

# 增液汤提取工艺研究

巩克民, 赵怀清, 任洁, 唐淑含  
(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**目的: 以正交试验法选择增液汤的最佳提取工艺。方法: 以梓醇、肉桂酸、哈巴酯苷的加权峰面积为考察指标进行综合评价。结论: 增液汤的最佳提取工艺为: 12 倍的 70% 的乙醇, 回流提取 4 次, 每次 1.5h。

**关键词:** 增液汤; 提取工艺; 正交试验法; 加权峰面积

**中图分类号:** R284.2   **文献标识码:** B   **文章编号:** 1005-9903(2005)03-0005-03

增液汤始见于清·《温病条辨》, 由玄参、生地、麦冬组成。它具有养阴生津, 增液润燥的功效。为了选择它的最佳提取工艺, 我们以梓醇、肉桂酸、哈巴酯苷的加权峰面积为考察指标, 进行了全面的试验研究。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** DGU-4A 脱气机, SHIMADZU 高效液相色谱仪(LC-10AD 输液泵, SPD-M10A 二极管阵列检测器, CBM-10A 信息总线模块), SIL-10A 自动进样器, CTO-10A 柱温箱, Class-Lc10 工作站。以上软硬件均为岛津公司产品。RE-85Z 旋转蒸发器(上海青浦沪西科学仪器厂), TGL-16G 离心机(上海安亭科学仪器厂), BS-124S 电子分析天平(北京赛托利斯公司), HH-4 电热恒温水浴锅(常州国华科学仪器厂)。

**1.2 药材** 玄参、生地、麦冬均购自沈阳天益堂药店。药材置 60℃ 烘箱烘 6h, 粉碎, 过 40 目筛, 密闭储存备用。

**1.3 药品** 梓醇对照品(中国药品生物制品检定所批号: 110808-200305), 肉桂酸对照品(Sigma 公司, 纯度 99.6%), 哈巴酯苷对照品(上海华拓医药科技发展有限公司, 纯度 99.3%)。

**1.4 试剂** 甲醇、乙腈为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司), 液相用水为重蒸水(自制), 正丁醇、乙酸乙酯、冰醋酸、无水乙醇为分析纯(沈阳化学试剂厂)。

## 2 方法与结果

**2.1 因素水平表** 为选择增液汤的最佳提取工艺, 以梓醇、肉桂酸、哈巴酯苷的加权峰面积为考察指

标, 对乙醇浓度、溶剂用量、提取时间、提取次数四个因素进行全面考察。选用  $L_{16}(4^5)$  正交表安排试验, 因素水平表见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因素			
	乙醇浓度(%)	溶剂用量(倍)	提取时间(h)	提取次数
	A	B	C	D
1	30	6	0.5	1
2	50	8	1.0	2
3	70	10	1.5	3
4	90	12	2.0	4

## 2.2 肉桂酸、哈巴酯苷的加权峰面积的测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil<sup>TM</sup> C<sub>18</sub>(200mm × 4.6mm, 5μm, 迪马公司), 流动相: 1% 乙醇水溶液-甲醇(49:51), 检测波长: 280nm, 流速: 0.80mL/min, 柱温: 32℃, 进样量: 10μL。

**2.2.2 供试液的制备** 按处方比例, 精密称取 3 味药材(玄参 1.0g, 生地 0.80g, 麦冬 0.80g), 置圆底烧瓶中, 按  $L_{16}(4^5)$  正交表安排试验, 制备增液汤提取液。过滤, 合并滤液, 减压蒸干, 残渣以水溶解, 定量转移至分液漏斗中, 加水至 10mL。以水饱和的正丁醇 20mL 萃取 3 次, 合并正丁醇层, 减压蒸干, 残渣以甲醇溶解后, 定量转移至 10mL 量瓶, 甲醇稀释至刻度, 摇匀。以 10000r/min 离心 5min, 上清液过 0.45μm 滤膜, 取续滤液即得。

**2.2.3 加权峰面积的测定** 按上述色谱条件, 测定肉桂酸、哈巴酯苷的峰面积, 然后计算其加权峰面积。加权峰面积即待测成分的峰面积除以含待测成分药材的质量。

**2.2.4 实验数据与方差分析表** 见表 2, 表 3, 表 4, 表 5。

收稿日期: 2004-12-27

通讯作者: 赵怀清, Tel: (024) 23843711-3679, E-mail: zhaohq1955@sina.com

表 2 肉桂酸正交试验数据表

试验号	A	B	C	D	误差	加权峰面积 (A/mg)
1	1	1	1	1	1	928
2	1	2	2	2	2	1096
3	1	3	3	3	3	1628
4	1	4	4	4	4	1721
5	2	1	2	3	4	1531
6	2	2	1	4	3	1616
7	2	3	4	1	2	1161
8	2	4	3	2	1	1602
9	3	1	3	4	2	1542
10	3	2	4	3	1	1699
11	3	3	1	2	4	1509
12	3	4	2	1	3	1289
13	4	1	4	2	3	1489
14	4	2	3	1	4	1226
15	4	3	2	4	1	1509
16	4	4	1	3	2	1442
K <sub>1</sub>	5373	5490	5495	4604	5738	
K <sub>2</sub>	5910	5637	5425	5696	5241	
K <sub>3</sub>	6039	5807	5998	6300	6022	
K <sub>4</sub>	5666	6054	6070	6388	5987	

表 3 肉桂酸方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	64567.5	3	21522.5	0.66	P> 0.10	
B	43999.5	3	14666.5	0.45	P> 0.10	
C	83629.5	3	27876.5	0.86	P> 0.10	
D	506435.1	3	168811.7	5.20	P> 0.10	
误差	97335.6	3	32445.2			

$F_{0.05(3,3)} = 9.28$   $F_{0.01(3,3)} = 29.46$   $F_{0.10(3,3)} = 5.39$

由表 3 可见: 各因素对肉桂酸的加权峰面积均无显著性影响, 大小顺序为 D> C> A> B。由表 2 可见: 最佳组合为 A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>4</sub>D<sub>4</sub>。由表 5 可见: D 因素对哈巴酯苷的加权峰面积有显著影响, 其它因素均无显著影响, 大小顺序为 D> B> A> C。由表 4 可见: 最佳组合为 A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>3</sub>D<sub>4</sub>。

### 2.3 梓醇加权峰面积的测定

**2.3.1 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil™ C<sub>18</sub> (200mm × 4.6mm, 5μm, 迪马公司), 流动相: 水-乙腈(99:1), 检测波长: 210nm, 流速: 0.80mL/min, 柱温: 30℃, 进样量: 10μL。

表 4 哈巴酯苷正交试验数据表

试验号	A	B	C	D	误差	加权峰面积 (A/mg)
1	1	1	1	1	1	2396
2	1	2	2	2	2	3563
3	1	3	3	3	3	4000
4	1	4	4	4	4	4154
5	2	1	2	3	4	3789
6	2	2	1	4	3	4069
7	2	3	4	1	2	2850
8	2	4	3	2	1	3946
9	3	1	3	4	2	3982
10	3	2	4	3	1	4178
11	3	3	1	2	4	3736
12	3	4	2	1	3	3219
13	4	1	4	2	3	3586
14	4	2	3	1	4	2972
15	4	3	2	4	1	3830
16	4	4	1	3	2	3665
K <sub>1</sub>	14113	13663	13866	11437	14350	
K <sub>2</sub>	14654	14782	14401	14831	13970	
K <sub>3</sub>	15025	14416	14810	15632	14874	
K <sub>4</sub>	14053	14984	14768	15945	14651	

表 5 哈巴酯苷方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	160728.3	3	53576.1	1.40	P> 0.10	
B	253849.8	3	84616.6	2.21	P> 0.10	
C	143418.6	3	47806.2	1.25	P> 0.10	
D	3213743.1	3	1071247.7	27.94	0.01< P< 0.05 *	
误差	115017.6	3	38339.2			

$F_{0.05(3,3)} = 9.28$   $F_{0.01(3,3)} = 29.46$   $F_{0.10(3,3)} = 5.39$

**2.3.2 供试液的制备** 制备方法同 2.2.2 项下方法, 只是在用正丁醇处理前加一步乙酸乙酯处理过程。处理过程如下: 以 20mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 弃去乙酸乙酯层, 保留水层。以下步骤同 2.2.2 项下方法操作。

**2.3.3 加权峰面积的测定** 按上述色谱条件, 测定梓醇的峰面积, 然后计算其加权峰面积。

**2.3.4 实验数据与方差分析表** 见表 6, 表 7。

由表 7 可见: 各因素对梓醇的加权峰面积均无显著性影响, 大小顺序为 A> D> C> B。由表 6 可见: 最佳组合为 A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>4</sub>D<sub>4</sub>。

### 2.4 综合分析 综合考虑各因素对 3 个考察指标

的影响, 确定增液汤的最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>3</sub>D<sub>4</sub>, 即 12 倍量 70% 的乙醇, 每次提取 1.5h, 共提取 4 次。

**2.5 验证试验** 为验证最佳提取工艺的可靠性, 重复最佳条件 A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>3</sub>D<sub>4</sub> 进行试验结果为: 梓醇的加权峰面积为 1281, 肉桂酸的加权峰面积为 2114, 哈巴酯苷的加权峰面积为 5222(*n* = 3)。

表 6 梓醇正交试验数据表

试验号	A	B	C	D	误差	加权峰面积 (A/mg)
1	1	1	1	1	1	264
2	1	2	2	2	2	362
3	1	3	3	3	3	382
4	1	4	4	4	4	470
5	2	1	2	3	4	317
6	2	2	1	4	3	283
7	2	3	4	1	2	294
8	2	4	3	2	1	389
9	3	1	3	4	2	470
10	3	2	4	3	1	517
11	3	3	1	2	4	390
12	3	4	2	1	3	358
13	4	1	4	2	3	506
14	4	2	3	1	4	374
15	4	3	2	4	1	680
16	4	4	1	3	2	502
K <sub>1</sub>	1478	1557	1439	1290	1850	
K <sub>2</sub>	1283	1536	1717	1647	1628	
K <sub>3</sub>	1735	1746	1615	1718	1529	
K <sub>4</sub>	2062	1719	1787	1903	1551	

表 7 梓醇方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	85200.3	3	28400.1	5.28	<i>P</i> > 0.10	
B	8795.4	3	2931.8	0.55	<i>P</i> > 0.10	
C	17140.8	3	5713.6	1.06	<i>P</i> > 0.10	
D	49450.2	3	16483.4	3.07	<i>P</i> > 0.10	
误差	16121.4	3	5373.8			

$$F_{0.05(3,3)} = 9.28 \quad F_{0.01(3,3)} = 29.46 \quad F_{0.10(3,3)} = 5.39$$

### 3 讨论

梓醇为生地的特有成分, 所以其权重系数为生地质量数的倒数。根据文献<sup>[1,2]</sup>报道的色谱条件, 改变流动相的配比以及流速, 发现以水-乙腈(99:1), 流速 0.80mL/min 时, 梓醇与其他成分实现了完全分离, 保留时间适中。由于流动相洗脱能力特别弱, 所以在水饱和和正丁醇处理前, 加了一步乙酸乙酯处理, 这样除掉了许多弱极性物质, 从而缩短了分析时间, 提高了试验效率。

肉桂酸为生地、玄参的共有成分, 所以其权重系数为生地与玄参质量数之和的倒数。哈巴酯苷为玄参的特有成分, 所以其权重系数为玄参质量数的倒数。根据文献<sup>[3-5]</sup>报道, 我们通过改变流动相的配比以及流速, 发现以 1% 乙酸水溶液-甲醇(49:51), 流速 0.80mL/min 时, 肉桂酸、哈巴酯苷与其他成分实现了完全分离, 且保留时间适中。本试验采用了等度洗脱与文献<sup>[5]</sup>的梯度洗脱相比, 免去了梯度洗脱后平衡流动相的时间, 简化了实验步骤, 提高了试验效率。

本文的提取工艺为增液汤质量控制方法的建立提供了稳定、可靠的供试品, 也为增液汤的药效学研究提供了初步参考。下一步还应结合药效以及临床继续深入研究该处方的提取工艺。

#### 参考文献:

- [1] 刘明, 李更生. 鲜地黄中梓醇提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(4): 301-302.
- [2] 李俊萍, 周福军, 贾建伟, 等. 不同贮藏条件对地黄中梓醇含量的影响[J]. 中草药, 2003, 34(3): 273.
- [3] 李颖, 阳长明. 反相 HPLC 法测定胸舒颗粒剂中肉桂酸的含量[J]. 湖南中医杂志, 2000, 16(3): 70.
- [4] 余明艳, 汪水娟, 汪勤, 等. 反相高效液相色谱法测定脉络宁注射液中肉桂酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 415-416.
- [5] 王建华, 谢丽华, 蔡少青, 等. 玄参不同加工品中哈巴酯苷与肉桂酸的 HPLC 含量测定[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(6): 375-378.