

表 2 L₉(3⁴)正交试验结果

Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	绿原酸提取量/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	20.4
2	1	2	2	2	26.8
3	1	3	3	3	30.0
4	2	1	2	3	28.0
5	2	2	3	1	28.9
6	2	3	1	2	21.8
7	3	1	3	2	31.3
8	3	2	1	1	23.5
9	3	3	2	3	28.5
I	77.2	79.7	65.7	77.8	
II	78.7	79.2	83.3	79.9	
III	83.3	80.3	90.2	81.5	
R	6.1	1.1	24.5	3.7	

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	6.74	2	3.37	5.35	
C	1.06×10 ²	2	53.0	84.13	P<0.01
误差(B+D)	2.51	4	0.63		

$F_{0.01}(2,4)=18.00$

膏。将稠膏减压干燥成干浸膏。各工艺步骤中绿原酸的变化见表 4。结果表明,绿原酸在醇沉和干燥的工艺步骤损失较多。醇沉过程中损失的主要原因是沉淀对绿原酸的包裹和吸附,而干燥过程中的损失原因是由绿原酸的化学性质决定的,绿原酸是奎宁酸和咖啡酸的酯,对热不稳定。本实验采用 80℃减压干燥约 14 h,干燥温度较高,时间较长,因此损失大。建议在含有金银花药材的中成药生产中慎用醇沉工艺,并应采用较低的干燥温度。

3 讨论

统计学规定,正交试验的方差分析中,对于安排

表 4 绿原酸在各工艺步骤中的变化

Table 4 Change of chlorogenic acid in various technology processes

组别	绿原酸/(mg·g ⁻¹)	绿原酸转移率/%	绿原酸损失率/%
药材	34.1		
水煎液	30.9	90.6	9.4
相对密度为 1.15 的浸膏	28.7	92.9	6.4
醇沉液	20.5	71.4	24.0
相对密度为 1.30 的稠浸膏	17.6	85.9	8.5
干浸膏	8.5	48.3	26.6

了因素的列,如果离均差平方和很小,可将其并入误差中^[3]。在本实验的方差分析表中,因素 B 的离均差平方和比误差项 D 小得多,因此将二者合并,作为实验误差进行方差分析。

文献报道的金银花的提取工艺有水提石灰乳法、稀醇提取法^[4]。水提石灰乳法是以氢氧化钙溶液和混悬液作为溶媒,具有碱性,可引起绿原酸的水解;稀醇提取法是以 40%乙醇为溶媒,绿原酸的提取率虽较高,但成本也同时提高。本实验以正交试验法优选出了金银花的最佳水提工艺,绿原酸的转移率可达 90%,表明该工艺不但经济实用,而且科学合理。

References:

- [1] Wang B Q. Study on Quality Standard and Standard Substance for Chinese Medicine Preparation (中成药质量标准于标准物质研究) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [3] Liu Y F. Mathematical Statistics Method (数理统计方法) [M]. Jinan: Shandong University Press, 1992.
- [4] Xu D Y, Sheng J R, Tan Y Z. Study on optimum extraction process and comparison for chlorogenic acid in *Flos Lonicerae* [J]. J Guangxi Normal Univ: Nat Sci (广西师范大学学报:自然科学版), 2003, 20(2): 18-19.

RP-HPLC 法测定生白芍免煎饮片中芍药苷

蒋国强¹,杨水新²,叶 勇²

(1. 湖州市药品检验所,浙江 湖州 313000; 2. 湖州市中心医院,浙江 湖州 313000)

生白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗功效,用于头痛眩晕、胁痛、腹痛、四肢痉挛、血虚萎黄、月经不调、自汗、盗汗等病症。免煎饮片是中药饮片改革的一个新产物,服用方便,清洁卫生,便于储

存与携带,越来越受到中医界的认同和广大患者的欢迎。白芍主要含有芍药苷、芍药内酯苷、羟基芍药苷等苷类成分^[1~4]。因此本实验采用 RP-HPLC 法对生白芍免煎饮片中芍药苷的测定方法进行了研究,为全面控制生白芍免煎饮片的质量提供了可靠

方法,同时也为免煎饮片质量标准的建立与质量控制提供参考。

1 材料与仪器

生白芍免煎饮片由江阴天江药业有限公司提供,1 g 相当于饮片 10 g;芍药苷对照品(批号 0736-200117)由中国药品生物制品检定所提供;乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯。

Waters 高效液相色谱仪:Waters 515 型泵,996 型二极管阵列检测器,Millennium 32 工作站,全拓公司 Ultrasonik 超声波洗涤器。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Hypersil C₁₈ 柱(200 mm×4.0 mm,10 μm)(大连依利特科学仪器有限公司);流动相:乙腈(A)-0.4%磷酸水溶液(B),梯度洗脱,0~10 min,0~8%A,10~25 min,8%~24%A,25~32 min,24%A,32~41 min,40%A;检测波长:230 nm;柱温:30 ℃;进样量:5 μL。色谱图见图 1。

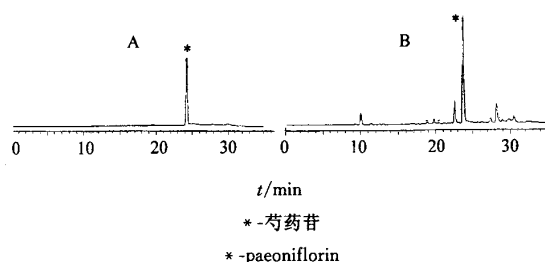


图 1 芍药苷对照品和生白芍免煎饮片(B)的 HPLC 图谱
ig. 1 HPLC Chromatograms of paeoniflorin reference substance (A) and non-decoction slices of paeony (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品 10.5 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并加至刻度,即得。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取生白芍免煎饮片约 1 g,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 25 min,取出,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,取续滤液,备用。

2.4 标准曲线的制备:准确量取芍药苷对照品溶液 2、4、6、8、10 μL 进样,记录色谱图,测定峰面积。以峰面积值对相应质量浓度进行回归分析,得标准曲线方程 $A=11\,120.41\,C+47\,864.1$, $r=0.999\,6$,线性范围 168~840 μg/mL。

2.5 精密度试验:吸取芍药苷对照品溶液 5 μL 和批号 0301118 供试品溶液 5 μL,连续进样 5 次,测

定芍药苷峰面积值。结果芍药苷对照品溶液的 RSD 为 0.7%,供试品溶液的 RSD 为 0.8%。

2.6 稳定性试验:取批号 0305029 供试品溶液在 1、2、3、5、8 h 内进样 5 次,测定芍药苷峰面积值,计算得 RSD 为 1.03%。

2.7 回收率试验:准确量取 1 g 样品置 10 mL 量瓶中,加入芍药苷对照品适量,摇匀,加甲醇至刻度,制备供试品溶液,取 5 μL 进样,记录色谱图,计算。结果平均回收率为 102.63%,RSD 为 2.6%($n=5$)。

2.8 测定:取样品适量,制备供试品溶液,取 5 μL 进样,测定芍药苷峰面积,每份进样 3 次,按标准曲线方程计算芍药苷的质量分数,结果见表 1。

表 1 生白芍免煎饮片中芍药苷的测定结果

Table 1 Determination of paeoniflorin in non-decoction slices of paeony

批 号	芍药苷/%	RSD/%	批 号	芍药苷/%	RSD/%
0105142	7.60	1.88	0301118	5.47	1.11
0108147	11.34	1.93	0305029	3.84	2.03
0212031	5.40	1.90	0402124	8.21	1.77

3 讨论

采取以乙醇、50%乙醇、70%丙酮、甲醇为提取溶剂,分别进行加热回流和超声提取,结果以甲醇超声提取 30 min 的结果最为理想。

从测定结果上看,批与批之间的变化较大。《中国药典》2005 年版一部规定,白芍药材含芍药苷不得少于 0.80%,根据 1 g 生白芍免煎饮片相当于 10 g 生白芍药材,则生白芍免煎饮片含芍药苷应不得少于 8.0%,但测定结果显示,有多批不能达到要求,分析原因可能与药材来源、工艺操作有关。因此,对单味中药免煎饮片进行测定是十分必要的。根据实验结果,建议生产部门控制好药材质量和严格工艺操作管理,尽可能地提高单味免煎饮片中有有效成分的量,确保产品质量与临床使用效果。

References:

- [1] Zou Z M, Xu L Z, Yang S L. HPLC Fingerprinting of total glucosides of paeony [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(1): 46-49.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [3] Zhang K W, Li W, Chi Y M, et al. Determination of puerarin and paeoniflorin in Jingfukang Granules [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(5): 359.
- [4] Xie X M, Yu C Z, Xu H, et al. Quality evaluation of prepared slices of *Paeonia lactiflora*—Determination of paeoniflorin by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(8): 759.