

DOI:CNKI;11-3495/R. 20110321. 1131. 003

参元片的提取工艺研究

刘玉梅^{1,2}, 章军², 匙峰^{1,2}, 仝燕², 朱晓新², 刘安^{2*}

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:优化参元片的提取工艺。方法:采用单因素和正交试验设计,以提取液中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 和延胡索乙素的含量为指标,优选参元片的提取工艺。结果:最佳提取工艺为 8 倍量的 70% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 2h。结论:优选出的提取工艺合理,稳定可行。

[关键词] 参元片;正交试验;人参皂苷 Rg₁;人参皂苷 Re;人参皂苷 Rb₁;延胡索乙素;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0018-04

Studies on Extracting Methods of Shenyuan Tablet

LIU Yu-mei^{1,2}, ZHANG Jun², SHI Feng^{1,2}, TONG Yan², ZHU Xiao-xin², LIU An^{2*}

(1. Life Science and Engineering Academy of Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction procedure of Shenyuan tablet. **Method:** The proper extracting condition was optimized with the amount of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, ginsenoside Rb₁ and tetrahydropalmatine as indexes by single-factor and orthogonal tests. **Result:** The optimum extraction conditions were 8 times alcohol for 2 frequencies while 2 h per frequency. **Conclusion:** The optimum extraction process is simple, stable and feasible.

[Key words] Shenyuan tablet; orthogonal experiment; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁; tetrahydropalmatine; extraction technology

西洋参 *Panax quiquefolium* L. 系五加科人参属多年生草本植物,始载于《本草纲目拾遗》,是重要的补益类中药,其味苦,性凉,入心、肺、肾经,功能以补益为主,可滋阴降火,益气生津,用于肺虚咳血、潮热、肺胃津亏、烦渴、气虚等症^[1-2]。延胡索为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,始载于唐《本草纲目拾遗》,其味辛能

行气、行血,性温则能通,广泛用于血瘀气滞、心腹及肢体疼痛^[3-4]。参元片是在中医药理论指导下,由西洋参、延胡索配伍而成,具有软化血管、活血化瘀、预防和治疗冠心病的作用。通过查阅文献^[5-8],发现利用 HPLC 同时测定人参皂苷和延胡索乙素方面是个空白。为了更好地控制该制剂的质量,本研究采用 HPLC 同时测定参元提取液中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 和延胡索乙素的含量,旨在为该制剂的提取工艺质量控制提供实验依据。通过采用单因素和正交试验设计,以 3 个人参皂苷总量、延胡索乙素的含量及浸出物含量为指标,对参元片的提取工艺进行优选。

1 仪器与试药

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪, PDA 检测器, BP-211D 1/10 万分析天平(塞多利斯), PP-15pH 计

[收稿日期] 20110125(001)

[基金项目] 重大新药创制(2009ZX09103-441, 2009ZX09313-038)

[第一作者] 刘玉梅, 硕士研究生, 研究方向: 中药化学, E-mail: mwyuer@126.com

[通讯作者] *刘安, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药化学, Tel: 010-640144111-2938, E-mail: la62@163.com

[网络出版时间] 2011-03-21 11:31

(塞多利斯)。

人参皂苷 R_{g_1} (批号 110703-01027)、人参皂苷 Re (批号 110754-200822)、人参皂苷 Rb_1 (批号 110704-200921)、延胡索乙素 (批号 110726-201011) 均为含量测定用,购自中国药品生物制品检定所;西洋参 (批号 100210101,北京卫仁中药饮片厂)、醋延胡索 (批号 103209201,北京卫仁中药饮片厂) 经中国中医科学院中药研究所何希荣药师鉴定分别为五加科植物西洋参 *P. quiquefolium* 的干燥根和罂粟科植物延胡索 *C. yanhusuo* 的干燥块茎;乙腈为色谱纯,水为高纯水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 和延胡索乙素的测定

2.1.1 色谱条件 Kromasil 100-5 C_{18} 色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m), 流动相 A 为 0.01 mol \cdot L $^{-1}$ 磷酸二氢钠与 0.01 mol \cdot L $^{-1}$ 磷酸氢二钠, 调 pH 6.5, B 为乙腈, 按表 1 进行梯度洗脱, 检测波长 203 nm, 流速 1.0 mL \cdot min $^{-1}$, 柱温 35 $^{\circ}$ C。

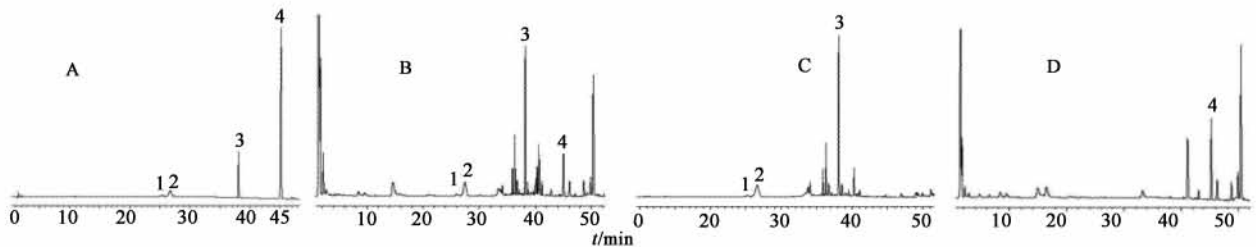


图1 参元胶囊提取液 HPLC

A. 混合对照品; B. 参元胶囊提取液; C. 延胡索阴性样品; D. 西洋参阴性样品;

1. 人参皂苷 R_{g_1} ; 2. 人参皂苷 Re ; 3. 人参皂苷 Rb_1 ; 4. 延胡索乙素

2.1.5 线性关系考察 配制一系列质量浓度的混合对照品溶液, 分别精密吸取 10 μ L, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 进样质量浓度 (X , mg \cdot L $^{-1}$) 为横坐标, 计算回归方程: 人参皂苷 R_{g_1} $Y = 3\ 231X - 1\ 548$ ($r = 0.999\ 9$), 线性范围 3 ~ 225 mg \cdot L $^{-1}$; 人参皂苷 Re $Y = 2\ 972X + 3\ 101$ ($r = 0.999\ 9$), 线性范围 12 ~ 2\ 060 mg \cdot L $^{-1}$; 人参皂苷 Rb_1 $Y = 2\ 236X + 40\ 950$ ($r = 0.999\ 7$), 15 ~ 2\ 930 mg \cdot L $^{-1}$; 延胡索乙素 $Y = 105\ 364X + 8\ 722$ ($r = 0.999\ 9$), 线性范围 3 ~ 108 mg \cdot L $^{-1}$ 。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进行测定, 即得。结果供试品中各成分的 RSD 分别为人参皂苷 R_{g_1} 2.5%, 人参皂苷 Re 0.40%, 人参皂苷 Rb_1 0.60%, 延胡索乙素 0.20%, 表明供试品溶液常温下放置 24 h 稳定。

表1 流动相梯度

t/min	A/%	B/%
0	81	19
25	80	20
65	0	100

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 和延胡索乙素对照品适量, 用 50% 甲醇配制成浓度分别为 0.102 6, 0.407 6, 1.020, 0.045 56 g \cdot L $^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品溶液, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 即得。

2.1.4 阴性对照 按供试品溶液制备方法分别制备延胡索阴性样品溶液和西洋参阴性样品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 结果见图 1。结果表明, 人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 和延胡索乙素相应位置阴性均无干扰。

2.1.7 测定法 精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪, 测定, 计算人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 和延胡索乙素的含量。

2.2 浸出物含量的测定 精密量取样品溶液 50 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干, 于 105 $^{\circ}$ C 干燥 3 h, 置干燥器中冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算浸出物含量。

2.3 参元片提取溶剂的优选

2.3.1 样品溶液制备 称取西洋参饮片 80 g、醋延胡索饮片 40 g, 分别以水、40% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇为提取溶剂, 回流提取 2 次, 每次加 8 倍量溶剂, 每次提取 2 h。合并 2 次提取液, 滤过, 即得。

2.3.2 样品测定 取样品溶液按 2.1 方法测定各成分含量, 按 2.2 方法测定浸出物含量, 结果见表 2。

表 2 提取溶剂优选

提取溶剂	提取量/g				浸出物 /%
	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	延胡索 乙素	
水	0.033 1	0.221	0.592	0.013 1	45.5
40% 乙醇	0.043 4	0.318	0.838	0.015 7	37.7
70% 乙醇	0.052 3	0.392	1.042	0.018 0	36.0
95% 乙醇	0.038 2	0.351	0.904	0.005 0	24.4

2.3.3 结果分析 采用 70% 乙醇为提取溶剂时, 人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 和延胡索乙素含量最高, 浸出物含量适中, 因此采用 70% 乙醇为提取溶剂。

2.4 正交试验设计优选参元片提取工艺

2.4.1 正交试验设计 以人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 提取量总和、延胡索乙素提取量和浸出物含量作为考察指标, 选用 L₉(3⁴) 正交表安排试验, 对工艺中的

溶剂用量, 提取时间, 提取次数 3 因素进行考察, 每个因素取 3 个水平, 见表 3。

表 3 参元片提取工艺因素水平

水平	A 溶剂用量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	6	1	1
2	8	2	2
3	10	3	3

2.4.2 试验方法及结果 取西洋参饮片 80 g, 醋延胡索 40 g, 以 70% 乙醇为提取溶剂, 按表 4 进行试验。提取液趁热过 100 目筛网, 合并滤液, 摇匀, 放冷。按 2.1 方法测定各成分含量, 结果见表 4。

2.4.3 结果分析 以人参总皂苷和延胡索乙素提取量为指标, 对试验结果进行直观分析和方差分析, 结果见表 4~6。

表 4 参元片提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D	提取量/g				
					人参 皂苷 Rg ₁	人参 皂苷 Re	人参 皂苷 Rb ₁	人参 总皂苷	延胡索 乙素
1	1	1	1	1	0.08	0.78	1.82	2.68	0.018
2	1	2	2	2	0.09	0.89	2.27	3.25	0.032
3	1	3	3	3	0.05	0.84	2.42	3.31	0.039
4	2	1	2	3	0.08	0.87	2.13	3.08	0.027
5	2	2	3	1	0.05	0.85	2.39	3.29	0.037
6	2	3	1	2	0.08	0.79	1.94	2.81	0.023
7	3	1	3	2	0.05	0.83	2.28	3.16	0.035
8	3	2	1	3	0.09	0.82	2.03	2.94	0.026
9	3	3	2	1	0.05	0.83	2.42	3.30	0.036
人参总皂苷	K ₁	3.07	2.97	2.81	3.09				
	K ₂	3.06	3.16	3.21	3.08				
	K ₃	3.13	3.14	3.25	3.11				
	R	0.07	0.19	0.44	0.03				
延胡索乙素	K ₁	0.030	0.026	0.022	0.030				
	K ₂	0.029	0.032	0.031	0.030				
	K ₃	0.032	0.033	0.037	0.031				
	R	0.003	0.007	0.015	0.001				

直观分析表明, 在所选因素水平范围内, 影响因素对人参总皂苷和延胡索乙素提取效果的影响程度一致, 依次为 C > B > A。方差分析表明对于 2 个检测指标, 提取次数 (C) 有极显著性差异, 煎煮时间 (B) 有显著性差异, 溶剂用量 (A) 无显著性差异。从

工业大生产出发, 考虑药材的吸水性和生产成本, 结合直观分析 B₂-B₃, C₂-C₃ 差异不大, 故最终选定最佳工艺为 A₂B₂C₂, 即 8 倍量溶剂, 回流提取 2 次, 每次 2 h。

2.4.4 最佳工艺验证与放大 按照优选出的最佳

表5 人参总皂苷方差分析

因素	SS	f	MS	F	P
溶剂用量	0.01	2	0.00	6.14	
提取时间	0.07	2	0.03	46.71	<0.05
提取次数	0.36	2	0.18	253.71	<0.01
误差	0.00	2	0.00		

注: $F_{0.01}(2,2) = 99.00$, $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ (表6同)。

表6 延胡索乙素方差分析

因素	SS	f	MS	F	P
溶剂用量	1.8×10^{-5}	2	9×10^{-6}	11.57	
提取时间	7×10^{-5}	2	3.5×10^{-5}	44.33	<0.05
提取次数	3.35×10^{-4}	2	1.68×10^{-4}	212.33	<0.01
误差	1.58×10^{-6}	2	7.9×10^{-7}		

工艺进行验证试验,西洋参饮片 80 g、醋延胡索 40 g,8 倍量的 70% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 2 h。平行 2 次试验,结果见表 7。

表7 优选工艺验证

No.	人参总皂苷		延胡索乙素		浸出物	
	提取量 /g	RSD /%	提取量 /g	RSD /%	提取量 /g	RSD /%
1	3.29	0.17	0.033 5	0.62	38.1	1.8
2	3.30		0.033 8		37.1	

对验证工艺进行放大试验:西洋参饮片 680 g、醋延胡索 340 g,8 倍量的 70% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 2 h。提取液浓缩后减压干燥,测定提取量为人参总皂苷 26.47 g,延胡索乙素提取量 0.291 g,与验证工艺相符。以上结果表明优选工艺提取率高、稳定可行。

3 讨论

本方由西洋参、延胡索 2 味中药组成,如果以单一指标成分进行工艺优选,不能保证产品的整体质量。本实验采用 HPLC 同时测定人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 和延胡索乙素 4 种有效成分,以制剂中人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 和延胡索乙素 4 种有效成分提取量为考察指标筛选工艺,使结果更加科学、合理。

通过验证试验和放大试验表明,正交筛选的工艺稳定、提取率高,为其大生产工艺提供了一定的参考。

[参考文献]

- [1] 曹立军,许永华,于淑莲,等.我国西洋参产业发展现状概述[J].人参研究,2002,14(1):36.
- [2] 都晓伟,刘艳艳,李滨.从化学和药理学的角度探讨人参、西洋参和三七的传统应用[J].中医药学报,2005,33(4):66.
- [3] 中国药典.一部[S].2010:130.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草.第6卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999:645.
- [5] 孙相民.颈痛胶囊质量标准的研究[J].中国实用医药,2010,5(19):24.
- [6] 常明明,孙玉明,汪晴,等.止痛活血压敏胶贴片中有效成分的体外释放研究[J].中成药,2010,32(1):43.
- [7] 张晴,孙玉明,汪晴,等.乌头碱、人参皂苷 R_{g_1} 与延胡索乙素经皮渗透及协同促渗研究[J].中国中医药信息杂志,2009,12(9):36.
- [8] 梁懿,蒙连琼.田七痛经胶囊检测方法的研究[J].药物分析杂志,2008,28(2):278.

[责任编辑 仝燕]