

# 葛根芩连配方颗粒提取工艺研究

陈丽红<sup>1\*</sup>, 唐于平<sup>2</sup>, 王强<sup>3</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 南京中医药大学江苏省方剂研究  
重点实验室, 南京 210046; 3. 中国药科大学中药分析教研室, 南京 210009)

**[摘要]** 目的: 研究葛根芩连配方颗粒提取的优化工艺。方法: 分别以葛根、黄芩及黄连的有效成分葛根素、黄芩苷及盐酸小檗碱为指标, 用正交试验设计法对葛根芩连配方颗粒的提取工艺进行优化。结果: 葛根芩连配方颗粒的最佳工艺为: 葛根、黄芩和甘草 3 药合煎, 黄连单煎; 葛根、黄芩和甘草 3 药合煎的提取工艺为加水量第 1 煎 10 倍, 第 2 煎 8 倍; 提取 1.5 h; 提取 2 次。黄连单煎的提取工艺为加水量第 1 煎 12 倍, 第 2 煎 10 倍; 提取 1.5 h; 提取 2 次。结论: 葛根、黄芩和甘草 3 药合煎, 黄连单煎后各成分的提取率较高, 保证了葛根芩连配方颗粒的质量。

**[关键词]** 葛根芩连配方颗粒; 提取工艺; 优选

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0004-05

## Technics of Extraction of Gegen Qinlian Dispensing Granule

CHEN Li-hong<sup>1\*</sup>, TANG Yu-ping<sup>2</sup>, WANG Qiang<sup>3</sup>

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;  
2. Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing University  
of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 3. Department of Chinese Materia  
Medica Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the optimal technics of the extraction of Gegen Qinlian dispensing granule. **Method:** Taking puerarin, baicalin and berberine as the index, a method of orthogonal experimental design was applied to optimizing the technics of extraction. **Result:** The optimal extraction technology of Gegen Qinlian dispensing granule was to extract Radix Puerariae Lobatae, Radix Scutellariae, and Radix et Rhizoma Glycyrrhizae Praeparata cum Melle together and to extract Rhizoma Coptidis alone. Radix Puerariae Lobatae, Radix Scutellariae, and Radix et Rhizoma Glycyrrhizae Praeparata cum Melle were weighed in proportion, and were extracted for 1.5 h twice with 10 times and 8 times water, respectively. Rhizoma Coptidis was weighed and extracted for 1.5 h twice with 12 times and 10 times water, respectively. **Conclusion:** The extraction of the active components of puerarin, baicalin and berberine from Gegen Qinlian dispensing granule was satisfactory.

**[Key words]** Gegen Qinlian dispensing granule; technics of extraction; optimal

葛根芩连汤是经典古方之一, 来源于东汉末年张仲景所著《伤寒论》第 34 条: “太阳病, 桂枝证, 医

反下之, 利遂不止, 脉促者, 表未解也, 喘而汗出, 葛根黄芩黄连汤主之”<sup>[1]</sup>。葛根芩连汤的组成为: 葛根半斤, 甘草二两(炙), 黄芩三两, 黄连三两。上四味, 以水八升, 先煮葛根, 减二升, 内诸药, 煮取二升, 去滓, 分温再服<sup>[1-2]</sup>。

随着社会的发展和人们生活节奏地加快, 人们对服用剂量小、储存和携带方便的“中药配方颗粒剂”的需求将迅速发展。本试验以葛根芩连汤为对象, 采

**[收稿日期]** 20100601(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30901995)

**[通讯作者]** \* 陈丽红, 博士, 讲师, 主要从事中药及复方效应物质基础及质量评价方面的研究, Tel: 025-85811074; E-mail: clh\_helen@163.com

用现代科技手段开发成为“中药配方颗粒剂”，从提取工艺进行研究，探索中药配方颗粒剂现代化的研究方法。

### 1 材料

**1.1 药材** 葛根、黄芩、黄连和炙甘草由江苏省江阴天江药业有限公司提供，符合《中国药典》(2010 年版)一部有关规定。

**1.2 仪器和试剂** Agilent 1100 高效液相色谱仪(G1315B 紫外-可见光二极管阵列检测器)(美国安捷伦公司); Delta320-S pH 计(METTLER TOLEDO)。

葛根素、黄芩苷和小檗碱对照品由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 其余试剂均为分析纯。

### 1.3 样品制备

**1.3.1 混合对照品溶液的配制** 精密称取葛根素、黄芩苷和小檗碱对照品适量, 用甲醇定容至 100 mL, 得到含葛根素、黄芩苷和小檗碱的混合对照品储备液, 冰箱中避光保存; 临用前用甲醇将混合对照

品储备液逐级稀释得 6 个浓度水平的混合对照品工作溶液, 供作标准曲线。

**1.3.2 供试液制备** 称取约 0.24 g 葛根芩连配方颗粒, 精密称定。置于 50 mL 量瓶中, 加适量甲醇, 超声 30 min, 共 2 次。放冷至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀。精密吸取 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加水至刻度。摇匀后经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 进样分析, 记录结果并计算。

### 2 方法与结果

**2.1 葛根芩连配方颗粒含量分析条件** Phenomenex Lura 反相  $\text{C}_{18}$  色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$  i. d.); 流动相 A 相为水(含 1% 三乙胺、1% 乙酸, 用磷酸调 pH 至 3), B 相为甲醇, 流速 1.0 mL/min; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 20  $\mu\text{L}$ ; 检测波长 250 nm, 346 nm, 280 nm<sup>[3]</sup>。线性梯度洗脱时间程序: 开始 14 min 内 B 相 27%, 在 15 ~ 40 min 内变为 32.6%, 41 ~ 51 min 内变为 41%, 52 min 后变为 65%, 保持 10 min<sup>[4]</sup>。见图 1 ~ 3。

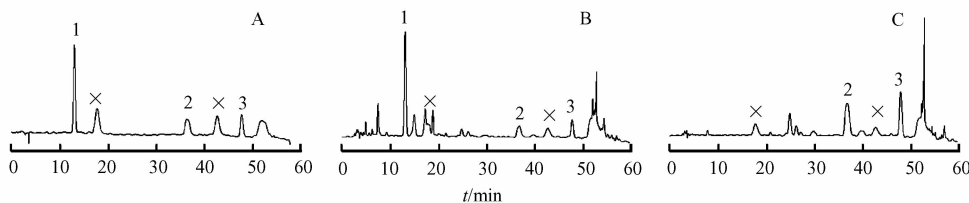


图 1 混合对照品、葛根芩连配方颗粒与阴性样品的 HPLC(250 nm)

A. 葛根素、黄芩苷和小檗碱混合对照品; B. 葛根芩连配方颗粒; C. 缺葛根药材;  
x. 溶剂峰。1. 葛根素; 2. 小檗碱; 3. 黄芩苷(图 2-3 同)

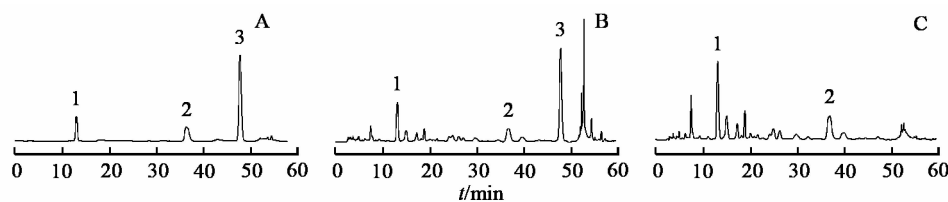


图 2 混合对照品、葛根芩连配方颗粒与阴性样品的 HPLC(280 nm)

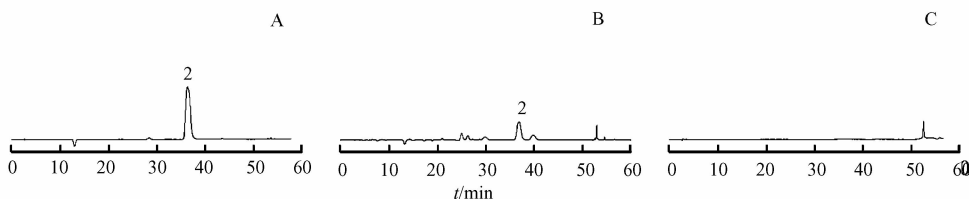


图 3 混合对照品、葛根芩连配方颗粒与阴性样品的 HPLC(346 nm)

**2.2 全方合煎提取工艺条件优选** 因原经典方葛根芩连汤临床使用一直为合煎汤剂, 故首先考虑采用全方合煎工艺, 即在提取时黄连、葛根、黄芩、炙甘

草合煎。

工艺条件为 9 倍量水, 煎煮保持微沸 1.5 h, 煎煮 2 次。煎煮了 3 批, 以葛根素、黄芩苷、小檗碱转

移率作为考察指标。结果见表 1。

表 1 葛根芩连配方颗粒合煎工艺小试验证

试验批次	提取转移率/%		
	葛根素	黄芩苷	小檗碱
1	73.0	87.9	56.6
2	72.5	87.9	55.2
3	74.1	87.9	55.0
平均	73.2	87.9	55.6

由表 1 可知,按全方合煎工艺小试后,小檗碱的提取转移率偏低,仅为 55.6%。为保证产品质量,经慎重考虑决定采用葛根、黄芩、甘草 3 药合煎,黄连分煎的工艺。

### 2.3 葛根、黄芩和甘草 3 药合煎的提取工艺优选

根据处方药物所含化学成分的性质的,为尽量保证有

效组分的提出,确保制剂与处方功能主治一致,发挥临床疗效,选择加水量,提取时间(h),提取次数 3 个因素。以干浸膏得率及葛根素、黄芩苷含量作为考察指标进行  $L_9(3^4)$  3 因素 3 水平正交试验研究<sup>[5-6]</sup>,见表 2。

表 2 3 药合煎工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取次数/次	C 提取时间/h
1	6	1	0.5
2	8	2	1.0
3	10	3	1.5

根据因素水平表 2,我们确定了葛根、黄芩和甘草 3 药合煎工艺试验计划表并进行了正交试验,结果见表 3。

表 3 3 药合煎正交试验表及计算

No	A	B	C	D	葛根素	黄芩苷	合计	干膏得率
1	1	1	1	1	1.97	3.96	5.93	13.5
2	1	2	2	2	2.35	5.01	7.36	23.5
3	1	3	3	3	2.87	6.41	9.28	28.1
4	2	1	2	3	2.99	5.83	8.82	17.3
5	2	2	3	1	3.88	5.56	9.44	27.2
6	2	3	1	2	2.86	7.00	9.86	25.5
7	3	1	3	2	3.36	6.89	10.25	21.8
8	3	2	1	3	2.68	6.33	9.01	24.4
9	3	3	2	1	3.79	7.00	10.79	30.8
葛根素	$K_1$	22.57	25.00	24.80	26.16			
+	$K_2$	28.12	25.81	26.97	27.47			
黄芩苷	$K_3$	30.05	29.93	28.97	27.11			
	R	2.49	1.64	1.39	0.44			
干膏	$k_1$	70.1	58.6	67.4	74.5			
得率	$k_2$	71	75.1	74.6	71.8			
	$k_3$	77	84.4	76.1	71.8			
	R	2.3	8.6	2.9	0.9			

由有效成分方差分析可知,加水量,煎煮时间和煎煮次数 3 个因素对有效成分的煎出均有显著性影响,各因素影响的大小: $A > B > C$ 。故确定最佳工艺应为  $A_3B_3C_3$ ,即加水量第 1 煎 10 倍,第 2,3 煎各 8 倍;提取 1.5 h;提取 3 次。

根据《中药配方颗粒质量标准规范化研究实施方案与要求》中规定,用水提取,提取次数为 2 次;且由于干膏得率方差分析可知,煎煮次数对干膏得率有极显著性影响,故增加提取次数会显著提高干膏得率,增加服药剂量。因此我们在验证最佳工艺 3 批

时,同时考察了提取 2 次和 2 次的差异。见表 4。

表 4 3 药合煎最佳工艺验证及提取次数比较

成分	2 煎含量	2 次提取率	3 煎含量	3 次提取率
葛根素	3.34	77.1	3.78	87.3
黄芩苷	6.72	74.3	7.85	86.8

由表 4 试验结果可以看出,提取 3 次葛根素和黄芩苷的提取率分别达 87.3% 和 86.8%,结果较理想,但考虑到葛根素和黄芩苷的 2 次提取率分别为 77.1% 和 74.3%,均已达到 74% 以上。结合生产实

际,并根据实施方案,最后优选的工艺为加水量第 1 煎 10 倍,第 2 煎 8 倍;提取 1.5 h;提取 2 次。

**2.4 葛根、黄芩和炙甘草 3 药合煎工艺中试研究**  
在江阴天江药业有限公司进行 3 批中试研究。投料量 52 kg(葛根 32 kg,黄芩 12 kg,炙甘草 8 kg)。3 批葛根、黄芩和炙甘草 3 药合煎样品照 1.3.2 方法制备样品,照 2.1 法进行色谱分析,记录并计算,结果见表 5。

表 5 3 药合煎 3 批中试结果与转移率 %

批次	葛根素	黄芩苷	葛根素转移率	黄芩苷转移率
1	3.18	6.74	65.2	67.9
2	3.02	7.02	64.4	73.5
3	3.06	6.52	65.8	68.2

结论:3 药合煎工艺中试葛根素和黄芩苷的总转移率均大于 64%。

## 2.5 黄连单煎提取条件优选研究

**2.5.1 黄连饮片与原药材的小檗碱转移率研究**  
分别称取黄连饮片与原药材适量,用相同条件进行煎煮,过滤,并测定滤液中有效成分小檗碱的含量,计算其转移率。结果用黄连原药材投料,提取 2 次后小檗碱的转移率仅为 46.4%,而如果以黄连饮片投料,提取 2 次后小檗碱的转移率达到 74.2%,表明黄连饮片投料有助于小檗碱成分的溶出,因此黄连药材应该以饮片投料。

**2.5.2 提取工艺参数优选** 根据处方药物所含化学成分的性质,为尽量保证有效组分的提出,确保制剂与处方功能主治一致,发挥临床疗效,选择加水量,提取时间(h),提取次数 3 个因素。以干浸膏得率及小檗碱含量作为考察指标进行  $L_9(3^4)$  3 因素 3 水平正交试验研究,因素水平表见表 6,试验安排及结果见表 7。

表 6 黄连提取工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C
	加水量/倍	提取次数/次	提取时间/h
1	6	1	0.5
2	8	2	1.0
3	10	3	1.5

注:第 1 煎多加 2 倍量水。

由有效成分方差分析可知,加水量,煎煮时间和煎煮次数 3 个因素对有效成分的煎出均有显著性影响,各因素影响的大小: $A > C > B$ 。故确定最佳工艺应为  $A_3 B_3 C_3$ ,即加水量第 1 煎 12 倍,第 2,3 煎各 10

表 7 黄连单煎正交试验表及计算 %

No	A	B	C	D	小檗碱	干膏得率
1	1	1	1	1	5.75	21.0
2	1	2	2	2	6.37	27.4
3	1	3	3	3	7.67	32.5
4	2	1	2	3	7.35	24.7
5	2	2	3	1	8.72	29.1
6	2	3	1	2	7.83	30.3
7	3	1	3	2	8.61	24.3
8	3	2	1	3	7.84	28.3
9	3	3	2	1	9.13	31.5
小	$K_1$	19.79	21.71	21.42	23.6	
檗	$K_2$	23.9	22.93	22.85	22.81	
碱	$K_3$	25.58	24.63	25	22.86	
	R	1.930	0.973	1.193	0.263	
干	$k_1$	80.9	70	79.6	81.6	
膏	$k_2$	84.1	84.8	83.6	82	
得	$k_3$	84.1	94.3	85.9	85.5	
率	R	1.067	8.100	2.100	1.300	

倍;提取 1.5 h;提取 3 次。

根据《中药配方颗粒质量标准规范化研究实施方案与要求》中规定,用水提取,提取次数为 2 次;且由于干膏得率方差分析可知,煎煮次数对干膏得率有显著性影响,故增加提取次数会显著提高干膏得率,增加服药剂量。因此我们在验证 3 批最佳工艺时,亦同时考察了提取 2 次和 3 次的差异。结果小檗碱的 2 次提取率达到 74.2%,与 3 次提取率 79.2% 相比相差不大。结合生产实际,并根据实施方案,最后优选的工艺为加水量第 1 煎 12 倍,第 2 煎 10 倍;提取 1.5 h;提取 2 次。

**2.6 黄连单煎工艺中试研究** 在江阴天江药业有限公司进行了 3 批工艺中试,工艺中试的投料量均为 49 kg,得到 3 批黄连浸膏粉。

称取浸膏粉约 0.1 g,精密称定。置于 100 mL 量瓶中,加适量甲醇,超声处理 30 min,放冷至室温,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,过微孔滤膜,进样分析,记录并计算结果与样品转移率,结果 3 批黄连浸膏粉中小檗碱的质量分数分别为 17.11%, 17.12%, 17.06%, 转移率均在 72% 以上。

**2.7 浸膏粉混匀、灌装** 将相应比例的黄连中间体浸膏粉与葛根、黄芩及炙甘草 3 药合煎的浸膏粉混合均匀,得全方干燥粉,灌装得成品。

**2.8 葛根芩连汤配方颗粒剂中试样品含量测定及转移率计算** 3 批葛根芩连汤配方颗粒样品照 **1.3.2** 方法制备样品,照 **1.4** 法进行色谱分析,记录并计算,结果见表 8。

表 8 葛根芩连汤配方颗粒 3 批中试样品含量测定及转移率结果 %

批号	葛根素	黄芩苷	小檗碱	转移率		
				葛根素	黄芩苷	小檗碱
0506006	2.78	5.78	2.29	65.8	67.2	72.9
0506007	2.72	5.58	2.25	66.7	67.1	74.2
0506008	2.68	5.55	2.25	65.6	66.7	74.1

结论:葛根芩连汤配方颗粒 3 批工艺中试样品的葛根素、黄芩苷和小檗碱平均转移率均大于 65%。

### 3 讨论

由于处方中药味较多,本文中选取葛根、黄芩和黄连的主要指标性成分葛根素、黄芩苷和盐酸小檗碱的含量及干膏得率为评价指标对葛根芩连汤配方颗粒的提取工艺进行优选。根据成分极性不同,用梯度洗脱同时测定了葛根素、黄芩苷和盐酸小檗碱的含量。从试验结果可以看出,葛根芩连汤配方颗粒 4 味药材合煎会降低黄连指标性成分盐酸小檗碱的含量,其主要原因是盐酸小檗碱能与黄芩苷等成分形成沉淀,因此本研究采用葛根、黄芩和甘草 3 药合煎,黄连单煎的工艺。另外黄连原药材直接提取不

利于盐酸小檗碱的溶出,因此选用黄连饮片。最后根据工艺小试及中试试验结果确定葛根、黄芩和甘草 3 药合煎的最佳提取工艺为加水量第 1 煎 10 倍,第 2 煎 8 倍;提取 1.5 h;提取 2 次;黄连单煎的最佳提取工艺为加水量第 1 煎 12 倍,第 2 煎 10 倍;提取 1.5 h;提取 2 次。

### [参考文献]

[1] 熊曼琪. 伤寒论[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:1.

[2] 黄泰康,施诚. 中药方剂现代研究大典[M]. 北京:科学技术出版社,1996:1.

[3] 陈丽红,王强. 葛根芩连汤不同配伍对黄芩苷、小檗碱含量的影响[J]. 西北药学杂志,2005,20(4):147.

[4] 陈丽红,王强,刘济宁,等. 葛根芩连汤配方颗粒主要标志成分含量分析及指纹图谱研究[J]. 分析化学,2006,6(8):1109.

[5] 李奉勤,韩月芝,范文成,等. 正交试验研究仙方活命胶囊的最佳生产工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(2):18.

[6] 刘俊亭,申庆亮. 正交设计法研究益肾强骨胶囊的最佳生产工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(1):8.

[责任编辑 全燕]

(上接第 3 页)

溶性太强也难以透过亲水性的活性表皮和真皮层。本试验中采用小鼠耳壳炎症模型证明了马钱子碱在 pH 9 时的抗炎效果明显好于 pH 5,从而说明提高马钱子碱溶液的 pH 至 9,油水分配系数大大提高,透皮吸收效果没有降低。从试验结果值得考虑的是与体外透皮试验提高程度相比,抗炎效果并未显现出相应程度的提高,这有可能是体外透皮试验只能估计其体内吸收性<sup>[7]</sup>,与动物在体经皮吸收情况还是有一定差距。

本试验提示在设计马钱子碱经皮制剂时,提高马钱子碱的 pH 值,使成为游离状态,有可能提高马钱子碱的透皮吸收,从而更好的发挥药效。需要注意的是,正常人皮肤所能承受的 pH 为 5~9,将马钱子碱经皮制剂的 pH 提高到 9,还处于皮肤的耐受范围之内,是否存在对皮肤的刺激性还需要进一步考察。

### [参考文献]

[1] 简江波,袁媛,杨柏灿,等. 皮肤外用纳米马钱子碱脂质体的镇痛抗炎作用[J]. 中成药,2006,28(12):1778.

[2] 邓旭坤,蔡宝昌,殷武,等. 马钱子碱对小鼠肿瘤的抑制作用[J]. 中国天然药物,2005,11(3):392.

[3] 吴贤仁,陈运立,陈协辉. 大剂量马钱子中毒致呼吸心跳骤停 1 例[J]. 汕头大学医学院学报,1999,12(1):37.

[4] 胡巍,陈军,蔡宝昌. 马钱子碱与土的宁体外经皮渗透性质的考察[J]. 中国新药杂志,2008,17(12):1053.

[5] 曲香芝,庄桂兰,金正男,等. 朝鲜槐树皮的抗炎作用[J]. 延边医学院学报,1996,19(2):18.

[6] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:67.

[7] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:473.

[责任编辑 全燕]