

葛根中葛根素提取工艺的优化

丰理象¹,洪小军¹,庄林芳²

(1. 浙江尖峰药业有限公司,浙江 金华 321003; 2. 杭州三九医药连锁有限公司,浙江 杭州 310003)

葛根始载于《神农本草经》,味甘、辛,性平,有解表退热、生津止渴、止泻的功能,用于表症发热、无汗、口渴、头痛项强、麻疹不透、泄泻、痢疾等。现代医学证明葛根黄酮能降低血压和脑血管阻力。现在市场上出现了许多以葛根为主药的新药,如葛根素葡萄糖注射液、愈风宁心滴丸等。本实验以葛根素为指标对葛根的提取方法进行了正交优化。

1 仪器与试药

Waters 515型高效液相色谱仪,UV 2840紫外分光检测器。野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 购于金华市医药公司,葛根素对照品(中国药品生物制品检定所),甲醇(色谱纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Waters C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-水(25∶75);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 250 nm;进样量: 20 μL。在此条件下葛根素保留时间约在 11 min。

2.2 正交试验设计: 取野葛药材适量,磨粉,过 40 目筛,备用。根据野葛中葛根素的理化性质,影响因素主要有乙醇浓度、溶剂量、提取时间,故以 L₉(3⁴) 正交表进行设计,因素水平见表 1,结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 试验因素水平表			
Table 1 Factors and levels			
水 平	因 素		
	A乙醇浓度 /%	B乙醇倍量	C加热时间 /h
1	85	13	5, 3, 3
2	90	11	4, 3, 3
3	95	9	3, 3, 3

可见各因素对提取效果影响程度依次为 A>B>C,因素 A影响差异具有显著性,对提取影响最大。实验分析得最佳条件为 A₂B₂C₃,即用 90%乙醇 11倍量回流提取 3次,提取时间依次为 3, 3, 3 h。

验证试验: 精密称取同一葛根粉末 2.0 g按最佳提取工艺处理,试验结果与表中数据基本吻合。

2.3 含量测定:

2.3.1 线性关系的考察: 精密称取葛根素对照品适

量,加流动相制成 2.0 mg/mL的溶液。吸取该溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL分别置于 100 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,取 20 μL进样,以峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标,计算得回归方程 $Y=74\,218.0X+1\,025\,270.1$, $r=0.996\,8$ 。结果表明葛根素在 20~120 μg/mL

表 2 正交试验方案和结果

Table 2 Results of L ₉ (3 ⁴) orthogonal test				
试验号	A	B	C	葛根素含量 / (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	5.60
2	1	2	2	5.68
3	1	3	3	5.62
4	2	1	2	5.80
5	2	2	3	5.90
6	2	3	1	5.86
7	3	1	3	5.82
8	3	2	1	5.88
9	3	3	2	5.84
K ₁	16.90	17.22	17.34	
K ₂	17.56	17.46	17.32	
K ₃	17.54	17.32	17.34	
R	0.66	0.24	0.02	

表 3 方差分析表

Table 3 Variance analysis					
方差来源	方差平方和	自由度	均方	F值	P
A	0.095	2	0.047 5	95	$P<0.05$
B	0.010	2	0.005 0	10	
C	0.001	2	0.000 5	1	
D(误差)	0.001	2	0.000 5		

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

2.3.2 溶液的制备^[1]: 精密称取葛根素对照品适量,加水制成 2 mg/mL溶液。取该溶液适量用流动相稀释成 80 μg/mL溶液,摇匀,即得对照品溶液。精密称取各产地葛根药材粉末(过 40 目筛) 2.0 g,按最佳工艺提取,取滤液于 100 mL量瓶中加流动相稀释至刻度,过滤,取续滤液 2.0 mL置 10 mL量瓶用流动相定容至刻度,摇匀即得供试样品溶液。

2.3.3 样品含量测定: 取各样品溶液 20 μL进样,结果见表 4。

3 讨论

(20) 收稿日期: 2002-12-13

表 4 各产地葛根中葛根素含量测定
Table 4 Content of puerarin in root of *P. lobata* from different regions

产地	葛根素 %	产地	葛根素 %
吉林	6.43	河北	5.26
陕西	6.27	四川	4.17
安徽	3.26	江西	3.23
福建	1.67		

3.1 葛根经过醇提取后再加适量水使其沉淀,除去水溶性杂质,进一步提高葛根素的纯度。
3.2 各产地葛根中葛根素的含量差别很大,为了保证产品质量,保障人民用药安全,应该制定葛根中葛根素含量标准

Reference
[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. VolII .

穿琥宁在 7 种输液中的稳定性考察

张韩清¹,王如伟²

(1. 浙江省金华市中心医院,浙江 金华 321000 2. 浙江省中药与天然药物研究院,浙江 杭州 370007)

穿琥宁(脱水穿心莲内酯琥珀酸半酯单钾盐, potassium dehydroandrographolide succinate, PDS)是以穿心莲内酯为原料的半合成药物,具有抗炎解热作用,对病毒性肺炎、病毒性上感及急性细菌性痢疾等有较好疗效^[1]。笔者根据我院临床应用处方对该药在 7 种输液中的稳定性进行了研究

1 仪器与试药

日本岛津 LC-3A 液相色谱仪, SPD-1 型紫外检测器, G- R1A 型色谱数据处理机;美国 Rheodyne 7725 型液相色谱进样器。

穿琥宁对照品(四川宜宾制药厂,含量 99.98%),穿心莲内酯对照品(中国药品生物制品检定所),穿琥宁原料及其注射液(四川宜宾制药厂),实验用水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。葡萄糖注射液、葡萄糖氯化钠注射液、氯化钠注射液、低分子右旋糖酐注射液、甘露醇注射液均为北京双鹤制药厂生产。复方醋酸钠注射液由(中国人民解放军第 23 医院提供)

2 方法与结果

2.1 色谱柱: μ Bondapak C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 10 μ m);流动相: 甲醇-水 (70: 30);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 250 nm;柱温: 室温
2.2 线性范围考察: 精密称取穿琥宁对照品适量,用 50% 甲醇溶解并稀释成 500 μ g/mL 的贮备液,冰箱内 4 $^{\circ}$ C 保存;精密量取该贮备液适量,用 50% 甲醇配成 25, 50, 100, 200, 300, 400 μ g/mL 的溶液。各进样 20 μ L,测定。以穿琥宁峰面积对对照品溶液浓度进行线性回归,得回归方程: $Y = -25 + 912.6X, r$

$= 0.9999$ 线性范围为 25~ 400 μ g/mL 检测限为 0.1 μ g ($S/N=3$)
2.3 精密度试验: 精密称取穿琥宁原料适量,用 50% 甲醇溶解并配成高、中、低 3 种浓度的溶液,同法测定后代入当日标准曲线求出其含量,考察日内及日间 (10 d) 精密度。结果日内 RSD < 1.13%, ($n=5$), 日间 RSD < 2.44% ($n=11$)
2.4 回收率试验: 精密称取已知含量 (99.96%) 的穿琥宁原料适量,用 50% 甲醇溶解并配成一定浓度的溶液,加入不同量的穿琥宁对照品,依法进行测定。结果平均回收率为 100.9%~ 101.8%, RSD 为 1.17% ($n=5$)。精密量取已知标示量含量 (90.18%) 的穿琥宁注射液适量,用 50% 甲醇配成一定浓度的溶液,加入不同量的穿琥宁对照品,依法进行测定。结果平均回收率为 99.43%, RSD 为 1.59% ($n=5$)
2.5 配伍稳定性试验: 穿琥宁注射液模拟临床常用浓度与 7 种输液配伍 (各配伍液含穿琥宁 1.6 mg/mL) 制成贮备液,在常温下放置,分别在 0, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 24 h 取各贮备液 1.0 mL 于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,精密量取注射液 (规格: 20 mg/mL) 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 20 μ L 注入色谱仪,记录色谱图,求出穿琥宁含量。以 0 h 含量为 100%,不同时间各供试品中穿琥宁注射液含量和贮备液的 pH 测定结果见表 1

3 讨论

(下转第 843 页)

(20) 收稿日期: 2002-12-15