

# 正交试验法优选生脉分散片的提取纯化工艺

朱志军\*, 陈耀升, 张楠楠, 蒋亚超, 苏晓凯  
(河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:** 优选生脉分散片的提取纯化工艺。**方法:** 以提取物中人参皂苷  $R_{g_1}$ ,  $R_e$  含量及浸膏得率的综合评分为指标, 采用正交试验考察乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间对提取工艺的影响; 采用壳聚糖絮凝沉降法, 通过正交试验考察提取液浓缩程度、壳聚糖用量、静置时间对纯化工艺的影响。**结果:** 最佳提取工艺为加 8 倍量 85% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h; 人参皂苷  $R_{g_1}$ ,  $R_e$  质量分数分别为 0.251%, 0.074%。最佳纯化工艺为提取液生药质量浓度  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 壳聚糖用量 10%, 静置时间 12 h; 人参皂苷  $R_{g_1}$ ,  $R_e$  质量分数分别为 0.394%, 0.116%。**结论:** 优选的提取纯化工艺稳定合理, 为生脉分散片的剂型改革提供参考。

**[关键词]** 生脉分散片; 人参皂苷  $R_{g_1}$ ; 人参皂苷  $R_e$ ; 浸膏得率; 正交试验; 单因素试验  
**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0041-04  
**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110041  
**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1613.028.html>  
**[网络出版时间]** 2014-03-24 16:13

## Optimization of Extraction and Purification Processes for Shengmai Dispersible Tablets by Orthogonal Test

ZHU Zhi-jun\*, CHEN Yao-sheng, ZHANG Nan-nan, JIANG Ya-chao, SU Xiao-kai  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction and purification processes of Shengmai dispersible tablets. **Method:** Taking composite score of contents of ginsenoside  $R_{g_1}$ ,  $R_e$  and yield of extract as index, orthogonal design was adopted to investigate effects of ethanol concentration, solid-liquid ratio, extracting time on extraction process; Chitosan flocculation sedimentation method was employed, orthogonal test was adopted to optimize purification technology with concentration degree of extracting solution, dosage of chitosan, standing time as factors. **Result:** The best extraction process was as follows: extracted thrice with eight times the amount of 85% ethanol for 2 h each time; contents of ginsenoside  $R_{g_1}$  and  $R_e$  were 0.251% and 0.074%. Optimum purification process was as following: the concentration of extracting solution  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , dosage of chitosan 10%, standing time for 12 h; contents of ginsenoside  $R_{g_1}$  and  $R_e$  were 0.394% and 0.116%. **Conclusion:** This optimized process was stable and feasible for providing a reference to dosage-form reformation of Shengmai dispersible tablets.

**[Key words]** Shengmai dispersible tablets; ginsenoside  $R_{g_1}$ ; ginsenoside  $R_e$ ; yield of extract; orthogonal test; single factor test

生脉分散片处方源自中医益气养阴的著名古方生脉散, 由红参、麦冬、五味子组成, 常用于治疗气

阴两亏、心悸气短、脉微自汗等症, 临床疗效确切<sup>[1-2]</sup>。生脉散的常用剂型为口服液和注射液, 前者

**[收稿日期]** 20130917(002)

**[基金项目]** 河南中医学院研究生创新项目(2012YCX001)

**[第一作者]** 陈耀升, 硕士, 初级药师, 从事中药复方新技术和新剂型研究, Tel: 13949061097, E-mail: luckycys2010@163.com

**[通讯作者]** \* 朱志军, 硕士, 副主任药师, 从事中药复方新技术和新剂型研究, Tel: 0371-65996501, E-mail: zzjun63@126.com

存在携带不方便的缺点,后者不良反应较多,在一定程度上限制了其推广使用<sup>[3]</sup>。分散片系指在水中能迅速崩解并均匀分散的片剂,将生脉制剂制备成分散片不仅能提高生物利用度,还能明显降低不良反应的发生率。本实验以人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 含量及浸膏得率为指标,采用正交试验优选生脉分散片的提取纯化工艺,为患者提供便于携带和服用的新制剂。

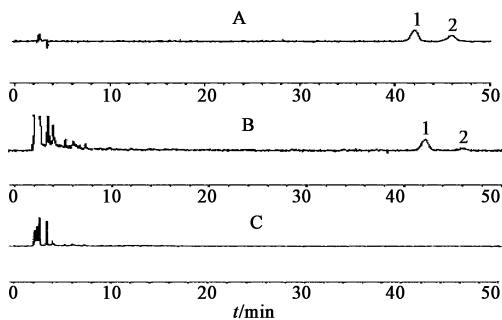
### 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BP-210S 型电子分析天平(德国赛多利斯天平有限公司), PTHW 型调温电热套(巩义英峪予华电热仪器厂)。红参(产地吉林)、麦冬(产地四川)、五味子(产地辽宁)均购自河南中原正信药材有限责任公司,经河南中医学院药学院陈随清教授分别鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的栽培品经蒸制后的干燥根和根茎,百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f) Ker-Gawl. 的干燥块根,木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实。人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110703-201027, 110811-201035), 甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 的含量测定

**2.1.1 色谱条件**<sup>[4]</sup> Diamonsil C<sub>18</sub>(L) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸水溶液(19.5:80.5), 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 检测波长 203 nm, 进样量 10 μL。理论板数按人参皂苷 R<sub>g1</sub> 峰计算不低于 6 000, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品;

1. 人参皂苷 R<sub>g1</sub>; 2. 人参皂苷 Re

图 1 生脉分散片提取液 HPLC

**2.1.2 对照品溶液的制备** 分别精密称定人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 对照品 0.715, 0.305 mg, 分别加甲醇制成 0.715, 0.305 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密吸取相当于红参

药材 1 g 的提取液(0.4 g·mL<sup>-1</sup>) 10 mL, 加水饱和和正丁醇萃取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇萃取液, 移入分液漏斗中, 用氨水洗涤 2 次, 每次 30 mL, 弃去氨水, 合并正丁醇液, 水浴挥干, 残渣加甲醇溶解并定容于 5 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

**2.1.4 标准曲线制备** 分别精密吸取人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μL, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得回归方程分别为  $Y = 376\ 521X - 3\ 481.4$  ( $r = 0.999\ 8$ ),  $Y = 514\ 069X + 1\ 473.2$  ( $r = 0.999\ 8$ ), 线性范围分别为 1.43 ~ 7.15, 0.61 ~ 3.05 μg。

**2.1.5 精密度试验** 精密量取人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 对照品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次, 结果人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 峰面积的 RSD 分别为 0.61%, 0.88%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 取生脉提取液, 依 2.1.3 项下方法制备供试品溶液 6 份, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 峰面积的 RSD 分别为 1.86%, 1.80%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取生脉提取液, 依 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 室温放置, 分别于 0, 3, 5, 7, 10, 12 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 峰面积的 RSD 分别为 0.63%, 0.74%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

**2.2 浸膏得率测定** 精密吸取样品液 10 mL, 置于已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 放入烘箱于 105 °C 干燥 3 h, 置于干燥器中冷却至室温, 迅速取出, 精密称定质量, 计算浸膏得率。

**2.3 正交试验设计** 选择乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间为考察因素, 通过正交试验优选提取工艺, 因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。采用壳聚糖絮凝沉降法, 选择提取液浓缩程度、壳聚糖用量、静置时间为考察因素, 通过正交试验优选纯化工艺, 因素水平见表 4, 试验安排及结果见表 5, 方差分析见表 6。以人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re 质量分数及浸膏得率的综合评分为指标, 赋予加权值分别为 40, 40, 20。

表 1 生脉分散片提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 溶剂用量 /倍	C 提取时间 /h
1	65	6	1.0
2	75	8	1.5
3	85	10	2.0

表2 生脉分散片提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	浸膏得率/%	人参皂苷 R <sub>g1</sub> /%	人参皂苷 R <sub>e</sub> /%	综合评分
1	1	1	1	1	22.60	0.146	0.043	76.36
2	1	2	2	2	25.90	0.193	0.058	97.97
3	1	3	3	3	28.90	0.200	0.065	106.62
4	2	1	2	3	23.67	0.212	0.06	100.74
5	2	2	3	1	20.84	0.232	0.067	106.36
6	2	3	1	2	17.65	0.209	0.057	92.60
7	3	1	3	2	20.71	0.258	0.074	115.64
8	3	2	1	3	14.95	0.238	0.064	100.07
9	3	3	2	1	16.84	0.231	0.069	103.72
K <sub>1</sub>	280.95	292.74	269.03	286.44				
K <sub>2</sub>	299.70	304.40	302.43	306.21				
K <sub>3</sub>	319.43	302.94	328.62	307.43				
R	38.48	10.20	59.59	20.99				

表3 提取工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	246.838	2	123.419	2.667	>0.05
B	26.903	2	13.452	0.291	>0.05
C	594.716	2	297.358	6.426	<0.05
D(误差)	92.547	2	46.273		

注:  $F_{0.05}(2,18) = 3.55$ ,  $F_{0.01}(2,18) = 6.01$ , 表6同。

表4 生脉分散片纯化工艺正交试验因素水平

水平	A 生药质量 浓度/g·mL <sup>-1</sup>	B 壳聚糖 加入量/%	C 静置时间 /h
1	1.0	10	6
2	0.5	20	12
3	0.2	40	24

表5 生脉分散片纯化工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	浸膏得率/%	人参皂苷 R <sub>g1</sub> /%	人参皂苷 R <sub>e</sub> /%	综合评分
1	1	1	1	1	18.94	0.253	0.063	112.20
2	1	2	2	2	18.39	0.250	0.060	108.84
3	1	3	3	3	16.84	0.20	0.050	90.88
4	2	1	2	3	19.10	0.237	0.059	106.58
5	2	2	3	1	18.24	0.230	0.058	103.66
6	2	3	1	2	17.44	0.225	0.054	98.93
7	3	1	3	2	19.34	0.217	0.049	95.88
8	3	2	1	3	18.55	0.214	0.047	92.99
9	3	3	2	1	17.88	0.210	0.045	90.08
K <sub>1</sub>	311.92	314.66	304.12	305.94				
K <sub>2</sub>	309.17	305.49	305.50	303.65				
K <sub>3</sub>	278.95	279.89	290.42	290.45				
R	32.97	34.77	15.08	15.49				

表 6 纯化工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F
A	223.092	2	111.546	4.787
B	216.489	2	108.245	4.645
C	46.333	2	23.167	0.994
D(误差)	46.603	2	23.301	

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $C > A > B$ ; 方差分析表明 C 因素具有显著性影响,确定最佳提取工艺为  $A_3B_2C_3$ ,即加 8 倍量 85% 乙醇提取 2 h。由直观分析可知,各因素对纯化工艺的影响为  $B > A > C$ ; 方差分析表明各因素均无显著性影响,得最佳工艺组合  $A_1B_1C_2$ ,即生药质量浓度  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,壳聚糖加入量 10%,静置 12 h。采用单因素试验考察提取数(1, 2, 3 次)对提取工艺的影响,计算质量分数人参皂苷  $R_{g_1}$  分别为 0.118%, 0.242%, 0.253%, 人参皂苷 Re 分别为 0.035%, 0.068%, 0.077%, 故确定提取数 2 次。

**2.4 验证试验** 按优选的工艺条件进行 3 次验证试验,结果提取液中平均出膏率 26.80%, RSD 1.71%, 人参皂苷  $R_{g_1}$  平均质量分数 0.251%, RSD 1.69%, 人参皂苷 Re 平均质量分数 0.074%, RSD 1.52%; 纯化样品的平均出膏率 17.07%, RSD 1.56%, 人参皂苷  $R_{g_1}$  平均质量分数 0.394%, RSD 1.72%, 人参皂苷 Re 平均质量分数 0.116%, RSD 1.65%, 表明优选的提取纯化工艺稳定可行。

### 3 讨论

文献报道影响人参皂苷类成分提取效率的因素

主要为方法、溶剂、时间、温度等<sup>[5]</sup>,结合方中主要有效成分的物理化学特性及影响工艺的显著性因素,最终选择乙醇为提取溶剂。通过查阅近期文献资料,纯化工艺选择壳聚糖絮凝沉降法<sup>[6]</sup>。色谱条件的选择参考了 2010 年版《中国药典》中红参、人参、生脉胶囊中人参皂苷的梯度洗脱条件及相关文献,通过对流动相中有机溶剂比例及缓冲盐作适当调整,最终显示检测条件良好<sup>[7]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 653.
- [2] 李飞, 尚炽昌, 邓中甲. 方剂学. 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社发行, 2002: 826.
- [3] 吴宝莹, 陆萍. 生脉饮不良反应分析[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(2): 272.
- [4] 胥秀英, 郑一敏, 傅善权, 等. HPLC 同时测定人参药材中 12 种人参皂苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(11): 1463.
- [5] 张晶, 陈全成, 弓晓杰, 等. 不同提取方法对人参皂苷提取率的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(1): 71.
- [6] 于蓓蓓, 闫雪生, 郭艳伟, 等. 正交试验法优选桑椹补脑膏的壳聚糖絮凝工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 37.
- [7] 马静, 李学林, 唐进法, 等. HPLC 测定不同厂家参麦注射液中人参皂苷  $R_{g_1}$  和 Re 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 79.

[责任编辑 刘德文]

## 欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究成果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,242 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx\_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。