

可以看到,在以上的 6 种大孔吸附树脂中,AB-8、D-101、HPD-100、HPD-300、HPD-700 型树脂对绞股蓝总皂苷的静态吸附能力均较好,其中 AB-8 的静态饱和吸附量最大,但是同其他几种树脂相比并无显著的差异。在静态洗脱中,HPD-700 型树脂吸附的绞股蓝总皂苷更易洗脱,综合考虑其吸附量与解吸率均较高,且洗脱率达到 80.34%,因此,选用的大孔吸附树脂为 HPD-700。

2.3.4 不同体积分数的乙醇液对绞股蓝总皂苷洗脱效果的比较:将绞股蓝总皂苷提取液通过树脂柱,分别用 10%、30%、50%、70%、80%、95% 乙醇 200 mL 进行洗脱,收集洗脱液并测定总皂苷的质量浓度,计算洗脱率。结果见图 1。

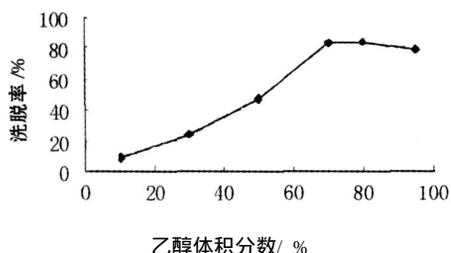


图 1 不同体积分数的乙醇对绞股蓝总皂苷洗脱的比较

Fig 1 Comparison of elution results of total saponins in *G. pentaphyllum* with different concentration alcohol

可知绞股蓝总皂苷的洗脱取决于乙醇的体积分数,乙醇体积分数越高,洗脱率越高。综合工业化生产的诸多因素,确定先用蒸馏水洗去水溶性杂质,再用 70% 乙醇液洗脱,收集 70% 乙醇洗脱部分。

2.3.5 吸附容量的确定:吸取绞股蓝样品液 40 mL 上柱,预吸附 1 h,过柱流出液重吸附 1 次,先用水洗至流出液不显 Molish 反应,再用 70% 乙醇液洗脱,控制流速 1.5 mL/min,收集洗脱液,平行 3 份,测定

样品液中绞股蓝总皂苷的质量浓度,计算吸附容量 [吸附容量 = (上柱液中总皂苷量 - 平均过柱液中总皂苷量) / 干树脂质量],结果树脂吸附总皂苷量为 609.2 mg,树脂吸附容量为 121.8 mg/g 干树脂。

### 3 讨论

闪式提取器是根据组织破碎原理设计而成的一种新型提取器,是中药提取领域的一项新技术,其原理是在适当溶剂存在下,利用高速机械剪切力和搅拌力,迅速破坏植物细胞组织,使组织细胞内部的化学成分(或有效成分)与溶剂充分接触,使有效成分快速溶解转移,在很短时间内达到内外溶解平衡,然后滤过即可。实验中可以看出,利用闪式提取器提取作为一种新技术,有着相对较高的效价比,其所用时间仅为常规回流提取的数十至数百分之一,而且避免了不耐热成分的破坏,且收率高,操作简便,节约能源,因此可以广泛应用于工业化生产。

树脂法是目前公认的比较好的皂苷富集和纯化方法,替代传统的正丁醇萃取,使纯化工艺更为简单,效率大幅度提高,收率和纯度也得到很大程度的改善。HPD-700 大孔吸附树脂具有吸附快、解吸率高、吸附量大等优点,非常适合绞股蓝总皂苷的纯化。

### 参考文献:

- [1] 潘峰,刘迪,黄翠霞. 绞股蓝皂甙的药理与临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15 (5): 674-676.
- [2] 卫志贤,冉敏,李宝璋,等. 绞股蓝皂甙在 D-101 树脂上的吸附研究[J]. 化学工程, 1998, 26(5): 58-61.
- [3] 方道,绞股蓝总皂苷的提纯及含量测定[J]. 安徽医药, 1998, 2(3): 35.
- [4] 蒋伟哲,周燕文,李锦荣. 广西 6 种绞股蓝中总皂的含量比较[J]. 中国药业, 2006, 15 (3): 26-27.
- [5] 宋小妹,崔九成,强军,等. 超声法提取绞股蓝总皂苷的工艺研究[J]. 中成药, 1998, 20(5): 4-5.
- [6] 董玉睿. 绞股蓝总皂苷提取工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(6): 48-49.

## 射干配方颗粒的制备工艺和质量标准研究

田成旺<sup>1</sup>,马丽娜<sup>2</sup>,张铁军<sup>1\*</sup>,韩世柳<sup>3</sup>

(1. 天津药物研究院,天津 300193;2. 天津中医药大学,天津 300193;3. 天津大学,天津 300072)

摘要:目的 优化射干配方颗粒制备工艺,建立射干配方颗粒的质量标准。方法 采用  $L_9(3^4)$  正交设计安排试验,用 TLC 对射干配方颗粒进行定性鉴别,用 HPLC 法进行测定。结果 射干配方颗粒制备工艺为加 10 倍量

\* 收稿日期:2008-11-17

基金项目:国家科技支撑计划(2006BA106A01-02),天津市科技发展计划项目(043180911)

作者简介:田成旺(1978-),男,山东泰安人,硕士,主要从事中药新药的研究与开发工作。

Tel: (022) 23006843 E-mail: chew\_tian@126.com

\*通讯作者 张铁军 Tel: (022) 23006848 E-mail: tiezheng4@sina.com

70%乙醇、加热煎煮 2 次,每次 2 h,射干苷转移率可达 93%;薄层色谱中可检出特征斑点;射干苷在 0.1712~1.712  $\mu\text{g}$  线性关系良好,平均回收率为 96.99%。结论 提取工艺合理,HPLC 法易于操作,重复性好,能够控制射干配方颗粒的质量。

关键词:射干;配方颗粒;质量标准;射干苷;高效液相色谱  
中图分类号:R284.2; R286.02 文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)07-1073-03

射干是鸢尾科射干属植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎,具清热解暑、利咽消痰、散血消肿的功能<sup>[1]</sup>。射干含丰富的异黄酮类化合物,其中代表性成分有射干苷、野鸢尾苷、野鸢尾黄素、鸢尾苷元等,具明显的抗炎及抗病毒作用,近年来临床用于治疗流感及上呼吸道感染,效果较好<sup>[2]</sup>。中药配方颗粒是将单味中药通过科学加工并提取中药材中有效成分,制成中药饮片新剂型,与传统的汤剂相比,具有免煎易服、携带方便、剂量准确、调配方便、制作工艺科学等优势。为了更好的控制射干配方颗粒的质量,有效地保证其疗效,本实验对其制备工艺和质量标准进行了研究。

## 1 仪器与试剂

Dionex 高效液相系统,Chromelon 色谱数据工作站,射干苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111632-200501);射干购自河北安国市祁津药材行,经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为射干 *B. chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎;甲醇、乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 射干提取工艺的正交试验设计:根据预试验结果,以射干苷提取率和出膏率为考察指标,以乙醇体积分数(A)、乙醇用量(B)、提取时间(C)和提取次数(D)作为因素,因素水平见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A/ %	B/ 倍	C/ h	D/ 次
1	50	8	1	1
2	70	10	1.5	2
3	90	12	2	3

准确称取射干药材 10 g,根据表 1 所设定的因素水平,按  $L_9(3^4)$  正交表实施试验,沸腾后开始计时,加热完毕,趁热滤过,滤液收集,滤渣加入相应溶剂继续提取,直至试验结束。按照文献报道<sup>[3]</sup>测定各试验中射干苷的转移率及出膏率,以综合评分[综合评分 = 权重系数(40%) × 出膏率 + 权重系数(60%) × 提取率]对结果进行分析,见表 2。

直观分析表明,各因素水平之间的极差大小依次为  $D > C > B > A$ ,表明提取次数对试验结果影响

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验设计及结果

Table 2 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

试验号	A	B	C	D	转移率	出膏率	综合评
					/ %	/ %	分/ %
1	1	1	1	1	46.81	10.99	32.48
2	1	2	2	2	79.20	18.03	54.73
3	1	3	3	3	84.98	20.91	59.35
4	2	1	2	3	79.88	18.86	55.47
5	2	2	3	1	67.70	14.24	46.32
6	2	3	1	2	72.78	16.15	50.13
7	3	1	3	2	81.72	18.16	56.29
8	3	2	1	3	88.26	17.07	59.78
9	3	3	2	1	54.30	11.40	37.14
$K_1$	48.85	48.08	47.46	38.65			
$K_2$	50.64	53.61	49.11	53.72			
$K_3$	51.07	48.87	53.99	58.20			
R	2.22	5.53	6.53	19.55			

最大,其次是提取时间、溶剂用量,乙醇体积分数对试验结果的影响最小,最佳条件为  $A_3B_2C_3D_3$ 。但是可以看到,因素 D 中,  $D_1$  与  $D_2$  差别很大,而  $D_2$  与  $D_3$  之间仅差 7.97,若选  $D_3$ ,需增加一次 10 倍量乙醇 2 h 的提取,并且随之也增加了需浓缩的药液的体积,大大提高了能耗、溶剂成本和时间,因此,综合考虑选择  $D_2$  为宜。再看因素 A,  $A_2$  与  $A_3$  相差无几,若选  $A_2$ ,则乙醇用量较少,可有效的降低成本,故选  $A_2$  为宜。因此,最终确定工艺条件为  $A_2B_2C_3D_2$ ,即用 10 倍量 70%乙醇提取 2 次,每次 2 h。

经 3 批验证试验,射干苷的平均提取率为 93.41%,平均出膏率为 18.44%,表明此工艺基本合理。

2.2 制粒:按照优化的工艺条件进行射干的提取,提取液真空浓缩至相对密度为 1.15~1.20,喷雾干燥后直接干法制粒,即得射干配方颗粒。

2.3 射干配方颗粒的定性鉴别:取本品粉末 0.5 g,加甲醇 10 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。另取射干苷对照品适量,加甲醇制成 1 mg/mL 的对照品溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 5  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(20:3:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外 254 nm 下检视显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的颜

色的荧光淬灭斑点。

### 2.4 射干苷的 HPLC 法测定

2.4.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil TM C<sub>18</sub> 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸 (40:60);柱温:30;体积流量:1.0 mL/min;检测波长:266 nm。色谱图见图 1。

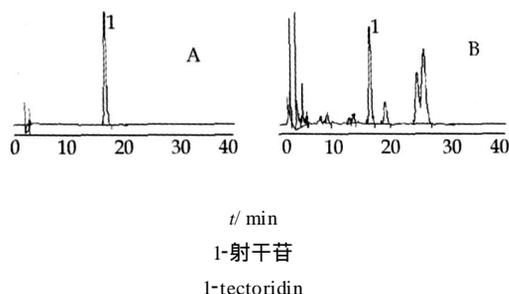


图 1 射干苷对照品 (A) 和射干配方颗粒 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of tectoridin reference substance (A), and Rhizoma Belamcandae dispensing granula (B)

2.4.2 对照品溶液的制备:精密称取射干苷对照品 2.14 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 42.8 μg/mL 的溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备:精密称取射干配方颗粒 (批号 060701) 约 0.1 g 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇 80 mL 超声 30 min, 冷却后用甲醇加至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察:依次吸取 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20 μL 射干苷对照品溶液注入高效液相色谱仪, 测定峰面积值。以进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 得回归方程:  $Y = 45.365 X - 14.505$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明, 射干苷在 0.1712 ~ 1.712 μg 时峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。

2.4.5 精密度试验:精密吸取上述供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 计算得 RSD 为 0.35%。

2.4.6 稳定性试验:精密吸取上述供试品溶液 10 μL, 分别在放置 0、2、4、8、12、24 h 进样, 按上述色谱条件测定射干苷的峰面积, 计算得 RSD 为 0.74%。结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.7 重现性试验:精密称取批号 060701 的射干配方颗粒样品 6 份, 制备供试品溶液, 测定, 计算出样品中射干苷的平均质量分数为 30.12 mg/g, RSD 为 1.46%。

2.4.8 加样回收率试验:称取射干配方颗粒粉末约 0.05 g, 共 6 份, 精密称定, 每份精密加入 1.5 mg 射干苷对照品, 制备供试品溶液, 进样, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 96.99%, RSD 为 1.25%。

2.4.9 样品测定:分别称取不同批号的射干配方颗粒约 0.1 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 采用外标法计算, 结果见表 3。

表 3 射干配方颗粒中射干苷的测定结果 (n=3)

Table 3 Determination of tectoridin content in Rhizoma Belamcandae dispensing granula (n=3)

批号	射干苷/(mg·g <sup>-1</sup> )
060701	30.12
060702	29.75
060703	30.64

### 3 讨论

采用正交优化试验的方法, 以射干苷的转移率和出膏率进行综合评价, 确定了射干的提取最佳工艺参数为加 10 倍量 70% 乙醇, 煎煮提取 3 次, 每次 1.5 h。经 3 批验证, 射干苷的平均提取率为 93.41%, 平均出膏率为 18.44%, 表明该工艺参数合理可行。

TLC 法鉴别射干苷, 准确可靠, 用 HPLC 法检测配方颗粒中射干苷, 易于操作, 重现性好, 能有效控制射干配方颗粒的质量。

射干异黄酮是射干药材中的主要活性成分, 具有显著的抗炎及抗病毒作用, 射干苷是射干异黄酮的代表性成分之一, 因此, 将射干制成配方颗粒, 并以射干苷作为质量控制指标是合理可行的。

#### 参考文献:

[1] 齐建红, 李宏卫. 射干的化学成分、药理作用及临床应用[J]. 国外医药:植物药分册, 2006, 21(3):111-114.  
 [2] 钟鸣, 关旭俊. 中药射干现代研究进展[J]. 中药材, 2001, 24(12):904-907.  
 [3] 邹孔强, 冯华, 罗秀, 等. HPLC 法测定黔北引种射干中射干苷的含量研究[J]. 中医药导报, 2007, 13(9):81-82