

度计于 200~400 nm 波长扫描,结果肉桂酸最大吸收波长为 267 nm,故选定检测波长为 267 nm。

References:

[1] Ji X M. Recent research developments of Jiaotai Pill in pharmacology and clinic [J]. *Chin J Exp Tradit Med For* (中国实验方剂学杂志), 2000, 6(2): 62-63.

[2] Zhang Z W, Sun X M. Exploration on oral preparations of Chinese materia medica by semi-bionic extraction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(11): 670-673.  
[3] Zhang X L, Zhang Z W, Liu C Q. Technical condition of semi-bionic extraction in optimizing formula of Jiaotai Pill through homogeneous design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(8): 575-578.

复脉汤提取工艺的研究

李文宏,余日跃,陈 奇\*,汪 亮\*  
(江西中医学院,江西 南昌 330006)

摘 要:目的 优选复脉汤的提取工艺。方法 采用均匀设计试验法,通过 HPLC 法测定提取液中甘草酸和人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量。结果 加醇量、提取温度影响具有显著性。复脉汤的最佳提取工艺为:用 10 倍药材量的 50% 乙醇于 60 ℃ 温浸 4 h。结论 按此工艺提取,复脉汤中有效成分甘草酸、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量高。  
关键词:复脉汤;提取工艺;均匀试验;甘草酸;人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 高效液相色谱  
中图分类号:R 284. 02; R 286. 02 文献标识码: B 文章编号:0253-2670(2003)10-0898-03

Study on extracting process of Fumai Decoction\*

LI Wen-hong, YU Ri-yue, CHEN Qi, WANG Liang  
(Jiangxi College of TCM, Nanchang 330006, China)

**Abstract:** **Object** To optimize the extraction conditions of Fumai Decoction. **Methods** Uniform design test was used, and the contents of glycyrrhizinic acid and ginsenoside Rb<sub>1</sub> in extracted solvent were determined by HPLC. **Results** The ethanol volume and the extracting temperature in the uniform test impacted the test remarkably. The best extraction process of Fumai Decoction as follows: the raw drugs were extracted by 10 times of 50% ethanol at 60 ℃ for 4 hours. **Conclusion** Glycyrrhizinic acid and ginsenoside Rb<sub>1</sub> contents in Fumai Decoction are higher according to the above extraction process.

**Key words:** Fumai Decoction; extracting process; uniform test; glycyrrhizinic acid; ginsenoside Rb<sub>1</sub>; HPLC

\* Fumai Decoction is a Chinese prescription made of *Radix Glycyrrhizae Preparata*, *Radix Panacis Quinquefolii*, and *Radix Ophiopogonis*, etc. with the function of supplementing *qi* and nourishing *yin*.

复脉汤由炙甘草、西洋参、麦冬等药物组成,有益气养阴复脉之功效,主治气阴两虚型心动悸脉结代,用于抗心律失常<sup>[1]</sup>。在以前的工作中,曾比较了水煎煮法、水温浸法、饮片乙醇温浸法、粗粉乙醇温浸法、渗漉法提取对复脉汤抗心律失常有效成分甘草酸及人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量的影响。结果在尽可能相似的条件下,饮片乙醇温浸法提取所得目标成分含量及总量最高,且总固体量相对较小。因此,本实验选择饮片乙醇温浸法作为复脉汤的提取方法,采用均匀设计试验法,以确定提取复脉汤中有效成分的

最佳工艺。

1 仪器及试剂

Agilent 1100 series HPLC 仪, VWD 紫外检测器, HP chemstation。甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。甘草酸单铵盐对照品(中国药品生物制品检定所,批号:731-9903)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0704-200012)。甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 由内蒙古医学院中药系提供;西洋参 *Panax quinquefolium* L.、麦冬 *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl. 药材购

\* 收稿日期: 2002-11-18  
基金项目: 江西省自然科学基金课题(0140010); 江西省教育厅课题  
作者简介: 李文宏(1974—), 男, 江西南昌市人, 讲师, 硕士, 现为北京中医药大学 2001 级博士生, 主要从事新药开发和中药药理研究。  
E-mail: lw hong@jxtcmi. com  
\* 通讯作者 Tel: (0791) 6825769 E-mail: chenqi666@263. net

自北京同仁堂药店, 其余药材均购自江西黄庆仁药店。各药材均经我院中药鉴定教研室诸小兰教授鉴定, 符合《中华人民共和国药典》标准。药材均按《中药炮制学》方法切片、制备。

2 方法与结果

2.1 均匀试验设计: 对影响较大的 4 个因素: 醇浓度、加醇量、提取时间、提取温度进行考察, 每个因素取 3 个水平, 因素水平见表 1。采用  $U_9(9^4)$  均匀表安排试验。每次试验各取两剂(51 g 生药) 药材做平行, 提取液浓缩、真空干燥, 以干浸膏中甘草酸和人参皂苷  $Rb_1$  含量的总和为评价指标, 数据采用 SPSS for Windows 10.0 软件处理。

表 1 试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels

| 水平 | 因 素      |          |               |               |
|----|----------|----------|---------------|---------------|
|    | A 乙醇浓度/% | B 提取温度/度 | C 乙醇倍量        | D 提取时间/h      |
| 1  | 50       | 50       | 3.0, 1.5, 1.5 | 2.0, 1.0, 1.0 |
| 2  | 60       | 60       | 4.0, 2.0, 2.0 | 3.0, 1.5, 1.5 |
| 3  | 70       | 70       | 5.0, 2.5, 2.5 | 4.0, 2.0, 2.0 |

2.2 色谱条件

2.2.1 甘草酸单铵盐<sup>[2]</sup>: 色谱柱: Hypersil ODS  $C_{18}$  柱(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 柱温: 室温; 流动相: 甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67 33 1); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 250 nm。

2.2.2 人参皂苷  $Rb_1$ <sup>[2]</sup>: 色谱柱: Hypersil ODS  $C_{18}$  柱(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 柱温: 25 ; 流动相: 乙腈-水(30 70); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 203 nm。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取甘草酸单铵盐对照品 4.75 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度。精密称取人参皂苷  $Rb_1$  对照品 2.50 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度。

2.4 供试品溶液的制备: 精密称取各次试验的干浸膏 0.30 g, 置 10 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过。取续滤液作为甘草酸单铵盐供试品溶液<sup>[3,4]</sup>。精密称取各次试验的干浸膏 1.50 g, 加入 45 mL 水饱和的正丁醇溶液于分液漏斗中振摇, 加氨试液振摇提取 3 次, 每次 5 mL, 合并水液。用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并正丁醇提取液, 用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 10 mL, 合并水液, 再以水饱和的正丁醇 10 mL 振摇提取。合并正丁醇提取液, 蒸干, 残渣加甲醇转移至 10 mL 量瓶中, 并加甲醇至刻度, 摇匀。微孔滤膜(0.45  $\mu$ m) 滤过, 取续滤液作为人参皂

苷  $Rb_1$  供试品溶液<sup>[2]</sup>。  
2.5 线性关系考察  
2.5.1 甘草酸单铵盐: 精密吸取甘草酸单铵盐对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25  $\mu$ L, 在拟定色谱条件下进行 HPLC 分析。以峰面积对进样量进行回归, 得回归方程:  $Y = 416.63X + 21.06$ ,  $r = 0.9998$ , 线性范围为 2.375 ~ 11.875  $\mu$ g (1 mg 甘草酸单铵盐对照品折合成甘草酸为 0.9795 mg)。色谱图见图 1。

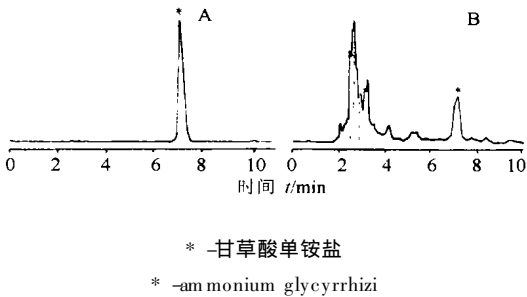


图 1 甘草酸单铵盐(A)和复脉汤(B)的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC chromatograms of ammonium glycyrrhizate (A) and Fumai Decoction (B)

2.5.2 人参皂苷  $Rb_1$ : 精密吸取人参皂苷  $Rb_1$  对照品溶液 3, 5, 10, 15, 20  $\mu$ L, 在拟定色谱条件下进行 HPLC 分析。以峰面积对进样量进行回归, 得回归方程:  $Y = 267.25X - 30.99$ ,  $r = 0.9998$ , 线性范围为 0.75 ~ 5.20  $\mu$ g。色谱图见图 2。

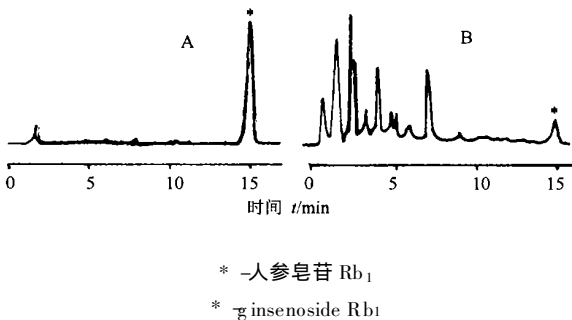


图 2 人参皂苷  $Rb_1$ (A)和复脉汤(B)的 HPLC 图谱  
Fig. 2 HPLC chromatograms of ginsenoside  $Rb_1$  (A) and Fumai Decoction (B)

2.6 精密度试验: 精密吸取甘草酸单铵盐对照品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 5 次, 峰面积 RSD 为 1.25%。精密吸取人参皂苷  $Rb_1$  对照品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 5 次, 峰面积 RSD 为 0.98%。

2.7 重现性试验: 取均匀试验设计中的 3 号试验提取液(后简称 3 号提取液), 按甘草酸单铵盐供试品溶液制备法制备成 5 份供试品溶液, 分别进样 10  $\mu$ L, 结果甘草酸单铵盐峰面积的 RSD 为 2.33%。取 3 号提取液, 按人参皂苷  $Rb_1$  供试品制备法制备成 5 份供试品溶液, 分别进样 10  $\mu$ L, 以人参皂苷  $Rb_1$  的

峰面积为指标, 结果其峰面积的 RSD 为 2.51%。

2.8 稳定性试验: 取 3 号提取液, 制备成供试品溶液, 在 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h 分别进样 10  $\mu$ L, 测定甘草酸单铵盐的峰面积, 结果其 RSD 为 2.06%。取 3 号提取液, 按人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 供试品制备法制备成供试品溶液, 在 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h 分别进样 10  $\mu$ L, 测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的峰面积, 结果其 RSD 为 1.83%。

2.9 回收率试验: 以甘草酸单铵盐为测定指标, 在已知含量 3 号试验供试品溶液中分别加入甘草酸单铵盐对照品溶液(约为已知供试品中甘草酸单铵盐量的 80%, 100%, 120%), 制成供试品溶液。测定甘草酸单铵盐的含量, 计算得平均回收率为 98.43%, RSD 为 2.40% ( $n=5$ )。以人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 为测定指标, 在已知含量 3 号试验供试品溶液中分别加入人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品溶液(约为已知供试品中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 量的 80%, 100%, 120%), 制成供试品溶液。测定人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量, 计算得平均回收率为 100.25%, RSD 为 2.78% ( $n=5$ )。

2.10 均匀试验结果: 取各供试品溶液 10  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 分别测定甘草酸单铵盐及人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, 结果见表 2, 方差分析见表 3(由于因素 D 组间极值很小, 作误差处理)。方差分析表明, 因素 B, C 差异有显著性; 因素 A 对试验结果有一定影响但差异并不具有显著性, 从节约成本角度考虑, 选择 A<sub>1</sub>; 因素 D 在考察范围内影响极小, 可任意选择, 选择 D<sub>1</sub>。因此, 各因素的最佳水平组合为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>, 即用 10 倍药材量(5, 2.5, 2.5 倍)的 50% 乙醇于 60  $^{\circ}$ C 下温浸 4 h (2, 1, 1 h)。

2.11 验证试验: 按上述所选定的工艺条件进行提取, 制备, 供试品溶液用曲线法进行测定。结果甘草酸单铵盐为 30.25 mg/g, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 为 2.13 mg/g。

### 3 讨论

3.1 提取次数也是一个影响因素, 但一般药材提取 3 次时其有效成分基本上已提取完全, 故本实验提取工艺为温浸 3 次。

3.2 复脉汤由甘草、西洋参、麦冬等 5 味药组成, 药理研究表明: 甘草酸、人参总皂苷、麦冬总皂苷是抗心律失常的有效成分<sup>[5,6]</sup>。纵观已有的研究报道, 复脉汤药材中有抗心律失常作用的有效成分基本上是皂苷类。

表 2 U<sub>9</sub>(9<sup>4</sup>) 均匀试验方案和结果( $n=2$ )

| Table 2 Project and results of U <sub>9</sub> (9 <sup>4</sup> ) uniform test ( $n=2$ ) |       |       |       |       |                          |      |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------------------------|------|-------|
| 试验号                                                                                    | A     | B     | C     | D     | 含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) |      |       |
|                                                                                        |       |       |       |       | 甘草酸                      | 人参皂苷 | 总和    |
| 1                                                                                      | 1     | 3     | 1     | 2     | 24.24                    | 1.47 | 25.71 |
| 2                                                                                      | 1     | 2     | 3     | 3     | 28.24                    | 2.06 | 30.30 |
| 3                                                                                      | 3     | 2     | 1     | 1     | 29.10                    | 1.73 | 30.83 |
| 4                                                                                      | 2     | 2     | 2     | 2     | 25.55                    | 2.07 | 27.62 |
| 5                                                                                      | 2     | 1     | 1     | 3     | 22.47                    | 1.72 | 24.19 |
| 6                                                                                      | 2     | 3     | 3     | 1     | 26.41                    | 1.41 | 27.82 |
| 7                                                                                      | 1     | 1     | 2     | 1     | 20.14                    | 1.36 | 21.50 |
| 8                                                                                      | 3     | 1     | 3     | 2     | 28.36                    | 1.07 | 29.43 |
| 9                                                                                      | 3     | 3     | 2     | 3     | 25.45                    | 0.94 | 26.39 |
| K <sub>1</sub>                                                                         | 77.51 | 75.12 | 80.73 | 80.15 |                          |      |       |
| K <sub>2</sub>                                                                         | 79.63 | 88.75 | 75.51 | 82.76 |                          |      |       |
| K <sub>3</sub>                                                                         | 86.65 | 79.92 | 87.55 | 80.88 |                          |      |       |
| R                                                                                      | 9.14  | 13.63 | 12.04 | 2.61  |                          |      |       |

表 3 方差分析表

| Table 3 Variance analysis |        |     |       |       |        |
|---------------------------|--------|-----|-------|-------|--------|
| 方差来源                      | 离均差平方和 | 自由度 | 均方    | F 值   | P 值    |
| A                         | 15.42  | 2   | 7.71  | 12.39 |        |
| B                         | 32.79  | 2   | 16.39 | 26.33 | < 0.05 |
| C                         | 24.13  | 2   | 12.07 | 19.38 | < 0.05 |
| D                         | 1.25   | 2   | 0.63  |       |        |

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

3.3 甘草药材中的甘草酸、西洋参总皂苷中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量最高, 因此, 以甘草酸和人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 作为复脉汤提取研究考察的目标成分, 可有效地控制复脉汤工艺与制剂的质量。

### References:

[1] Chen Q. Mechanism of Anaphylactic Arrhythmias and the Effects of Fumai Decoction (变态反应性心律失常的机制和复脉汤的作用) [C]. Shanghai: Dissertation Resume Compilation of Chinese Pharmacology Academical Conference, 2002.

[2] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol .

[3] Shao G L, Fu J, Mao L Z, et al. Quantitative determination of glycyrrhizin in Keermal Oral Solution by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1999, 30(10): 747-748.

[4] Liu R H, Chen L Y, Chen Q, et al. Quantitative determination of glycyrrhizin in Zhigancao Decoction by HPLC [J]. Jiangxi Coll Tradit Chin Med (江西中医学院学报), 1999, 16(3): 37-38.

[5] Chen Q, Bi M, Chen L Y. Effects of active component glycyrrhizin in Zhigancao Decoction and its compatibility on myocardial triggered-activity [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2000, 16 (Suppl): 140-141.

[6] Chen L Y, Chen Q, Liu R H. Effects of active component ginsenosides in Zhigancao Decoction and its compatibility on myocardial electrophysiology [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2001, 12(5): 332-335.