

复方脑清胶囊中三七的醇提取工艺优选

梁惠珍¹, 李先荣^{2*}, 王瑞明²

(1. 山西中医学院中药学院, 太原 030024; 2. 山西省中医药研究院, 太原 030012)

[摘要] 目的: 优选复方脑清胶囊中三七的醇提取工艺。方法: 以三七总皂苷和三七皂苷 R₁ 提取量为综合评价指标, 通过正交试验考察乙醇体积分数、提取时间、提取次数、乙醇用量对三七醇提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺条件为加 8 倍量 75% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 为复方脑清胶囊的进一步开发提供参考。

[关键词] 复方脑清胶囊; 三七; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0047-03

[doi] 10.11653/syfj2013170047

Optimization of Ethanol Extraction Process for Notoginseng Radix et Rhizoma in Compound Naoqing Capsules

LIANG Hui-zhen¹, LI Xian-rong^{2*}, WANG Rui-ming²

(1. School of Chinese Materia Medica, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Taiyuan 030024, China; 2. Shanxi Academy of TCM, Taiyuan 030012, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ethanol extraction process of Notoginseng Radix et Rhizoma in compound Naoqing capsules. **Method:** Orthogonal test was adopted to investigate effects of the concentration and amount of ethanol, extraction time and times on ethanol extraction technology of Notoginseng Radix et Rhizoma with yield of panax notoginseng saponins and notoginsenoside R₁ as comprehensive evaluation index. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: extracted 3 times with 8-fold 75% ethanol, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized process was stable and feasible, it could provide a reference for further development of compound Naoqing capsules.

[Key words] compound Naoqing capsules; Notoginseng Radix et Rhizoma; extraction process; orthogonal test

复方脑清胶囊来源于山西省中医药研究院临床经验方, 由三七、石菖蒲、连翘、大黄等药味组成, 用于治疗中风之颅脑水瘀症。方中三七具有滋补强壮、止血、活血化瘀和消肿止痛的功效^[1-3], 主治吐血、咯血、便血、血痢、崩漏、产后血晕、恶露不尽、跌打瘀血、创伤出血、胸腹刺痛、瘀肿疼痛^[4-6]。三七的主要有效成分三七总皂苷具有扩张血管、降低心

肌耗氧量、抑制血小板凝集等药理作用^[7-9]。三七为贵重药材, 宜单独提取, 本实验以三七总皂苷和三七皂苷 R₁ 提取量为综合评价指标, 通过正交试验优选复方脑清胶囊中三七的醇提取工艺条件, 为该制剂的工业生产提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), TU-1910 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), MS101-1 型电热恒温干燥箱(上海市松江县枫泾机电厂), BP211D 型 1/10 万电子天平(德国 Startorius)。

三七[山西省药材公司提供, 经山西省中医药研究院主任药师倪艳鉴定为五加科植物三七 *Panax*

[收稿日期] 20130328(006)

[第一作者] 梁惠珍, 硕士, 讲师, 从事中药化学教学与研究, Tel: 13935114507, E-mail: lianghuizhen25@sina.com

[通讯作者] * 李先荣, 教授, 从事中药复方物质基础及新剂型研究, Tel: 0351-4668040, E-mail: XRLi-01@163.com

notoginseng (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎], 三七皂苷 R_1 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110745-200313), 乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 三七总皂苷含量测定

2.1.1 标准曲线的制备 精密称取对照品三七皂苷 R_1 2.07 mg, 置 1 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀。分别精密吸取 5, 10, 15, 20, 25 μL 至具塞试管中, 用热风吹去溶剂, 各加入 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL, 于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15 min, 立即冷却, 加冰醋酸 5 mL, 摇匀^[10]。采用紫外-可见分光光度法于 560 nm 处测定吸收度 (A), 以 A 为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程 $Y = 0.0291X - 0.0128$ ($r = 0.9993$), 表明三七皂苷 R_1 在 1.725 ~ 8.625 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.1.2 样品测定 取相当于三七药材 1 g 的干膏粉, 置于 5 mL 量瓶中, 用水溶解并定容至刻度。精密吸取 1 mL, 加至已处理好的 D101 型大孔吸附树脂柱中, 用水 20 mL 洗脱, 弃去水洗液, 用 70% 乙醇 30 mL 洗脱, 收集乙醇洗脱液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解, 滤过, 滤液置 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度。精密吸取 10 μL 于具塞试管中, 热风挥干溶剂, 按 2.1.1 项下方法测定 A , 计算。

2.2 三七皂苷 R_1 的含量测定^[11]

2.2.1 色谱条件 YWG-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-水 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 12 min, 19% A; 12 ~ 60 min, 19% ~ 36% A), 检测波长 203 nm, 柱温室温, 进样量 10 μL , 理论板数按三七皂苷 R_1 峰计算应不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取三七皂苷 R_1 对照品适量, 加甲醇制成 0.1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取相当于三七药材 1 g 的干膏粉, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 置 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上保持微沸 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取三七皂苷 R_1 对照品溶液 2, 4, 6, 10, 15, 20 μL , 分别注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定, 以三七皂苷 R_1 质量为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 得回归方程 $Y = 276980X - 29455$ ($r = 0.9995$), 表明三七皂苷 R_1 在 0.2184 ~ 2.184 μg 线性关系良好。

2.3 正交试验优选 以三七总皂苷和三七皂苷 R_1

提取量为综合评价指标, 选定乙醇体积分数、回流时间、提取次数、乙醇用量为考察因素, 每个因素选择 3 个水平, 按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 因素水平见表 1。按处方量称取三七药材粗粉 30 g, 按正交表进行乙醇回流提取, 合并醇提液, 回收乙醇, 浓缩, 低温干燥, 粉碎成细粉, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 复方脑清胶囊中三七的醇提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 回流时间/h	C 提取次数/次	D 乙醇用量/倍
1	60	1	1	4
2	75	1.5	2	6
3	85	2	3	8

表 2 复方脑清胶囊中三七的醇提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	三七总皂苷提取量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	三七皂苷 R_1 提取量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	综合评分
1	1	1	1	1	43.31	5.60	57.12
2	1	2	2	2	62.45	8.04	82.17
3	1	3	3	3	75.80	8.95	95.42
4	2	1	2	3	78.86	9.31	99.26
5	2	2	3	1	73.33	9.36	96.06
6	2	3	1	2	66.37	8.57	87.46
7	3	1	3	2	79.61	8.64	96.15
8	3	2	1	3	63.29	7.82	81.52
9	3	3	2	1	59.06	7.30	76.09
K_1	78.237	84.177	75.367	76.423			
K_2	94.260	86.583	85.840	88.593			
K_3	84.587	86.323	95.877	92.067			
R	16.023	2.406	20.510	15.644			

注: 三七总皂苷评分 = 三七总皂苷提取量/最大三七总皂苷提取量 $\times 0.5 \times 100$, 三七皂苷 R_1 评分 = 三七皂苷 R_1 提取量/最大三七皂苷 R_1 提取量 $\times 0.5 \times 100$, 综合评分 = 三七总皂苷评分 + 三七皂苷 R_1 评分。

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	390.643	2	195.3215	37.318	<0.05
B(误差)	10.468	2	5.2340	1.000	>0.05
C	631.085	2	315.5425	60.287	<0.05
D	404.887	2	202.4435	38.679	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$, $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$ 。

由直观分析可知, 各因素对提取工艺的影响顺

序为 $C > A > D > B$, 最佳醇提工艺组合为 $A_2B_2C_3D_3$ 。以极值最小的 B 因素为误差项进行方差分析, 结果表明 A, C, D 因素均具有显著性差异, 结合生产成本等因素, 确定最佳乙醇提取工艺为 $A_2B_1C_3D_3$, 即乙醇体积分数 75%, 提取时间 1 h, 提取数 3 次, 乙醇用量 8 倍。

2.4 验证试验 按处方量称取三七药材粗粉 3 份, 每份 30 g, 按优选的工艺条件提取, 结果显示三七总皂苷提取量分别为 73.05, 74.18, 73.71 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 三七皂苷 R_1 提取量分别为 8.26, 8.51, 8.78 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 表明优选的提取工艺条件稳定可行。

3 讨论

三七中皂苷类成分较多, 可溶于水和乙醇^[12]。故采用高体积分数乙醇(75%)、低体积分数乙醇(40%)和水 3 种溶剂进行提取, 参照 2010 年版《中国药典》三七的含量测定方法, 以三七皂苷 R_1 为指标, 进行工艺初筛, 结果表明乙醇提取效率较高, 因此正交试验中采用不同体积分数乙醇对三七进行提取。

[参考文献]

[1] 唐红芳, 毛丽珍, 徐世芳. 正交试验法研究三七提取工艺[J]. 中草药, 2001, 32(1): 26.

- [2] 冯陆冰, 潘西芬, 孙泽玲. 三七的药理作用研究进展[J]. 中国药师, 2008, 11(10): 1185.
- [3] 朴春花. 三七的药理作用研究进展概述[J]. 中国医药指南, 2011, 9(13): 209.
- [4] 何科. 三七的药理作用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(6): 21.
- [5] 张玉军. 三七总皂苷的药理研究进展[J]. 广西医学, 2009, 31(4): 589.
- [6] 刘华钢, 赖茂祥, 梁秋云, 等. 三七含量测定方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(4): 14.
- [7] 张剑峰, 张丹参. 三七总皂苷药理作用研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(6): 472.
- [8] 张剑峰, 张丹参. 三七总皂苷药理作用研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(6): 472.
- [9] 杨佳, 秦彩玲. 复方丹参方及丹参、三七对血小板功能影响的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(2): 59.
- [10] 朱舟. 三七提取工艺的实验研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(9): 915.
- [11] 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: 11.
- [12] 何静雯, 罗干明. 正交试验法优选三七提取工艺[J]. 中成药, 2005, 27(8): 964.

[责任编辑 全燕]

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“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“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; 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、综述、学术交流、信息等栏目, 交流方剂的药效学、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结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药, 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, 350 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。