

·中药研究·

# 新生脉散片的提取工艺研究\*

刘建海,崔维利,陈涛,孟萌

**摘要:**[目的] 优选新生脉散片的提取工艺。[方法] 以紫丁香苷含量和黄芪甲苷含量为考察指标,采用正交实验法,优选新生脉散片的提取工艺。[结果] 最佳提取工艺为:加10倍量水,提取3次,每次1.5 h。[结论] 该工艺稳定可行,适用于新生脉散片的提取。

**关键词:** 新生脉散片;提取工艺;紫丁香苷;黄芪甲苷

**中图分类号:** R284.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-9043(2013)01-0032-04

新生脉散片具有益气、活血、利水的功效,临床用于治疗气虚血瘀水停证。全方由刺五加、黄芪、党参、丹参等9味中药材组成,方中君药刺五加,功能益气健脾,补肾安神,主含紫丁香苷等成分;黄芪功能补气固表,利尿托毒,主含黄芪甲苷等成分<sup>[1]</sup>。为保证药物疗效和有效成分的提取效果,实验中参考有关文献<sup>[2-9]</sup>,采用正交实验法,以紫丁香苷含量和黄芪甲苷含量为考察指标进行综合评价,优选新生脉散片的提取工艺。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,配备 Waters ACQUITY PDA 二极管阵列检测器,四元溶剂管理器,自动进样恒温管理器,Empower III 色谱工作站);Waters 600E HPLC 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,配备 Waters 2420 蒸发光散射检测器,Waters 600E 四元高压泵,Waters In-Line 脱气机,Empower II 色谱工作站);AG135 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);DZKW-S-6 型电热恒温水浴锅(北京永光明医疗仪器厂)。

**1.2 试剂** 紫丁香苷对照品(批号 111574-200603)、黄芪甲苷对照品(批号 110781-200109),均购自中国

药品生物制品检定所;方中药材购自安徽亳州药材公司,经鉴定均符合中国药典 2010 年版一部要求;乙腈(色谱纯,美国 Dikma 公司);磷酸(色谱纯,天津科密欧公司);正丁醇(天津市化学试剂批发公司);氨水(天津市化学试剂批发公司);水为自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 正交实验设计** 根据文献资料及预实验结果,影响有效成分提取效果的主要因素为加水量(A)、提取时间(B)、提取次数(C)。实验中对上述每个因素设计 3 个水平,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验表,对新生脉散片的提取工艺进行优选,因素水平见表 1。

表 1 因素与水平

水平	A(加水量/倍)	B(提取时间/h)	C(提取次数/次)	空白
1	8	1	1	-
2	10	1.5	2	-
3	12	2	3	-

**2.2 考察指标及评分方法** 采用紫丁香苷含量和黄芪甲苷含量为考察指标,各占 50%加权计算综合评分,对新生脉散片的提取工艺进行综合评价。按下式计算综合评分。综合评分=(紫丁香苷含量/最大紫丁香苷含量)×50%×100+(黄芪甲苷含量/最大黄芪甲苷含量)×50%×100。

## 2.3 紫丁香苷的含量测定

**2.3.1 色谱条件** Waters ACQUITY UPLC BEN C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相:乙腈-水-磷酸(5:95:0.4);流速:0.2 mL/min;进样量:1 μL;检测波长:265 nm;柱温:30 ℃。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 精密称取经五氧化二磷

\*基金项目:国家重大新药创制科技重大专项项目(2010ZX09102-202)。

作者单位:300193 天津中医药大学(刘建海)  
300193 天津中医药大学第一附属医院(崔维利,陈涛,孟萌)

作者简介:刘建海(1982—),男,硕士研究生,研究方向为中药分析与质量控制。

通讯作者:崔维利,E-mail: cuiweli@shitian.com。

减压干燥器中干燥 12 h 的紫丁香苷对照品 10.00 mg, 加甲醇溶解并定容至 50 mL, 即得 0.200 g/L 的对照品贮备溶液。分别精密量取对照品贮备溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 加甲醇稀释并定容至 10 mL, 分别精密吸取上述溶液及对照品贮备溶液各 1  $\mu$ L, 依次注入超高效液相色谱仪, 按“2.3.1”项色谱条件测定, 以峰面积值为纵坐标, 对照品的浓度(g/L)为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为:  $\hat{Y}=1.43 \times 10^7 X-5.55 \times 10^4$ ,  $r=0.999 8(n=6)$ 。结果表明, 紫丁香苷在 0.020~0.200 g/L 浓度范围内呈良好的线性关系。

**2.3.3 对照品溶液的制备** 精密称取紫丁香苷对照品适量, 加甲醇溶解并配制成 0.080 g/L 的溶液, 过 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜, 取续滤液作为对照品溶液。

**2.3.4 供试品溶液的制备** 取新生脉散片处方中各药材共 9 份, 按正交实验表中的条件, 分别加水回流提取, 合并水提液, 静置, 滤过, 浓缩至每 1 mL 相当于 1 g 原生药材的流浸膏, 精密量取 10 mL, 用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 精密量取正丁醇液 40 mL 备用, 其余正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL, 过 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.3.5 阴性供试品溶液的制备** 取处方中除刺五加外其余药物按“2.3.4”项制备方法, 制成刺五加阴性供试品溶液。

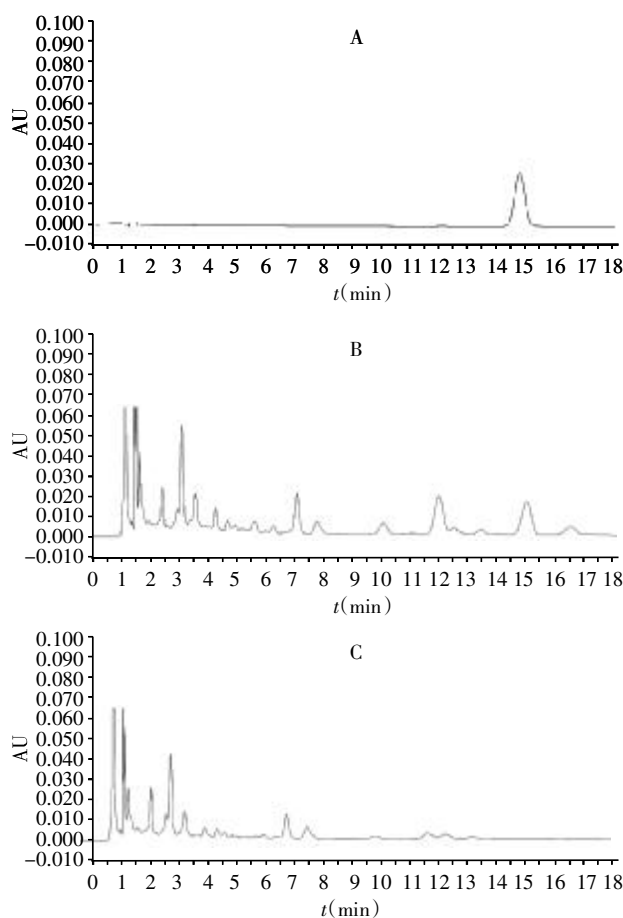
**2.3.6 专属性实验** 分别精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 1  $\mu$ L, 注入超高效液相色谱仪, 按“2.3.1”项色谱条件测定, 阴性供试品色谱中, 在与紫丁香苷对照品峰相应的位置上无干扰峰, 结果见图 1。

**2.3.7 样品含量测定** 分别精密吸取“2.3.4”项下制备的供试品溶液各 1  $\mu$ L, 依次注入超高效液相色谱仪, 按“2.3.1”项色谱条件测定, 计算紫丁香苷的含量。

## 2.4 黄芪甲苷的含量测定

**2.4.1 色谱条件** Waters Sunfire TM C18 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5.0  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-水(35:65); 流速: 1 mL/min; 进样量: 10  $\mu$ L; 柱温: 35  $^{\circ}$ C; 蒸发光散射检测器参数: 漂移管温度为 65  $^{\circ}$ C, 载气压力为 35 kPa。

**2.4.2 标准曲线的绘制** 精密称取黄芪甲苷对照品 12.00 mg, 加甲醇溶解并定容至 50 mL, 即得 0.240 g/L 的对照品贮备溶液。分别精密量取对照品贮备溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 加甲醇稀释并



A: 对照品溶液; B: 供试品溶液; C: 阴性供试品溶液

图 1 紫丁香苷超高效液相色谱图

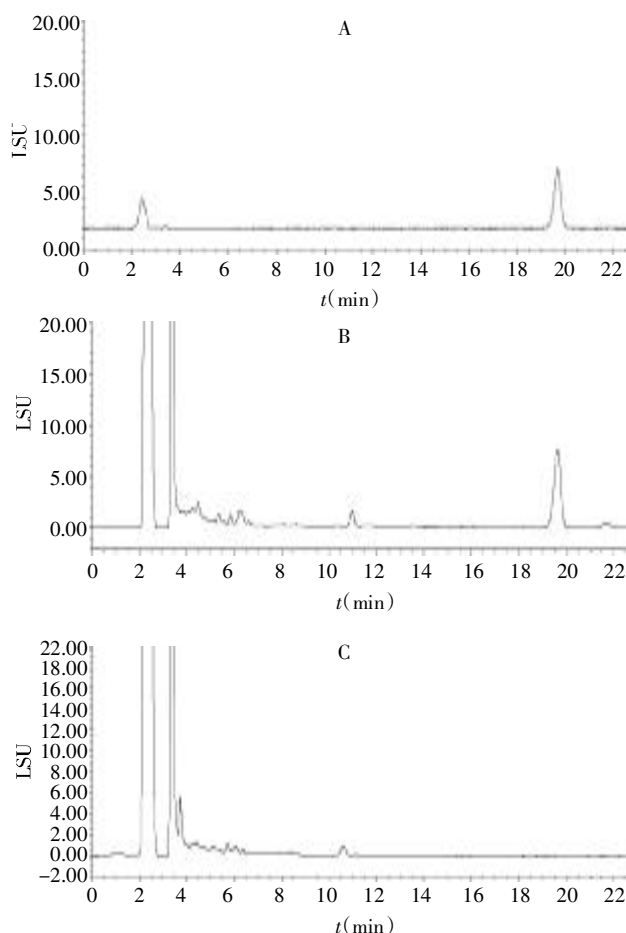
定容至 10 mL, 分别精密吸取上述溶液及对照品贮备溶液各 10  $\mu$ L, 依次注入高效液相色谱仪, 按“2.4.1”项色谱条件测定, 以峰面积的对数值为纵坐标, 对照品浓度(mg/mL)的对数值为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为:  $\hat{Y}=1.23X+6.17$ ,  $r=0.999 7(n=6)$ 。结果表明, 黄芪甲苷在 0.024~0.240 g/L 浓度范围内, 对照品浓度的对数值与峰面积的对数值呈良好的线性关系。

**2.4.3 对照品溶液的制备** 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇溶解并配制成 0.120 g/L 的溶液, 过 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜, 取续滤液作为对照品溶液。

**2.4.4 供试品溶液的制备** 取“2.3.4”项下备用的正丁醇液, 用氨试液充分洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去氨试液, 正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL, 过 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.4.5 阴性供试品溶液的制备** 取处方中除黄芪外其余药物按“2.4.4”项制备方法, 制成黄芪阴性供试品溶液。

**2.4.6 专属性实验** 分别精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按“2.4.1”项色谱条件测定,阴性供试品色谱中,在与黄芪甲苷对照品峰相应的位置上无干扰峰,结果见图 2。



A:对照品溶液;B:供试品溶液;C:阴性供试品溶液  
图 2 黄芪甲苷高效液相色谱图

**2.4.7 样品含量测定** 分别精密吸取“2.4.4”项下制备的供试品溶液各 10 μL,依次注入高效液相色谱仪,按“2.4.1”项色谱条件测定,计算黄芪甲苷的含量。

**2.5 干膏率的测定** 精密量取水提液 50 mL,置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 干燥 3 h,移置干燥器中冷却 30 min,取出后迅速称定质量,按下式计算干膏率。干膏率(%)=(干浸膏质量药材质量)×100%。

**2.6 正交实验结果** 以紫丁香苷含量和黄芪甲苷含量为考察指标进行综合评价,正交实验结果见表 2,方差分析结果见表 3。

表 2 正交实验结果

实验号	因素				考察指标		综合评分
	A	B	C	D	紫丁香苷(μg/mL)	黄芪甲苷(μg/mL)	
1	1	1	1	1	44.4	69.7	47.6
2	1	2	2	2	71.8	149.6	87.5
3	1	3	3	3	74.5	127.8	82.9
4	2	1	2	3	64.4	129.5	77.1
5	2	2	3	1	80.2	175.1	100.0
6	2	3	1	2	61.9	93.4	65.3
7	3	1	3	2	67.9	140.6	82.4
8	3	2	1	3	56.3	108.4	66.1
9	3	3	2	1	80.2	160.7	95.9
$K_1$	72.667	69.033	59.667	81.167			
$K_2$	80.800	84.533	86.833	78.400			
$K_3$	81.467	81.367	88.433	75.367			
R	8.8	15.5	28.766	5.8			

表 3 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P 值
A	144.036	2	2.852	19	
B	402.389	2	7.969	19	
C	1 568.109	2	31.054	19	<0.05
D 误差	50.500	2			

注:  $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

表 2 分析结果表明,各因素对紫丁香苷含量和黄芪甲苷提取效果的影响顺序为 C>B>A,即提取次数>提取时间>加水量,因此,提取次数在新生脉散片的提取工艺中影响最大。表 3 分析结果表明,提取次数对提取效果的影响有统计学意义( $P<0.05$ ),提取时间、加水量对提取效果的影响无统计学意义。综合直观分析和方差分析,同时考虑提高效率及节约能源等因素,优选提取工艺的最佳水平为  $A_2B_2C_3$ ,即:处方药材加 10 倍量水,提取 3 次,每次 1.5 h。

**2.7 验证正交实验** 按正交实验确定的最佳工艺条件提取 3 批样品,分别测定紫丁香苷含量、黄芪甲苷含量、干膏率,结果见表 4。

表 4 验证实验结果

编号	紫丁香苷(μg/mL)	黄芪甲苷(μg/mL)	干膏率(%)
1	80.5	175.3	32.59
2	81.1	178.4	32.87
3	81.3	179.6	33.15

验证正交实验结果表明,该提取工艺条件稳定可行,重现性好。因此新生脉散片的最佳提取工艺

为:处方药材加10倍量水,提取3次,每次1.5h。

### 3 讨论

新生脉散具有益气、活血、利水的功效,是中医治疗气虚血瘀水停证的常用方剂,原方以水为溶媒,采用汤剂形式应用于临床疗效显著。新生脉散片是在原方基础上开发的新剂型,在保证原方疗效的同时,又具有服用量小、服用方便、口感改善、便于保存等优点。

刺五加和黄芪均为方中君药,紫丁香苷、黄芪甲苷为方中君药的主要有效成分。因此,为保证全方中主要有效成分的提取效果,以紫丁香苷和黄芪甲苷含量各占50%加权,计算综合评分,作为提取工艺的考察指标;干膏率是确定制剂规格的重要参数,但由于不参与对疗效的贡献,所以在验证正交实验中对其进行考察。

实验中紫丁香苷及黄芪甲苷的供试品溶液制备方法均为液液提取法,该方法可以实现对紫丁香苷及黄芪甲苷的提取,而采用碱性的氨试液洗涤,可以进一步富集黄芪总皂苷,提高黄芪甲苷转化率,最终提高黄芪甲苷含量。所建立的供试品溶液制备方法,在保证提取效果的前提下,简化了操作步骤,便于在实际工作中使用。

实验中采用超高效液相色谱(UPLC)法测定紫丁香苷的含量,UPLC法较高效液相色谱(HPLC)法更加简便快速,能得到更高的分析灵敏度,减少有

机溶剂的消耗。采用二极管阵列检测器测定黄芪甲苷的含量时,检测效果不理想;而采用蒸发光散射检测(ELSD)器测定时,对照品峰面积的对数值与浓度的对数值呈良好的线性关系。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版(一部)[S].北京:化学工业出版社,2010:192,283.
- [2] 阎雪梅,贾凡.扶肾颗粒制备工艺研究[J].天津中医药大学学报,2011,30(4):234-237.
- [3] 李康,李柯,陈丹,等.刺蓝抗疲劳口服液提取工艺的研究[J].中国实用医药,2011,6(15):32-34.
- [4] 郭美华.刺五加的水提取工艺[J].黑龙江医药,2011,24(1):90-92.
- [5] 尹华,张春霞,章建华,等.芪参健骨颗粒的提取工艺研究[J].中国现代应用药学,2011,28(12):1106-1109.
- [6] 贾媛,恽菲,常星洁.多指标优选芪葵颗粒提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(20):27-29.
- [7] 姜文红,刘静,仲昭庆,等.HPLC法同时测定刺五加浸膏中3种有效成分的含量[J].药物分析杂志,2010,30(6):1145-1147.
- [8] 马志平,陈涛,李进,等.丹芪偏瘫胶囊中间体的HPLC/DAD/ELSD指纹图谱研究[J].天津中医药大学学报,2009,28(4):198-200.
- [9] 张新建,郭美华,刘世萍.高效液相色谱-蒸发光散射检测器测定安神益心液中黄芪甲苷的含量[J].中国药物与临床,2011,11(8):919-920.

(收稿日期:2012-11-21)

### Optimization of the extract process of New Shengmaisan tablet

LIU Jian-hai<sup>1</sup>, CUI Wei-li<sup>2</sup>, CHEN Tao<sup>2</sup>, MENG Meng<sup>2</sup>

(1.Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2.The First Affiliated of Hospital  
Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the optimal extract process of New Shengmaisan tablet. [Methods] Taking the content of syringin and astragaloside IV as the index, the optimal extract process was studied by the orthogonal experiment. [Results] The optimal extract process was follows: 10 times of water were added, then it was extracted for 3 times and each time for 1.5 h. [Conclusion] The optimal extract process is stable, practical and suitable for the extraction of New Shengmaisan tablet.

**Key words:** New Shengmaisan tablet; extract process; syringin; astragaloside IV