

- [2] Guard-Petter J, Lakshmi B, Carlson R, *et al.* Characterization of lipopolysaccharide heterogeneity in *Salmonella enteritidis* by an improved gel electrophoresis method [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61: 2845-2851.
- [3] Khng H P, Cunliffe D, Davies S, *et al.* The synthesis of sub-micron magnetic particles and their use for preparative purification of proteins [J]. *Biotech Bioeng*, 1998, 60: 419-424.
- [4] D'Souza S M, Alexander C, Carr S W, *et al.* Directed nucleation at a calcite-templated polymer surface [J]. *Nature*, 1999, 398: 312-316.
- [5] Gutnick, David L, Rosenberg, *et al.* Production of alpha-emulsans [P]. US 4234689, 1980-11-18.
- [6] Millqvist-Fureby A, Gill I S, Vulfson E N. Enzymatic transformations in supersaturated solutions. I. A general study with glycosidases [J]. *Biotech Bioeng*, 1998, 60: 190-196.
- [7] Westphal O, Crowell P, Burnett P. Determination of the carbohydrate composition of wood pulps by gas chromatography of the alditol acetates [J]. *Anal Chem*, 1967, 39(1): 121-124.

交泰丸方药 4种提取方法的比较研究

张学兰¹, 李正杰^{2*}

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250014; 2. 河北以岭医药集团, 河北 石家庄 050091)

摘要:目的 优选交泰丸方药的提取工艺。方法 以小檗碱、肉桂酸、总生物碱、挥发油、干浸膏为指标, 在药材粒度、溶剂量、煎提温度、滤过、浓缩等条件相同的前提下, 对半仿生提取法(SBE法)、水提取法(WE法)、半仿生提取醇沉法(SBAE法)、水提取醇沉法(WAE法)进行比较研究。结果 5个指标综合评价Y值为: SBE法>WE法>SBAE法>WAE法。结论 交泰丸方药的提取法以SBE法为佳。

关键词: 交泰丸; 提取方法; 小檗碱; 肉桂酸; 总生物碱

中图分类号: R284.02; R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)10-0895-04

Comparison of four extracting methods for Jiaotai Pill*

ZHANG Xue-lan¹, LI Zheng-jie²

(1. Shandong University of TCM, Jinan 250014, China; 2. Hebei Yiling Pharmaceutical Group, Shijiazhuang 050091, China)

Abstract Object To evaluate the extracting technology of Jiaotai Pill components. **Methods** Four methods—the semi-bionic extraction (SBE), the water extraction (WE), the semi-bionic extraction by precipitation with alcohol (SBAE), and the water extraction by precipitation with alcohol (WAE) were used to extract Jiaotai Pill component, with berberine, cinnamic acid, total alkaloids, volatile oil and dried extract taken as the markers and to study the four methods under the same conditions of drug granularity, solvent amount, decocting temperature, filtration, concentration, *etc.* **Results** The comprehensive values Y were SBE>WE>SBAE>WAE. **Conclusion** SBE method is better than the other three methods in the extraction of Jiaotai Pill components.

Key words Jiaotai Pill; extracting methods; berberine; cinnamic acid; total alkaloids

* Jiaotai Pill is a Chinese prescription consisted of *Rhizoma Coptidis* and *Cortex Cinnamomi*. It has the function of coordination between the heart and the kidney.

交泰丸由黄连、肉桂组成, 具有交通心肾的功能。临床用于失眠、心律失常、口腔疾病等取得较好效果^[1]。为进一步探讨该方药采用半仿生提取(SBE)法提取是否较目前普遍应用的提取方法为佳, 本实验根据SBE法理论^[2], 在优选出SBE法提

取条件^[3]、药材组合方式及醇沉较佳浓度的基础上, 以小檗碱、肉桂酸、总生物碱、挥发油、干浸膏量为指标, 对该方药作4种提取方法的比较研究。

1 仪器与药品

Beckman高效液相色谱仪(美国贝克曼公司),

* 收稿日期: 2002-12-18

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(Q00C05)

作者简介: 张学兰(1963-), 女, 山东蓬莱人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药制剂及炮制研究。

Tel (0531) 8836297 E-mail zhaxgl2440@163.com

CS-930型薄层扫描仪(日本岛津),UV-754型紫外可见分光光度计(上海第二分析仪器厂),高效硅胶 GF₂₅₄薄层板(青岛海洋化工厂)。

药材经张兆旺鉴定,黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎,肉桂为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。

盐酸小檗碱 肉桂酸对照品(中国药品生物制品检定所),乙腈 甲醇(色谱纯),纯净水,其余试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 提取液的制备

2.1.1 水提取(WE)液:将处方药材分别粉碎,按处方比例分别称取黄连 20目粗粉 54 g,肉桂 20目粗粉 36 g,分别加水提取 3次(黄连采用回流提取法,肉桂采用双提法;加水量依次为药材量的 10, 8, 8倍;浸 0.5 h;提取 170, 80, 40 min),分别滤过,2 000 r/min离心 20 min,合并上清液,水浴浓缩并定容至 400 mL(相当于原药材 0.225 g/mL)。

2.1.2 水提取醇沉(WAE)液:取 WE液 200 mL,水浴浓缩至 100 mL,加入 95%乙醇,调至醇体积分数为 70%,冷藏放置 12 h,2 000 r/min离心 20 min,上清液回收乙醇,定容至 200 mL。

2.1.3 SBE液:按 2.1.1项下方法,只将第一煎用水以 0.1 mol/L HCl调至 pH 2.20,第二、三煎用水依次以 0.1 mol/L NaOH调至 pH 6.50和 pH 8.70,依法制得。

2.1.4 半仿生提取醇沉(SBAE)液:取 SBE液 200 mL,按 2.1.2项下方法依法制得。

2.2 供试液的制备:取 2.1项下提取液各 5 mL,加入硅藻土 4 g,拌匀,水浴蒸至近干,80℃烘干,研细,用甲醇 150 mL索氏回流提取 5 h,回收甲醇,残渣用甲醇定容至 25 mL,得供试液 A 取 2.1项下提取液各 10 mL,加重蒸馏水至 150 mL,用醋酸乙酯萃取(20 mL×3),回收醋酸乙酯,残渣用甲醇定容至 5 mL,得供试液 B。

2.3 小檗碱的含量测定

2.3.1 对照液的制备:称取盐酸小檗碱对照品 2.00 mg,置 5 mL容量瓶中,加甲醇至刻度。

2.3.2 线性关系考察:精取盐酸小檗碱对照液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL,点于同一薄层板上,以苯 醋酸乙酯 甲醇 异丙醇 氨水(6:3:1.5:1.5:0.3)为展开剂,另槽加入同体积的浓氨试液饱和 20 min,展开 8 cm,取出,挥干,反射式锯齿扫描,λ_s=342 nm,λ_R=368 nm, S_x=5 以点样量为横坐标,峰面积为

纵坐标绘制标准曲线,结果盐酸小檗碱的线性范围为 0.80~4.80 μg,回归方程:Y=30 450.42X+18 069.67, r=0.9973。

2.3.3 含量测定:精取供试液 A各 2 μL与盐酸小檗碱对照液 2, 4 μL,点于同一薄层板上,依法测定。小檗碱含量以盐酸小檗碱计算,结果见表 1。

2.4 肉桂酸的含量测定

2.4.1 色谱条件:色谱柱:Beckman C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);检测器:Beckman 163可变波长检测器;检测波长:267 nm;柱温:室温;灵敏度:1.0 AUFS;流动相:乙腈-0.1%磷酸(27:73);流速:1 mL/min;进样量:20 μL。在此条件下,肉桂酸与相邻峰达到基线分离,分离度>2,见图 1。

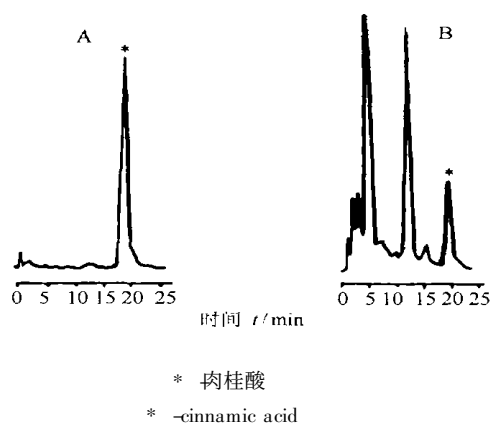


图 1 肉桂酸对照品(A)和交泰丸(B)的 HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of cinnamic acid (A) and Jiaotai Pill (B)

2.4.2 对照液的制备:称取肉桂酸对照品 2.40 mg,置 10 mL容量瓶中,加甲醇至刻度。

2.4.3 线性关系的考察:精取肉桂酸对照液 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mL,分别加甲醇定容至 1 mL,各取 20 μL进样,测定峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,结果肉桂酸的线性范围为 0.12~4.8 μg,回归方程为 Y=3.55X×10⁵+100 364, r=0.9992。

2.4.4 含量测定:取供试液 B,用 0.45 μm微孔滤膜滤过,取滤液各 20 μL进样,结果见表 1。

2.5 总生物碱的含量测定

2.5.1 对照液的制备:称取盐酸小檗碱对照品 1.50 g,加 pH 7.0缓冲液定容于 10 mL容量瓶中。

2.5.2 线性关系的考察:精取盐酸小檗碱对照液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL,分别置具塞三角瓶中,均用 pH 7.0缓冲液稀释至 2 mL,加入 0.007%溴麝香草酚蓝溶液 8 mL,加入氯仿 10 mL,盖好瓶塞,充分振摇 2 min,移入分液漏斗中,静置分层,分

取氯仿层,用干燥滤纸滤过。滤液以相应的试剂为空白,在 420 nm 处测定吸光度。以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程: $A = 36.10C - 0.0039$, $r = 0.9981$ 线性范围为 0.003~0.015 mg/mL

2.5.3 含量测定:精取供试液 A 各 0.1 mL,置具塞三角瓶中,水浴蒸干,按 2.5.2 项下方法测定。总生物碱含量以盐酸小檗碱计算,结果见表 1

2.6 挥发油的含量测定:按《中华人民共和国药典》2000 年版附录 XD 测定法(甲法)依法测定,结果见表 1

表 1 4 种提取方法所得溶液中各指标成分的含量 ($n = 3$)

Table 1 Contents of each marker component extracted by four methods ($n = 3$)

提取液	小檗碱		肉桂酸		总生物碱		挥发油		干浸膏	
	含量 %	RSD %	含量 %	RSD %	含量 %	RSD %	含量 %	RSD %	含量 %	RSD %
SBE	2.962	1.77	0.0897	1.17	3.888	0.64	0.88	1.36	27.34	0.83
WE	2.429	3.24	0.0914	0.07	3.742	0.44	0.70	4.36	24.14	2.23
SBAE	2.269	1.55	0.0623	1.14	2.896	1.38	0.88	1.36	13.53	1.56
WAE	1.956	2.51	0.0335	1.82	2.780	1.52	0.70	4.36	13.11	0.64

表 2 4 种方法提取液的综合评价

Table 2 Comprehensive evaluation of four method extractions

提取液	小檗碱	肉桂酸	总生物碱	挥发油	干浸膏	Y
SBE	1.3264	0.7509	0.9856	0.8659	1.0711	26.17
WE	0.0594	0.8132	0.7291	0.8659	0.6306	7.69
SBAE	0.3209	0.2527	0.7572	0.8659	0.8164	-5.79
WAE	1.0649	1.3077	0.9610	0.8659	0.8880	-28.06

2.9 转移率试验:精密称取黄连粗粉 0.1 g,按《中华人民共和国药典》2000 年版黄连项下方法提取,按 2.3 项下方法测得其小檗碱含量为 6.248%,按 2.5 项下方法测得其总生物碱含量为 9.325%。精密称取肉桂粗粉 0.5 g,用乙醚 150 mL 索氏回流提取 5 h,水浴回收乙醚,残渣用甲醇定容至 2 mL,按 2.4 项下方法测得其肉桂酸含量为 0.0445%。另称取肉桂粗粉 50 g,加水 500 mL,按 2.6 项下方法测得其挥发油含量为 1.74%。称取肉桂粗粉 50 g,按 2.2 项下 SBE 法工艺条件提取,测得其挥发油含量为 2.20%。由于 SBE 法提得的挥发油量明显高于药典蒸馏法,故以 SBE 法测得的挥发油含量为 100%,计算提取液中挥发油的转移率。将表 2 中小檗碱、肉桂酸、总生物碱、挥发油的含量按方中黄连、肉桂的量折算,求出其转移率,结果见表 3

3 小结与讨论

3.1 以小檗碱、肉桂酸、总生物碱、挥发油及干浸膏量为指标,对交泰丸方药 4 种提取方法进行比较,结果 5 个指标综合评价 Y 值为: SBE 液 > WE 液 >

2.7 干浸膏量的测定:精取 2.1 项下提取液各 10 mL,分别置恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,烘至恒重。计算干浸膏得率,结果见表 1

2.8 4 种提取方法所得溶液的综合评价:将表 1 中各指标成分的测定数据,按公式 $x - \bar{x}/s$ 进行标准化处理(式中 x 为提取液中各指标成分的含量, $\bar{x}$ 为各指标成分含量 4 个数据的平均值, s 为其标准差)。根据各指标在提取工艺选择中的主次地位,给予不同的加权系数,以标准化后的值加权后求和,即得综合评价 Y 值,见表 2 其中 $Y = (\text{小檗碱} + \text{肉桂酸}) \times 8 + (\text{总生物碱} + \text{挥发油}) \times 4 + \text{干浸膏} \times 2$

表 3 转移率试验结果

Table 3 Result of transference test

提取液	小檗碱	肉桂酸	总生物碱	挥发油
SBE	79.01	50.39	69.49	100.00
WE	64.79	51.35	66.88	79.55
SBAE	60.53	35.00	51.76	100.00
WAE	52.18	18.82	49.69	79.55

SBAE 液 > WAE 液。SBE 液中小檗碱、总生物碱、挥发油的转移率均大于 50%,提示本制剂的方药提取采用 SBE 法为佳。SBE 法符合口服药物经人体胃肠道转运吸收的原理,且有效成分含量高,生产成本低。若欲再减少服用量,进一步去除杂质,可采用 SBAE 法,其较 WAE 法提取的成分含量高。

3.2 对 4 种方法提取液中 5 个指标成分试验结果进行标准化处理,以消除各指标的单位 and 量纲的不同,以及各指标变量范围相差悬殊所造成的影响,同时根据各指标在工艺选择中的主次,确定不同的加权系数,以标准化处理加权求和后的 Y 值为综合指标,评判 4 种提取方法的优劣,较各指标成分含量直接相加更加科学、合理。

3.3 小檗碱含量测定中,是以苯、醋酸乙酯、甲醇-异丙醇-氨水(6:3:1.5:1.5:0.3)为展开剂,由于苯、醋酸乙酯在紫外下有吸收,因此,实验的关键是色谱展开后,薄层板一定要用吹风机吹干至无味,再进行扫描,否则测出的实验结果不稳定。

3.4 肉桂酸测定时检测波长的选择:取肉桂酸对照品溶液适量,加甲醇稀释,用 UV 2201 紫外分光光

度计于 200~ 400 nm 波长扫描,结果肉桂酸最大吸收波长为 267 nm,故选定检测波长为 267 nm

References

[1] Ji X M. Recent research developments of Jiaotai Pill in pharmacology and clinic [J]. *Chin J Exp Tradit Med For* (中国实验方剂学杂志), 2000, 6(2): 62-63.
[2] Zhang Z W, Sun X M. Exploration on oral preparations of Chinese materia medica by semi-bionic extraction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(11): 670-673.
[3] Zhang X L, Zhang Z W, Liu C Q. Technical condition of semi-bionic extraction in optimizing formula of Jiaotai Pill through homogeneous design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(8): 575-578.

复脉汤提取工艺的研究

李文宏,余日跃,陈 奇*,汪 亮*
(江西中医学院,江西 南昌 330006)

摘要:目的 优选复脉汤的提取工艺。方法 采用均匀设计试验法,通过 HPLC法测定提取液中甘草酸和人参皂苷 Rb₁的含量。结果 加醇量、提取温度影响具有显著性。复脉汤的最佳提取工艺为:用 10倍药材量的 50%乙醇于 60℃温浸 4 h。结论 按此工艺提取,复脉汤中有效成分甘草酸、人参皂苷 Rb₁含量高。
关键词:复脉汤;提取工艺;均匀试验;甘草酸;人参皂苷 Rb₁;高效液相色谱
中图分类号: R284. 02; R286. 02 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2003)10- 0898- 03

Study on extracting process of Fumai Decoction*

LI Wen-hong, YU Ri-yue, CHEN Qi, WANG Liang
(Jiangxi College of TCM, Nanchang 330006, China)

Abstract **Object** To optimize the extraction conditions of Fumai Decoction. **Methods** Uniform design test was used, and the contents of glycyrrhizic acid and ginsenoside Rb₁ in extracted solvent were determined by HPLC. **Results** The ethanol volume and the extracting temperature in the uniform test impacted the test remarkably. The best extraction process of Fumai Decoction as follows: the raw drugs were extracted by 10 times of 50% ethanol at 60℃ for 4 hours. **Conclusion** Glycyrrhetic acid and ginsenoside Rb₁ contents in Fumai Decoction are higher according to the above extraction process.

Key words Fumai Decoction; extracting process; uniform test; glycyrrhizic acid; ginsenoside Rb₁; HPLC

* Fumai Decoction is a Chinese prescription made of *Radix Glycyrrhizae Preparata*, *Radix Panacis Quinquefolii*, and *Radix Ophiopogonis*, etc. with the function of supplementing *qi* and nourishing *yin*.

复脉汤由炙甘草、西洋参、麦冬等药物组成,有益气养阴复脉之功效,主治气阴两虚型心悸脉结代,用于抗心律失常^[1]。在以前的工作中,曾比较了水煎煮法、水温浸法、饮片乙醇温浸法、粗粉乙醇温浸法、渗漉法提取对复脉汤抗心律失常有效成分甘草酸及人参皂苷 Rb₁含量的影响。结果在尽可能相似的条件下,饮片乙醇温浸法提取所得目标成分含量及总量最高,且总固体量相对较小。因此,本实验选择饮片乙醇温浸法作为复脉汤的提取方法,采用均匀设计试验法,以确定提取复脉汤中有效成分的

最佳工艺。
1 仪器及试剂
Agilent 1100 series HPLC仪, VWD紫外检测器, HP chemstation 甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。甘草酸单铵盐对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 731-9903)、人参皂苷 Rb₁对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 0704-200012)、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.由内蒙古医学院中药系提供;西洋参 *Panax quinquefolium* L.、麦冬 *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl.药材购

* 收稿日期: 2002-11-18
基金项目: 江西省自然科学基金课题(0140010);江西省教育厅课题
作者简介: 李文宏(1974-),男,江西南昌市人,讲师,硕士,现为北京中医药大学 2001级博士生,主要从事新药开发和中药药理研究
E-mail: lwhong@jxtcmi.com
* 通讯作者 Tel (0791)6825769 E-mail: chenqi666@263.net