

脂分离银杏酚酸的方法,采用吸附树脂精制银杏酚酸,工艺较简单,成本低,产率高,不存在重金属、有机溶剂毒性残留的问题。通过对大孔吸附树脂吸附银杏酚酸性能的筛选,确定出性能较佳的 D4020树脂。得到最优的吸附-解吸实验条件为: D4020树脂上柱,吸附流速为 2 mL/min,原液过柱吸附两次,用 90% 乙醇洗脱,所得产物的银杏酚酸含量和得率都较高。

References

[1] Ni X W, Wu M C. The extraction and application of ginkgolic acids from *Ginkgo biloba* [J]. *J Hubei Coll Tradit Chin Med*

(湖北中医学院学报), 2001 (4): 22-24.

[2] Lu J, Xu Q, Zong Z M, et al. Progress in studies on alkylphenolic acids in *Ginkgo biloba* preparation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 85-87.
 [3] Gellerman J L. Methods for isolation and determination of anacardic acids [J]. *Anal Chem*, 1968, 40(4): 739-743.
 [4] Itokawa H, To tsuka N, Nakah are et al. K. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35 (7): 3016-3020.
 [5] Irie J. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase inhibitors, anacardic acids, from *Ginkgo biloba* [J]. *Biotech Biochem*, 1996, 60(2): 240-243.
 [6] Shi Z Q, Shi R F, Fan Y G, et al. Application of polymer adsorbent in extraction of medical herbs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(7): 660-662.

健脑灵口服液提取工艺研究

尹一子¹,李子健^{1*},高越¹,刘宁^{2*}

(1. 吉林大学第一医院 药剂科,吉林 长春 130021; 2. 吉林大学生命科学技术研究所,吉林 长春 130023)

健脑灵口服液主要由淫羊藿、益智、甘草等中药组成,具有补肾扶阳、益精生髓、健脑益智,主要用于记忆减退、智力障碍、老年性痴呆。实验发现本方提取工艺对疗效影响显著,本处方中大多数有效成分为水溶性成分,故工艺上采用水煎煮法,采用正交设计试验,以淫羊藿中有效成分淫羊藿苷含量为考核指标,对水煎煮法提取工艺进行了优选。同时,对益智中挥发油的提取及乙醇沉淀的浓度进行了考察。

1 仪器、试剂与药品

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪(日本); CLASS-LC10 色谱工作站,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。淫羊藿苷对照品购自中国药品生物制品检定所。淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 药材购于吉林省药材公司。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取时间的确定: 本处方中益智含有大量挥发性成分,采取水蒸气蒸馏法提取挥发油,蒸馏时间对收油率影响很大,故考察蒸馏时间。

取益智 500 g,加 3.5 倍量水,浸泡 1-2 h,充分浸透后开始蒸馏,并在规定时间内量取。结果见表 1。由表 1 可见,5 h 内大部分挥发油被提取出来,

为节约能源,降低成本,将提取挥发油时间定为 5 h。

表 1 益智中挥发油提取时间与收油率关系 (n= 3)

Table 1 Relationship between oil yield and extraction duration of volatile oil in *Fructus Alpiniae Oxyphyllae* (n= 3)

提取时间 /h	收油量 /mL
1	0.91
2	2.89
3	4.10
4	4.93
5	5.06
6	5.18

2.2 水煎煮条件的优化

2.2.1 正交试验设计: 本处方中淫羊藿、甘草、益智等主药均含有大量水溶性成分,故工艺上采用了水煎煮法,加水量、煎煮时间、煎煮次数是影响煎煮效果的主要因素,因此采用这 3 个因素为考察对象,以淫羊藿中有效成分淫羊藿苷含量为考核指标,进行正交试验优化(表 2)。

2.2.2 色谱条件^[1]: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS (150 mm× 6.0 mm); 流动相: 甲醇-水 (64: 46); 柱温: 30℃; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 4 000。

2.2.3 标准曲线的绘制: 精密吸取淫羊藿苷对照品

* 收稿日期: 2002-11-08

作者简介: 尹一子(1962-),女(朝鲜族),吉林延吉人,副主任医师,理学硕士,1984年毕业于沈阳药科大学药学院,2000年吉林大学生命科学学院研究生毕业,1991年赴日本北理大学研修,现为中华医院管理学会药事管理专业委员会委员,吉林省药学会理事,主要从事新药研制与开发及药代动力学研究。Tel: (0431) 5612573

* 通讯作者

溶液 (0.04164 mg/mL) 1, 5, 10, 15, 20 μ L 进样, 以对照品峰面积积分值对对照品的量进行线性处理, 回归方程为 $Y = 2549496.530X + 7169.438$, $r = 0.9997$ 结果表明, 淫羊藿苷在 0.04~0.83 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

表 2 各因素及水平设计

Table 2 Design for factors and levels in decoction process

水 平	因 素		
	A 加水倍数 (以生药量计)	B 煎煮时间 /h	C 煎煮次数
1	12	2.0	1
2	10	1.5	2
3	8	1.0	3

2.2.4 样品的制备: 依据处方量称取淫羊藿、甘草、益智等药, 按 $L_9(3^4)$ 正交表对样品进行提取, 得正交试验各组样品, 以 0.45 μ m 滤膜过滤, 备用。

2.2.5 结果: 正交试验测定结果见表 3, 方差分析见表 4 可见, 各因素对有效成分淫羊藿苷收率的影响程度依次为 C>B>A, 各因素的最佳水平为 A₃B₃C₃, 即加 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 1.5 h。

表 3 $L_9(3^4)$ 正交试验及结果分析

Table 3 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	淫羊藿苷 I (mg \cdot mL $^{-1}$)
1	1	1	1	1	2.15
2	1	2	2	2	4.15
3	1	3	3	3	3.12
4	2	1	2	3	3.46
5	2	2	3	1	4.65
6	2	3	1	2	1.55
7	3	1	3	2	4.45
8	3	2	1	3	3.67
9	3	3	2	1	2.85
k_1	9.420	7.371	10.060	9.651	
k_2	9.660	10.460	12.470	10.149	
k_3	10.970	12.220	7.520	10.251	
R	0.516	1.616	1.650	0.200	

表 4 方差分析

Table 4 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.464	2	0.232	6.736	
B	4.019	2	2.009	58.336	$P < 0.05$
C	4.085	2	2.042	59.294	$P < 0.05$
D(误差)	0.069	2	0.034		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$

2.3 乙醇沉淀浓度的确定: 为尽可能除去淀粉、蛋白质等无效成分, 提高药液澄明度, 对水提取药液进行醇沉处理, 并对醇沉浓度进行了筛选。

取淫羊藿 500 g 甘草 500 g 益智 500 g 等量 3 份按上述条件水提取样品溶液, 按不同浓度进行醇沉处理, 并按工艺回收乙醇, 再分别加水稀释制成样

品, 置 4 $^{\circ}$ C 冰箱中放置 1 周。测定样品中淫羊藿苷的含量, 并观察样品外观性状, 以此为考察指标, 选择醇沉浓度。

表 5 醇沉浓度的筛选 ($n = 3$)

Table 5 Selection for concentration of EtOH in precipitation process ($n = 3$)

醇沉浓度	淫羊藿苷含量 I (mg \cdot mL $^{-1}$)	样品性状
60%	4.62	棕色液体, 有大量沉淀, 振摇不分散
65%	4.59	棕色液体, 有沉淀, 振摇不分散
70%	4.41	棕色液体, 有少量沉淀, 振摇分散
75%	3.89	棕色液体, 有微量沉淀, 振摇分散

试验结果表明, 当乙醇浓度达到 70% 时, 淫羊藿苷含量为 4.41 mg/mL, 药液澄明, 有少量振摇可分散的沉淀, 考虑到有效成分的损失等情况, 选择 70% 乙醇沉淀。

2.4 中试产品考察结果: 按制备工艺中的处方量扩大 10 倍, 依照优选的制备工艺制备样品, 并对出油率、出成率及含量进行测定。

表 6 3 批中试水平试验结果

Table 6 Results of three parallel middle-scale tests

批号	投药量	挥发油	醇沉后浸膏量	醇沉后浸膏相对密度 (60 $^{\circ}$ C)	生产瓶数	出成品率 %	淫羊藿苷含量 I (mg \cdot mL $^{-1}$)
	/g	/mL	/g				
010514	10倍量	51.4	578	1.21	950	95	6.70
010520	10倍量	52.1	612	1.19	960	96	6.65
010524	10倍量	51.9	590	1.21	960	96	6.68

3 讨论

3.1 在正交设计中采用以淫羊藿中有效成分淫羊藿苷含量为考核指标, 是因为淫羊藿为本方中的君药, 具有补益肝肾, 添精益髓之功能。其主要有效成分淫羊藿苷已有测定其含量的大量报道, 实验条件成熟, 故选用其作为正交设计中的考核指标。

3.2 实验中正交设计是根据参考文献^[2,3]、主药特性及预试验结果综合考虑确定的。

3.3 本方中益智含挥发性成分, 采用先提取挥发油, 再与淫羊藿等药材水提醇沉工艺, 使有效成分得到充分提取。

3.4 经中试产品进一步验证此制法的可信性和工艺稳定性, 中试产品符合质量标准中各项规定。

References

[1] Shi W Z, Zhu L, Xu D R, et al. Determination of icariin in Migu Capsule by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(5): 341-342.

[2] Xi X R, Chen Q. Studies on procedure process of *Glycyrrhiza uralensis* by orthogonal test [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(7): 460-462.

[3] He Q, Guo G H, Guo Y, et al. Studies on extraction process for preparation of Shizhen Spray [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(6): 503-506.