

## 正交试验优选复方太子参颗粒处方药材的提取工艺研究

祁晓淼, 张丽艳, 彭邦梅, 周 骏, 刘 毅\*

贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002

**摘要:** 目的 对复方太子参颗粒处方药材的提取工艺进行研究, 优选出最佳提取工艺。方法 采用紫外分光光度法测定总多糖和总皂苷, 以总多糖和总皂苷提取率为综合指标, 应用正交试验设计对加水量、提取时间、提取次数进行考察, 确定最佳提取工艺。结果 最佳提取工艺为用 10 倍量水提取 3 次, 每次 1.5 h。结论 该提取工艺合理, 可作为复方太子参颗粒处方药材的提取工艺。

**关键词:** 复方太子参颗粒; 总多糖; 总皂苷; 正交试验; 综合评分

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)05-0708-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.05.013

## Extraction technology of Compound Taizishen Granule prescription by orthogonal test

QI Xiao-miao, ZHANG Li-yan, PENG Bang-mei, ZHOU Jun, LIU Yi

Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

**Abstract: Objective** To study the best extracting technology of Compound Taizishen Granule prescription. **Methods** The total polysaccharides and total saponins were determined by UV spectrophotometer. With the content of total polysaccharides and total saponins as comprehensive indexes, orthogonal test was applied to investigation of the water addition, extraction time, and extraction times for optimizing the best extracting technology. **Results** The best extracting technology was using 10 times the amount of water, extracting 3 times and 1.5 h per time. **Conclusion** The extraction technology is safe and effective, which can be used as extraction for Compound Taizishen Granule prescription.

**Key words:** Compound Taizishen Granule; total polysaccharides; total saponins; orthogonal test; comprehensive score

复方太子参颗粒是由太子参、黄芪、黄精、茯苓制成的保健颗粒剂, 具有增强人体免疫力的功效。太子参含有多糖、皂苷等成分<sup>[1]</sup>, 具有益气健脾、生津润肺之功效, 治疗脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱、气阴不足、肺燥干咳、自汗口渴<sup>[2]</sup>。太子参配伍黄芪等药材可增强人体内的物质代谢、提高机体免疫力。本实验对复方太子参颗粒处方药材的水提取工艺采用正交试验法进行优化, 确定了最佳提取工艺。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

电子天平; 离心分离机; VU—2501PC 紫外分光光度仪 (日本岛津公司)。

#### 1.2 试药

太子参为石竹科孩儿参属孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax 的干燥块根、黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、黄精为百合科植物多花黄精 *Polygonatum cyrtoneura* Hua. 的干燥根茎、茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 以上药材由贵阳中医学院江维克教授鉴定; 黄芪甲苷 (批号 110781-200613)、无水葡萄糖 (批号 110833-200904) 对照品均由中国食品药品检定研究院提供。

#### 1.3 试剂

甲苯、蒽酮 (AR 级, 国药集团化学试剂有限

收稿日期: 2013-03-25

作者简介: 祁晓淼 (1989—), 女, 硕士, 主要从事中药新制剂及新剂型的研究。E-mail: xiaomiao527@126.com

\*通信作者 刘 毅 Tel: 13984016122 E-mail: liuyi6604@126.com

公司), 乙酸、甲醇、95%乙醇、正丁醇 (AR 级, 上海申博化工有限公司), 香草醛 (AR 级, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 石油醚 (AR 级, 利安隆博华医药化学有限公司), 浓硫酸 (国药集团化学试剂有限公司), 苯酚 (重庆川江化学试剂有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 总多糖的测定

**2.1.1 对照品溶液的制备<sup>[3]</sup>** 精密称取经 105 °C 干燥至恒质量的无水葡萄糖对照品 10.17 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加入蒸馏水至刻度, 摇匀, 即得。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取处方量药材, 加入 10 倍量水, 提取 3 次, 每次煎煮 1.5 h, 趁热 4 000 r/min 离心 5 min, 弃沉淀, 取上清液, 浓缩至每毫升含生药 1 g。取 2 mL 提取液于 250 mL 锥形瓶中, 用 10 mL 水溶解, 加 95%乙醇 90 mL, 静置过夜, 滤纸滤过, 用 85%乙醇冲洗沉淀 3 次, 每次 10 mL, 合并滤液, 将沉淀和滤纸一同放入之前的锥形瓶中, 加水 150 mL 水浴回流 1 h, 趁热滤过, 残渣用水洗 4 次, 每次 10 mL, 合并洗液和滤液, 转移至 250 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 取 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 取 1 mL 置于 10 mL 具塞试管中, 加水至 2 mL, 然后加入 5%苯酚水溶液 1 mL, 再沿壁缓慢滴入 5 mL 浓硫酸, 振摇, 室温放置 5 min, 放入沸水浴 15 min, 冰水浴冷却 5 min, 取出后放至室温, 即得。

**2.1.3 最大吸收波长的选择** 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.5 mL, 置于 10 mL 具塞试管中, 照“供试品溶液的制备”项下方法, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 在 200~800 nm 波长扫描, 图谱显示在 490 nm 处有最大吸收, 确定检测波长为 490 nm。

**2.1.4 标准曲线的建立** 分别取葡萄糖对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、1.0、1.2 mL 置于 10 mL 具塞试管中, 加水至 2 mL, 然后加入 5%苯酚水溶液 1 mL, 再沿壁缓慢滴入 5 mL 浓硫酸, 振摇, 室温放置 5 min, 放入沸水浴 15 min, 冰水浴冷却 5 min, 取出后放至室温。以对照品溶液取样 0 mL 为空白, 在 490 nm 波长下测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y=69.201 X-0.014 4$  ( $r=0.999 3$ ), 结果表明多糖在 0.001~0.015 mg/mL 有良好的线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 取无水葡萄糖对照品溶液 0.4 mL, 照“标准曲线的建立”, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 重复测定 6 次, 结果葡萄糖吸光度

值得 RSD 值为 0.1%。

**2.1.6 稳定性试验** 精密称取供试品溶液 2 mL, 照“标准曲线的建立”, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 每隔 20 min 测定 1 次, 持续 2 h, 结果总多糖 RSD 值为 0.9%。结果表明供试品溶液 2 h 内显色稳定。

**2.1.7 重复性试验** 取同一批提取液 6 份, 照“供试品溶液的制备”项下操作, 测定总多糖含量, 结果总多糖平均质量浓度为 85.847 mg/mL, RSD 值为 1.8%。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密量取已测定的供试品溶液 9 份, 分别加入一定量的已知浓度对照品, 照“供试品的制备”项下操作, 在 490 nm 下测定吸光度, 每个质量浓度下测定 3 次, 取平均值, 测出总多糖含量, 计算各自回收率。结果平均回收率为 98.7%, RSD 值为 2.9%。

### 2.2 总皂苷的测定

**2.2.1 对照品溶液的制备<sup>[4]</sup>** 精密称取 105 °C 干燥至恒质量的黄芪甲苷对照品 3.02 mg, 置于 10 mL 量瓶内, 加甲醇至刻度, 即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取上述总多糖“供试品溶液的制备”中 85%乙醇滤液 50 mL, 水浴挥干, 残渣加 20 mL 蒸馏水溶解, 置于分液漏斗中, 用石油醚洗涤 4 次, 每次 10 mL, 再用正丁醇萃取 4 次, 前两次每次 15 mL, 后两次每次 10 mL, 合并正丁醇液, 用氨洗液洗涤 3 次, 每次 15 mL, 正丁醇萃取液水浴蒸干, 残渣用 8 mL 甲醇溶解, 取 1 mL, 置 10 mL 具塞试管中, 水浴挥干溶剂, 精密加入新制 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸 0.8 mL, 混匀, 置 65 °C 水浴中加热 15 min, 取出, 立即放冰水浴中冷却 5 min, 取出后加入冰醋酸 5 mL, 摇匀, 室温放置 20 min, 即得。

**2.2.3 最大吸收波长的选择** 精密量取黄芪甲苷对照品溶液 0.5 mL, 置于 10 mL 具塞试管中, 照“供试品溶液的制备”, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 在 200~800 nm 波长处扫描, 图谱结果显示在 570 nm 处有最大吸收, 故确定检测波长为 570 nm。

**2.2.4 标准曲线的建立** 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL, 置 10 mL 具塞试管中, 水浴挥干溶剂, 精密加入新制 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸 0.8 mL, 混匀, 置 65 °C 水浴中加热 15 min, 取出立即放冰

水浴中冷却 5 min, 加入冰醋酸 5 mL, 摇匀, 室温放置 20 min, 以 0 mL 对照品溶液为空白对照, 在 570 nm 波长处测定吸光度, 在以黄芪甲苷的质量浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程  $Y=25.407 X-0.011 3 (r=0.999 3)$ , 结果表明皂苷在 0.005~0.035 mg/mL 有良好的线性关系。

**2.2.5 精密度试验** 取黄芪甲苷对照品溶液 0.4 mL, 照“标准曲线的建立”, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 重复测定 6 次, 吸光度值得 RSD 值为 0.1%。

**2.2.6 稳定性试验** 精密称取供试品溶液 2 mL, 照“标准曲线的建立”, 自“置于 10 mL 具塞试管中”开始, 每隔 20 min 测定 1 次, 持续 2 h, 总皂苷吸光度值得 RSD 值为 1.2%, 表明样品溶液 2 h 内显色稳定。

**2.2.7 重复性试验** 取同一批提取液 6 份, 照“供试品溶液的制备”项下操作, 在 570 nm 处测定吸光度。计算得总皂苷平均质量浓度为 0.556 mg/mL, RSD 值为 2.7%。

**2.2.8 加样回收试验** 精密量取 0.570 mg/mL 样品溶液 9 份, 分别加入 0.900、1.120、1.340 mg 黄芪甲苷对照品, 照“供试品溶液的制备”项下, 在 570 nm 处测定吸光度, 每个质量浓度下测定 3 次, 取

均值, 测出总皂苷含量, 计算各自回收率, 结果平均回收率为 97.1%, RSD 值为 2.1%。

**2.3 正交试验设计**

**2.3.1 因素水平的设置** 选取处方量药材 (太子参 30 g、黄芪 20 g、黄精 20 g、茯苓 15 g), 采取水煎煮的方法进行提取。选取加水量 (此处为已扣除药材吸水后的水量)、提取时间和提取次数为因素, 每个因素设 3 个水平, 因素和水平见表 1。

表 1 因素水平  
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	6	1	1
2	8	1.5	2
3	10	2	3

**2.3.2 正交试验设计及结果** 通过  $L_9 (3^4)$  正交试验法, 以多糖和皂苷的提取率为指标, 进行综合评分。综合评分按照总多糖提取率 60 分, 总皂苷提取率 40 分进行评定, 总多糖评分=总多糖提取率/最高总多糖提取率×60, 总皂苷评分=总皂苷提取率/最高总皂苷提取率×40。结果见表 2。对结果进行方差分析, 见表 3。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	总多糖提取率/%	总皂苷提取率/%	总多糖评分	总皂苷评分	总分
1	1	1	1	1	23.521	49.101	13.720	21.257	34.977
2	1	2	2	2	70.093	77.338	40.886	33.415	74.301
3	1	3	3	3	64.622	56.475	37.695	24.420	62.115
4	2	1	2	3	77.585	70.144	45.255	30.331	75.586
5	2	2	3	1	86.926	92.446	50.705	40.000	90.705
6	2	3	1	2	30.367	46.403	17.713	20.065	37.778
7	3	1	3	2	102.861	86.331	60.000	37.330	97.330
8	3	2	1	3	38.279	50.360	22.328	21.737	44.065
9	3	3	2	1	81.316	71.583	47.432	30.927	78.359
$k_1$	57.144	69.298	38.940	68.014					
$k_2$	68.023	69.690	76.082	69.803					
$k_3$	73.251	59.431	83.397	60.602					
R	16.107	10.259	44.457	9.201					

表3 方差分析  
Table 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A	405.116	2	2.345	
B	202.773	2	1.174	
C	3 409.428	2	19.732	$P<0.05$
D (误差)	345.57	8		

$F_{0.05}(2,8) = 19.00$

可见影响程度从强到弱依次是煎煮次数>加水量>提取时间,其中提取次数影响的差异具有显著性,因素对结果的影响大小为顺序为C、A、B、D,最佳方案为 $A_3B_2C_3D_2$ ,即用10倍量用水提取3次,每次1.5h。

#### 2.4 验证试验

取4倍处方量药材3份,按照上述最佳提取工艺进行验证试验,结果表明,最佳提取工艺得到的总多糖提取率为100.729%,总皂苷提取率为91.906%,该提取工艺稳定可行。

### 3 讨论

多糖在水中溶解度较好,皂苷可溶于热水,本实验中选用水作为溶剂,采用水煎煮的方法既经济又安全;通过参考文献报道,结合预实验,在测定总多糖过程中确定了沸水浴加热时间为15h、冰水浴冷却时间为5min,结果较为稳定;在皂苷供试溶液制备时,分别以80%乙醇、85%乙醇、甲醇作为提取溶剂进行了考察,根据总皂苷的含量,最后确定提取溶剂为85%乙醇;在对总皂苷进行纯化时,曾用氨试液和NaOH试液洗涤正丁醇层,黄芪甲苷的含量相差不大,考虑到前者易挥发,容易除去,因此该选用了氨试液。

#### 参考文献

- [1] 王喆星,徐绥绪,邱峰,等.太子参化学成分的研究[J].中草药,1992,23(6):331-336.
- [2] 陈家从.太子参食用开发与展望[J].中国食物与营养,2011,17(3):72-74.
- [3] 中国药典[S].一部.2010.
- [4] 许茜,王红芳,周小羽.太子参皂苷提取工艺优选[J].中草药,2001,32(9):799-800.