

溶性草酸盐生成,但不清楚Ca元素的存在形式。本研究显示半夏经明矾炮制后Ca元素以硫酸盐形式存在。推测其反应过程是 $KAl(SO_4)_2$ 易水解而使水溶液呈酸性, $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ 针晶受到 H^+ 腐蚀并逐渐消失,生成物为草酸盐和硫酸钙。

半夏的刺激性是由草酸钙针晶所造成的,但难以解释许多含有草酸钙针晶的中药包括山药、白术等并无类似的刺激性^[2]。半夏在炮制过程中需要使用明矾或甘草石灰水浸泡,两者均能使刺激性消失。X射线衍射的结果显示明矾能破坏草酸钙针晶而甘草石灰水不能,显示针晶和刺激性成分并非是同种物质,刺激性作用是针晶与毒性物质共同作用的结果^[3],该物质能被甘草石灰水破坏。

生半夏经姜汁煮后新出现一个强峰4.484/100,姜矾半夏也比清半夏多一个峰4.312/100,两者的 d 值和峰强度值都很接近,说明这个峰确为生姜汁所致,数据重现性较好,可以用于区分清半夏和

姜矾半夏两种炮制品。法半夏比生品多3个弱峰,也是由于炮制过程中引入了辅料,即姜汁和甘草石灰。

由于明矾、姜汁和甘草石灰水对生半夏的X衍射 Fourier 指纹图谱产生的影响不同,因此可以用X衍射区分生半夏与3种炮制品:清半夏和姜矾半夏都含有 $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ 晶体,姜矾半夏在 2θ 角 20° 左右($d \approx 4.3$)比前者多一个强峰;生半夏与法半夏仅含 $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ 晶体,后者在 2θ 角 $25^\circ \sim 31^\circ$ 区间内($d \approx 3.5 \sim 2.7$)比生半夏多3个弱峰。半夏及其炮制品的X衍射峰不仅各具特征性,而且重现性好,显示X射线衍射 Fourier 指纹图谱在中药材的真伪鉴定与炮制品鉴定方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 吕 扬,郑启泰,吴 楠,等. 中药材X-射线衍射图谱研究[J]. 药学学报, 1997, 32(3): 193-198.
- [2] 修彦凤,洪筱坤,王智华. 半夏的炮制研究进展[J]. 中成药, 2004, 26(1): 38-40.
- [3] 钟凌云,吴 皓. 天南星科植物中黏膜刺激性成分的研究现状与分析[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18): 1561-1563.

归芍软胶囊提取工艺的正交试验研究

郭 炜,袁志芳,张兰桐*

(河北医科大学药学院 药物分析教研室,河北 石家庄 050017)

归芍软胶囊的处方来源于张仲景《金匱要略》中的当归芍药散,由白芍、当归、川芎、白术、茯苓和泽泻组成,用于治疗“妇人怀妊,腹中疝痛”及“妇人腹中诸疾病”。根据中医学“谨守病机,异病同治”原则,近年来已将其临床应用不断拓展,如用于治疗老年性痴呆取得了良好的疗效。为了使该方剂能够较方便的应用于临床,根据各药味所处地位和药物的物理化学性质,拟将当归芍药散各味药用合适的方法提取后制成软胶囊。本实验通过正交试验探讨挥发油提取工艺和水提工艺,以寻找最佳的提取工艺条件。

1 材料与仪器

乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯;芍药苷对照品购自中国药品生物制品检定所;各药材均购自石家庄市药材站,经河北医科大学生药教研室聂风提教授鉴定。

挥发油提取器(上海求精玻璃仪器厂);美国 Waters 高效液相色谱仪:510 泵,2487 紫外检测器,Empower 色谱工作站;TCQ-250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂)。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取工艺

2.1.1 当归、白术和川芎吸水率的考察:按处方量称取当归、白术和川芎,用冷水浸泡,每4小时换水一次,泡至透心,计算得药材的吸水率为128.5%。

2.1.2 因素水平的确定:根据药物的性质并结合生产实际,挥发油提取工艺选取了对提取率影响较大的加水量(A)、浸泡时间(B)和提取时间(C)作为考察因素,以挥发油得率为考察指标,选定 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。正交因素水平见表1。

2.1.3 试验方法:按处方比例分别称取当归、白术和川芎,适当粉碎,置圆底烧瓶中,进行提取,到规定

收稿日期:2007-07-30

作者简介:郭 炜(1979—),女,河北藁城人,助教,硕士,主要从事新药开发及药物质量标准的研究。

Tel: (0311)86266419 Fax: (0311)86052053 E-mail: guowei8043586@sina.com

* 通讯作者 张兰桐

时间后,停止加热,放置 1 h,至油呈清亮,收集挥发油蒸馏液,用等体积乙醚萃取 3 次,合并乙醚提取液,回收乙醚,用无水 Na_2SO_4 脱水后,称定挥发油的质量,计算挥发油得率,结果见表 2。可见以挥发油得率为考察指标,对挥发油提取影响大小依次为:提取时间 > 加水量 > 浸泡时间,最佳工艺为 $\text{A}_3\text{B}_1\text{C}_3$ 。表 2 中挥发油得率经方差分析,对各因素影响的显著性进行了检验,结果见表 3。

表 1 挥发油提取的因素和水平

Table 1 Factors and levels of volatile oil extracting

水平	因 素		
	A/倍	B/h	C/h
1	8	1	4
2	10	3	6
3	12	5	8

表 2 挥发油提取的正交试验结果

Table 2 Results of othogonal test for volatile oil extracting

试验号	A	B	C	空白	挥发油得率/%
1	1	1	1	1	0.214 9
2	1	2	2	2	0.427 8
3	1	3	3	3	0.804 9
4	2	1	2	3	0.426 7
5	2	2	3	1	0.908 1
6	2	3	1	2	0.245 9
7	3	1	3	2	1.013 7
8	3	2	1	3	0.305 4
9	3	3	2	1	0.506 3
K_1	0.482 5	0.551 8	0.255 4	0.543 1	
K_2	0.526 9	0.547 1	0.453 6	0.562 5	
K_3	0.608 5	0.519 0	0.908 9	0.512 3	
R	0.125 9	0.032 7	0.653 5	0.050 1	

表 3 挥发油得率方差分析

Table 3 Analysis of variance for volatile oil extracting

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
A	244.81	2	13.01	0.071	
B	18.81	2	1.00	0.500	$P < 0.01$
C	6 736.44	2	358.13	0.003	**

$$F_{0.05}(2,2)=19.00 \quad F_{0.01}(2,2)=99.00$$

可知在提取挥发油的工艺中,以挥发油得率为考察指标,各因素对挥发油提取工艺影响的大小为: $C > A > B$,其中提取时间对挥发油量影响最大,而加水量和浸泡时间在选择的水平上无显著影响。在试验范围内,最佳优选条件组合是 $\text{A}_3\text{B}_1\text{C}_3$,即将药材加 12 倍量水浸泡 1 h,提取 8 h 较为合适。

2.1.4 验证试验:取当归、川芎、白术,适当碎断,按处方比例分别称取当归、川芎和白术,按已确定加水量和浸泡时间、加热时间提取挥发油,平行试验 3 次,结果见表 4。可见,按最佳工艺进行验证试验,当

表 4 挥发油提取验证试验结果

Table 4 Validation test on volatile oil extracting

序号	挥发油得率/%				
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
1	0.21	0.58	0.81	1.01	1.01
2	0.29	0.61	0.80	0.98	0.99
3	0.27	0.61	0.82	1.02	1.02

提取时间达到 8 h 时,挥发油的提取基本达最大量,因此,将挥发油的提取时间确定为 8 h。

2.2 水提取工艺

2.2.1 因素与水平的确定:水提取工艺选取了对提取物收率影响较大的加水量(A)、提取时间(B)、提取次数(C)为考察因素,以芍药苷的量作为考察指标,选定 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。正交因素水平见表 5。

表 5 水提取工艺的因素和水平

Table 5 Factors and levels for water extracting process

水平	因 素		
	A/倍	B/h	C/次
1	8	1	1
2	10	1.5	2
3	12	2	3

2.2.2 试验方法:按处方比例称取白芍、泽泻、茯苓及当归、川芎、白术提取挥发油后的药渣,按正交设计表加水煎煮。

2.2.3 芍药苷的 HPLC 法测定^[1]

色谱条件:选用十八烷基键合硅胶为固定相;乙腈-0.05%冰醋酸溶液(17:83)为流动相;柱温 30℃;检测波长 230 nm。

供试品溶液的制备:取提取液,浓缩至约 50 mL,转移至 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,混合均匀。精密量取上述溶液 0.1 mL,置 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

对照品溶液的制备:取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成 0.1 mg/mL 溶液,即得。

测定方法:吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL ,注入 HPLC 色谱仪,记录峰面积,按外标法计算芍药苷的量,结果见表 6。

可见以芍药苷的量为考察指标,各因素对芍药苷提取率影响的大小依次为:提取时间 > 提取次数 > 加水量,最佳工艺为 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2$ 。对各因素影响的显著性进行了检验,结果见表 7。

可知,在水提取工艺中,以芍药苷的量为考察指标,各因素对芍药苷提取工艺影响的大小为 $B > C > A$,其中提取时间对芍药苷的量影响最大,而加水量和提取次数在选择的水平上无显著影响。在试验范围内,最佳优选条件组合是 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2$,即将药材加水

表 6 水提取正交试验结果

Table 6 Orthogonal test for water extracting process

试验号	A	B	C	空白	芍药苷/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	5.07
2	1	2	2	2	8.34
3	1	3	3	3	9.56
4	2	1	2	3	6.85
5	2	2	3	1	7.89
6	2	3	1	2	10.15
7	3	1	3	2	6.96
8	3	2	1	3	6.89
9	3	3	2	1	9.48
K ₁	7.66	6.29	7.37	7.48	
K ₂	8.30	7.71	8.22	8.48	
K ₃	7.78	9.73	8.14	7.77	
R	0.64	3.44	0.85	1.00	

表 7 水提取工艺的方差分析

Table 7 Analysis of Variance for water extracting process

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
A	0.69	2	1.00	0.500	
B	17.90	2	25.78	0.037	P<0.05
C	1.32	2	1.91	0.344	

$$F_{0.05}(2,2)=19.00 \quad F_{0.01}(2,2)=99.00$$

10 倍量煎煮 2 次,每次提取 2 h 较为合适。

2.2.4 验证试验:按处方比例分别称取白芍、泽泻、茯苓及当归、川芎、白术提取挥发油后的药渣,按已确定加水量和提取次数、提取时间进行水煎,平行试验 3 次,结果见表 8。可见当提取时间达到 2 h 时,芍药苷的量基本不再增加,因此,将水提取时间确定为 2 h。

表 8 水提验证试验结果

Table 8 Validation test on water extracting process

序号	芍药苷的量/(mg·g ⁻¹)		
	2 h	2.5 h	3 h
1	10.16	10.16	10.13
2	10.17	10.13	10.11
3	10.14	10.12	10.18

3 讨论

当归、白术和川芎为处方中的 3 味富含挥发油的药味,其挥发油亦为发挥药效的主要成分,故在进行制剂工艺研究时对以上 3 味药材进行了挥发油提取的最佳工艺的研究。白芍、泽泻和茯苓所含成分主要为水溶性,临床上多使用其水煎剂,所以采用水提取工艺。鉴于以上原因,归芍软胶囊的提取工艺采用先提取挥发油,再进行水提工艺。

白芍是归芍处方中的君药,含有白芍总苷等成分,其中芍药苷是其主要有效成分^[2],故以芍药苷的量为指标,采用高效液相色谱法检测,考察归芍软胶囊的水提取工艺。

在进行芍药苷测定时,采用文献报道的流动相,如甲醇-乙腈-水(10:10:80)、甲醇-异丙醇-36%醋酸-水(25:2:2:71)、甲醇-水(30:70)^[2~4]试验,发现芍药内酯苷与芍药苷的峰和其他峰不能完全分开,改变流动相比比例后,仍达不到理想效果。当选用乙腈-水(17:83)时,芍药内酯苷和芍药苷峰与其他峰分离较好,加入冰醋酸后,峰形得到明显改善。但冰醋酸比例过大会造成仪器相应值噪声很大,故最后确定乙腈-0.05%冰醋酸溶液(17:83)作为流动相,获得了满意效果。

参考文献:

- [1] 邓君丽,梁洪华. HPLC 法测定白带丸中芍药苷的含量[J]. 中国药品标准, 2005, 6(3): 77-85.
- [2] 章崇仪,曹解宇. 白芍中芍药苷提取的溶剂比较[J]. 中成药, 1994, 16(11): 6-7.
- [3] 张克荣,白丽,徐赞,等. RP-HPLC 法同时测定白芍中芍药苷和芍药内酯苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(3): 222-224.
- [4] 李章万,刘三康,郭平,等. 高效液相色谱法测定芍药及 14 种含白芍药成药中芍药苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1990, 10(36): 331-332.

2008 海峡两岸 CSNR 全国第八届天然药物资源学术研讨会通知(第一轮)

2008 海峡两岸 CSNR 全国第八届天然药物资源学术研讨会拟定于 2008 年 7 月中旬在贵州省贵阳市召开,会期 3 天。本届学术研讨会由 CSNR 天然药物资源专业委员会、中国药材 GAP 研究促进会(香港)主办,贵州信邦制药股份有限公司承办,贵州中医学院等协办。现在开始进行学术研讨会报名和学术论文征集工作。

1 主题:加强产学研结合,促进中药资源产业化发展。

2 交流研讨内容:中药资源调查的新技术、新方法研究进展;中药资源生态及适宜区划研究;中药材 GAP 研究与实践;中药材生产基地的规范化建设;中药资源产业区域经济发展与产学研结合的有效模式和机制研究;中药及天然药物资源化学与资源高效利用研究;民族药物资源的研究现状与进展;中药及天然药物资源学科基础研究及学科建设。

3 会议论文征集:会议论文可围绕主题和研讨内容,其内容包括前瞻性综述、学科现状、前沿及展望,系统性研究成果,原创性研究工作等。

4 征文要求:请向会议提供 Word 软件录入的论文电子版。并同时提供论文打印稿一份,请打印在 A4 纸上,上下各空 3 cm,左右空 2.2 cm,用激光打印机输出。

5 会议时间和地点:具体时间和地点请见第二轮通知。也可登陆 CSNR 天然药物资源专业委员会网站(<http://202.195.210.136>)或致电查询会议通知。

联系地址:江苏省南京仙林大学城仙林大道 138 号 邮政编码:210046 南京中医药大学药学院 CSNR 天然药物资源专业委员会办公室

电话:025-85811133,025-85811132,025-85811511 传真:025-85811524

联系人:陈丽红 乐巍 电子邮箱:tryw2008@126.com