体的影响。本研究中采用膨化法炮制马钱子, 并优化炮制工艺。现报道如下。

1 仪器与试药

仪器: 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); AE100 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); 膨化设备为自行设计委托加工的铁质容器, 容积 3.0 L , 包括进料斗、膨化器、压力调节计、温度计、接收器等。

试药: 马钱子(重庆市药材公司, 批号为 20160321), 经重庆市中医院药剂科中药库房主管药师樊小明鉴定为正品; 药品马钱子砂烫炮制品, 由以上生马钱子按 2015 年版《中国药典(一部)》要求, 由重庆市中医院实验室自行炮制(批号为 20160620); 土的宁氮氧化物对照品(纯度为 97.2%, 批号为 652154-10-4)、马钱子碱氮氧化物对照品(纯度为 96.3%, 批号为 1421-86-9), 均购自

德国 KarlsruheFRG 公司; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸水(我院药剂科自制)。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱: Lichrospher C_{18} 柱($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 流动相: 乙腈(A)-0.2% 乙酸溶液-0.2% 三乙胺(B), 梯度洗脱(0 min、8% A, 15 min、92% A, 30 min、79% A, 60 min、40% A); 流速: 1 mL/min ; 检测波长: 254 nm ; 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 进样量: $10 \mu\text{L}$ 。在此色谱条件下, 待测成分之间皆可达到基线分离。色谱图见图 1。

2.1.2 溶液制备

称取马钱子碱氮氧化物对照品、土的宁氮氧化物对照品各适量, 精密称定, 用甲醇溶解并定容, 得质量浓度分别为 107.233 1 , $110.452 \text{ 3 } \mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 备用。称取马钱子膨化药材粉末 1 g , 精密称定, 置 150 mL 圆底烧瓶中, 加 50 mL 氢氧化钠-甲醇(3:20, V/V), 水浴保持微沸 2 h , 滤过, 置 50 mL 容量瓶中, 用溶剂定容, 即得供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

线性关系考察: 分别吸取对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10,

*基金项目: 重庆市自然科学基金[CSTC, 2009BB5396]。

第一作者: 朱舟, 女, 大学本科, 主任中药师, 研究方向为中药炮制及传统制剂, (电子信箱) zzhxrg@163.com。

△通信作者: 伍朝君, 女, 大学本科, 副教授, 研究方向为中药制剂及含量检测, (电子信箱) 396669014@qq.com。

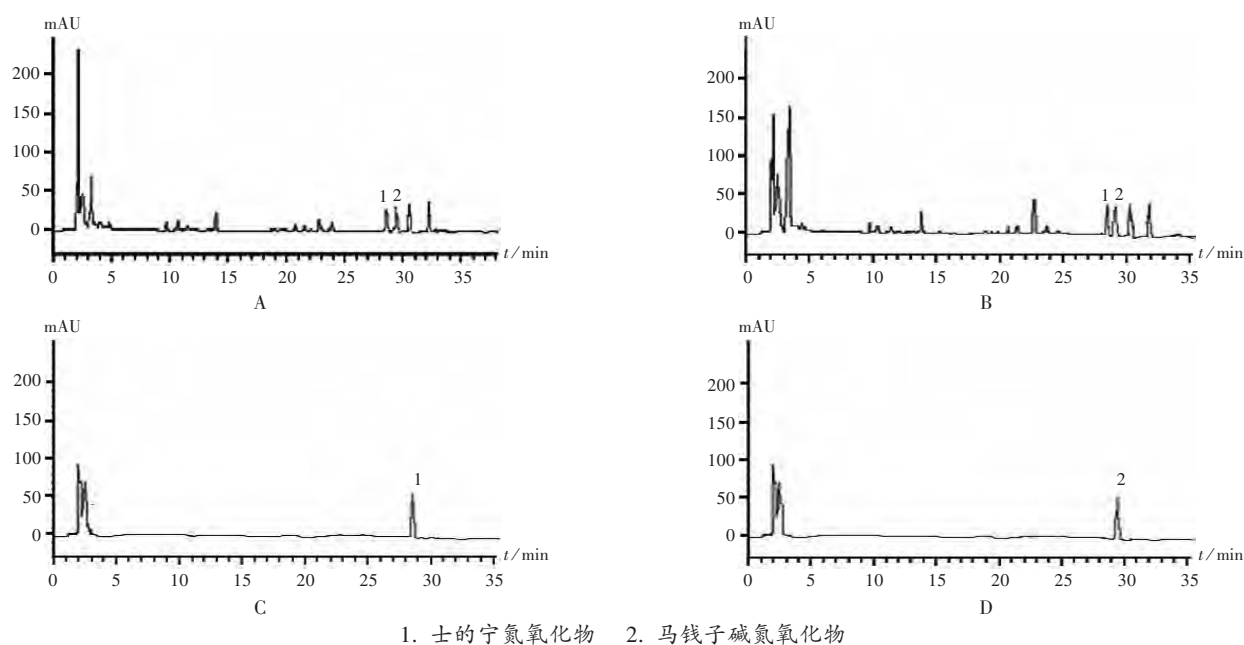


图1 高效液相色谱图

12 μL , 进样, 按拟订色谱条件测定, 以进样量 (μg , C) 对峰面积 (A) 进行线性回归。结果士的宁氮氧化物绝对进样量在 0.12 ~ 0.73 μg 范围内与峰面积线性关系良好, 回归方程为 $A_1 = 2352.5423C_1 - 11.9933$, $r = 0.9995$ ($n = 6$); 马钱子碱氮氧化物绝对进样量在 0.15 ~ 0.67 μg 范围内与峰面积线性关系良好, 回归方程为 $A_2 = 2243.1567C_2 - 8.9253$, $r = 0.9997$ ($n = 6$)。

精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL , 连续进样 6 次, 依法测定。结果峰面积的 RSD 士的宁氮氧化物为 0.52% ($n = 6$), 马钱子碱氮氧化物为 0.66% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 室温下取供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 时各进样 10 μL , 依法测定。结果士的宁氮氧化物、马钱子碱氮氧化物峰面积的 RSD 分别为 0.74%, 0.80% ($n = 5$), 表明室温下供试品溶液放置 8 h 内稳定。

重复性试验: 取同一批膨化药材样品, 依法制备 6 份供试品溶液, 分别进样 10 μL , 依法测定。结果士的宁氮氧化物及马钱子碱氮氧化物峰面积的 RSD 分别为 2.50% 和 2.70% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 称取药材粉末 0.5 g, 精密称定, 共 9 份, 加入一定量的混合对照品溶液, 依法制备供试品溶液, 进样测定。结果士的宁氮氧化物的平均回收率为 98.23%, RSD 为 1.35% ($n = 9$); 马钱子碱氮氧化物的平均回收率为 97.22%, RSD 为 1.12% ($n = 9$)。

2.1.4 样品含量测定

取马钱子膨化品适量, 依法制备供试品溶液, 按拟订色谱条件进样, 测定含量。

2.2 单因素考察

根据预试验结果, 以加热后的压强和保温时间为考察因素^[3]初步筛选。结果保温时间设为 2 h, 则压强为 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 kg/cm^2 时, 士的宁氮氧化物及马钱子碱氮氧化物含量和分别为 0.0021, 0.0038, 0.0050, 0.0063, 0.0050, 0.0042, 0.0035 mg/g ; 膨化压强设为 1.5 kg/cm^2 , 则保温时间为 2, 4, 6, 8 h 时, 2 种氮氧化物含量和分别为 0.0050, 0.0062, 0.0052, 0.0042 mg/g 。

2.3 正交试验

因素与水平: 根据 2.2 项下试验结果, 以压强为因素 A、保温时间为因素 B 设计试验因素水平表 (表 1), 并根据因素水平条件选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排试验, 平行操作 2 次。将马钱子装入膨化机内, 以适当火力加热, 以 40 r/min 的速率匀速转动膨化器, 待升温至所需压力, 保温一定时间后, 将马钱子膨化 (瞬间释压至常压) 置接收器内冷却, 粉碎, 过 40 目筛, 备用。

表1 因素水平表

水平	因素 A (kg/cm^2)	因素 B (min)
1	1.5	2
2	2.0	4
3	2.5	6

正交试验结果与分析: 按上述 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验, 结果见表 2 和表 3。可见, 保温时间的影响程度大于压强; 方差分析结果表明, 保温时间对二者的含量有非常显著的影响, 而压力对其也有显著影响。极差分析与方差分析结果相一致。综合分析, 最佳膨化条件为 A_2B_2 , 即膨化压强为 2.0 kg/cm^2 , 膨化保温时间为 4 min。

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果 ($n=9$)

试验号	因素				样品含量(mg/g)		
	A	B	C	D	士	马	合计
1	1	1	1	1	0.002 9	0.002 1	0.005 0
2	1	2	2	2	0.003 8	0.002 4	0.006 2
3	1	3	3	3	0.002 9	0.002 3	0.005 2
4	2	1	2	3	0.003 2	0.003 1	0.006 3
5	2	2	3	1	0.004 5	0.003 3	0.007 8
6	2	3	1	2	0.003 0	0.002 4	0.005 4
7	3	1	3	2	0.003 0	0.002 0	0.005 0
8	3	2	1	3	0.003 8	0.002 2	0.006 0
9	3	3	2	1	0.002 5	0.002 3	0.004 8
K_1	0.016 4	0.016 3	0.016 4	0.017 6			
K_2	0.019 5	0.020 0	0.017 3	0.016 6			
K_3	0.015 8	0.015 4	0.018 0	0.017 5			
R	0.003 7	0.004 6	0.001 6	0.001 0			

注:“士”指士的宁氮氧化物,“马”指马钱子碱氮氧化物。表4同。

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P
A	0.026 289	2	0.013 145	8.33	<0.05
B	0.039 622	2	0.019 811	12.56	<0.01
误差	0.006 312	4	0.001 578		

注: $F_{0.05(2,4)} = 6.94$, $F_{0.01(2,4)} = 10.65$ 。

2.4 最佳工艺验证

取生马钱子3份,按上述最佳工艺膨化炮制,冷却,粉碎,过40目筛。各取1g膨化粉末制成供试品溶液,依法分别测定士的宁氮氧化物及马钱子碱氮氧化物含量,并与生品及砂炒品进行比较^[4],马钱子砂炒品按2015年版《中国药典(一部)》方法砂炒,取净马钱子,砂炒至鼓起,去毛。结果见表4。可见,士的宁氮氧化物及马钱子碱氮氧化物的含量均处于较高水平,且较之生品及砂炒品均有较大增加,说明该工艺稳定可行。

表4 马钱子炮制后士的宁氮氧化物及马钱子碱氮氧化物含量比较(mg)

品种	1		2		3	
	士	马	士	马	士	马
生品	0.003 3	0.002 5	0.003 3	0.002 5	0.003 3	0.002 5
砂炒品	0.004 4	0.003 0	0.004 4	0.003 0	0.004 4	0.003 0
膨化品	0.005 5	0.004 3	0.005 7	0.004 0	0.005 9	0.004 5

3 讨论

中药提取工艺的相对落后,已严重影响了中药质量及临床疗效。中药材膨化技术的原理是将中药材置膨化机中,随着温度、压强的升高,中药材内部的水分子呈过热状态,当达到一定高压后瞬间变成常压,中药材内部过热状态的水分子同时汽化而发生爆炸,巨大的膨化压力改变了中药材的外部形态和内部结构,使其膨胀疏松,形成海绵状空心网状结构,使淀粉粒糊化,细胞壁破

裂,细胞群散离,草酸钙结晶破碎为小方晶和砂晶,导管断裂变短^[5]。马钱子膨化后质地松脆,硬度显著降低,利于有效成分的浸出,经试验验证,膨化法比传统砂炒法更有利于士的宁氮氧化物和马钱子碱氮氧化物的转化。由药效学试验结果可知,膨化马钱子加水煮沸的浓缩液与传统炮制品2次水煎液镇痛作用相同^[6-7]。可见,膨化技术可显著提高煎出效能和浸提速率。

根据气体热力学的查理定律可知,在质量和体积一定时,压强与温度呈正相关,当在某一压力时气体的温度会维持在相应水平不变。本试验中膨化机机舱密闭,气体质量和体积不能改变,故机舱内温度由压强决定,故设计正交试验时为简便实用起见,仅考虑易控制的压力与时间。2015年版《中国药典(一部)》规定,马钱子采用砂炒法炮制,因药材经高温处理后质地疏松,利于煎出有效成分,且有减毒作用^[8]。但砂炒不易把握火候^[9-10],往往因为以砂为媒介导致受热不均,出现一部分药材已发生炭化,而另一部分药材却炮制不彻底的现象。膨化炮制法与砂炒法相比较,操作更简便,只需掌握压力和时间即可,既缩短了加工周期,又避免了砂炒法烟熏、灰尘及挥发气体对操作人员身体的影响。该工艺不仅降低了马钱子的毒性,而且提高了有效成分的浸提效率,更有利于调剂制剂。

参考文献:

- [1] 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, 2015:50.
- [2] 陈薇, 冷静, 杨敏, 等. 正交试验法优选黄马酞最佳渗漉工艺[J]. 中国药业, 2016, 25(21): 37-39.
- [3] 王丹丹, 李俊忠, 蔡宝昌. 马钱子炮制前后士的宁及马钱子碱氮氧化物的含量变化研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(2): 435-436.
- [4] 屈艳格, 陈军, 蔡宝昌. 烘法与砂烫法炮制马钱子的比较研究[J]. 中成药, 2012, 34(9): 1759-1763.
- [5] 焦艳丽, 温升南, 杜冰, 等. 挤压处理灵芝孢子粉提取灵芝多糖[J]. 食品科学, 2011, 32(16): 67-70.
- [6] 刘险峰. 不同炮制方法对马钱子中马钱子碱及士的宁的影响[J]. 转化医学电子杂志, 2015, 2(1): 136-137.
- [7] 杨红梅, 刘若轩, 李丽明, 等. 不同制法马钱子抗炎镇痛作用研究[J]. 中药材, 2016, 39(6): 1276-1278.
- [8] 吴菲, 李阿荣, 郭洁文. 毒性中药马钱子炮制方法的历史沿革[J]. 今日药学, 2017, 27(5): 355-357.
- [9] 王伟. 马钱子的炮制质量研究[J]. 内蒙古中医药, 2017, 35(3): 98-99.
- [10] 解达帅, 刘玉杰, 杨诗龙, 等. 基于“内外结合”分析马钱子的炮制火候[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 21(8): 1-5.

(收稿日期: 2018-10-10)