

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2025)17-0071-04

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.17.013



冠心通川芎止痛颗粒提取工艺优化*

易爱玲¹, 李慧贤², 周从辉^{3△}, 杨希⁴

(1. 江汉大学附属黄陂区人民医院, 湖北 武汉 430300; 2. 湖北科技学院药学院, 湖北 咸宁 437100; 3. 湖北省中医院·湖北中医药大学附属医院, 湖北 武汉 430061; 4. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430300)

摘要:目的 优化冠心通川芎止痛颗粒的提取工艺。方法 以煎煮时间、煎煮次数、加水量、浸泡时间为考察因素,以阿魏酸、丹酚酸B的含量和干膏率为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法筛选最佳提取工艺,并进行验证试验。结果 冠心通川芎止痛颗粒最佳提取工艺为加14倍量水(第1次加16倍量水),浸泡1.0 h,煎煮2次,每次2.0 h。验证试验中,阿魏酸平均含量为332.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$,丹酚酸B平均含量为2 459.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$,平均干膏率为39.33%。结论 该工艺提取率高,稳定性好,操作简单,干膏率较高,质量可控。

关键词:冠心通川芎止痛颗粒; $L_9(3^4)$ 正交试验法;工艺优选

Optimization of Extraction Process of Guanxintong Chuanxiong Zhitong Granules

YI Ailing¹, LI Huixian², ZHOU Conghui³, YANG Xi⁴

(1. Huangpi District People's Hospital Affiliated to Jiangnan University, Wuhan, Hubei, China 430300; 2. School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei, China 437100; 3. Hubei Hospital of Traditional Chinese Medicine · Affiliated Hospital of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, China 430061; 4. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, China 430300)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of Guanxintong Chuanxiong Zhitong Granules. **Methods** The optimal extraction process was screened and validated by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with decoction time, decoction times, amount of water addition, and soaking time as the evaluation factors, and with the content of ferulic acid, salvianolic acid B, and dry paste yield as the evaluation indicators. **Results** The optimal extraction process of Guanxintong Chuanxiong Zhitong Granules was as follows: adding 14 times water (16 times water for the first time), soaking for 1.0 h, and decocting twice with 2.0 h for each time. In the validation test, the average content of ferulic acid was 332.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the average content of salvianolic acid B was 2 459.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the average dry paste rate was 39.33%. **Conclusion** The process has a high extraction rate, good stability, and simple operation. The yield of the extract is high and the quality is controllable.

Key words: Guanxintong Chuanxiong Zhitong Granules; $L_9(3^4)$ orthogonal test; process optimization

冠心通川芎止痛汤剂由川芎、黄芪、西洋参、丹参、当归、红花、醋延胡索、三七、薤白、桂枝、瓜蒌、葛根、葶苈子等组方,为江汉大学附属黄陂区人民医院中医科临床应用30余年的有效经验方,但未制订院内质量控制标准,为保障临床安全用药,将其开发成院内制剂冠心通川芎止痛颗粒。方中,川芎为君药^[1-6],丹参为臣药^[7],为冠心通川芎止痛颗粒主要药效成分,其有效成分为阿魏酸、丹酚酸B。干膏率是中药提取工艺中衡量有效成分富集程度的核心指标,指中药浸膏干燥后除去水分等挥发性成分的固体质量与原始药材总质量的比值。故本研究中以阿魏酸、丹酚酸B的含量和干膏率为评价指标,采用高效液相色谱(HPLC)法测定阿魏酸、丹酚酸B的含量,采用正交试验法优选提取工艺^[8],确定冠心通川芎止痛颗粒的工艺参数,以保障其使用的安全性和有效性。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-16型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司); KQ-500VDV型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为500 W,频率为45/80 kHz); JA2003型电子天平(上海越平科学仪器有限公司,精度为1 mg); MS105DU型半微量天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司,精度为0.1 mg); HWS-26型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); Purelab Flex 3型超纯水仪(法国ELGA公司); DHG-905385-Ⅲ型电热恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

1.2 试药

组方中药饮片(表1)均购自华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部中药房;阿魏酸对照品(批号

*基金项目:湖北省武汉市卫生和计划生育委员会医学科研项目[WZ17Z15]。

第一作者:易爱玲,女,硕士研究生,主任药师,研究方向为医院药学、药物制剂学和中药药理学,(电子信箱)1052543089@qq.com。

△通信作者:周从辉,男,硕士研究生,主任药师,研究方向为中药及复方制剂,(电子信箱)jovea@126.com。

为 110773 - 201915, 含量为 99.4%), 丹酚酸 B 对照品 (批号为 111562 - 201917, 含量为 96.6%), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇 (批号为 S62104ME02H), 乙腈 (批号为 S62105AC01H), 均购自德国 Merck 公司; 醋酸 (批号为 20131016), 磷酸 (批号为 T20111118), 均购自国药集团化学药剂有限公司; 水为超纯水 (自制)。

表 1 组方中药饮片信息

Tab. 1 Information on Chinese medicine decoction piece in the formula

中药饮片	批号	生产厂家
川芎	210601	湖北时安饮片药业有限公司
黄芪	221201	湖北辰美中药有限公司
西洋参	220201	江西百仁中药饮片有限公司
丹参	210801	湖北时安饮片药业有限公司
当归	220801	湖北辰美中药有限公司
红花	211101	湖北辰美中药有限公司
延胡索	220701	安徽人民中药饮片有限公司
薤白	220801	安徽人民中药饮片有限公司
瓜蒌皮	221101	安徽人民中药饮片有限公司
桂枝	211101	江西百仁中药饮片有限公司
葛根	211101	江西百仁中药饮片有限公司
川楝子	2021050048	安徽盛堂中药饮片有限公司

2 方法与结果

2.1 供试品提取液制备

按处方量称取干药材 1 份, 称定质量, 加 10 倍量水浸没药材, 浸泡至透心, 每 30 min 观察 1 次, 滤除浸提液, 并补至初始水量, 读取浸提液体积。称定湿药材质量, 结果吸水率为 154.1%, 故在第 1 次煎煮时应多加 2 倍量水, 以补足药材吸水量。按处方量称取药材 9 份, 浸泡、提取、浓缩、过滤, 冷却后转移至 100 mL 容量瓶中, 定容, 即得供试品提取液。

2.2 阿魏酸与丹酚酸 B 含量测定

2.2.1 色谱条件^[9-10]

色谱柱: Welch Ultimate XB - C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 阿魏酸流动相: 甲醇 (A) - 0.5% 醋酸 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 10 min 时 32%A, 10 ~ 11 min 时 32%A → 28%A, 11 ~ 20 min 时 28%A, 20 ~ 21 min 时 28%A → 38%A, 21 ~ 40 min 时 38%A, 40 ~ 41 min 时 28%A → 32%A, 41 ~ 55 min 时 32%A); 丹酚酸 B 流动相: 乙腈 - 0.1% 磷酸溶液 (20:80, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 321 nm; 柱温: 20 °C; 进样量: 10 μL。

2.2.2 溶液制备

对照品溶液: 取阿魏酸对照品 10.10 mg 和丹酚酸 B 对照品 10.46 mg, 精密称定, 分别置 50 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇定容, 密塞, 超声处理 30 min, 分别制成质量浓度为 200.79 μg/mL 的阿魏酸对照品贮备液和 202.09 μg/mL 的丹酚酸 B 对照品贮备液; 各精密量取

1 mL 和 5 mL, 再分别以 80% 甲醇定容至 10 mL 容量瓶中, 制得质量浓度为 20.08 μg/mL 的阿魏酸对照品溶液和 101.04 μg/mL 的丹酚酸 B 对照品溶液。

供试品溶液: 精密量取 2.1 项下供试品提取液 3 mL, 分别置 50, 25 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇定容, 密塞, 超声处理 30 min, 冷却, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液 1 和供试品溶液 2。

阴性对照品溶液: 分别按处方比例称取不含川芎、丹参的处方药材, 按 2.1 项下方法分别制备缺川芎、丹参的阴性提取液, 再按供试品溶液制备方法分别制备缺川芎、丹参的阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 取 2.2.2 项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10 μL, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现, 且阴性对照无干扰, 表明方法专属性良好。详见图 1。

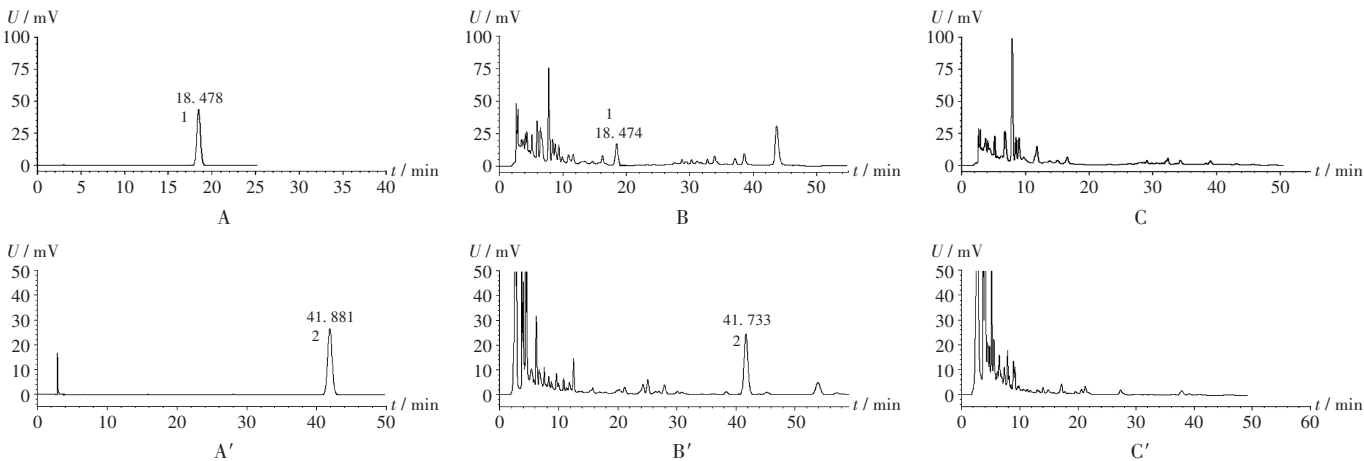
线性关系考察^[11-12]: 分别取阿魏酸对照品和丹酚酸 B 对照品各适量, 按 2.2.2 项下方法分别制备质量浓度为 5.02, 10.04, 20.08, 40.16, 80.32, 100.40 μg/mL 的阿魏酸系列对照品溶液和 20.21, 60.62, 101.04, 202.08, 404.16 μg/mL 的丹酚酸 B 系列对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 以质量浓度 (X, μg/mL) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程分别为 $Y_{\text{阿}} = 67\,378 X_{\text{阿}} - 32\,124 (R^2 = 0.999\,9, n = 6)$ 和 $Y_{\text{丹}} = 14\,403 X_{\text{丹}} - 13\,035 (R^2 = 0.999\,7, n = 5)$ 。结果表明, 阿魏酸和丹酚酸 B 的质量浓度分别在 5.02 ~ 100.4 μg/mL、20.21 ~ 404.16 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密量取 2.2.2 项下阿魏酸对照品溶液和丹酚酸 B 对照品溶液各适量, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定 5 次, 记录峰面积。结果的 RSD 分别为 0.08% 和 0.18% (n = 5), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 精密量取 2.2.2 项下供试品溶液 1 和供试品溶液 2 各适量, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 和 0, 24, 48, 60, 72 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果的 RSD 分别为 1.09% (n = 6) 和 0.85% (n = 5), 表明阿魏酸供试品溶液和丹酚酸 B 供试品溶液分别在室温放置 24 h 和 72 h 内稳定性良好。

重复性试验: 精密量取 2.1 项下供试品提取液适量, 按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 1 和供试品溶液 2 各 5 份, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果的 RSD 分别为 0.98% 和 1.04% (n = 5), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 精密量取 2.2.2 项下供试品溶液 1 (质量浓度为 176.43 μg/mL) 1.5 mL, 置 50 mL 容量瓶



1. 阿魏酸 2. 丹酚酸 B
A,A'. 对照品溶液(阿魏酸、丹酚酸 B) B,B'. 供试品溶液(1,2) C,C'. 阴性对照品溶液(分别缺川芎、丹参)

图 1 高效液相色谱图

1. Ferulic acid 2. Salvianolic acid B

A,A'. Reference solution (ferulic acid and salvianolic acid B) B,B'. Test solution (1,2) C,C'. Negative reference solution (lacking Chuanxiong Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

中,平行9份,精密加入质量浓度为200.79 μg/mL的阿魏酸对照品溶液1.0,1.5,2.0 mL,加70%甲醇定容;精密量取2.2.2项下供试品溶液2(质量浓度为1987.44 μg/mL)1.0 mL,置25 mL容量瓶中,平行9份,精密加入质量浓度为202.1 μg/mL的丹酚酸B对照品溶液4,5,6 mL,加80%甲醇定容。上述溶液均按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果阿魏酸、丹酚酸B的平均回收率分别为99.55%和100.54%,RSD分别为1.26%和1.15%(n=9),表明方法准确度良好。

2.2.4 样品含量测定

取2.2.2项下供试品溶液1和供试品溶液2各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量。

2.3 干膏率测定

精密量取2.1项下供试品提取液10 mL,置已恒定质量的蒸发皿(W₁)中,水浴蒸干至无流动性,105℃烘箱中干燥3.0 h,冷却0.5 h,迅速称定质量(W₂),按公式计算干膏率。干膏率(%)=[(W₂-W₁)×100 mL]/(M_{药材}×10 mL)×100%。

2.4 L₉(3⁴)正交试验优选提取工艺

以加水量(因素A)、浸泡时间(因素B)、煎煮时间(因素C)、煎煮次数(因素D)为考察因素,以阿魏酸、丹酚酸B的含量和干膏率为评价指标,优选提取工艺,计算综合评分。综合评分=阿魏酸含量/最大阿魏酸含量×0.4+丹酚酸B含量/最大丹酚酸B含量×0.4+干膏率/最大干膏率。因素与水平见表2,试验设计与结果见表3。可见,煎煮次数对综合评分的影响最大,其次为

表 2 因素与水平

Tab. 2 Factors and their levels

水平	因素 A(倍)	因素 B(h)	因素 C(h)	因素 D(次)
1	10	0.5	1.0	1
2	12	1.0	1.5	2
3	14	1.5	2.0	3

表 3 L₉(3⁴)正交试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of the L₉(3⁴) orthogonal test

序号	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	阿魏酸含量 (μg/mL)	丹酚酸 B 含 量(μg/mL)	干膏率 (%)	综合 评分
1	1	1	1	1	1.075 3	18.637 3	27.58	66.71
2	1	2	2	2	1.704 8	21.625 6	39.68	89.31
3	1	3	3	3	1.285 8	18.084 8	42.91	76.43
4	2	1	2	3	1.693 1	21.195 8	41.36	89.05
5	2	2	3	1	1.764 4	17.604 3	30.13	78.73
6	2	3	1	2	2.011 9	19.601 6	36.61	89.90
7	3	1	3	2	2.155 4	18.502 7	44.90	94.22
8	3	2	1	3	2.048 8	21.063 5	41.97	95.68
9	3	3	2	1	1.506 2	19.042 9	30.69	76.85
K ₁	77.483	83.327	84.097	74.097				
K ₂	85.893	87.907	85.070	91.143				
K ₃	88.917	81.060	83.127	87.053				
R	11.434	6.847	1.943	17.046				

加水量,浸泡时间和煎煮时间最小。由方差分析结果(表4)可见,各因素对提取效果的影响大小排序为阿魏酸含量为A>D>C>B,丹酚酸B含量为C>D>B>A,干膏率为D>C>A>B,综合评分为D>A>B>C,加水量和煎煮次数对阿魏酸含量、综合评分均有显著影响,煎煮时间对丹酚酸B含量有显著影响,煎煮次数对

干膏率有显著影响。综合直观分析与方差分析结果,筛选最佳提取工艺为 A₃B₂C₂D₂。但煎煮 1.5 h,丹酚酸 B 含量和干膏率最高,阿魏酸含量欠佳;煎煮 2.0 h,阿魏酸含量、丹酚酸 B 含量、干膏率均最高。故最终确定冠心通川芎止痛颗粒最佳提取工艺为 A₃B₂C₃D₂,即加 14 倍量水(第 1 次加 16 倍量水),浸泡 1.0 h,煎煮 2 次,每次 2.0 h。

表 4 方差分析结果

Tab. 4 Results of the analysis of variance

项目	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	误差
离差平方和	阿魏酸	0.169	0.128	0.143	0.159
	丹酚酸 B	0.012	2.12	10.163	5.086
	干膏率	16.488	2.209	23.151	281.395
	综合评分	210.590	72.991	5.665	475.192
自由度	阿魏酸	2	2	2	2
	丹酚酸 B	2	2	2	2
	干膏率	2	2	2	2
	综合评分	2	2	2	2
F _比	阿魏酸	1.129	0.855	0.955	1.062
	丹酚酸 B	0.011	1.989	9.534	4.771
	干膏率	7.464	1.000	10.480	127.386
	综合评分	37.174	12.885	1.000	83.882
F _{临界值}	阿魏酸	4.460	4.460	4.460	4.460
	丹酚酸 B	6.940	6.940	6.940	6.940
	干膏率	19.000	19.000	19.000	19.000
	综合评分	19.000	19.000	19.000	19.000
P	阿魏酸	<0.05		<0.05	
	丹酚酸 B	<0.05		<0.05	
	干膏率	<0.05		<0.05	
	综合评分	<0.05		<0.05	

注: F_{0.05} = (2, 2) = 19.000。

Note: F_{0.05} = (2, 2) = 19.000。

2.5 验证试验

取处方量药材 3 份,加 14 倍量水(第 1 次加 16 倍量水),浸泡 1.0 h,煎煮 2 次,每次 2.0 h,浓缩,滤过,冷却,取滤液,按 2.2 项下方法测定阿魏酸和丹酚酸 B 的含量,按 2.3 项下方法测定干膏率。结果阿魏酸平均含量为 332.75 μg/mL,丹酚酸 B 平均含量为 2 459.98 μg/mL,平均干膏率为 39.33%,综合评分的 RSD 为 0.29%,表明该最佳提取工艺的稳定性 and 准确度均良好。详见表 5。

表 5 验证试验结果

Tab. 5 Results of the verification test

序号	阿魏酸含量 (μg/mL)	丹酚酸 B 含 量(μg/mL)	干膏率 (%)	综合评 分(%)
1	328.35	2 469.21	39.44	98.94
2	332.61	2 466.72	39.31	99.34
3	337.28	2 444.01	39.25	99.49
$\bar{X}$	332.75	2 459.98	39.33	99.26

3 讨论

将传统中药汤剂制备为颗粒剂,是对经典名方的传承与创新,提取工艺将直接影响患者的服药依从性和制剂的生物利用度^[13]。本研究中首次对冠心通川芎止痛颗粒进行剂型改良,在川芎供试品溶液制备过程中对样品加热回流和超声提取进行考察发现,阿魏酸含量分别为 10.72, 10.74 μg/mL,表明 2 种方法对阿魏酸提取率的影响不大,且超声处理方便快捷,安全性高,故本研究中选择超声提取。川芎供试品溶液中分别加入 60%, 70%, 80% 甲醇定容,得阿魏酸含量分别为 10.47, 10.71, 10.78 μg/mL,表明 80% 甲醇即可提取完全,故本研究中甲醇体积分数选择 80%。

本研究中采用正交试验优选出的冠心通川芎止痛颗粒最佳提取工艺为加 14 倍量水(第 1 次加 16 倍量水),浸泡 1.0 h,煎煮 2 次,每次 2.0 h,该工艺稳定可行,可操作性强,可为后续冠心通川芎止痛颗粒的生产提供理论依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 42 - 137.

[2] CHEN ZJ, ZHANG C, GAO F, et al. A systematic review on the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort. (Chuanxiong) [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 119: 309 - 325.

[3] RAN X, MA L, PENG C, et al. *Ligusticum chuanxiong* Hort.: A review of chemistry and pharmacology [J]. Pharm Biol, 2011, 49(11): 1180 - 1189.

[4] LI WX, TANG YP, CHEN YY, et al. Advances in the chemical analysis and biological activities of chuanxiong [J]. Molecules, 2012, 17(9): 10614 - 10651.

[5] 韩 炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1341 - 1349.

[6] 刘 洁, 冯梦晗, 杨晓芹, 等. 川芎化学成分研究 [J]. 中药材, 2022, 45 (4): 848 - 852.

[7] 单晓晓, 洪帮振, 刘 洁, 等. 丹参化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46 (21): 5496 - 5511.

[8] 胡永恒, 易爱玲, 杨 希, 等. 强肾三金处方的研究进展 [J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(3): 255 - 259.

[9] 易爱玲, 邹福生, 易 博, 等. 正交试验优选复方金沙利胆颗粒的提取工艺 [J]. 中国药师, 2016, 19(10): 1963 - 1965.

[10] 陈业光. 高效液相色谱法测定陈香露百露片中陈皮苷含量 [J]. 中国药业, 2008, 17(5): 21 - 22.

[11] 果茵茵, 李 平, 焦海胜, 等. 醒脑益智颗粒水提醇沉制备工艺研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(1): 30 - 33.

[12] 叶会呈, 叶其馨, 王带媚, 等. HPLC 法测定血府逐瘀汤中阿魏酸的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(4): 356 - 358.

[13] 刘 杨, 顾晋亿, 姜雯钰, 等. 黄芪建中汤颗粒的成型工艺研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(11): 1767 - 1771.

(收稿日期: 2024 - 10 - 09; 修回日期: 2025 - 05 - 08)