



# 复方苦参注射液关键工艺研究

刘晓谦<sup>1,2</sup>, 王锦玉<sup>1,2</sup>, 仝燕<sup>1,2</sup>, 王瑞珍<sup>3</sup>, 张彦霞<sup>3</sup>, 王智民<sup>1,2\*</sup>, 张启伟<sup>1,2</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

2. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700;

3. 山西振东制药股份有限公司, 山西 长治 047100)

**[摘要]** 目的:为实现中药大品种的技术升级,进行复方苦参注射剂关键生产工艺的优化和示范性研究。方法:以总生物碱(苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、氧化槐果碱)和大泽米苷含量为指标,采用正交试验设计对关键工艺(渗漉及活性炭脱色工序)进行优化,采用单因素法对影响醇沉的参数进行优化研究。结果:复方苦参注射液渗漉提取的最佳工艺为0.8%醋酸,4倍量浸泡,2倍量渗漉,流速 $5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,浸泡时间9 h;醇沉工艺为醇沉3次,醇沉浓度依次为60%,80%,90%;活性炭用量为6‰,于60℃加热20 min。结论:优化的复方苦参注射液渗漉工艺简单,不仅缩短了生产周期、减少了二次污染的潜在风险,而且降低了醋酸的用量,保证了成品的酸不溶性灰分不超标,同时还更好地保留有效成分。

**[关键词]** 复方苦参注射液;渗漉工艺;醇沉工艺;脱色;正交设计;生物碱;大泽米苷;HPLC

复方苦参注射液由苦参、白土苓制备而成,具有清热利湿、凉血解毒、散结止痛之功效,临床主要用于抗癌、缓解癌痛及出血、提高人体免疫功能等<sup>[1]</sup>,因其疗效确切,本产品2010年的年销售额突破5亿元,并呈快速增长的趋势,为了深入开展中药大品种的技术升级和产品改造,本文以复方苦参注射液为研究对象,以有效成分生物碱(苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、氧化槐果碱)以及来源于白土苓的大泽米苷为多成分质量评价指标,对其关键生产工艺,如渗漉工艺、醇沉工艺及活性炭脱色工艺等进行优化和科学评价,以期为大品种改造提供一种可借鉴的、基于过程深入理解的研究模式。

## 1 材料

Agilent 1100型高效液相色谱仪(四元泵,二级管阵列检测器)及色谱工作站,Agilent 1260型高效液相色谱仪(四元泵,二级管阵列检测器)及色谱工作站,KQ-250B型超声波清洗器(250 W,40 KHz)。

苦参碱对照品(批号110805-200508),氧化苦参碱对照品(批号110780-200506),槐定碱对照品(批号110784-200303),氧化槐果碱对照品(批号

111652-200301)均购于中国药品生物制品检定所;大泽米苷对照品(自制,纯度>98%),苦参药材(批号Q100613,山西沁县);白土苓药材(批号20100325,贵州安顺)。乙腈为色谱纯,水为高纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 生物碱含量测定方法

**2.1.1 色谱条件**<sup>[2]</sup> ALLTIMA AMINO 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-3%磷酸溶液-无水乙醇(80:10:10);检测波长220 nm,柱温30℃,流速 $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取经五氧化二磷减压干燥至恒重的苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱对照品适量,分别加乙腈-无水乙醇(80:20)溶解,制成每1 mL含苦参碱0.05 mg,槐定碱0.05 mg,氧化苦参碱0.15 mg,氧化槐果碱0.05 mg的对照品溶液。

**2.1.3 样品溶液的制备** 精密量取渗漉液1 mL,置分液漏斗中,加入浓氨试液约1 mL,用42 mL三氯甲烷分3次萃取(15,15,12 mL),收集三氯甲烷液,蒸干,残渣加无水乙醇适量使溶解,并转移至10 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

**2.1.4 线性关系的考察** 分别精密吸取上述对照品溶液各1,2,4,6,8,10,12 μL注入HPLC,每个体积进样2次,记录峰面积,以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐

**[稿件编号]** 20110228011

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003,2009ZX09301-005,2008ZX09202-009)

**[通信作者]** 王智民,研究员,研究方向中药化学与中药质量控制, Tel/Fax:(010)84014128, E-mail: zhmw123@263.net

**[作者简介]** 刘晓谦,博士研究生,研究方向中药制剂和质量控制

标,峰面积平均积分为纵坐标,绘制标准曲线,苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、氧化槐果碱的回归方程分别为  $Y = 682.6X - 13.94$  ( $r = 0.999\ 8$ ),  $Y = 844.1X - 25.93$  ( $r = 0.999\ 9$ ),  $Y = 828.9X - 5.184$  ( $r = 0.999\ 8$ ),  $Y = 1\ 573X - 38.54$  ( $r = 0.999\ 7$ );线性范围分别为  $0.050\ 4 \sim 0.604$ ,  $0.372 \sim 4.46$ ,  $0.049\ 2 \sim 0.590$ ,  $0.049\ 8 \sim 0.598\ \mu\text{g}$ 。

**2.1.5 精密度试验** 分别精密吸取上述对照品溶液各  $5\ \mu\text{L}$ ,连续进样 6 次,记录各色谱峰的峰面积。苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱峰面积的 RSD 分别为  $1.9\%$ ,  $0.92\%$ ,  $1.9\%$ ,  $1.0\%$ 。结果表明仪器的精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 取批号为 20101113 的渗滤液 5 份,按上述方法进行制备并进行检测,记录各色谱峰的峰面积。苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱峰面积的 RSD 分别为  $1.8\%$ ,  $1.4\%$ ,  $1.6\%$ ,  $1.4\%$ 。结果表明方法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取同一样品溶液,分别于配制后的  $0,4,8,12,16,24\ \text{h}$  进样,记录各色谱峰的峰面积。苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱峰面积的 RSD 分别为  $0.84\%$ ,  $1.4\%$ ,  $1.8\%$ ,  $1.4\%$ 。结果表明常温下  $1\ \text{d}$  内能保持较好的稳定性。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密吸取测定含量的渗滤液 6 份,精密加入适量的苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱,按同样的方法制备样品溶液,在相同的色谱条件下,苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱的平均回收率分别为  $99.5\%$ ,  $99.2\%$ ,  $100.2\%$ ,  $99.9\%$ ;RSD 分别为  $1.6\%$ ,  $1.4\%$ ,  $1.8\%$ ,  $1.6\%$ 。结果表明该方法回收率良好。

**2.2 大泽米苷含量测定方法**

**2.2.1 色谱条件** Venusil MP  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $4.6\ \text{mm} \times 250\ \text{mm}, 5\ \mu\text{m}$ );流动相乙腈- $0.2\%$  磷酸溶液,洗脱梯度见表 1。检测波长  $215\ \text{nm}$ ,柱温  $25\ ^\circ\text{C}$ 。

表 1 大泽米苷含量测定梯度洗脱程序			
$t$ /min	乙腈 /%	$0.2\%$ 磷酸溶液 /%	流速 / $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$
0.00	2	98	0.5
25.00	2	98	0.5
25.01	5	95	1.5
35.00	5	95	1.5

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取经五氧化二

磷减压干燥至恒重的大泽米苷对照品适量,加水溶解,制成每  $1\ \text{mL}$  含大泽米苷  $20\ \mu\text{g}$  的溶液。

**2.2.3 样品溶液的制备** 精密量取渗滤液  $1\ \text{mL}$  置  $10\ \text{mL}$  量瓶中,加纯水稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜 ( $0.45\ \mu\text{m}$ ) 滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 线性关系考察** 分别精密吸取上述对照品溶液各  $5,10,15,20,25,35,45\ \mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以进样量  $X$  ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标,峰面积平均积分为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。大泽米苷在  $0.099\ 7 \sim 0.897\ \mu\text{g}$  线性关系良好,回归方程为  $Y = 12.496X$  ( $r = 1.000\ 0$ )。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取上述对照品溶液  $5\ \mu\text{L}$ ,连续进样 6 次,记录色谱峰的峰面积。大泽米苷的峰面积 RSD  $0.15\%$ ,表明仪器的精密度良好。

**2.2.6 重复性试验** 取批号为 20101113 的渗滤液 6 份,按上述方法进行制备并进行检测,记录各色谱峰的峰面积。大泽米苷峰面积 RSD  $1.6\%$ ,表明方法重复性良好。

**2.2.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液  $10\ \mu\text{L}$ ,分别于配制后的  $0,3,6,9,12,15,24,48,72,96,120\ \text{h}$  测定峰面积积分值,大泽米苷的  $24\ \text{h}$  及  $5\ \text{d}$  内峰面积的 RSD 分别为  $0.46\%$ ,  $0.56\%$ ,表明处理后的样品  $5\ \text{d}$  内稳定性良好。

**2.2.8 加样回收率** 精密吸取已测定含量的渗滤液 6 份,分别按样品含量的  $80\%$ ,  $100\%$ ,  $120\%$  精密加入大泽米苷对照品溶液,按同样的方法制备供试品溶液,在相同的色谱条件下,测定大泽米苷含量,计算回收率和 RSD,测得大泽米苷低、中、高 3 个浓度的平均回收率为  $101.1\%$ ,  $101.3\%$ ,  $99.9\%$ ;RSD 分别为  $0.97\%$ ,  $0.93\%$ ,  $0.38\%$ 。结果表明,该方法回收率良好。

**2.3 复方苦参注射液渗滤提取工艺条件的优化**

**2.3.1 试验设计** 以醋酸溶液浓度 ( $A$ )、用量 ( $B$ )、渗滤速度 ( $C$ ) 为考察因素,每个因素设置 3 个水平,见表 2。在平行操作条件下按照  $L_9(3^4)$  正交设计表进行试验。

**2.3.2 方法** 称取处方量药材(苦参  $1.4\ \text{kg}$ ,白土苓  $0.6\ \text{kg}$ ),用相应浓度的 4 倍量酸水浸泡  $24\ \text{h}$ ,按正交设计表相应流速渗滤,同时,以与渗滤速度等速的流速补加酸水至酸水用量与设计方案相同。收集渗滤液,按 **2.1.3**,**2.2.3** 项下方法制备样品溶液,检测渗滤液中总生物碱及大泽米苷含量,同时测定渗



表 2 复方苦参注射液渗漉提取工艺试验因素水平

水平	A 醋酸溶液浓度 /%	B 用量 /倍	C 渗漉速度 /mL · min <sup>-1</sup> · kg <sup>-1</sup>
1	0.5	5	2.75
2	0.8	6	3.50
3	1.0	8	5.00

漉液的含固量。以总生物碱含量、大泽米苷含量、总固量 3 个指标的综合评分对结果进行方差分析,结果见表 3。权重系数分别为 0.4,0.3,0.3,总分计算公式见式 1。方差分析结果见表 4。

$$Y = 0.4 \times 100A_i/A_{\max} + 0.3 \times 100B_i/B_{\max} + 0.3 \times C_i/C_{\max} \quad (1)$$

其中  $A_i$  为任意次试验的总生物碱提取量,  $A_{\max}$  为生物碱提取量的最大值,  $B_i$  为任意次试验的大泽米苷提取量,  $B_{\max}$  为大泽米苷提取量的最大值,  $C_i$  为任意次试验的总固量,  $C_{\max}$  为总固量的最大值。

表 3 复方苦参注射液渗漉提取工艺正交试验

试验号	总生物碱/g	大泽米苷/g	总固量/g	总分
1	20.70	4.384	330.48	93.14
2	20.48	4.703	340.01	95.41
3	19.94	4.988	364.36	98.07
4	19.78	4.327	309.04	89.28
5	20.78	4.610	333.15	94.87
6	19.58	4.905	368.23	97.19
7	20.59	4.400	305.36	90.98
8	20.18	4.636	356.43	95.77
9	17.65	4.898	367.55	93.38

表 4 复方苦参注射液渗漉提取工艺方差分析

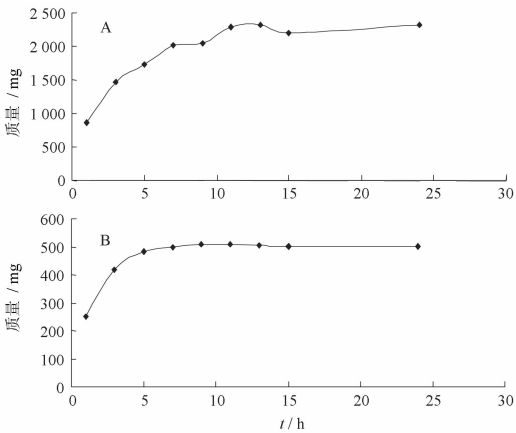
方差来源	总生物碱	大泽米苷	F	P
A	7.945 9	3.972 9	8.94	
B	44.364 9	22.182 4	49.91	<0.05
C	11.493 7	5.746 9	12.93	
误差	0.888 9	0.444 4		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ ,  $f = 2$ 。

方差分析显示,除 B 因素外其他因素对复方苦参注射液的提取效果均无显著影响,综合以上 3 个指标的极差分析结果,优选出的最佳工艺为  $A_1B_3C_3$ ,但由于 0.5% 醋酸容易长菌,且 A 因素各水平间无显著差异,而 B 因素的 2,3 水平间亦无显著差异,故本着安全、节约的目的,调整渗漉工艺为  $A_2B_2C_3$ 。即 0.8 % 醋酸,6 倍量,渗漉流速  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.4 浸泡时间考察

称取处方量药材 200 g(苦参 140 g,白土苓 60 g),加入 4 倍量 0.8% 醋酸。分别于 1,3,5,7,9,11,13,15,24 h 移取 10 mL 浸泡液,同时补加等量新鲜浸泡液,见图 1。



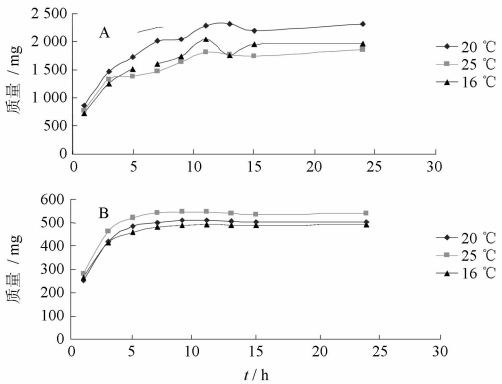
A. 总生物碱;B. 大泽米苷。

图 1 生物碱及大泽米苷浸泡过程溶出平衡曲线

结果显示,浸泡时间为 11 h 时总生物碱的溶出即可达到平衡,而大泽米苷达到溶出平衡仅需 9 h。考虑到渗漉的时间较长,故浸泡时间可定为 9 h。

2.5 温度对浸泡效果的影响

称取处方量药材 200 g(苦参 140 g,白土苓 60 g),加入 4 倍量 0.8% 醋酸分别于 16,20,25 °C 环境下浸泡,于 1,3,5,7,9,11,13,15,24 h 移取 10 mL 浸泡液,同时补加等量新鲜浸泡液。每个温度条件下平行操作 3 份,见图 2。



A. 总生物碱;B. 大泽米苷。

图 2 不同温度下生物碱及大泽米苷浸泡过程溶出曲线

结果显示,在 16 ~ 25 ℃ 时,温度对总生物碱及大泽米苷的浸出没有显著影响,即目前生产条件下不必因季节变换而对产品的浸泡时间做出调整。

2.5 醇沉工艺优化

将按优选工艺提取的药液浓缩至相对密度 (60 ℃) ≥ 1.10,量取 3 份,每份 800 mL,另量取 3 份同体积浓缩液,旋转蒸发浓缩至相对密度

1.20。分别加乙醇使其沉淀,使含醇量达到 60%,冷藏 36 h,过滤,滤液浓缩至相对密度 ≥ 1.20,加入乙醇使含醇量达到 80%,冷藏 24 h,过滤,滤液浓缩至相对密度 ≥ 1.20,加入乙醇使含醇量达到 90%,冷藏 24 h,过滤。每份样品每次醇沉后都留样检测生物碱、大泽米苷含量及总固量,见表 5。

表 5 浸膏密度对醇沉效果的影响

相对密度		第 1 次醇沉/g			第 2 次醇沉/g			第 3 次醇沉/g		
		总生物碱 × 10 <sup>3</sup>	大泽米苷 × 10 <sup>3</sup>	总固量 × 10 <sup>3</sup>	总生物碱 × 10 <sup>3</sup>	大泽米苷 × 10 <sup>3</sup>	总固量 × 10 <sup>3</sup>	总生物碱 × 10 <sup>3</sup>	大泽米苷 × 10 <sup>3</sup>	总固量
≥ 1.10	1	18.03	1.98	146.75	16.64	1.65	91.66	15.59	1.36	70.51
	2	19.06	2.05	149.29	16.85	1.66	89.35	15.68	1.26	66.61
	3	19.36	2.05	150.83	17.09	1.65	89.42	15.56	1.23	66.06
≥ 1.20	1	20.04	2.05	131.12	16.58	1.30	72.03	13.56	0.83	53.12
	2	19.93	2.06	129.20	16.19	1.25	78.56	13.95	0.86	54.52
	3	19.84	2.04	129.11	15.52	1.01	73.48	13.77	0.75	48.91

结果显示,降低一次醇沉时的浸膏密度,有利于有效成分的保留。虽然一次醇沉后浸膏相对密度低者生物碱含量较相对密度高者略低,但可降低生物碱在后两次醇沉过程中的损失。

2.5.2 醇沉次数考察 将按优选工艺提取的药液浓缩至相对密度 (60 ℃) ≥ 1.10,量取 3 份,每份 800 mL,经两次醇沉(醇沉浓度依次为 60%,90%);另量取 3 份同体积浓缩液,经 3 次醇沉(醇沉浓度依次为 60%,80%,90%)。两种工艺所得样品的成分分析见图 3。

碱及大泽米苷的含量占总固型物的 33%,而醇沉 2 次仅占 24%。表明醇沉 3 次更有利于产品精制。

2.6 活性炭脱色工艺研究

2.6.1 试验设计 以活性炭用量(A)、加热温度(B)、加热时间(C)为考察因素,每个因素设置 3 个水平,见表 6。在平行操作条件下按照 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交设计表进行试验,以总生物碱、大泽米苷、脱色率、不溶性微粒及含固量为评价指标,优选最佳脱色工艺。结果见表 7。

表 6 活性炭脱色工艺因素水平

水平	A	B	C
	活性炭用量 /%	温度 /℃	时间 /min
1	4	60	20
2	6	75	30
3	8	85	50

2.6.2 结果分析 以总生物碱含量、大泽米苷含量、含固量及脱色率 4 个指标的综合评分对结果进行方差分析,结果见表 8。权重系数分别为 0.4, 0.2, 0.2, 0.2,总分计算公式见式 2。

$$Y = 0.4 \times 10A/A_{\max} + 0.2 \times 100B/B_{\max} + 0.2 \times C/C_{\max} + 0.2 \times D/D_{\max}$$
 (2)

其中 A<sub>i</sub> 为任意次试验的总生物碱提取量, A<sub>max</sub> 为生物碱提取量的最大值, B<sub>i</sub> 为任意次试验的大泽

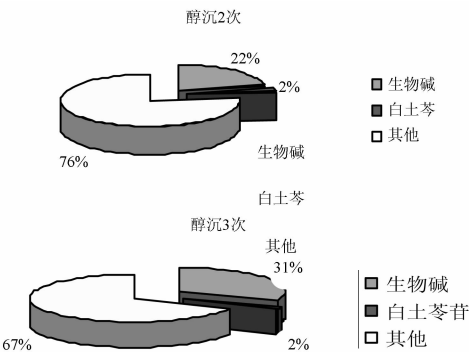


图 3 醇沉 2 次和 3 次样品分析

(醇沉 2 次及醇沉 3 次总固量分别为 60.86 g, 57.66 g)

结果显示,醇沉 3 次较醇沉 2 次能够更好地脱除杂质,且有效成分保留率更高。醇沉 3 次总生物

表 7 活性炭脱色工艺正交试验结果

No.	总碱 /g	大泽米苷 /g	脱色率 /%	含固量 /g	总分
1	3.86	0.52	14.02	19.97	0.88
2	3.59	0.53	16.88	18.87	0.87
3	3.52	0.54	8.98	20.45	0.82
4	3.79	0.53	17.18	21.14	0.91
5	3.66	0.53	17.52	20.19	0.89
6	3.85	0.53	18.02	21.14	0.92
7	3.84	0.52	25.76	18.66	0.95
8	3.73	0.52	26.21	20.36	0.96
9	3.48	0.53	28.23	18.74	0.93

表 8 活性炭脱色工艺方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	124.18	62.09	29.93	<0.05
B	6.49	3.24	1.56	
C	16.36	8.18	3.94	
误差	4.15	2.07		

注： $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ ,  $f=2$ 。

米苷提取量,  $B_{\max}$  为大泽米苷提取量的最大值,  $C_i$  为任意次试验的总固量,  $C_{\max}$  为总固量的最大值,  $D_i$  为任意次试验的脱色率,  $D_{\max}$  为脱色率的最大值。

综合上述方差分析结果及参考指标,最终确定故优化后的工艺为  $A_2B_1C_1$ , 即活性炭用量为 6‰, 加热温度为 60 ℃, 加热时间为 20 min。

3 讨论

为了规范生产工艺,细化工艺技术参数,为做大做强中药大品种服务,本文在前期大量的实际生产和 20 多批中试研究的基础上,对关键生产工艺进行了系统考察。如醋酸质量浓度在 0.5% ~ 1.0% 时,浓度越低生物碱溶出量越大,但考虑到 0.5% 醋酸

抑菌效果较差,故选择醋酸浓度为 0.8%,一方面可降低醋酸的用量,降低成品中酸不溶性灰分的含量,另一方面也节约了生产成本。

通过对浸泡过程中总生物碱及大泽米苷含量溶出过程的研究,确定了浸泡时间,较现有生产工艺大幅度缩短了产品生产周期;同时还明确了在 16 ~ 25 ℃ 时,温度对成分溶出无显著性影响。

通过对渗漉条件进行了优化,较原工艺提高了提取效率,减少了盐分等杂质的含量,而且还保证了有效成分的提取率。

在醇沉过程中一次醇沉过程中有效成分损失较大,虽然降低浸膏密度能提高有效成分的保留率,但效果并不明显,分析可能的原因应该由于提取液中大量的黏液质、果胶等成分使得醇沉过程中有效成分被沉淀包裹而发生共沉降;同时发现降低第一次醇沉时加入乙醇的浓度有利于缓解有效成分的共沉降。因此在生产过程中可适当降低加入乙醇的浓度,并控制乙醇的加入速度,同时应尽量搅拌均匀,使乙醇能迅速分散。

活性炭不仅能脱色而且还能脱除热源、减少不溶性微粒,故而在注射液生产中普遍使用。在本试验中活性炭用量在 4‰ ~ 8‰ 对有效成分的吸附量均较低,同时发现温度对脱色效果影响较大。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂. 第 14 册,1995,WS3-B-2752-97.  
[2] 田娟,王维皓,高慧敏,等. HPLC 测定复方苦参注射液中苦参碱、槐定碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国中药杂志,2007,32(2): 222.



## Studies on key processes of Fufang Kushen injection

LIU Xiaoqian<sup>1,2</sup>, WANG Jinyu<sup>1,2</sup>, TONG Yan<sup>1,2</sup>, WANG Ruizhen<sup>3</sup>, ZHANG Yanxia<sup>3</sup>, WANG Zhimin<sup>1, 2\*</sup>, ZHANG Qiwei<sup>1,2</sup>

(1. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*

2. *National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing, 100700, China;*

3. *Zhendong Pharmaceutical Co., Ltd., Changzhi 049100, China*)

[**Abstract**] **Objective:** To study the key processes of Fufang Kushen injection for technical upgrading. **Method:** Total alkaloids (sum of matrine, oxymatrine, sophoridine and oxysophoridine) and macrozamin were selected as quality evaluation markers. The key processes of percolation with acetic acid and discoloration with activated carbon were optimized by orthogonal experiment design, and process of purification with alcohol was investigated by single factor method. **Result:** The optimal condition of percolation process is as follows: the medicinal materials are soaked for 9 h with 4 times water containing 0.8% acetic acid, then percolation starts at flow-rate of  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$  and adding 2 times 0.8% acetic acid solution is added at the same velocity. Purification process is that the concentrated solution is precipitated by 60%, 80% and 90% alcohol in turn. Discoloration process is that 6 activated carbon is added into the solution which is heated at 60 °C for 20 minutes. **Conclusion:** The optimal extraction process is not only simple, saving the industrial cycle, reducing the potential risk, but also decreasing the acetic acid amount to guarantee the acid-insoluble ash as well as the functional ingredients.

[**Key words**] Fufang Kushen injection; percolation process; alcohol-purification; orthogonal design; alkaloids; macrozamin; HPLC

doi:10.4268/cjcmm20110602

[责任编辑 马超一]