

# 正交设计优选益心通脉合剂提取工艺

李圆圆<sup>1</sup>, 宋英<sup>2\*</sup>, 方芳<sup>1</sup>, 盛蓉<sup>2</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

**[摘要]** 目的: 优选益心通脉合剂的水提工艺。方法: 以丹参素钠、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量和干膏收率的综合评分为指标, 通过  $L_9(3^4)$  正交试验考察加水量、煎煮时间和煎煮次数对益心通脉合剂水提工艺的影响。采用 HPLC 测定丹参素钠、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量, 检测波长分别为 280, 260 nm。结果: 各因素对水提取工艺的影响顺序为提取次数 > 加水量 > 煎煮时间, 最佳水提工艺为加 15 倍量水煎煮 3 次, 每次 0.5 h; 丹参素钠和毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均提取量分别为 4.928, 0.399 5  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 适用于益心通脉合剂的规范化生产。

**[关键词]** 益心通脉合剂; 丹参素钠; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 正交试验; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0032-03

**[doi]** 10.11653/syfy2014040032

## Optimization of Extraction Technology for Yixin Tongmai Mixtures by Orthogonal Test

LI Yuan-yuan<sup>1</sup>, SONG Ying<sup>2\*</sup>, FANG Fang<sup>1</sup>, SHENG Rong<sup>2</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;

2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize water extraction process of Yixin Tongmai mixtures. **Method:** With contents of salvianic acid A sodium and calycosin-7-glucoside, yield of dry extract as indexes,  $L_9(3^4)$  orthogonal test was adopted to investigate effects of the amount of water, decocting time and times on extraction technology. HPLC was adopted to determine contents of salvianic acid A sodium and calycosin-7-glucoside with detection wavelength of 280 and 260 nm, respectively. **Result:** Effects of each factors on water extraction technology was in order of decocting times > the amount of water > extracting time, optimal extraction conditions were as follows: decocted 3 times with 15-fold water, 0.5 h each time; Under these conditions, average extracting amounts of salvianic acid A sodium and calycosin-7-glucoside were 4.928 and 0.399 5  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively. **Conclusion:** Optimized extraction process was stable and feasible, which was suitable for standardization production of Yixin Tongmai mixtures.

**[Key words]** Yixin Tongmai mixtures; salvianic acid A sodium; calycosin-7-glucoside; orthogonal test; HPLC

益心通脉合剂为我院临床经验方, 由黄芪、丹

参、薤白、川芎组成, 临床以传统汤剂服用多年, 具有滋阴润燥、活血化瘀、解毒利咽的功效, 用于治疗胸痹心痛、气虚血瘀、痰浊阻滞证, 症见心痛、胸闷、短气、痰喘、乏力等, 疗效显著。根据处方中各药味有效成分的理化性质, 拟定薤白、川芎加水提取挥发油, 药渣与丹参、黄芪加水煎煮。本实验以丹参素钠、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量及干膏收率为综合评价指标, 通过  $L_9(3^4)$  正交试验优选益心通脉合剂的

**[收稿日期]** 20130701(021)

**[基金项目]** 四川省科技支撑计划项目(2012SZ0188); 成都中医药大学附属医院基金项目(2012-PP-24)

**[第一作者]** 李圆圆, 在读硕士, 从事中药制剂研究, Tel: 028-87783257, E-mail: liyuan2908@qq.com

**[通讯作者]** \* 宋英, 教授, 主任中药师, 从事中药学研究, Tel: 028-87783735, E-mail: 806380106@qq.com

水提工艺,为该制剂的规范化生产提供技术参数。

## 1 材料

BP211D型电子分析天平(南京智拓仪器仪表有限公司),HP-1100型高效液相色谱仪(美国惠普)。毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-11042915,纯度 98%),丹参素钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110855-200809),甲醇、乙腈均为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

**2.1.1 丹参素钠** Welchrom-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.5%乙酸(12:88),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30℃,进样量 10 μL,检测波长 280 nm。理论板数按丹参素钠峰计算不低于 5 000,见图 1。

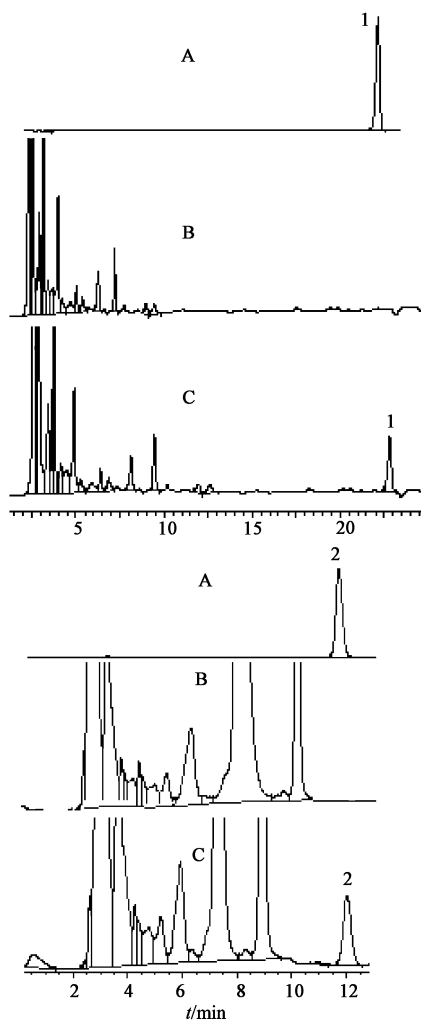
**2.1.2 毛蕊异黄酮葡萄糖苷** Welchrom-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.2%甲酸溶液(B)梯度洗脱(0~13 min, 13%~15% A; 13~23 min, 15%~20% A; 23~30 min, 20%~40% A; 30~40 min, 40% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30℃,进样量 10 μL,检测波长 260 nm。理论板数以毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰计算不低于 3 000,见图 1。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密吸取正交试验样品溶液 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

**2.3 线性范围考察** 精密称取丹参素钠对照品 13.34 mg 至 25 mL 量瓶中,加 20% 甲醇定容至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL 置于 25 mL 量瓶,另分别吸取 2, 3, 5, 10 mL 置 10 mL 量瓶中,加 20% 甲醇定容,摇匀,得系列对照品溶液,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  $Y = 645.16X + 2.1358$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 0.21344~5.336 μg。

精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品 20.08 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,精密吸取 0.5, 1, 3, 5, 15 mL 至 25 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,得系列对照品溶液,按 2.1.2 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  $Y = 2357.15X + 10.929$  ( $r = 0.9998$ ),线性范围 0.07872~2.3616 μg。

**2.4 正交试验优选** 选取加水量、提取时间及提取次数为考察因素,通过预试验确定各因素的水平,以



A. 对照品; B. 阴性样品; C. 供试品;  
1. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 2. 丹参素钠

图 1 益心通脉合剂 HPLC

丹参素钠、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量及干膏收率的综合评分为指标,权重系数分别为 0.4, 0.4, 0.2。按处方比例称取黄芪、丹参饮片及川芎、薤白药渣共 60 g,称取 9 份,按  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,提取液液定容至 300 mL,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 益心通脉合剂水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/min	C 提取数/次
1	5	30	1
2	10	60	2
3	15	90	3

由直观分析可知,各因素对水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,A, B 因素则无显著性差异,综合生产成本考虑,确定最佳水提工艺条件为  $A_3B_1C_3$ ,即加 15 倍量

表 2 益心通脉合剂水提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	丹参素钠 /mg·g <sup>-1</sup>	毛蕊异黄酮葡萄糖苷 /mg·g <sup>-1</sup>	干膏收率 /%	综合评分
1	1	1	1	1	1.328	0.082 5	24.89	28.05
2	1	2	2	2	2.91	0.231	38.61	58.88
3	1	3	3	3	4.79	0.354	42.68	85.32
4	2	1	2	3	3.44	0.234	40.18	63.70
5	2	2	3	1	5.51	0.380	45.07	93.93
6	2	3	1	2	2.02	0.225	33.95	49.82
7	3	1	3	2	4.26	0.448	37.86	87.73
8	3	2	1	3	2.24	0.215	30.15	48.84
9	3	3	2	1	4.752	0.357	44.02	85.91
K <sub>1</sub>	172.26	179.47	126.71	207.89				
K <sub>2</sub>	207.44	201.65	208.49	196.43				
K <sub>3</sub>	222.47	221.05	266.97	197.85				
R	16.74	13.86	46.76	3.82				

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	442.83	2	221.42	17.03	>0.05
B	288.46	2	144.23	11.09	>0.05
C	3 309.26	2	1 654.63	127.28	<0.05
D(误差)	26.00	2	13.00		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

水提取 3 次, 每次 0.5 h。

**2.5 验证试验** 按处方比例称取黄芪、丹参及川芎、薤白药渣共 360 g, 称取 3 份, 分别按优选的提取工艺进行 3 次验证试验, 提取液定容至 1 800 mL, 结果测得提取液中丹参素钠、毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均提取量分别为 4.928, 0.399 5 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 分别为 0.92%, 2.03%, 表明优选的水提工艺稳定可行。

### 3 讨论

益心通脉合剂中丹参主要含有脂溶性成分丹参酮 II<sub>A</sub> 及水溶性成分丹参素钠等<sup>[1]</sup>, 考虑到丹参酮 II<sub>A</sub> 对光敏感, 长时间加热可能会导致其转化分解<sup>[2]</sup>, 且处方长期临床使用形式为汤剂, 为确保原有处方疗效的稳定可靠, 本文仍采用加水煎煮方式, 选择丹参素钠为评价指标之一; 同时为了更全面评价提取工艺, 选择黄芪主要活性成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量及干膏收率进行综合评价<sup>[3-4]</sup>。

川芎主要含有挥发油、酚性物质、苯酞内酯等, 挥发油中主要成分为藁本内酯、蛇床内酯、新蛇床内酯等萜类或脂肪酸酯类, 可用于防治动脉粥样硬化、脉管炎和脑血栓等心脑血管疾病, 并具有很强的解

痉、平喘、镇定作用<sup>[5-6]</sup>。薤白主要含有挥发性成分硫化物, 具有抗菌消炎、解痉平喘、抗血小板聚集、抗氧化、降低血脂、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等药理作用<sup>[7]</sup>, 故拟定川芎、薤白提取芳香水, 药渣与黄芪、丹参加水合煎。

本实验还对丹参素钠及毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定的方法学进行了考察, 包括精密度、重复性、稳定性及加样回收率等试验, 结果 RSD 均 < 3%, 证明采用的检测方法准确可靠。

### [参考文献]

- [1] 赵娜, 郭治昕, 赵雪, 等. 丹参的化学成分与药理作用[J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(4): 155.
- [2] 李伟, 陈兴丹. 丹参中丹参酮 II<sub>A</sub> 醇提取工艺研究[J]. 中国实用医药, 2010, 5(6): 37.
- [3] 魏宏伟, 刘沛, 刘翠哲. HPLC 同时测定复方生脉颗粒中有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 95.
- [4] 陈国辉, 黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1482.
- [5] 文飞, 冯义柏, 田莉, 等. 川芎嗪预处理对大鼠心肌缺血/在灌注损伤的保护[J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 18(8): 1099.
- [6] 唐刚华, 姜国辉, 唐小兰. 川芎嗪及其类似物对凝血功能和血液流变学的影响[J]. 中国药理学通报, 2002, 18(2): 2389.
- [7] 张卿, 高尔. 薤白的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(2): 105.

[责任编辑 全燕]