表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验的结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D	总固体得率/%	芍药苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	综合得分
1	1	1	1	1	10.38	30.94	67.09
2	1	2	2	2	18.19	33.62	87.80
3	1	3	3	3	14.91	35.55	81.46
4	2	1	2	3	21.41	33.09	92.72
5	2	2	3	1	18.27	35.32	87.09
6	2	3	1	2	17.04	35.81	87.45
7	3	1	3	2	15.78	36.83	83.25
8	3	2	1	3	22.39	26.07	81.50
9	3	3	2	1	15.10	37.69	83.03
I	237.06	245.55	236.76	243.64			
II	267.26	256.39	263.91	260.29			
III	255.28	257.66	258.93	255.68			
R	30.19	12.11	27.15	16.65			

39.55 mg/g , 说明所选提取工艺可行。

2.6 优选醇沉工艺: 按上法制得的水提液中含有较多的淀粉、黏液质等无效成分, 使有效成分相对较低, 须进一步精制, 拟采用乙醇沉淀法除去这些杂质。通过测定药液精制前后总固体得率和芍药苷, 优选醇沉工艺条件。

称取白芍 280.0 g, 其余药材按处方比例称取, 加水 7 倍量, 提取 2 次, 每次 1 h, 合并提取液, 滤过, 滤液定容至 5 000 mL, 作为供试品溶液。精密量取供试品溶液, 测得总固体得率为 22.70%、芍药苷的质量分数为 38.60 mg/g 。

精密吸取供试品溶液 250 mL, 分别按表 3 条件操作(每个条件平行做 3 份), 醇沉后静置 24 h, 滤过, 滤液定容至 250 mL, 测定总固体得率和芍药苷, 结果见表 3。

可看出, 醇沉条件是将药液浓缩至相对密度 1.05、调整醇沉体积分数为 50%。按该条件所得精

表 3 纯化后的总固体得率和芍药苷的质量分数 ($n=3$)

Table 3 Yield of total solids and contents of paeoniflorin after purified ($n=3$)

药液相对密度	乙醇体积分数/%	总固体得率/%	芍药苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1.05	50	17.19	37.61
	60	16.40	32.63
	70	15.67	30.77
1.10	50	9.31	24.65
	60	8.76	20.14
	70	7.85	19.75

制液, 经测定总固体得率较精制前明显下降(精制前为 22.70%, 精制后为 17.19%); 但芍药苷的质量分数减少不明显。

3 讨论

3.1 预试验中, 对提取溶剂进行了选择, 结果采用乙醇提取与以水为溶剂提取芍药苷的质量分数无明显差异, 考虑到工业生产的安全与经济, 故采用水为溶剂提取。

3.2 实验表明, 诸药合提芍药苷的质量分数为单独提取的 1.25 倍, 可能是甘草和柴胡中的皂苷类成分的增溶作用所致, 有待进一步研究证实。

3.3 从优选醇沉工艺试验分析, 浓缩药液的相对密度对精制后总固体得率和芍药苷的质量分数影响较大, 药液的相对密度不同时, 相同的醇沉体积分数, 精制液的总固体得率和芍药苷质量分数相差较大。采用将药液浓缩至相对密度 1.05、醇沉体积分数为 50% 的醇沉工艺, 不仅总固体得率和芍药苷质量分数高, 也有利于降低生产成本。

Reference:

[1] Zhang K R, Liu R X, Xu J B, et al. Determination of three chemical constituents in *Radix Paeoniae Rubra* by RP-HPLC simultaneously [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2003 (10): 793-795.

四物颗粒剂的提取工艺研究

王守愚¹, 史公良¹, 姜连英²

(1. 辽宁中医学院药学院, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁省监狱管理局总医院, 辽宁 沈阳 110031)

四物汤源于宋代《太平惠民和剂局方》,《中国药典》2005 年版一部收载, 由当归、川芎、白芍、熟地 4 味药组成, 是补血、养血、调经的常用基本药物, 四物颗粒由此衍生而来。为保证药物的制剂工艺的合理

性, 本实验选择芍药苷和提取物干膏收率为考核指标, 通过正交试验筛选四物颗粒的最佳提取工艺。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10Avp 液相色谱仪, SPD-1

收稿日期: 2005-10-09

作者简介: 王守愚(1947—), 男, 辽宁沈阳人, 副教授, 主要从事中药剂型现代化和中药质量标准的研究。

10Atvp 紫外检测器,浙江大学 N-2000 色谱工作站。芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0736-200116)。甲醇、异丙醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芍药苷的 HPLC 法测定

2.1.1 测定波长的确立:参考《中国药典》2005 年版一部四物合剂项下,经绘制芍药苷甲醇溶液 200~400 nm 扫描紫外图谱,确定测定波长为 230 nm。

2.1.2 色谱条件:日本岛津 ODS 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-异丙醇-1%冰醋酸水溶液(20:2:78);检测波长:230 nm;体积流量:1 mL/min。理论塔板数以芍药苷计不低于 6 000。

2.1.3 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品适量,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解,制成 0.122 6 mg/mL 的溶液,摇匀,即得。

2.1.4 供试品溶液的制备:取四物提取物浸膏细粉约 0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,超声提取 50 min,滤过,滤液置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释置刻度,摇匀。

2.1.5 线性关系考察:精密称取芍药苷对照品 12.26 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,制成 0.122 6 mg/mL 的溶液。分别精密吸取 1、3、5、7、9 μL 溶液,注入液相色谱仪中,测定色谱峰面积。以进样量为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,经线性回归,计算得线性回归方程为 $Y = 473\ 150.127\ 2 X - 5\ 260.627\ 8$, $r = 0.998\ 2$ 。结果表明,芍药苷进样量在 0.122 6~1.003 4 μg 与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.6 样品测定:分别精密吸取各供试品与对照品溶液各 5 μL,进样按色谱条件进行分析、计算。

2.2 提取物干膏收率的测定:取提取物在 70 °C 干燥至恒重,称量,按原生药量计算干膏得率。

2.3 正交试验设计及结果:按处方取当归、川芎、白芍及熟地各 30 g,浸泡 1 h,按正交设计(因素水平见表 1)试验条件操作,回流提取,趁热滤过,水浴上浓缩至干,70 °C 减压干燥至恒重,测定芍药苷和干膏收率。根据试验结果(表 2),比较 R 值大小,因素 C(提取次数)是影响提取物干膏收率的主要因素,因素 A(溶剂倍数)则是影响芍药苷的主要因素,其最佳组合为 A₂B₂C₃。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 加水倍数/mL	B 时间/h	C 煎煮次数/次
1	10	1.0	1
2	12	1.5	2
3	14	2.0	3

表 2 L₉(3⁴)正交试验数据分析结果
Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	芍药苷/%	干膏收率/%
1	1	1	1	1	1.040 8	26.18
2	1	2	2	2	0.846 4	31.66
3	1	3	3	3	0.893 4	32.30
4	2	1	2	3	1.007 3	31.11
5	2	2	3	1	0.936 5	34.88
6	2	3	1	2	1.012 7	29.54
7	3	1	3	2	0.882 1	36.14
8	3	2	1	3	1.001 9	30.58
9	3	3	2	1	0.816 1	39.06
干 K ₁	90.14	93.43	86.3	100.12		
膏 K ₂	95.53	97.12	101.83	97.34		
收 K ₃	105.78	100.9	103.32	93.99		
率 k ₁	30.05	31.14	28.77	33.37		
k ₂	31.84	32.37	33.94	32.45		
k ₃	35.26	33.63	34.44	31.33		
R	5.21	2.49	5.67	2.04		
芍 K ₁	2.78	2.93	3.06	2.79		
药 K ₂	2.96	2.78	2.67	2.74		
苷 K ₃	2.70	2.72	2.71	2.90		
k ₁	0.93	0.98	1.02	0.93		
k ₂	0.99	0.93	0.89	0.91		
k ₃	0.90	0.91	0.90	0.97		
R	0.09	0.07	0.13	0.05		

2.4 验证试验:按最佳提取工艺制备 4 批样品,测定样品的干膏收率和芍药苷,与正交试验结果基本一致,干膏收率为 34.88%,芍药苷质量分数为 0.94%。

3 讨论

3.1 本实验中采用 HPLC 法测定芍药苷,具有专属性好、准确等特点,作为制备工艺质量考察的控制方法有应用意义。本实验既要最大限度的保证芍药苷的量,又要保证其他有效成分提取完全(要求出膏率最大)。因此选择最佳工艺:用水倍数为生药材投料量的 12 倍,浸泡 1 h,提取 3 次。

3.2 曾试用了甲醇-水(25:75)、0.05 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈(88:12)、甲醇-1%冰醋酸溶液(25:75)和甲醇-异丙醇-1%冰醋酸水溶液(20:2:78)为流动相,结果甲醇-异丙醇-1%冰醋酸水溶液(20:2:78)效果最好。