

## 补气生血方药的提取方法比较

孙秀梅, 张兆旺, 张 华, 惠建国

(山东中医药大学, 山东 济南 250014)

**摘要:**目的 优选补气生血方药提取工艺。方法 以黄芪甲苷、人参二醇、阿魏酸、甜菜碱、干浸膏为指标,在药材粒度、溶剂量、煎提温度、滤过、浓缩等条件相同的前提下,对半仿生提取法(SBE法)、水提取法(WE法)、半仿生提取醇沉法(SBAE法)、水提取醇沉法(WAE法)进行比较研究。结果 五个指标综合评价Y值为:SBE法>WE法>SBAE法>WAE法。结论 补气生血方药的提取方法以SBE法最佳。

**关键词:**补气生血方药;提取方法;半仿生提取

**中图分类号:**R284.2; R286.02

**文献标识码:**B

**文章编号:**0253-2670(2005)09-1328-03

### Comparison of extracting methods for Invigorating Qi and Promoting Blood Formula

SUN Xiu-mei, ZHANG Zhao-wang, ZHANG Hua, HUI Jian-guo

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

**Key words:** Invigorating Qi and Promoting Blood Formula; extracting methods; semi-bionic extraction

补气生血方药由黄芪、人参、当归、枸杞 4 味药构成,补气生血,提高机体免疫力,有较高临床应用价值。为进一步探讨该方药采用半仿生提取(SBE)是否较目前普遍采用的提取方法更佳,本实验根据SBE法理论,在优选的提取工艺及药材组合方式、醇沉较佳体积分数基础上,以黄芪甲苷、人参二醇、阿魏酸、甜菜碱、干浸膏为指标,对该方药的 4 种提取方法进行比较研究。

#### 1 仪器与药品

Beckman 高效液相色谱仪(美国 Beckman 公司),CS-930 薄层扫描仪(日本岛津),pHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂),MA110 型电子分析天平(上海第二天平仪器厂),NEC POWER MATE 433 型微机(美国 Waters 公司),LXJ-III 型离心沉淀机(上海医疗器械厂),721-100 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

药材经张兆旺教授鉴定,黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge. 的干燥根,人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的干燥根,当归为伞形科植物 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,枸杞为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。黄芪甲苷、人参二醇、阿魏酸对照品购自中国药品生物制

品检定所,甜菜碱对照品购自北京市昌平石鹰化工厂,其余试剂均为分析纯。

#### 2 方法和结果

2.1 水提取(WE)液的制备:精取处方比例的 10~20 目粗粉共 120 g,当归和人参合煎,黄芪和枸杞各单煎,分别加水浸泡 0.5 h,用“双提法”提取 3 次,3 次煎提水的量分别为 10、6、6 倍,提取时间依次为 145、70、40 min,3 次煎液分别滤过,2 000 r/min 离心 20 min。合并上清液,浓缩并定容至 500 mL(相当于原药材 0.24 g/mL)。

2.2 水提取醇沉(WAE)液的制备:取 WE 液 250 mL,浓缩到 100 mL,缓慢加入乙醇至乙醇的体积分数达到 80%,搅匀并静置,2~6 °C 冷藏 24 h,离心。上清液回收乙醇至无醇味,蒸馏水定容至 250 mL。

2.3 半仿生提取(SBE)液的制备:按照 2.1 项下条件,只将 3 次煎液用水的 pH 分别调为 3.50、6.50、8.00。依法制得 SBE 液。

2.4 半仿生提取醇沉(SBAE)液的制备:取 2.3 项下 SBE 液 250 mL,依 2.2 项下方法制得 SBAE 液。

2.5 供试品溶液的制备:精取各样品液 20.0 mL,分别以乙醚萃取,取水层,以正丁醇萃取,正丁醇液用 5% 碳酸氢钠溶液和蒸馏水分别洗涤,挥干正丁醇,残渣以甲醇定容至 2 mL,得供试品溶液 A<sub>1</sub>~A<sub>4</sub>。

收稿日期:2004-12-30

基金项目:山东省医药科研课题(991205908)

作者简介:孙秀梅(1948—),女,山东济南人,教授,博士生导师,主要从事中药新药研究与中药炮制原理研究。

Tel: (0531) 82613413 E-mail: sunxiumei8@163.com

精取各样品液 20.2 mL, 分别加浓硫酸 5 mL 和乙醇 25 mL, 水浴回流 4 h, 放至室温后用石油醚萃取, 萃取液石油醚蒸干, 残余物用氯仿定容至 2 mL, 得供试品溶液 B<sub>1</sub>~B<sub>4</sub>。

精取各样品液 20.0 mL, 蒸发皿中水浴蒸至近干, 加硅藻土 6 g, 搅匀, 烘干, 研细, 以醋酸乙酯-甲酸(19:1) 100 mL 索氏提取 2 h, 提取液水浴蒸干, 残渣以甲醇定容至 2 mL, 得供试品溶液 C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>。

精取各样品液 20.0 mL, 分别用盐酸调 pH 1.0, 加活性炭 0.5 g, 煮沸 15 min, 抽滤, 滤液加新配制 2% 雷氏盐溶液 20 mL, 混匀后 5~10 °C 冷藏 3 h。用 G<sub>3</sub> 垂熔玻璃漏斗抽滤。滤渣用少量冰水洗涤, 抽干, 丙酮溶液并定容至 5 mL, 得供试品溶液 D<sub>1</sub>~D<sub>4</sub>。

2.6 对照品溶液的制备: 精取黄芪甲苷 5.50 mg、人参二醇 1.40 mg、阿魏酸 1.70 mg、甜菜碱 8.80 mg, 分别用甲醇、氯仿、甲醇、乙醇定容至 5、2、2、2 mL, 即得。

### 2.7 黄芪甲苷的测定<sup>[1]</sup>

2.7.1 线性关系的考察: 分别取黄芪甲苷对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 用甲醇定容至 1 mL。用 Phenomenex-C<sub>18</sub> 柱, 流动相为乙腈-水(1:2.32), 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 203 nm, 灵敏度 0.08 AUFS, 室温下进样 20 μL 测定, 得回归方程为  $Y = 2\,519.708\,59 X + 8\,868.312\,33$ ,  $r = 0.999\,4$ , 线性范围 2.2~22.0 μg。

2.7.2 测定: 精取供试品溶液 A<sub>1</sub>~A<sub>4</sub> 各 1.0 mL, 稀释至 2.0 mL, 微孔滤膜滤过, 进样 20 μL, 测定, 将所测峰面积代入工作曲线, 计算黄芪甲苷的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 4 种方法提取液中各指标成分及标准化处理结果

Table 1 Comprehensive evaluation of each marker component extracted by four methods and standardized treatment

提取液	黄芪甲苷/ (g·mL <sup>-1</sup> )	人参二醇/ (g·mL <sup>-1</sup> )	阿魏酸/ (g·mL <sup>-1</sup> )	甜菜碱/ (g·mL <sup>-1</sup> )	干浸膏/ (g·mL <sup>-1</sup> )	综合 评价 Y
SBE 液	0.101 3	0.028 4	0.030 0	1.045 3	0.161 5	40.631 8
	0.968 5	1.435 9	1.350 0	1.091 2	0.933 5	
WE 液	0.098 9	0.022 4	0.025 5	0.978 9	0.155 7	9.614 8
	0.735 3	-0.213 0	0.103 2	0.378 6	0.791 0	
SBAE 液	0.084 8	0.021 9	0.023 4	0.092 7	0.090 8	-15.185 0
	-0.665 1	-0.342 1	-0.496 5	-0.193 6	-0.803 3	
WAE 液	0.081 0	0.019 9	0.021 7	0.827 7	0.085 8	-35.093 0
	-1.038 7	-0.880 8	-0.959 5	-1.276 1	-0.926 1	

### 2.8 人参二醇的测定<sup>[2]</sup>

2.8.1 线性关系的考察: 在同一块 CMC-Na 硅胶 G 薄层板上分别点人参二醇对照液 2.0、4.0、8.0、

12.0、16.0、20.0 μL, 用氯仿-乙醚(1:1) 展开 15 cm, 挥干溶剂, 喷 10% 硫酸乙醇, 105 °C 烘 3 min 显色, 测定吸收曲线在 535 nm 处有最大吸收。色谱扫描条件: λ<sub>s</sub>=535 nm, λ<sub>t</sub>=770 nm; S<sub>x</sub>=3, 狭缝 1.20 mm×1.20 mm; 灵敏度中; 双波长反射式锯齿形扫描。得回归方程:  $Y = 1\,775.710\,33 X - 964.726\,74$ ,  $r = 0.998\,7$ , 线性范围 1.4~14.0 μg。

2.8.2 测定: 精取供试品溶液 B<sub>1</sub>~B<sub>4</sub> 各 20.0 μL 及人参二醇对照品溶液 4.0、10.0 μL 点于同一薄层板上, 展开, 显色, 扫描, 结果见表 1。

### 2.9 阿魏酸的测定<sup>[3]</sup>

2.9.1 线性关系的考察: 精取阿魏酸对照品溶液 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μL, 分别点于同一块 CMC-Na 薄层板上, 用苯-冰醋酸-甲醇(15:1:1.5) 展开 15 cm, 挥干溶剂, 于 365 nm 下观察定位(在对照品相应位置有相同蓝色荧光斑点), 测定吸收曲线, 320 nm 处有最大吸收。色谱扫描条件: λ<sub>s</sub>=320 nm, λ<sub>t</sub>=370 nm; S<sub>x</sub>=3; 狭缝 1.2 mm×1.2 mm; 灵敏度中; 双波长反射式锯齿形扫描。得回归方程:  $Y = 38\,088.471\,93 X + 39\,398.888\,67$ ,  $r = 0.999\,0$ , 线性范围 1.7~10.2 μg。

2.9.2 测定: 精取供试品溶液 C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub> 各 26.0 μL, 阿魏酸对照品溶液 6.0、12.0 μL, 分别点于同一薄层板上, 展开, 定位, 扫描, 测得结果见表 1。

### 2.10 甜菜碱的测定<sup>[4]</sup>

2.10.1 线性关系的考察: 精取甜菜碱对照品溶液 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 μL, 点于同一块 CMC-Na 薄层板, 丙酮-无水乙醇-盐酸(10:6:1) 展开 10 cm, 挥干溶剂, 改良碘化铋钾显色, 测定吸收曲线, 500 nm 处有最大吸收。色谱测定条件: λ<sub>s</sub>=500 nm, λ<sub>R</sub>=600 nm; S<sub>x</sub>=3; 狭缝 1.2 mm×1.2 mm; 灵敏度中; 双波长反射式锯齿形扫描。得回归方程:  $Y = 684.393\,38 X - 3\,363.555\,52$ ,  $r = 0.999\,2$ , 线性范围 8.8~30.8 μg。

2.10.2 测定: 精取供试品溶液 D<sub>1</sub>~D<sub>4</sub> 各 6.0 μL, 甜菜碱对照品溶液 2.0、6.0 μL, 点于同一块 CMC-Na 薄层板, 展开, 显色, 扫描, 结果见表 1。

2.11 干浸膏的测定: 精取供试品溶液各 2.0 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 烘箱中 105 °C 烘干至恒重, 测定结果见表 1。

2.12 结果处理: 将黄芪甲苷、人参二醇、阿魏酸、甜菜碱、干浸膏 5 个指标的数据按公式  $X_{ij} = (X_{ij} - X_j) / S_j$  进行标准化处理。X<sub>ij</sub> 为样品液 i 中成分 j 的质量浓度, X<sub>j</sub> 为 4 种方法提取液 i 中成分 j 的质量

浓度的平均值,  $S_j$  为成分  $j$  的标准偏差, 即  $S_j = [\sum(X_{ij} - X_j)^2 / n - 1]^{1/2}$ ,  $X_{ij}$  为标准化后的值, 将  $X_{ij}$  加权求和, 即得综合评价指标  $Y$  值。处理结果见表 1。可见  $Y$  由大到小的顺序是 SBE 液 > WE 液 > SBAE 液 > WAE 液。

$$Y = (\text{黄芪甲苷} + \text{人参二醇} + \text{阿魏酸} + \text{甜菜碱}) \times 8 + \text{干浸膏} \times 2$$

### 3 小结与讨论

以黄芪甲苷、人参二醇、阿魏酸、甜菜碱、干浸膏为指标, 对补气生血方药的 4 种提取方法进行比较, 根据 SBE 法理论, 确定综合评价指标的关系式, 综合评价指标值大小顺序为: SBE 液 > WE 液 > SBAE 液 > WAE 液, 提示补气生血方药的提取以 SBE 法为佳。SBE 法符合口服药物经人体胃肠道转运吸收的原理, 且有效成分的量高, 生产成本低。如再减少服用量, 可采用 SBAE 法, 其提取成分较 WAE 的量高。本实验进一步验证 SBE 法的科学性和可行性。

本实验采用了多指标成分及干浸膏为考察对

象, 综合优选提取工艺, 体现了中药提取的“有成分论, 不唯成分论, 重在机体的药理学反应”这一 SBE 法观点, 同时也有利于单体成分控制制剂质量。

数据处理时, 将 5 个指标成分测定结果进行标准化处理, 以消除因各指标单位和量纲的不同及变量范围相差悬殊所造成的影响, 以标准化处理以后所得的综合评价指标值为指标, 评判 4 种提取方法的优劣, 较各指标成分直接相加更科学更合理。

### References:

- [1] Yan R N, Wang J Z, Liu S P, et al. Determination of astragaloside in *Astragalus* root by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20 (11): 670-673.
- [2] Zhuan J H, Jian H. Determination of panoxadiol in Xintong Oral Liquid [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1998, 4(5): 11-12.
- [3] Ye D W, Zeng Y Y, Wang Q. Determination of ferulic acid in Xiaobitong Capsule by dual wavelength TLC-scanning [J]. *Hubei J Tradit Chin Med* (湖北中医杂志), 2000, 22 (5): 48.
- [4] Yang D H, Wang J F, Wei L X. Determination of lycine in Gouqizi extract [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(10): 608-610.

## 毛细管气相色谱法测定复方莪术油软胶囊中莪术醇

巩克民<sup>1</sup>, 任洁<sup>1</sup>, 唐淑含<sup>1</sup>, 唐百灵<sup>1</sup>, 赵怀清<sup>1\*</sup>, 金明月<sup>2</sup>

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 辽宁大生药业有限公司, 辽宁 沈阳 110003)

**摘要:**目的 建立复方莪术油软胶囊中莪术醇的毛细管气相色谱测定方法。方法 色谱条件为 OV-1 毛细管色谱柱, 程序升温, 火焰离子化检测器, 内标正二十烷。结果 组分与内标分离良好, 莪术醇在 0.10~0.80 mg/mL 线性关系良好 ( $r=0.9999$ ), 平均加样回收率为 99.69%, RSD 为 0.82%。结论 该法定量准确、可靠、重现性好, 可以用于复方莪术油软胶囊中莪术醇的质量评价。

**关键词:** 复方莪术油软胶囊; 莪术醇; 毛细管气相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2005)09-1330-03

### Determination of curcumol in Compound Ezhu Oil Soft Capsules by CGC

GONG Ke-min<sup>1</sup>, REN Jie<sup>1</sup>, TANG Shu-han<sup>1</sup>, TANG Bai-ling<sup>1</sup>, ZHAO Huai-qing<sup>1</sup>, JIN Ming-yue<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Liaoning Dasheng Pharmaceutical Limited Corporation, Shenyang 110003, China)

**Key words:** Compound Ezhu Oil Soft Capsule; curcumol; capillary gas chromatography (CGC)

复方莪术油软胶囊是由莪术油、陈皮油混匀而制成的软胶囊, 具有行气破瘀、消积止痛等功效, 主治积滞胀痛, 血瘀腹痛, 血滞经闭<sup>[1,2]</sup>。莪术醇为该制

剂中重要活性成分。因此本实验建立以正二十烷为内标, 采用毛细管气相色谱法测定该制剂中莪术醇, 从而更加有效地控制复方莪术油软胶囊的质量。

收稿日期: 2004-11-13

作者简介: 巩克民(1979—), 男, 山东泰安人, 在读硕士研究生, 2002年毕业于天津医科大学药学院, 研究方向为中药材和中成药质量评价方法以及中药药理学。

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