



1-槲皮素 2-山柰酚 3-异鼠李素  
1-quercetin 2-kaempferol 3-isorhamnetin

图 3 混合对照品(A)和沙棘叶提取物水解液(B)的HPLC图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and TFH hydrolysate (B)

和非极性的黄酮母核,使其总体显示弱极性,但其又具有酚羟基结构,可以作为一个良好的氢键供体。而 FL-1 树脂是具有一定胺基和羰基含量的中极性高比表面积吸附树脂,酚羟基与羰基之间、与胺基均可以形成专一性较高的氢键作用,表面吸附的存在更加强了这种作用,正是由于这种多点协同吸附作用导致了所得沙棘叶总黄酮的纯度大大提高。第二,合适洗脱剂的选择是其中另一个重要的原因,树脂对不同的物质的吸附作用力大小不同,通过洗脱剂的筛选将能够使吸附力不同的物质分开,就 FL-1 树脂对沙棘叶总黄酮的吸附而言,具有弱碱性的吡啶所得产物纯度最低,产率最高,说明吡啶对黄酮和杂

质均具有较高的洗脱率,洗脱选择性较差;醋酸乙酯极性较小,对黄酮和杂质成分的洗脱效果均较差;甲醇、乙醇和丙酮的极性较大,在有效破坏氢键的同时,也能有效破坏黄酮苷元与树脂之间的物理吸附力,而对非极性的杂质洗脱效果较差,从而起到选择性洗脱的效果。考虑到经济和安全,选择乙醇作为洗脱剂最为理想。

从 FL-1 树脂对沙棘黄酮的吸附性能研究可以看出,每次处理沙棘叶质量与树脂的体积比为 1:2 较为理想,70% 乙醇作为洗脱剂,4 倍床体积则可以基本完全洗脱。这也说明 FL-1 树脂对沙棘黄酮具有良好的吸附洗脱性能。

References:

[1] Zhang X, Su M Y. Advances in research of pharmacological activities of *Hippophae* [J]. *Hippophae*, 1999, 12, (3): 40-44.  
 [2] Xiao Z, Peng W Z, Zhu B, et al. The inhibitory effect of total flavonoids of *Hippophae* on the activation of NF- $\kappa$ B by stretching cultured cardiac myocytes [J]. *J Sichuan Univ Med Sci* (四川大学学报·医学版), 2003, 34(2): 283-285.  
 [3] Yu Y, Qu SM, He Y S. Effect of lowering blood-lipid by extract of *Hippophae rhamnoides* leaves [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(9): 824-825.  
 [4] Li J S, Yang Y, Fu J M, et al. Research on the extraction craft of the total flavonoids of *Hippophae rhamnoides* leaves [J]. *Hippophae*, 1999, 12, (4): 34-35.  
 [5] Guo Y J, Fan L, Wang X G, et al. Discussion about  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  colorimetry for determination of total flavonoids [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22(2): 97-99.

## 补肾活血煎的絮凝工艺研究

沈霞, 张文清, 夏玮\*  
(华东理工大学 化学系, 上海 200237)

**摘要:**目的 探讨壳聚糖絮凝法代替醇沉法用于补肾活血煎澄清工艺的可行性。方法 壳聚糖用于补肾活血煎的澄清,通过对总固形物、淫羊藿苷含量的测定,对壳聚糖的用量、药液浓缩比进行了优选,并与醇沉工艺进行了比较。结果 壳聚糖絮凝法与醇沉法同样能使药液澄清,在有效成分的保留上,前者优于后者。结论 壳聚糖絮凝法能代替醇沉法用于补肾活血煎的澄清工艺。

**关键词:** 补肾活血煎; 壳聚糖; 淫羊藿苷; 絮凝工艺

中图分类号: R 284.2; R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)12-1351-04

### Flocculation procedure on Bushenhuoxue Decoction

SHEN Xia, ZHANG Wen-qing, XIA Wei

(Department of Chemistry, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** **Object** To study the feasibility of flocculation procedure on Bushenhuoxue Decoction, using chitosan instead of alcohol. **Methods** Using chitosan clarifier to the flocculation procedure of Bushen-

\* 收稿日期: 2004-02-22

基金项目: 上海市教育基金会资助项目(033)

作者简介: 沈霞(1980—),女,上海人,2002年毕业于上海中医药大学中药学专业,现就读于华东理工大学分析化学专业硕士研究生,研究方向为中药制剂、中药质量标准的研究。Tel: (021) 64253221 E-mail: joice\_sx@hotmail.com

huoxue Decoction; selecting the optimum content of chitosan and the density of decoction according to the total extract, and the content of icariin, comparing with the flocculation procedure by alcohol sedimentation. **Results** Chitosan clarifier could make the decoction clarify as alcohol does. On the retaining of active compounds, the former was better than the later. **Conclusion** Chitosan can be used to the flocculation procedure of Bushenhuoxue Decoction instead of alcohol.

**Key words:** Bushenhuoxue Decoction; chitosan; icariin; flocculation procedure

补肾活血煎系中国福利会国际和平妇幼保健院的医院制剂,是由淫羊藿、巴戟天、菟丝子、山茱萸等 9 味药组成的中药复方制剂,具有温肾壮阳、补肝益精、滋阴降火、活血化瘀、延缓衰老等功效,临床上主要用于男性更年期综合征。淫羊藿是本方的君药,其主要成分是黄酮类化合物(淫羊藿苷、淫羊藿次苷)和淫羊藿多糖,其中总黄酮具有增加脑血流量和冠脉流量、抗肿瘤、抗氧化和增强机体免疫力等功能<sup>[1]</sup>。

前处理的过程是保留药材中有效成分并去除杂质的过程,是改变传统中药“粗、大、黑”的关键。原工艺采用水提醇沉法,但药材中的有效成分损失较多。絮凝澄清法是在中药提取液中加入一种澄清剂,以吸附架桥和电中和方式除去溶液中的粗粒子,以达到分离纯化目的的一种方法。甲壳素类澄清剂是近年来出现的新型絮凝剂,用于中药制剂的除杂已有报道<sup>[2]</sup>,因其资源丰富、成本低、应用方便,越来越受到人们的重视。为了临床服用方便,减少服用量,根据本方特点,可改汤剂为颗粒剂,本实验将壳聚糖作为澄清剂对除杂工艺进行研究,并从有效成分入手,选择总固形物、淫羊藿苷含量为指标进行全面考察。

1 仪器和材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Mettler AE240 电子天平, R—201 旋转蒸发器(上海申科机械研究所), DK—S24 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司), TL—500 台式离心机(上海市离心机械研究所)。壳聚糖(上海伟康生物制品有限公司), 淫羊藿苷对照品(批号: 0737-200111, 中国药品生物制品检定所); 所用药材均购自上海虹桥药业有限公司中药饮片厂, 经上海市药品检验所吴赵云副研究员鉴定, 均符合《中华人民共和国药典》2000 年版规定; 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 絮凝剂溶液的配制: 取壳聚糖 2 g, 加 1% 醋酸液至 200 mL, 配成 1% 壳聚糖溶液。

2.2 水提液的制备: 按处方量称取淫羊藿、巴戟天、菟丝子、山茱萸等 9 味药(110 g), 加 1 200 mL 水浸

泡 0.5 h, 加热至沸开始计时, 共提取 3 次, 其余 2 次加水 1 000 mL, 每次煎 1 h。用 4 层纱布滤过, 合并滤液。于 55℃ 真空浓缩至 2 倍总生药量 220 mL。按《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录测定相对密度为 1.07, 测得 pH 约为 4.5。

2.3 絮凝药液浓度的选择: 由文献<sup>[3]</sup>可知, 絮凝温度在 60℃ 以上, pH 在 4~6 效果较好。取相同生药量的药液 4 份, 各 25 mL, 分别浓缩至药材: 药液(生药比 g/mL)为 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 预热至 60℃, 按表 1 加入 1% 壳聚糖溶液, 中速搅拌至出现絮状沉淀, 倒入量筒静置 4 h。可见, 壳聚糖澄清剂在药液中的加入量与药液所含的药材量有关, 且随着药液的密度减少, 需加入的壳聚糖量有增大的趋势。所以在 60℃ 下, 取药材: 药液为 1:2 较为合适。当药液温度、浓度和 pH 值固定后, 絮凝剂的加入量则成为影响澄清的最主要因素。

表 1 药液澄清预试验结果

Table 1 Result of preliminary test of clarification

药材	药液	加入壳聚糖溶液的量/mL					
		3	6	12	18	24	30
1	1	×	±	√	√	×	×
1	2	×	√	√	√	±	×
1	4	×	×	√	√	√	±
1	6	×	×	±	±	√	√

“√”表示澄清, “×”表示混浊, “±”表示介于两者之间  
“√” means clarification, “×” indicates turbidity, and “±” is between former two

2.4 淫羊藿苷的测定

2.4.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil ODS 色谱柱(100 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(25:75); 检测波长: 270 nm; 柱温: 室温; 体积流量: 1.0 mL/min。理论塔板数按淫羊藿苷计为 5 597。数据处理定量方法为外标峰面积测定法。采用上述色谱条件, 与淫羊藿缺味空白样品对照, 方中的其他药物不干扰淫羊藿苷的测定。淫羊藿苷保留时间约 8 min。

2.4.2 标准曲线的制备: 精密称取 105 干燥至恒重的淫羊藿苷对照品 4.2 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。分别精密吸取 1.0、2.0、3.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶, 用甲醇稀释

至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 5  $\mu$ L, 按上述色谱条件进行测定。以峰面积为纵坐标 Y, 淫羊藿苷质量浓度为横坐标 X (mg/mL), 绘制标准曲线, 得回归方程:  $Y = 4\,989.550\,5 X + 2.028\,5$ ,  $r = 0.999\,98$ 。表明淫羊藿苷在 0.016 8~ 0.168 mg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.4.3 测定: 将 2.6 项 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置 50 mL 量瓶, 加蒸馏水至刻度, 摇匀。取 5 mL 药液置 10 mL 量瓶, 加蒸馏水至刻度, 进样 5  $\mu$ L 测定。

2.5 固形物得率测定: 取定容后的药液 25 mL, 置干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 烘箱 105  $^{\circ}$ C 干燥至恒重, 称质量, 按下式计算固形物得率。

$$\text{固形物得率} = \frac{\text{固体物质质量} \times \text{煎液体积}}{\text{供试液体积} \times \text{药材质量}} \times 100\%$$

2.6 絮凝剂用量考察: 取浓缩至 1/2 的药液 25 mL 9 份, 预热至 60  $^{\circ}$ C, 中速搅拌下按表 2 加入 1% 壳聚糖絮凝液, 搅拌 10 min, 转移至 50 mL 量筒, 静置 4 h 后观察。结果见表 2。可见, 从上层液澄清度来看, 加入量从 8~ 12 mL 都在澄清范围内, 其中 7 号加入量为 12 mL 时淫羊藿苷含量最高。而从固形物得率来看, 6 号加入量为 10 mL 时最低, 但其含量较低。比较两者的得率相差不大, 故综合考虑, 壳聚糖絮凝剂的加入量为 12 mL 为宜, 即每 100 mL 药液, 壳聚糖的用量为 0.48 g。

表 2 壳聚糖絮凝结果

Table 2 Result of chitosan flocculation

No.	加入量 /mL	上层液	絮体描述	药液颜色	淫羊藿苷/%	固形物得率/%
1	0	混浊	无	棕黑	0.423	37.03
2	2	混浊	细颗粒	棕黑	0.367	26.73
3	4	较混浊	细颗粒	棕黑	0.346	28.14
4	6	澄清	松絮状	棕黑	0.359	26.70
5	8	澄清	紧絮状	浅棕黑	0.330	25.98
6	10	澄清	絮状	浅棕黑	0.306	23.10
7	12	澄清	松絮状	棕色	0.334	24.02
8	14	较澄清	松絮状	棕色	0.281	28.77
9	16	较澄清	松絮状	棕色	0.265	32.52

2.7 醇沉与絮凝工艺比较: 取药液 25 mL 加无水乙醇 58 mL 使含醇量达 70%, 快加慢搅, 静置过夜, 滤过。按此法处理 2 份, 一份将滤液浓缩至 25 mL, 取 5 mL 于 10 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 滤过, 取续滤液采用 HPLC 测定淫羊藿苷, 另一份测定固形物得率。结果见表 3。

各取相同药液 25 mL 12 份, 加 1.0% 的絮凝剂 12 mL, 中速搅拌 10 min, 转移至量筒, 静置过夜, 5 000 r/min 离心 10 min。取上清液转移至 50 mL

量瓶, 加蒸馏水至刻度, 取一份测定固形物得率, 另一份同上法处理进行含量测定。结果见表 3。

醇沉造成了较多有效成分的损失, 并且醇沉的沉降时间较长, 增加了生产周期, 不利于生产效率的提高, 而且工业生产中还存在着乙醇回收等问题导致成本较高。而采用壳聚糖的吸附澄清技术, 不但除杂效果好, 沉降速度快, 而且处理后的药液有效成分的含量也较高, 而且壳聚糖为天然有机高分子化合物, 无毒无味。另外采用壳聚糖精制中药提取液不需要任何特殊设备, 只须加入壳聚糖处理即可, 所以成本上也较醇沉法低。

表 3 醇沉与壳聚糖絮凝的比较

Table 3 Comparison of alcohol sedimentation and chitosan flocculation procedure

项 目	醇 沉	絮 凝
絮体出现	立即出现	立即出现
絮体状态	棉絮状	絮状
澄清度	澄清	澄清
滤过速度	快	快
淫羊藿苷/%	2.93	3.18
得膏率/%	26.32	22.70

### 3 讨论

3.1 进行淫羊藿苷 HPLC 含量测定时采用乙腈-水 (25/75) 为流动相, 无论从峰的理论塔板数和分离度来看均较为理想。

3.2 影响絮凝澄清工艺的因素有很多, 其中药液浓缩比例、壳聚糖加入量、温度、药液 pH 是主要影响因素。本实验主要考察了药液浓缩比和壳聚糖加入量, 并以淫羊藿苷的含量与固形物得率为指标进行工艺优选。

3.3 由实验可见, 随着絮凝剂加入量增大, 药液由浑浊变澄清, 当加入量为 8~ 12 mL 时药液的澄清效果最好。而在加入量为 8~ 12 mL 时药液中有效成分的含量较高, 得膏率较低, 但当絮凝剂加入量过大时, 体系的浊度上升, 药液中有效成分含量降低, 得膏率上升, 造成絮凝恶化。选择絮凝剂加入量为 12 mL 时, 药液不但澄清情况好, 而且沉淀呈松絮状, 易滤过。在工业生产中有利于缩短生产周期, 提高生产效率。因此选择絮凝剂加入量为 12 mL 作为精制药液的最佳絮凝剂加入量, 即每 100 mL 药液, 壳聚糖的用量为 0.48 g。

3.4 经优选的壳聚糖澄清工艺处理样品含量比醇沉法高, 但两者都低于未处理样品。絮凝工艺的转移率比醇沉法高, 且壳聚糖絮凝工艺方便, 生产周期短, 成本低, 有效成分保留率高, 稳定性好, 故壳聚糖絮凝法可代替醇沉法制备补肾活血颗粒剂。

## References

- [1] Wang C L, Li X, Wang Y X. Studies on pharmacological of *Herba Epimedium* and its active ingredient [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(3): 183.
- [2] Peng Z C, Zhang S W, Liu D Y, et al. Study on clarification procedure of Qingrejiadu Oral Liquid [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (4): 299-300.
- [3] Miao L L, Qin X M, Qi X M, et al. Study on purification of Qingrejiadu Oral Liquid through flocculation [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2002, 22 (7): 413-415.

## 五虎散质量标准的研究

毛彦杰<sup>1</sup>, 岳敏<sup>1</sup>, 谷学新<sup>1\*</sup>, 范国强<sup>2</sup>, 段豫萍<sup>2</sup>, 秦晨<sup>2\*</sup>

(1. 首都师范大学 化学系, 北京 100037; 2. 北京同仁堂股份有限公司 科学研究所, 北京 100011)

**摘要:** 目的 建立五虎散的质量标准。方法 采用 TLC 法对方中当归、白芷、红花进行定性鉴别; 采用 HPLC 法测定升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量。结果 升麻苷在 0.370 0~1.850 0 μg, 5-O-甲基维斯阿米醇苷在 0.191 0~0.955 0 μg 与峰面积具有良好的线性关系; 平均回收率分别为 100.74% 和 98.33%, RSD 分别为 0.67% 和 1.91% (n=5)。结论 建立的方法简便、准确、可靠, 可作为控制该药品的质量标准。

**关键词:** 五虎散; 升麻苷; 5-O-甲基维斯阿米醇苷; 质量标准; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2004)12-1354-03

## Quality standard of Wuhu Powder

MAO Yan-jie<sup>1</sup>, YUE Min<sup>1</sup>, GU Xue-xin<sup>1</sup>, FAN Guo-qiang<sup>2</sup>, DUAN Yu-ping<sup>2</sup>, QIN Chen<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China; 2. Scientific Research Institute of Beijing Tong Ren Tang Co., Ltd., Beijing 100011, China)

**Abstract:** **Object** To establish the quality standard for Wuhu Powder. **Methods** *Radix Angelicae Sinensis* (RAS), *Radix Angelicae Dahuricae* (RAD), and *Flos Carthami* (FC) were determined qualitatively by TLC. The content of cimicifugoside and 5-O-methylvisammoside were determined by HPLC. **Results** The linear ranges of cimicifugoside and 5-O-methylvisammoside were 0.370 0—1.850 0 μg and 0.191 0—0.955 0 μg. The recoveries were 100.74% and 98.33%, RSD were 0.67% and 1.91% (n=5), respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, credibility, which can be used as the quality control standard of Wuhu Powder.

**Key words:** Wuhu Powder (a Chinese prescription composed of FC, RAS, and RAD, etc.); cimicifugoside; 5-O-methylvisammoside; quality standard; HPLC

由红花、当归、白芷等药材配伍而成的五虎散是一种具有活血散瘀、消肿止痛等功效的中药, 用于跌打损伤、瘀血肿痛的治疗<sup>[1]</sup>。防风中的升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷具有较好的解热、镇痛、抗炎消肿等生理活性<sup>[2]</sup>。为了有效地控制五虎散的质量, 本实验采用高效液相色谱法对方中的升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷进行测定, 并对当归、白芷、红花进行了薄层鉴别, 结果令人满意。

## 1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪 (Waters515 高压泵, Waters515 柱温箱, Waters717 自动进样器, Waters2996 检测器)。

当归对照药材 (批号: 927-200110)、白芷对照药材 (批号: 945-9903)、红花对照药材 (批号: 907-200006)、欧前胡素对照品 (批号: 0826-200206)、异欧前胡素对照品 (批号: 0827-200105)、升麻苷对照品 (批号: 1522-200001, 含量测定用) 和 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品 (批号: 1523-200001, 含量测定用) 购于中国药品生物制品检定所。五虎散由北京同仁堂股份有限公司制药厂生产, 批号为 3100024、3100025。甲醇为色谱级试剂, 其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法

## 2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 当归、白芷的鉴别: 取五虎散 3 g, 加无水乙

\* 收稿日期: 2004-02-15

作者简介: 毛彦杰(1977—), 男, 河北省张家口市人, 首都师范大学分析化学专业研究生, 从事中草药分析。

\* 通讯作者 E-mail: Guxuexin@263.net