

• 药剂 •

不同精制方法对抗感颗粒剂中芍药甙含量的影响

臧琛, 聂其霞, 赵小妹, 张保献, 王元瑜, 马振山, 冯青然

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 分别用醇沉法、大孔树脂吸附法和超滤法对抗感颗粒剂中生药的水煎液进行了精制, 并以芍药甙的含量为指标, 对3种精制方法进行了比较研究。结果表明, 以醇沉法所得浸膏中芍药甙含量最高。

关键词: 抗感颗粒剂; 醇沉法; 超滤法; 大孔树脂吸附法; 芍药甙

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)02-0001-03

Influence of Refine Methods on the Content of Paeoniflorin in Kanggan Granule

ZANG Chen, NIE Qi-xia, ZHAO Xiao-mei, ZHANG Bao-xian, WANG Yuan-yu

MA Zhan-shan, FENG Qing-ran

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700)

Abstract: The water-extracted liquid of medicinal herbs in Kanggan granule was treated with alcohol, macroporous resin and ultrafilter to refine. The content of paeoniflorin in the method of using alcohol as clarification was highest by determination to it in above three refined extracts.

Key words: Kanggan granule; Alcohol sedimentation; Ultrafiltration; Macroporous resin; Paeoniflorin;

中药常以水为溶媒煎煮提取, 其水煎液往往存在着浸出杂质较多, 体积较大等弱点, 给制剂带来困难, 通常需要进一步精制。醇沉法是中药水提取液常用的精制方法, 但其对化学成分影响较大^[1], 近年来用大孔树脂吸附法或超滤法等方法取代醇沉法的研究较多^[2,3]。为比较各种精制方法的优劣, 本文选用醇沉法、超滤法和大孔树脂吸附法对抗感颗粒剂的水煎液进行了精制, 并以精制后芍药甙的含量为指标, 对3种精制方法进行了比较研究, 拟优选出一种较好的水煎液精制方法。

1 药品、试剂和仪器

赤芍、金银花、绵马贯众: 购于北京市药材公司。芍药甙对照品: 购于中国药品生物制品检定所, 批号 0736-9306。甲醇(GR., 北京化工厂); 冰醋酸(AR., 北京化工厂); 双蒸

水: 自制。中空纤维超滤器(分子截留量: 2万、5万): 北京潞美分离应用技术研究; D100×3 大孔吸附树脂: 安徽省固镇县精细化工厂; K80 冷冻离心机; Z81-2 型真空干燥箱: 北京通县试验设备厂。高效液相色谱仪: Waters 510 泵, LC 紫外分光检测器, 757 积分记录仪。

2 提取和精制

2.1 提取工艺 取赤芍 2100g, 金银花 2100g, 绵马贯众 700g, 按药典所载方法^[4]加水煎煮 2 次, 每次 1.5h, 合并煎液, 滤过, 浓缩至 1g 生药/ml, 离心(2500rpm, 20min), 上清液留用。

2.2 精制工艺 为全面反映各精制方法对结果的影响, 采用了每种精制方法各选 2~3 个不同精制水平, 每一水平做 3 份平行试验的样品。具体工艺操作如下: ①醇沉法: 取上

清液 450ml, 均分为 9 份, 每份 50ml 相当于 50g 生药, 加乙醇至含醇量分别为 50、60、70%, 每一浓度平行各做 3 份。冷藏过夜, 抽滤, 滤液浓缩并真空干燥成干浸膏, 粉碎后备用。②超滤法: 取上清液 1200ml, 均分 6 份, 每份 200g 生药, 加入等量蒸馏水稀释后冷藏过夜, 离心(2500rpm, 20min) 后再高速离心(30000rpm), 分别超滤。超滤膜分子截留量分别为 2.5 万, 每个水平平行各做 3 份, 超滤液浓缩并真空干燥成干浸膏, 粉碎后备用。③大孔树脂吸附法: 取上清液 900ml, 均分为 9 份, 每份 100ml 相当于 100g 生药, 分别离心(2500rpm, 20min) 后倾出上清液, 加适量蒸馏水返溶沉淀部分, 离心, 合并两次离心液, 加入适量蒸馏水, 混匀后上树脂柱(生药量: 树脂量= 2: 1)。待药液流完后, 加入 1 倍生药量蒸馏水冲柱, 待蒸馏水走净, 用 4 倍生药量的不同浓度乙醇洗脱。乙醇浓度分别为 50、60、70%, 每一浓度平行做 3 份。洗脱液回收乙醇, 浓缩并真空干燥成干浸膏, 粉碎后备用。

3 芍药甙含量的测定

3.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex maxsil 5 μ C₁₈柱(250mm \times 4.6mm)。流动相: 甲醇-水-冰醋酸(25: 75: 0.5); 流速: 1.0ml/min; 灵敏度: 0.05AUFs。

3.2 工作曲线的制备 精确称取芍药甙对照品 5.0mg, 加适量甲醇溶解并定容至 50ml, 得到 100 μ g/ml 对照品溶液。用甲醇依次稀释得到 80、60、40、20、10 μ g/ml 对照品溶液。在上述色谱条件下, 分别进样, 进样量 10 μ l, 每一浓度重复 3 次, 测定峰面积。以芍药甙 μ g 数对峰面积进行回归处理, 结果表明, 芍药甙进样量在 0.10~ 1.00 μ g 范围内, 与峰面积呈线性相关。线性方程为 $Y = -81283 + 5829451x$, $r = 0.9999$ ($n = 7$)。

3.3 精密度试验 取 40 μ g/ml 对照品溶液连续进样 5 针, 进样量 10 μ l, 测量峰面积, 经计算 $RSD = 1.20\%$ 。

3.4 样品测定 取上述精制所得干浸膏约 0.5g, 精密称定, 加甲醇回流 3 次, 每次加甲醇 30ml, 回流 2h。合并提取液, 用甲醇定容至 100ml。取 2ml 用微孔滤膜(0.2 μ m) 过滤后供进样用, 进样量 10 μ l, 以外标两点法测定芍药甙含量。

3.5 加样回收率试验 取 6 份浸膏, 每份约 0.5g, 精密称定。其中 3 份各加入 5mg 的芍药甙对照品, 按样品测定项下方法测定, 测得平均加样回收率 $101.53 \pm 1.00\%$ ($n = 3$)。

4 结果与分析

4.1 试验结果见表 1。

表 1 抗感颗粒剂水煎液不同精制方法对出膏率及对芍药甙含量的影响

精制方法	出膏率(%)			芍药甙(mg/g 生药)			
	1	2	3	1	2	3	
醇沉	50%	17.80	17.80	18.00	6.21	6.31	6.38
	60%	18.80	18.40	18.20	7.14	6.86	6.70
	70%	17.40	17.00	16.80	7.06	7.10	7.15
大孔树脂	50%	4.13	4.03	3.99	6.23	6.00	5.85
	60%	4.12	4.16	4.10	6.30	6.43	6.43
	70%	4.00	3.99	4.00	6.16	6.10	6.11
超滤	2 万	16.25	15.75	16.75	5.26	4.91	5.40
	5 万	16.00	16.00	17.00	5.24	5.11	5.50

4.2 方差分析 为确定 3 种精制方法所得浸膏中芍药甙含量是否存在差异, 对测定结果进行了单因素方差分析, 结果见表 2。不同精制方法所得浸膏中芍药甙含量有极显著的差异。为进一步确定各精制方法之间是否存在差异, 又作了两两间多重比较(S 法), 结果见表 3。结果表明, 各精制方法间存在着显著差异。对于芍药甙含量, 以醇沉法最高, 大孔树脂法次之, 超滤法最差。

表 2 芍药甙含量单因素方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F	P
组间	8.466	2	4.233	52.91	**
组内	1.681	21	0.080		

* $F_{1-0.05}(2, 21) = 3.47$ ** $F_{1-0.01}(2, 21) = 5.78$

表3 多重比较表($\alpha=0.05$)

精制方法	d 值	$t_{1-0.05}$	$t_{1-0.01}$	显著性
醇沉-大孔树脂	0.582	0.351	0.455	**
醇沉-超滤	1.534	0.392	0.508	**
大孔树脂-超滤	0.943	0.392	0.508	**

* : $d > t_{1-0.05}$ ** : $d > t_{1-0.01}$

5 讨论

含量测定和方差分析的结果表明,醇沉法对某些成分的提出率较高,和其它精制方法相比,有一定的优越性,不可盲目抛弃。

大孔树脂吸附法所得浸膏中芍药甙的含量亦比较高,且其出膏率明显低于醇沉法,符合除杂精制的要求,也有应用价值。可根据生产实际的需要,选择合适的精制方法。

参考文献:

- [1] 韩桂茹,徐韧柳,冯丽,等.水提醇沉对中药各类有效成分的影响[J].中国中药杂志,1993,18(5):286
- [2] 全山丛,钱峻,王金正,等.超滤法和水醇法制备补骨脂注射液的试验比较研究[J].中成药,1990,12(1):3
- [3] 中国医学科学院药物研究所植化室.大孔吸附树脂在中草药化学成分提取分离中的一些应用[J].中草药,1980,11(3):138
- [4] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].广州:广东科技出版社,1995.501

(收稿日期:1999-05-07)