

果显示,阴性样品有干扰,干扰的斑点来自吴茱萸药材。经改用正己烷-醋酸乙酯-乙醇(6.4:3.6:1)作为展开剂后,上述现象消失。

共选择50%甲醇、75%甲醇和甲醇3种提取溶剂提取,结果发现,用含有一定水的甲醇结果均高于甲醇的提取。由于本品为大蜜丸,用含有一定水的甲醇采用超声处理方式,易使本品溶散,使被测成分易于提出,故采用75%甲醇作为提取溶剂。实验中对桂皮醛提取时间进行了考察,分别超声处理30、45、60 min,结果超声45 min与60 min测得的结果基

本相同,因此将超声处理时间定为45 min。另实验中对桂皮醛提取溶剂用量(20、25、50 mL)亦进行了考察,溶剂用量为25 mL时样品中桂皮醛提取完全,故提取溶剂用量定为25 mL。

报道选择乙腈-水(35:75)^[2],实验发现,桂皮醛色谱峰有拖尾现象,经加入一定磷酸后,色谱峰拖尾现象消失。

参考文献:

- [1] 刘训红,王玉玺,房克慧,等. 中药材薄层色谱鉴别[M]. 天津:天津科学技术出版社,1990.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005.

正交试验优选桂枝茯苓丸处方药材的提取工艺

朱燕飞,楼 英,钱建明

(诸暨市人民医院,浙江 诸暨 311800)

摘 要:目的 筛选并优化桂枝茯苓丸的提取工艺。方法 以正交设计多指标优化提取工艺条件,HPLC法测定各味药材有效成分,确定最佳提取工艺。结果 桂枝和牡丹皮以加6倍量的90%乙醇提取2次,每次2 h, $A_3B_1C_3$ 为最佳提取工艺路线;赤芍、桃仁和茯苓以水提取,桃仁捣碎沸下,加6倍量水提取2次,每次1 h为最佳提取工艺路线。结论 优化得到的提取工艺合理、稳定、可行,工艺设计科学合理,提取效率高,适用于工业化生产。

关键词:桂枝茯苓丸;桂枝;牡丹皮;正交试验;高效液相色谱

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1338-04

桂枝茯苓丸方出自汉代医圣张仲景《金匱要略·妇人妊娠病脉证并治》,由桂枝、茯苓、赤芍、牡丹皮、桃仁组成,具有活血,化瘀,消癥的作用,用于妇人宿有癥块,或血瘀经闭,行经腹痛,产后恶露不尽。原方制法工艺为生药材粉碎成细粉,加炼蜜制成蜜丸后入药,生产工艺落后,服用量大,服用不方便。为了去除原方中的无效成分,富集浓缩有效成分,本实验对桂枝茯苓丸处方药材的提取工艺进行了改进研究,使之符合现代生产工艺的要求,为进一步合理开发桂枝茯苓丸提供参考。

1 仪器与试药

LC-10AT 高效液相色谱仪(配置为双泵、紫外检测器,日本岛津),UV-1700 型紫外分光光度计(日本岛津),N2000 色谱工作站(浙江大学信息工程研究所),TG328A 型电光分析天平(上海分析天平厂)。

处方中药材均由本院中药房提供,经鉴定合格。桂皮醛(批号 060110)、丹皮酚(批号 060301)对照品

均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、乙腈为色谱纯,水为亚沸水,冰醋酸等其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺路线的选择:桂枝茯苓丸原采用生药打粉入药,炼蜜制丸,服用剂量大,且生药材难以消化和吸收。工艺改进依据各药材有效成分的溶解性质,选择适宜溶媒。桂枝和牡丹皮含有挥发性成分较多,宜醇提;赤芍、桃仁含苷类成分,宜水提;茯苓按传统工艺宜采取水提。所以在设计时将5味药分为两步,一是以乙醇为溶媒提取桂枝和牡丹皮;另一一是以水为提取溶媒提取赤芍、桃仁和茯苓。

2.2 桂枝、牡丹皮的提取工艺研究

2.2.1 桂皮醛、丹皮酚的 HPLC 法测定^[1,2]:色谱条件为 Shim-Pack VP-ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm)(日本岛津),以乙腈-水-冰醋酸(42:58:0.8)为流动相,检测波长为 280 nm(桂皮醛 $\lambda_{max}=285$ nm,丹皮酚 $\lambda_{max}=274$ nm)。

标准曲线的制备:取桂皮醛、丹皮酚对照品适

量,分别精密称定,加无水乙醇制成含丹皮酚 29.12 $\mu\text{g/mL}$ 、桂皮醛 16.20 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液作为对照品溶液。取一定量进样测定,结果丹皮酚在 0.145 6~1.747 2 μg 与峰面积值具有良好的线性关系,回归方程为 $A=10\,794.70\,C+9\,783.24$, $r=0.999\,9$;桂皮醛在 0.057 8~0.462 4 μg 与峰面积值具有良好的线性关系,回归方程为 $A=8\,048\,297.3\,C+7\,352.3$, $r=0.999\,9$ 。

供试品溶液的制备:称取桂枝、牡丹皮各 30 g,按正交试验设计方案进行提取,每份提取 2 次,将 2 次提取所得的溶液合并,用乙醇加至 1 000 mL,超过 1 000 mL 则回收溶剂至 1 000 mL,作为样品液。精密吸取样品液 5.0 mL,置 25 mL 量瓶中,加乙醇定容,再精密量取 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中,用乙醇定容,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得,作为供试品溶液。

样品测定:分别精密吸取供试品溶液及相应质量浓度的对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,测定,按照外标法计算提取样品中有效成分的质量分数。

牡丹皮中丹皮酚的测定:牡丹皮中丹皮酚质量分数为 2.12% ($n=6$)。

桂枝中桂皮醛的测定:桂枝中桂皮醛质量分数为 1.42% ($n=6$)。

2.2.2 试验设计:根据预试验结果,每次试验称取桂枝、牡丹皮各 30 g,提取 2 次,以乙醇体积分数(A)、溶剂用量(B)和提取时间(C)3 个因素的 3 个水平,采用 $L_3(3^4)$ 正交试验进行优化,因素水平见表 1,各次试验的测定结果见表 2,其中桂皮醛和丹皮酚的转移率以提取液中有效成分的质量与投料的药材中有效成分的质量相比而得,综合评分为桂皮醛转移率 $\times 50\%$ +丹皮酚转移率 $\times 50\%$ 。对试验结果的方差分析见表 3。

表 1 桂枝和牡丹皮醇提正交试验的因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of *Cassia Twig* and *Cortex Moutan*

水平	因素		
	A/%	B/倍	C/h
1	70	6	1.0
2	80	8	1.5
3	90	10	2.0

结果表明,A、B、C 因素对桂枝和牡丹皮提取效率影响的主次关系为 $A>C>B$,即乙醇体积分数对提取效率影响最大,其次为提取时间,再次为乙醇用量。且每个因素各水平的关系为 $A_3>A_2>A_1$, $B_3>$

表 2 桂枝和牡丹皮醇提正交试验结果

Table 2 Result of orthogonal test of *Cassia Twig* and *Cortex Moutan*

试验号	A	B	C	D(空白)	桂皮醛	丹皮酚	综合评分
1	1	1	1	1	64.37	63.26	65.68
2	1	2	2	2	73.83	72.90	75.52
3	1	3	3	3	77.99	77.68	80.12
4	2	1	2	3	77.30	75.82	78.81
5	2	2	3	1	84.53	82.26	85.84
6	2	3	1	2	75.63	73.83	76.92
7	3	1	3	2	97.32	96.99	100
8	3	2	1	3	87.87	82.95	87.91
9	3	3	2	1	93.01	89.55	93.95
K_1	221.32	244.49	230.51	245.47			
K_2	241.57	249.27	248.28	252.44			
K_3	281.86	250.99	265.96	246.84			
R	60.54	6.50	35.45	6.97			

表 3 牡丹皮、桂枝醇提的方差分析

Table 3 Analysis of variance for *Cassia Twig* and *Cortex Moutan*

方差来源	离差平方和	自由度	均方和	F 值	显著性
A	633.16	2	316.58	69.57	$P<0.05$
B	7.56	2	3.78	0.83	$P>0.05$
C	209.46	2	104.73	23.02	$P<0.05$
误差	9.09	2	4.55		

$$F_{0.05}(2,2)=19.0 \quad F_{0.01}(2,2)=99.0$$

$B_2>B_1$, $C_3>C_2>C_1$ 。方差分析结果表明,乙醇体积分数和提取时间对桂皮醛和丹皮酚的提取效率的影响差异有统计学意义($P<0.05$),而溶剂用量对统计无显著影响。故从节约成本的角度考虑最佳组合水平 $A_3B_1C_3$,即加 6 倍量 90%乙醇提取 2 次,每次 2 h。

2.3 茯苓、赤芍、桃仁提取工艺研究

2.3.1 苦杏仁苷、芍药苷的 HPLC 法测定^[3,4]

色谱条件:以乙腈-0.2%磷酸(15:85)为流动相,检测波长为 225 nm(苦杏仁苷 $\lambda_{\text{max}}=218\text{ nm}$;芍药苷 $\lambda_{\text{max}}=230\text{ nm}$)。

标准曲线的制备:取芍药苷、苦杏仁苷对照品适量,分别精密称定,加无水乙醇制成含 69.6 $\mu\text{g/mL}$ 苦杏仁苷、100.8 $\mu\text{g/mL}$ 芍药苷的溶液,作为对照品溶液。取适量,进样测定,结果芍药苷在 0.219~10.996 μg 与峰面积值具有良好的线性关系,回归方程为 $A=1\,731\,478.8\,C+665.9$, $r=0.999\,9$;苦杏仁苷在 1.01~10.1 μg 与峰面积值具有良好的线性关系,回归方程为 $Y=8\,398.68+12\,043.47\,X$,

$r=0.999\ 7$ 。

供试品溶液的制备:称取茯苓、桃仁、赤芍各 20 g,总计 60 g,按正交试验设计进行提取,提取 2 次,将 2 次提取所得的溶液合并,用水加至 1 000 mL,超过 1 000 mL 则回收溶剂至 1 000 mL,作为样品液。精密吸取样品液 5.0 mL,置 25 mL 量瓶中,加乙醇定容,再精密量取 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中,用乙醇定容,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

测定:将提取液浓缩一定体积,必要时用乙醇稀释定容,作为供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,测定,外标法计算有效成分的质量分数。

赤芍中芍药苷的测定:赤芍中芍药苷的质量分数为 2.61%($n=6$)。

桃仁中苦杏仁苷的测定:桃仁中苦杏仁苷的质量分数为 2.53%($n=6$)。

2.3.2 试验设计:根据预试验结果,每次试验称取茯苓、桃仁、赤芍各 20 g,总计 60 g,共 9 份,提取 2 次,并以桃仁投料方式(A)、加水量(B)、提取时间(C)为考察因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,因素水平见表 4,试验设计见表 5,其中苦杏仁苷、芍药苷的转移率以测得值与投料的药材中质量相比得出的,综合评分指标为芍药苷转移率 $\times 50\% +$ 苦杏仁苷转移率 $\times 50\%$ 。试验结果的方差分析见表 6。

表 4 茯苓、赤芍、桃仁正交试验因素水平

Table 4 Factors and levers of orthogonal test for *Poria*, *Radix Paeoniae Rubra*, and *Semen Persicae*

水平	因素		
	A/%	B/倍	C/h
1	冷浸 1 h 后投料	6	1.0
2	常规煎煮	8	1.5
3	桃仁捣碎沸下	10	2.0

结果表明,A、B、C 因素对桃仁、赤芍、茯苓提取率影响的主次关系为 $A>B>C$,即投料方式对提取效率影响最大,其次为加水倍数,再次为提取时间。且每个因素各水平的关系为 $A_3>A_2>A_1, B_2>B_3>B_1, C_3>C_2>C_1$ 。方差分析结果表明,投料方式对提取效率的影响差异有统计学意义($P<0.01$),而加水倍数和提取时间对统计结果无显著影响。故从节约成本的角度考虑最佳组合水平 $A_3B_1C_1$,即桃仁捣碎沸下,加 6 倍量水提取 2 次,每次 1 h。

2.4 验证试验:以优化所得工艺条件放大 10 倍进行 3 次验证试验,结果桂皮醛和丹皮酚的转移率分别为 $(92.43\pm 1.76)\%$ 、 $(91.73\pm 2.08)\%$,RSD 分

表 5 茯苓、赤芍、桃仁正交试验结果

Table 5 Result of orthogonal test for *Poria*, *Radix Paeoniae Rubra*, and *Semen Persicae*

试验号	A	B	C	D(空白)	转移率/% 芍药苷	转移率/% 苦杏仁苷	综合 评分
1	1	1	1	1	67.03	57.63	67
2	1	2	2	2	73.18	56.13	68.66
3	1	3	3	3	77.97	53.69	69.77
4	2	1	2	3	83.19	59.98	75.93
5	2	2	3	1	88.27	58.23	77.57
6	2	3	1	2	76.39	62.57	73.87
7	3	1	3	2	97.32	72.59	90.17
8	3	2	1	3	82.67	90.36	92.48
9	3	3	2	1	87.90	84.32	91.82
K_1	205.43	233.1	233.35	236.39			
K_2	227.37	238.71	236.41	232.70			
K_3	274.47	235.46	237.51	238.18			
R	69.04	5.61	4.16	5.48			

表 6 茯苓、赤芍、桃仁水提的方差分析

Table 6 Analysis of variance for *Poria*, *Radix Paeoniae Rubra*, and *Semen Persicae*

方差来源	离差平方和	自由度	均方和	F 值	显著性
A	829.59	2	414.80	192.93	$P<0.01$
B	5.29	2	2.65	1.23	
C	3.10	2	1.55	0.72	
误差	5.21	2	2.15		

$F_{0.05}(2,2)=19.0\ F_{0.01}(2,2)=99.0$

别为 1.91%和 2.27%,苦杏仁苷和芍药苷的转移率分别为 $(92.47\pm 2.07)\%$ 、 $(87.97\pm 1.46)\%$,RSD 分别为 2.24%和 1.66%。可见优化后指标成分转移均较为充分,表明优化工艺较为理想。

3 讨论

桂枝茯苓丸系传统名方,方中各药成分复杂,药效各异,在工艺设计前,根据方剂的功能、主治、通过文献资料分析每味药中有效成分与药理作用,根据有效成分或有效部位及其理化性质,选择适宜的溶剂和提取方法。方中 5 味药单纯水提,桂枝和牡丹皮中挥发性成分易流失;单纯醇提,则耗醇量大,出膏量相应增加,为挥发性成分的保留增加难度(对挥发性成分拟用(β -环糊精包裹处理)。根据方中各药有效成分的性质,采取不同的提取溶剂,5 味药中的 4 味有了量的控制,既能保证有效成分能够最大溶出,又能减少服用剂量。

根据中药“多靶点、多方位”的原则,为避免活性成分的损失,从中各选取二味药的特征成分的转移

率作为评价指标进行综合评分。在用乙醇提取桂枝和牡丹皮时,选择桂皮醛和丹皮酚的量作为控制指标,水提取另外3味药材时,选择芍药苷和苦杏仁苷作为控制指标。采用HPLC法同时可以检测出处方中成分的量。在数理统计时给每一个指标权重均为0.5,用权重影响该指标在方案得分中所占的分值。

若以桂皮醛或芍药苷等单一成分的量作为指标对提取工艺条件进行优选,得到的结果常常不一致,有时甚至是矛盾的。用多指标经综合平衡所得的工艺条件能根据实际需要并兼顾到各指标的理化性

质,是中药复方研究中应提倡的方法。这种方法,较控制处方中某味药材某种单一成分的量,更为科学合理。

参考文献:

- [1] 华剑,武超. HPLC法测定桂枝茯苓胶囊中肉桂酸、桂皮醛和丹皮酚的含量[J]. 安徽医药, 2006, 10(11): 30-31.
- [2] 刘彩霞,陈婧,朱晓薇,等. 不同形态桂枝饮片中桂皮醛和桂皮酸含量的考察[J]. 中药材, 2006, 29(10): 1031-1032.
- [3] 王友兰,李红兵,华玉琴. HPLC法测定桃仁中苦杏仁苷的含量[J]. 中国药师, 2002, 5(9): 555-556.
- [4] 萧伟,彭国平. HPLC法测定醒脑通络粉中苦杏仁苷与芍药苷的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(2): 102-103.

地榆药材及地榆升白胶囊中没食子酸的HPLC法测定

江帆¹, 安崇惠¹, 朱亭藩¹, 杨世林²

(1. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵州 贵阳 550008; 2. 中药固体制剂国家工程技术研究中心, 江西中医学院, 江西 南昌 330000)

摘要:目的 建立地榆药材及其制剂地榆升白胶囊中没食子酸的测定方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱条件: Hypersil ODS2 色谱柱, 流动相为甲醇-乙腈-0.05 mol/L 磷酸(5:6:89); 检测波长: 270 nm。结果 没食子酸在0.042 4~0.424 μ g 时线性关系良好, 回归方程为 $A=5\,403\,987.270\,6\,X-27\,334.978\,1$, $r=0.999\,8$, 药材及其制剂的平均回收率分别为98.64%(RSD为1.44%, $n=5$)和98.57%(RSD为1.56%, $n=5$)。结论 该法操作简便, 重现性好, 能有效控制质量, 可作为地榆药材内控标准和地榆升白胶囊的测定方法。

关键词: 地榆; 地榆升白胶囊; 没食子酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)09-1341-03

地榆升白胶囊为收载于《国家中成药标准汇编》口腔肿瘤儿科分册的地榆升白片的剂改品种, 具有升高白细胞的功效, 临床上用于白细胞减少症^[1,2]。本品为单方制剂, 方中药材地榆为《中国药典》2005年版一部收录品种, 其质量标准较为简单, 定量项下仅有鞣质的测定。地榆中除含有较多鞣质外, 还含有游离的没食子酸和鞣花酸等^[3]。为了更好控制产品质量, 提高定量测定方法的特异性, 本实验选用地榆药材中没食子酸为定量指标, 对样品前处理和色谱条件等^[4,5]进行了优化, 分别建立了地榆药材和地榆升白胶囊的测定方法, 进一步提高药材质量控制水平, 达到更有效控制制剂质量的目的。

1 仪器与试剂

Waters1525 高效液相色谱仪, 487 紫外检测器; 恒温柱箱; Breeze 工作站数据处理系统; 25 μ L 微量进样器(Hamilton 公司)。

没食子酸对照品(批号: 110831-200302, 中国药品生物制品检定所), 甲醇、乙腈为色谱纯试剂。地榆药材购于贵州省药材公司, 经贵阳中医学院生药系江维克副教授鉴定, 地榆升白胶囊由本公司提供。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备: 精密称取没食子酸对照品 10.6 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 制成 21.2 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.1.2 药材供试品溶液的制备: 取本品细粉约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 2.5 mL, 称定质量, 加热回流 1 h 后, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 0.45 μ m 滤膜滤过, 即得。

2.1.3 制剂供试品溶液的制备: 取地榆升白胶囊内

收稿日期: 2008-02-25

作者简介: 江帆(1963-), 女, 贵州都匀人, 副主任药师, 硕士, 1984年毕业于华西医科大学药学院, 2001年获中国药科大学硕士学位, 先后就职于贵州省药品检验所、珠海丽珠集团科研管理部, 现为贵州益佰药物研究所所长、贵阳医学院院外硕士生导师, 主要从事药物质量及新药开发研究。Tel: (0851) 4705590-8158 E-mail: dyjiangfan@126.com

正交试验优选桂枝茯苓丸处方药材的提取工艺

作者：[朱燕飞](#)，[楼英](#)，[钱建明](#)
作者单位：[诸暨市人民医院, 浙江, 诸暨, 311800](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (9)
被引用次数：1次

参考文献(4条)

1. [华剑](#); [武超](#) [HPLC法测定桂枝茯苓胶囊中肉桂酸、桂皮醛和丹皮酚的含量](#) [期刊论文] - [安徽医药](#) 2006 (11)
2. [刘彩霞](#); [陈婧](#); [朱晓薇](#) [不同形态桂枝饮片中桂皮醛和桂皮酸含量的考察](#) [期刊论文] - [中药材](#) 2006 (10)
3. [王友兰](#); [李红兵](#); [华玉琴](#) [HPLC法测定桃仁中苦杏仁苷的含量](#) [期刊论文] - [中国药师](#) 2002 (09)
4. [萧伟](#); [彭国平](#) [HPLC法测定醒脑通络粉针中苦杏仁苷与芍药苷的含量](#) [期刊论文] - [南京中医药大学学报](#) 2003 (02)

本文读者也读过(5条)

1. [王华](#), [艾桂云](#), [陈海清](#) [桂杏止咳颗粒提取工艺正交试验研究](#) [期刊论文] - [青岛医药卫生](#) 2008, 40 (3)
2. [王留兴](#) [牡丹皮乙醇提取工艺研究](#) [期刊论文] - [长春中医药大学学报](#) 2008, 24 (1)
3. [陈卫卫](#), [邓超澄](#), [冯看](#), [黄忆阳](#) [正交试验优选白虎汤的提取工艺](#) [期刊论文] - [中药材](#) 2007, 30 (5)
4. [张学兰](#), [徐萍](#) [均匀设计优选桂枝甘草汤的半仿生提取工艺条件](#) [期刊论文] - [中成药](#) 2006, 28 (8)
5. [郝柳妮](#), [吴纯洁](#), [Hao Liuni](#), [Wu Chunjie](#) [消疤软膏提取工艺研究](#) [期刊论文] - [亚太传统医药](#) 2009, 5 (8)

引证文献(1条)

1. [王霞](#), [靳风云](#), [马克勤](#) [正交试验优选紫虎烧伤膏的提取工艺](#) [期刊论文] - [中国医药导报](#) 2009 (34)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809020.aspx