

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2025)19-0065-06

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.19.012



金荞麦合剂制备工艺改进*

秦楠¹, 曹溢², 何梦², 李余佳³, 戴莹³, 窦志华^{2,3△}

(1. 江苏省南通市中医院, 江苏 南通 226001; 2. 南通大学, 江苏 南通 226019; 3. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006)

摘要:目的 改进金荞麦合剂的制备工艺。方法 建立测定金荞麦饮片及其提取液中没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B₁ (PB₁)、原花青素 B₃ (PB₃)、儿茶素、表儿茶素和原花青素 C₁ (PC₁) 含量的高效液相色谱法, 色谱柱为 Waters Symmetry C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 检测波长为 280 nm, 进样量为 30 μL。比较加水煎煮、加水回流、加 16% 乙醇回流提取 1 次及 2 次以上 8 种成分的提取量。结果 与加水煎煮提取 1 次比较, 加水回流提取 1 次的表儿茶素及 PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.01$), 加 16% 乙醇回流提取 1 次的表儿茶素、PB₁、PB₃、PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.05$); 与加水回流提取 1 次比较, 加 16% 乙醇回流提取 1 次的 PB₃ 及 PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.01$)。与加水煎煮提取 2 次比较, 加水回流提取 2 次和加 16% 乙醇回流提取 2 次的表儿茶素及 PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.05$); 与加水回流提取 2 次比较, 加 16% 乙醇回流提取 2 次的上述 2 种成分提取量均显著增加 ($P < 0.05$)。与加水煎煮提取 1 次比较, 加水煎煮提取 2 次的没食子酸及原儿茶酸提取量均显著增加 ($P < 0.01$); 与加水回流提取 1 次比较, 加水回流提取 2 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、PB₁、PB₃、PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.05$); 与加 16% 乙醇回流提取 1 次比较, 加 16% 乙醇回流提取 2 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、表儿茶素、PB₁、PC₁ 提取量均显著增加 ($P < 0.05$)。结论 金荞麦合剂较优的制备工艺为加 16% 乙醇回流提取 2 次。

关键词: 金荞麦合剂; 加水煎煮提取; 加水回流提取; 加 16% 乙醇回流提取; 提取率; 提取次数; 制备工艺

Improvement of Preparation Process for Fagopyri Dibotryis Rhizoma Mixture

QIN Nan¹, CAO Yi², HE Meng², LI Yujia³, DAI Ying³, DOU Zhihua^{2,3}

(1. Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong, Jiangsu, China 226001; 2. Nantong University, Nantong, Jiangsu, China 226019;

3. Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong, Jiangsu, China 226006)

Abstract: Objective To improve the preparation process of Fagopyri Dibotryis Rhizoma Mixture. **Methods** The high-performance liquid chromatography (HPLC) method was established to determine the contents of gallic acid, protocatechuic acid, protocatechualdehyde, procyanidin B₁ (PB₁), procyanidin B₃ (PB₃), catechin, epicatechin, and procyanidin C₁ (PC₁) in Fagopyri Dibotryis Rhizoma and their extracts. The chromatography column was Waters Symmetry C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 °C, the detection wavelength was 280 nm, and the injection volume was 30 μL. The extraction amounts of eight components were compared among three extraction processes such as boiling with water, refluxing with water, and refluxing with 16% ethanol for once and twice extractions respectively. **Results** Compared with the extraction by boiling with water once, the extraction of epicatechin and PC₁ by refluxing with water once significantly increased ($P < 0.01$), and the extraction of epicatechin, PB₁, PB₃, and PC₁ by refluxing with 16% ethanol once significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the extraction refluxing with water once, the extraction of PB₃ and PC₁ by refluxing with 16% ethanol once significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the extraction by boiling with water twice, the extraction of epicatechin and PC₁ by refluxing with water twice and refluxing with 16% ethanol twice significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the extraction by refluxing with water twice, the extraction of the above two components by refluxing with 16% ethanol twice significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the extraction by boiling with water once, the extraction of gallic acid and protocatechuic acid by boiling with water twice significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the extraction by refluxing with water once, the extraction of gallic acid, protocatechuic acid, protocatechualdehyde, PB₁, PB₃, and PC₁ by refluxing with water twice significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the extraction by refluxing with 16% ethanol once, the extraction of gallic acid, protocatechuic acid, protocatechualdehyde, epicatechin, PB₁, and PC₁ by refluxing with 16% ethanol twice significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Refluxing with 16% ethanol twice is the optimal preparation process for the Fagopyri Dibotryis Rhizoma Mixture.

Key words: Fagopyri Dibotryis Rhizoma Mixture; extraction by boiling with water; extraction by refluxing with water; extraction by refluxing with 16% ethanol; extraction rate; extraction times; preparation process

* 基金项目: 江苏省南通市民生科技计划项目 [MS12022012]; 江苏省药学会-正大天晴医院药学科研基金项目 [Q202205]。

第一作者: 秦楠, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药药理学及药效物质基础, (电子信箱) qinnan12345@126.com。

△ 通信作者: 窦志华, 男, 博士, 主任中药师, 研究方向为中药药效物质基础及质量评价, (电子信箱) zhihuadou@163.com。

金荞麦为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎^[1],为20世纪50年代末南通成云龙治疗肺脓疡的祖传秘方^[2]。中国医学科学院药物研究所与江苏省南通市金荞麦协作组对该药进行了系统研究,取得了大批科研成果^[3-7],故金荞麦自1977年起被《中国药典(一部)》收载。金荞麦主要含以黄酮-3-醇(如儿茶素、表儿茶素)等为单体的原花色素缩合性单宁混合物,但性质很不稳定^[7]。江苏省南通市中医院研制了金荞麦合剂(苏药制字Z04000162),但制备工艺与成氏祖传用法稍有差异。尚无关于现行工艺制备金荞麦合剂与按成氏用法制备汤剂的成分提取率是否基本一致,以及提取1次是否提取完全的研究。为此,本研究中采用水煎煮工艺制备了金荞麦合剂,模仿成氏祖传用法分别用水和16%乙醇回流提取制备了金荞麦汤剂,在这3种工艺基础上重复提取1次,制备了合剂和汤剂,建立了测定金荞麦饮片、合剂及汤剂中没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、原花青素B₁、原花青素B₃和原花青素C₁含量的高效液相色谱(HPLC)法,并比较了其含量的差异,为改进金荞麦合剂的制备工艺提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters Alliance 型 HPLC 系统(美国 Waters 公司),配有 e2695 型分离单元、2998 型二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站;SK5200H 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,功率为200 W,频率为53 kHz);RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Sartorius BT25S 型电子天平(德国 Sartorius 公司,精度为十万分之一);Anke TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试药

没食子酸对照品(批号为110831-201906,含量≥91.5%),原儿茶酸对照品(批号为110809-202207,含量≥97.5%),原儿茶醛对照品(批号为110810-202210,含量≥99.9%),均购自中国食品药品检定研究院;儿茶素对照品(批号为GR-139-203497,含量≥98%),表儿茶素对照品(批号为GR-139-055270,含量≥98%),原花青素B₁对照品(批号为GR-138-653301,含量≥98%),原花青素B₃对照品(批号为GR-138-352214,含量为95%),原花青素C₁(批号为GR-138-310726,含量为98%),均购自南京广润生物制品有限公司;甲醇(色谱纯),乙腈(质谱纯),均购自美国 Fisher Scientific 公司;水为娃哈哈纯净水;金荞麦饮片(南通三越中药饮片有限公司,药材产自贵州,批号为240123)。

2 方法与结果

2.1 金荞麦合剂现行生产工艺与成氏祖传用法

现行生产工艺:取金荞麦饮片25 kg,置提取罐中,

加水没过药面,浸泡一夜,用武火煎煮30 min,再用文火继续加热,保持微沸3 h,滤取药汁,浓缩至100 L,加矫味剂等,即得。

成氏祖传用法:取切碎的金荞麦药材250 g,置瓦罐中,加清水(轻症)或黄酒(重症)1 250 mL,用竹箬密封,隔水文火煎煮3 h,取药液约1 000 mL,每次服用40 mL,每日3次^[3]。

2.2 HPLC 法测定含量

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min时2%A→4%A,10~20 min时4%A,20~30 min时4%A→10%A,30~50 min时10%A→12%A,50~60 min时12%A→15%A,60~70 min时15%A→16%A,70~100 min时16%A→50%A);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:280 nm;进样量:30 μL。

2.2.2 溶液制备

混合对照品溶液:取没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、原花青素B₁、原花青素B₃、原花青素C₁对照品各适量,精密称定,分别加50%乙醇溶解,制成对照品贮备液;精密量取各对照品贮备液适量,加50%乙醇稀释,制成上述成分质量浓度分别为102.025,86.275,12.525,277.480,397.280,300.400,315.600,1 047.000 ng/mL的混合对照品溶液A;取混合对照品溶液A适量,分别用50%乙醇稀释2,5,10,20,50倍,制成混合对照品溶液B-F。

饮片供试品溶液:取金荞麦饮片粉末(过16目筛)2 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加50%乙醇定容,超声提取30 min,放冷,滤过,滤液在50~70℃减压浓缩至近干,残渣用10%乙腈分次洗涤,将洗液转移至10 mL容量瓶中,加10%乙腈定容,摇匀,离心(转速为3 000 r/min)5 min,取上清液,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

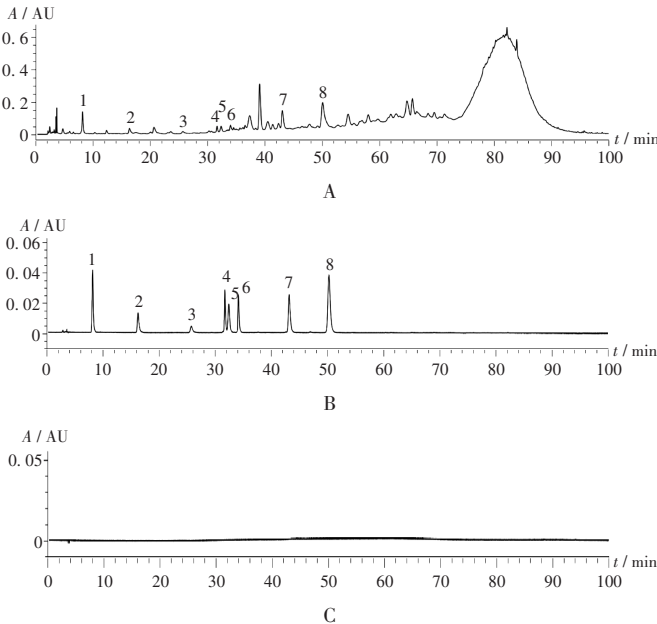
不同工艺药液供试品溶液:药液在50~70℃减压浓缩至近干,残渣加10%乙腈分次洗涤,将洗液转移至25 mL容量瓶中,加10%乙腈定容,摇匀,精密量取2 mL,置10 mL容量瓶中,加10%乙腈定容,摇匀,离心(转速为3 000 r/min)5 min,取上清液,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:取50 mL容量瓶,加50%乙醇定容,按饮片供试品溶液制备方法制备,即得。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.2.2项下混合对照品溶液A、饮片供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.2.1项

下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果饮片供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液 A 相同保留时间处有色谱峰出现,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。详见图 1。



1. 没食子酸 2. 原儿茶酸 3. 原儿茶醛 4. 原花青素 B₁ 5. 原花青素 B₃ 6. 儿茶素 7. 表儿茶素 8. 原花青素 C₁
A. 饮片供试品溶液 B. 混合对照品溶液 A C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. Gallic acid 2. Protocatechuic acid 3. Protocatechualdehyde
4. Procyanidin B₁ 5. Procyanidin B₃ 6. Catechin 7. Epicatechin
8. Procyanidin C₁

A. Test solution of decoction pieces B. Mixed reference solution A
C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别取 2. 2. 2 项下混合对照品溶液 A - F 各 30 μ L,按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定,以峰面积(Y)为纵坐标、各待测成分进样量(X, μ g)为横坐标进行线性回归。结果见表 1,表明各待测成分在各自进样量范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2. 2. 2 项下混合对照品溶液 C 适量,按 2. 2. 1 项下色谱条件于同 1 d 内连续进样测定 6 次,或连续 3 d 每天进样测定 2 次,记录峰面积积分值。结果见表 1,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2. 2. 2 项下饮片供试品溶液适量,分别于制备后 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 h 时按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积积分值。结果见表 1,表明供试品溶液放置 36 h 内稳定性良好。

重复性试验:取金荞麦饮片粉末(过 16 目筛)2 g,精密称定,平行 6 份,按 2. 2. 2 项下方法制备饮片供试品溶液,按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积积分值,并计算含量。结果见表 1,表明方法重复性良好。

加样回收试验:取金荞麦饮片粉末(过 16 目筛)1 g,精密称定,平行 6 份,置 50 mL 容量瓶中,按 100% 比例分别精密加入 2. 2. 2 项下对照品贮备液,按 2. 2. 2 项下方法制备饮片供试品溶液,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。结果见表 1,表明方法准确度良好。

2. 2. 4 饮片含量测定

精密量取 2. 2. 2 项下饮片供试品溶液 30 μ L,按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积积分值,代入回归方程计算样品中 8 种成分的含量。结果没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、原花青素 B₁、原花青素 B₃、原花青素 C₁ 的含量分别为 147. 67, 38. 19, 6. 70, 184. 32, 578. 98, 160. 81, 157. 09, 930. 44 ng / g。

2. 3 制备工艺考察

2. 3. 1 统计学处理

采用 IBM SPSS 25. 0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,3 组数据比较采用单因素方差分析,行 LSD 检验;2 组数据比较行独立样本 t 检验。 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。

表 1 方法学考察结果

Tab. 1 Results of the methodology investigation

成分	回归方程	r	线性范围(ng)	RSD(%)			重复性试验		加样回收试验(% , $n = 6$)	
				日内精密度试验	日间精密度试验	稳定性试验	含量(ng / g)	RSD(%)	平均回收率	RSD
没食子酸	$Y = 2\,443\,241 X - 3\,282$	0.999 9	61. 215 ~ 3\,060. 750	1. 02	1. 29	0. 34	144. 95	1. 09	99. 80	0. 52
原儿茶酸	$Y = 1\,424\,656 X - 15\,956$	0.999 9	51. 765 ~ 2\,588. 250	1. 75	1. 61	2. 96	37. 65	2. 40	99. 99	1. 07
原儿茶醛	$Y = 4\,179\,072 X - 18\,719$	0.999 9	7. 515 ~ 375. 750	2. 32	2. 22	1. 30	6. 55	1. 14	99. 67	1. 89
原花青素 B ₁	$Y = 635\,497 X - 50\,972$	0.999 9	180. 24 ~ 9\,012. 00	1. 67	1. 27	1. 42	155. 78	1. 61	99. 46	0. 86
原花青素 B ₃	$Y = 670\,946 X - 80\,886$	0.999 9	189. 36 ~ 9\,468. 00	2. 12	3. 69	3. 05	152. 14	3. 43	99. 56	0. 92
儿茶素	$Y = 640\,535 X - 23\,878$	0.999 9	166. 488 ~ 8\,324. 400	1. 33	0. 98	1. 29	184. 59	0. 93	98. 89	1. 14
表儿茶素	$Y = 661\,931 X - 26\,122$	0.999 9	238. 368 ~ 11\,918. 400	1. 13	1. 06	3. 00	554. 80	3. 07	99. 40	1. 74
原花青素 C ₁	$Y = 631\,157 X - 267\,402$	0.999 9	628. 2 ~ 31\,410. 0	1. 11	1. 12	3. 09	899. 56	2. 91	99. 01	1. 99

2.3.2 提取 1 次工艺考察

药液制备:取金荞麦饮片 50 g,置不锈钢杯中,加水 500 mL,浸泡一夜,武火煎煮 30 min,再用文火保持微沸 3 h,趁热用 4 层纱布滤取药液(药渣留存),取一半(另一半留存),即得加水煎煮提取 1 次药液。取金荞麦饮片 50 g,置 500 mL 圆底烧瓶中,加水 250 mL,水浴回流提取 3 h,趁热用 4 层纱布滤取药液(药渣留存),取一半(另一半留存),即得加水回流提取 1 次药液。将提取溶剂改为 16% 乙醇,其余均同“加水回流提取 1 次”工艺操作,即得加 16% 乙醇回流提取 1 次药液。

考察结果:将以上药液分别按 2.2.2 项下方法制备不同工艺药液供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积积分值,并计算药液中 8 种成分的提取量,以上试验重复 3 次。结果 3 种工艺提取 1 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素提取量均无显著差异($P > 0.05$);与加水煎煮提取 1 次比较,加水回流提取 1 次的原花青素 B₁ 及原花青素 B₃ 提取量均无显著差异($P > 0.05$),但表儿茶素及原花青素 C₁ 的提取量均显著增加($P < 0.01$),加 16% 乙醇回流提取 1 次的表儿茶素、原花青素 B₁、原花青素 B₃、原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.05$);与加水回流提取 1 次比较,加 16% 乙醇回流提取 1 次的原花青素 B₃ 及原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.01$)。详见表 2。

2.3.3 提取 2 次工艺考察

药液制备:取 2.3.2 项下留存的另一半加水煎煮 1 次药渣,加水 300 mL,武火煎煮 30 min 后改用文火保持微沸 30 min,趁热用 4 层纱布滤取药液,取一半,与 2.3.2 项下留存的另一半加水煎煮 1 次药液合并,即得加水煎煮提取 2 次药液。取 2.3.2 项下留存的加水回流提取 1 次药渣,加水 150 mL,水浴回流提取 1 h,趁热用 4 层纱布滤取药液,取一半,与 2.3.2 项下留存的另一半加水回流提取 1 次药液合并,即得加水回流提取 2 次药液。将

提取溶剂改为 16% 乙醇,其余均同“加水回流提取 2 次”工艺操作,即得加 16% 乙醇回流提取 2 次药液。

考察结果:将以上所得药液分别按 2.2.2 项下方法制备不同工艺药液供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积积分值,并计算药液中 8 种成分的提取量,以上试验重复 3 次。结果 3 种工艺提取 2 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素、原花青素 B₁、原花青素 B₃ 提取量均无显著差异($P > 0.05$);与加水煎煮提取 2 次比较,加水回流提取 2 次和加 16% 乙醇回流提取 2 次的表儿茶素及原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.05$);与加水回流提取 2 次比较,加 16% 乙醇回流提取 2 次的表儿茶素及原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.05$)。详见表 2。

2.3.4 提取 1 次与提取 2 次工艺考察

分别比较 3 种工艺提取 1 次和 2 次的提取量,结果与加水煎煮提取 1 次比较,加水煎煮提取 2 次的没食子酸及原儿茶酸提取量均显著增加($P < 0.01$);与加水回流提取 1 次比较,加水回流提取 2 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B₁、原花青素 B₃ 及原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.05$);与加 16% 乙醇回流提取 1 次比较,加 16% 乙醇回流提取 2 次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、表儿茶素、原花青素 B₁ 及原花青素 C₁ 提取量均显著增加($P < 0.05$)。详见表 2。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

参考文献[8],比较了乙腈-0.04% 磷酸水溶液和甲醇-0.04% 磷酸水溶液 2 种流动相的分离效果,结果前者色谱峰分离效果优于后者,且耗时短;比较了乙腈-0.04% 磷酸水溶液和乙腈-0.1% 磷酸水溶液 2 种流动相的分离效果,结果两者无明显差异;采用文献报道的条件进行梯度洗脱发现,部分成分色谱峰不能有效分离,经多次调整确定了最终梯度洗脱程序;考察了 25,

表 2 3 种工艺提取量考察结果($\bar{X} \pm s, \text{ng/g}, n = 3$)

Tab. 2 Results of extraction amount of three processes ($\bar{X} \pm s, \text{ng/g}, n = 3$)

工艺	没食子酸	原儿茶酸	原儿茶醛	儿茶素	表儿茶素	原花青素 B ₁	原花青素 B ₃	原花青素 C ₁
加水煎煮提取 1 次	58.01 ± 14.65	6.93 ± 1.44	1.95 ± 0.37	219.12 ± 71.27	139.28 ± 45.20	60.20 ± 17.94	35.17 ± 6.16	159.28 ± 44.90
加水回流提取 1 次	72.57 ± 9.03	5.14 ± 0.86	1.46 ± 0.14	139.99 ± 31.08	242.17 ± 26.40 ^{**}	70.78 ± 4.47	37.78 ± 1.50	333.21 ± 31.66 ^{**}
加 16% 乙醇回流提取 1 次	78.78 ± 6.14	6.28 ± 1.05	1.52 ± 0.17	156.20 ± 30.99	289.27 ± 19.88 ^{**}	87.41 ± 4.14 [*]	54.73 ± 5.63 ^{**△△}	473.62 ± 27.50 ^{**△△}
加水煎煮提取 2 次	106.24 ± 10.10 ^{**}	11.01 ± 0.33 ^{**}	2.43 ± 0.70	400.84 ± 197.62	169.69 ± 70.70	125.58 ± 43.67	76.92 ± 27.68	186.38 ± 47.95
加水回流提取 2 次	109.60 ± 18.70 [△]	10.25 ± 0.60 ^{△△}	2.45 ± 0.44 [△]	194.18 ± 38.50	298.70 ± 46.65 [△]	94.13 ± 6.73 ^{△△}	44.02 ± 1.74 ^{△△}	438.61 ± 21.59 ^{△△△}
加 16% 乙醇回流提取 2 次	118.08 ± 8.66 ^{□□}	10.49 ± 0.17 ^{□□}	1.98 ± 0.14 [□]	226.38 ± 49.69	407.79 ± 36.78 ^{△△□□}	114.18 ± 10.32 [□]	66.72 ± 9.59	597.95 ± 63.25 ^{△△□□}

注:与加水煎煮提取 1 次比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与加水回流提取 1 次比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与加 16% 乙醇回流提取 1 次比较,□ $P < 0.05$,□□ $P < 0.01$;与加水煎煮提取 2 次比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与加水回流提取 2 次比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the extraction by boiling with water once,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$; compared with the extraction by refluxing with water once,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$; compared with the extraction by refluxing with 16% ethanol once,□ $P < 0.05$,□□ $P < 0.01$; compared with the extraction by boiling with water twice,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$; compared with the extraction by refluxing with water twice,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

30, 35 °C 3种柱温的提取效果,结果30 °C更适合待测成分的提取;比较了混合对照品溶液在200~400 nm波长范围内的3D色谱图,结果8种成分均在280 nm波长左右有最大吸收。故最终选择了2.2.1项下色谱条件。

3.2 不同工艺提取量比较

江苏省南通市中医院注册的金荞麦合剂提取工艺为用不锈钢提取罐煎煮,故合剂工艺考察采用了不锈钢杯煎煮,根据实际生产工艺加10倍量水;成氏祖传的汤剂制备方法为“用水或黄酒隔水密闭炖”,类似水浴加热回流,黄酒的酒精度数约为16%^[9],故分别采用加水回流提取或加16%乙醇回流提取的方法模仿成氏祖传汤剂制备工艺进行考察,根据成氏祖传方法加5倍量溶剂。

与加水煎煮提取1次比较,加水回流提取1次的表儿茶素及原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.01$),加16%乙醇回流提取1次的表儿茶素、原花青素B₁、原花青素B₃、原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.05$),表明“用水或黄酒隔水密闭炖”的汤剂制备工艺优于合剂的加水煎煮工艺,提示成氏祖传方法有其科学内涵;与加水回流提取1次比较,加16%乙醇回流提取1次的原花青素B₃及原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.01$),表明“用黄酒隔水密闭炖”优于“用水隔水密闭炖”,提示前者用于重症、后者用于轻症也有科学道理。与加水煎煮提取2次比较,加水回流提取2次和加16%乙醇回流提取2次的表儿茶素及原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.05$);与加水回流提取2次比较,加16%乙醇回流提取2次的上述2种成分提取量均显著增加($P < 0.05$)。可见,3种工艺提取2次重复了提取1次的结果。

与加水煎煮提取1次比较,加水煎煮提取2次的没食子酸及原儿茶酸提取量均显著增加($P < 0.05$);与加水回流提取1次比较,加水回流提取2次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素B₁、原花青素B₃、原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.05$);与加16%乙醇回流提取1次比较,加16%乙醇回流提取2次的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、表儿茶素、原花青素B₁、原花青素C₁提取量均显著增加($P < 0.05$)。提示原合剂煎煮工艺即使提取2次也意义不大,而加水或16%乙醇回流提取2次更有意义。分析原因,可能是前者的料液比为1:10(m/V),而后两者的料液比仅为1:5(m/V)。

3.3 工艺重复性

根据表2中的数据计算各工艺3次重复试验结果的相对标准偏差(RSD), $RSD(\%) = \text{均值} / \text{标准偏差} \times 100\%$ 。加水煎煮提取1次的儿茶素、表儿茶素、原花青素B₁、原花青素C₁提取量的RSD分别为32.52%,32.45%,29.80%,28.19%,加水煎煮提取2次的儿茶素、表儿茶素、原花青素B₃、原花青素B₁、原儿茶醛、原花青素C₁提

取量的RSD分别为49.30%,41.67%,35.98%,34.78%,28.66%,25.73%,加水回流提取1次和加16%乙醇回流提取2次的儿茶素提取量的RSD分别为22.21%,21.95%,提示加水煎煮工艺的重复性较差,成品质量不稳定。分析原因,可能是金荞麦中所含原花青素类成分在加热、氧气等因素的影响下,降解成了单体成分儿茶素、表儿茶素,敞开煎煮条件下的加热温度又不易掌握,导致每次煎煮降解的数量不一致;而水浴回流的受热温度基本可控制在水的沸点100 °C左右,且避免了与过多的氧气接触。

原花青素类成分是由不同数量(聚合度)的黄烷-3-醇单体(如儿茶素、表儿茶素)缩合形成的植物多酚^[10],金荞麦中的平均聚合度为 5.24 ± 0.16 ^[11],如原花青素B₁、原花青素B₃、原花青素C₁分别是儿茶素和表儿茶素的二聚体、儿茶素的二聚体、表儿茶素的三聚体。原花青素类成分性质很不稳定^[7],温度、氧气、光照等因素很易使其发生降解^[12]。根据表2中的数据及2.2.4项下饮片中含测定结果计算,加水煎煮提取2次、加水回流提取2次、加16%乙醇回流提取2次的儿茶素、表儿茶素平均提取率分别为249.26%,120.75%,140.77%和108.02%,190.15%,259.59%,原花青素B₃、原花青素C₁平均提取率则分别为13.29%,7.60%,11.52%和20.02%,47.14%,64.26%,提示部分原花青素类成分在提取过程中确实发生了降解。

3.4 结语

综合考虑充分提取饮片中的成分、节约资源、保持制剂质量稳定等因素,金荞麦合剂较优的制备工艺为加16%乙醇回流提取2次。

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,2025:236.
- [2] 范文起. 金荞麦药物成果鉴定会在南通市召开[J]. 中草药,1981,12(7):27.
- [3] 江苏南通市第三人民医院. 金荞麦治疗肺脓疡506例总结[J]. 中草药通讯,1974,5(2):51-54.
- [4] 中国医学科学院药物研究所科研办公室. 金荞麦有效成分的研究[J]. 中国药学杂志,1980,15(8):40-41.
- [5] 刘文富,宋玉梅,王灵芝,等. 金荞麦的一些药理作用[J]. 药学学报,1981,16(4):247-252.
- [6] 刘永澄,房其年,张秀琴,等. 金荞麦有效成分的研究[J]. 药学学报,1983,18(7):545-547.
- [7] 彭勇,孙载明,肖培根. 金荞麦的研究与开发[J]. 中草药,1996,27(10):629-631.
- [8] 卢欢. 金荞麦药材及饮片的质量标准研究[D]. 南京:南京中医药大学,2009.
- [9] 杨子烨,张桂梅,王佩华,等. 基于层次分析法-熵权法评