

东风桔总生物碱提取工艺优化

黄永昌, 尹永芹, 汤文伟, 张慧, 谌江城, 沈志滨*
(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立东风桔总生物碱的含量测定方法并优选其提取工艺。方法: 采用酸性染料比色法测定东风桔总生物碱含量, 选择 Buxifoliadine-B 为指标成分, 检测波长 410 nm。以总生物碱提取量为指标, 通过正交试验考察乙醇体积分数、乙醇用量、回流时间及提取次数对提取工艺的影响。结果: Buxifoliadine-B 含量测定的线性范围 0.034 ~ 0.34 g·L⁻¹, 加样回收率 (99.16 ± 1.81)%。最佳提取工艺为加 10 倍量 80% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h; 总生物碱提取量 4.88 mg·g⁻¹。结论: 建立的东风桔总生物碱含量测定方法稳定可靠, 优选的提取工艺方法合理可行。

[关键词] 东风桔; 总生物碱; 酸性染料比色法; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6; R284h2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0040-03

[doi] 10.11653/syfy2014070040

Optimization of Extraction Process of Total Alkaloids in *Atalantia buxifolia*

HUANG Yong-chang, YIN Yong-qin, TANG Wen-wei, ZHANG Hui, CHEN Jiang-cheng, SHEN Zhi-bin*
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination for total alkaloids in *Atalantia buxifolia* and optimize its extraction process. **Method:** The content of total alkaloids was determined by acid dye-colorimetry, taking Buxifoliadine-B as index ingredient, detection wavelength was set at 410 nm. Effects of ethanol concentration, ethanol volume, extracting time and times on extraction amount of total alkaloids were investigated by orthogonal test. **Result:** The content of Buxifoliadine-B had a good linear relationship within the range of 0.034-0.34 g·L⁻¹, recovery was (99.16 ± 1.81)%. Optimum extraction process was reflux extracted twice with 10 times the amount of 80% ethanol for 1.5 h per time; Under these conditions, extraction amount of total alkaloids was 4.88 mg·g⁻¹. **Conclusion:** This determination for total alkaloids in *A. buxifolia* and optimized extraction process were reasonable and practicable.

[Key words] *Atalantia buxifolia*; total alkaloids; acid dye-colorimetry; orthogonal test; extraction process

东风桔收载于 2010 年版《广东省中药材标准》^[1], 具有疏风止咳、化气止痛的功效, 主治支气管炎、感冒、头痛、咳嗽等。据文献报道其根茎中总

生物碱含量较高, 大部分为吡啶酮生物碱类化合物, 已用于制备复方救必应胶囊、复方马缨丹片等制剂, 但关于其总生物碱含量测定的报道较少^[2-5]。本实验以 Buxifoliadine-B 为对照品, 采用溴甲酚绿酸性染料比色法^[6-7]测定东风桔总生物碱的含量, 通过正交试验^[8]优化总生物碱的提取工艺, 为该药材及其复方制剂的质量控制和开发应用提供参考。

1 材料

UV-2450 型紫外-可见光光度计 (日本岛津), BP211D 型 1/10 万电子分析天平 (德国赛多利斯公司)。东风桔采收于广东省电白县, 经广东药学院中药学院刘基柱副教授鉴定为芸香科植物东风桔 *Atalantia buxifolia* (Poir.) Oliv. ex Benth 的干燥根;

[收稿日期] 20130820(017)

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81202885); 国家“十二五”重大新药创制项目 (2011zx09102-007-03); 广东省科技计划项目 (2010B0307000444); 广州市科技计划项目 (12A062131631); 广东省教育厅高层次人才项目 (2010)

[第一作者] 黄永昌, 硕士, 从事中药及复方化学成分研究, Tel: 15920568163, E-mail: hi6435600@qq.com

[通讯作者] * 沈志滨, 博士, 教授, 从事中药及复方化学成分研究, Tel: 13724866019, E-mail: szb8113@126.com

Buxifoliadine-B 对照品(自制,纯度 >98%),溴甲酚绿(天津市天新化工开发中心),枸橼酸(天津福晨化学试剂厂),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称定 Buxifoliadine-B 21.25 mg 至 50 mL 量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,即得。

2.1.2 供试品溶液 取东风桔药材粉末(80目)1 g,加入乙醇 50 mL,精密称定,浸润 30 min,超声提取 1 h,加乙醇补足质量,过滤,取续滤液 25 mL 蒸干,残渣用乙醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,即得。

2.2 检测波长考察 精密吸取对照品溶液 1 mL 和供试品溶液 2 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,水浴挥去溶剂,各加入 pH 3.4 枸橼酸-磷酸氢二钠缓冲液 5 mL,溴甲酚绿溶液 2 mL 和三氯甲烷 10 mL,密塞,剧烈振摇 3 min,转移至分液漏斗中,静置 30 min,分取三氯甲烷层,滤过,取续滤液测定。同法制得空白溶液作为参比,于 200~800 nm 进行全波长扫描,结果显示二者均在 410 nm 处有最大吸收,故确定检测波长 410 nm。

2.3 方法学考察

2.3.1 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 0.4,1.0,2.0,3.0,4.0 mL,分别置于 5.0 mL 量瓶中,加乙醇定容至刻度,摇匀,精密吸取 2.5 mL,按 2.2 项下方法显色,以质量浓度为横坐标, A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 3.427X + 0.0038$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.034~0.34 g·L⁻¹。

2.3.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液 1 mL,按 2.2 项下方法显色,平行测定 6 次,计算 A 的 RSD 0.26%,表明仪器精密度符合要求。

2.3.3 重复性试验 取 6 份东风桔药材粉末各约 1 g,按 2.2 项下方法显色,结果 Buxifoliadine-B 平均提取量 3.11 mg·g⁻¹,RSD 1.32%,说明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取供试品溶液和对照品溶液,分别于制备后 30,60,90,120 min 测定 A ,结果 RSD 均 <2%,表明待测溶液在 2 h 内稳定。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取 6 份东风桔药材粉末,每份约 0.5 g,精密加入 Buxifoliadine-B 对照品 0.953 mg,按 2.2 项下方法显色,结果平均回收率 99.33%,RSD 1.67%,见表 1。

2.4 提取工艺优化 在预试验基础上,选取乙醇体

表 1 东风桔总生物碱含量测定的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中质量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.499 8	1.566 4	2.512 1	99.23
2	0.500 5	1.564 2	2.534 8	101.84
3	0.505 6	1.548 4	2.491 9	99.00
4	0.493 6	1.586 1	2.528 9	98.93
5	0.493 4	1.586 7	2.509 2	96.80
6	0.497 7	1.555 4	2.510 2	100.19

积分数、乙醇用量、回流时间、提取次数为考察因素,以东风桔总生物碱提取量为评价指标,称取东风桔药材 9 份,每份 25.0 g,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,因素水平见表 2,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 2 东风桔总生物碱提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇 体积分数/%	B 溶剂用量/倍	C 提取时间/min	D 提取数/次
1	60	8	60	1
2	70	10	90	2
3	80	12	120	3

表 3 东风桔总生物碱提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	总生物碱 提取量/mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	3.19
2	1	2	2	2	4.48
3	1	3	3	3	4.24
4	2	1	2	3	3.69
5	2	2	3	1	3.06
6	2	3	1	2	3.87
7	3	1	3	2	4.25
8	3	2	1	3	4.35
9	3	3	2	1	3.54
K ₁	3.970	3.710	3.803	3.263	
K ₂	3.953	3.963	3.903	4.200	
K ₃	4.047	3.883	3.850	4.093	
R	0.507	0.253	0.100	0.937	

表 4 总生物碱提取量方差分析

方差来源	SS	MS	f	F	P
A	0.447	0.224	2	29.8	<0.05
B	0.101	0.051	2	6.7	>0.05
C(误差)	0.015	0.008	2	1.0	
D	1.578	0.789	2	105.2	<0.01

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

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $D > A > B > C$ 。以极值最小的因素 C 为误差项进行方差分析,结果表明因素 D 对提取工艺的影响极显著,因素 A 影响显著,因素 B 则无显著性影响,确定最佳提取工艺 $A_3B_2C_2D_2$,即加 10 倍量 80% 乙

不同炮制方式对当归中有效成分含量的影响

王雁梅*, 任京力, 朱吾元, 崔燕兵

(漯河医学高等专科学校药理学系, 河南 漯河 462002)

[摘要] 目的: 考察不同炮制方式对当归中有效成分含量的影响。方法: 采用水蒸气蒸馏法测定挥发油含量; 利用 HPLC 测定阿魏酸含量, 流动相甲醇-1% 乙酸水溶液(45:55), 检测波长 321 nm; 通过磷钼钨酸-干酪素比色法测定总鞣质含量。结果: 当归经炮制后, 挥发油和阿魏酸含量均有不同程度的降低, 顺序为生当归(0.683%, 0.075%) > 酒炙当归(0.590%, 0.068%) > 土炒当归(0.397%, 0.024%) > 当归炭(0.125%, 0.012%); 酒炙当归中总鞣质含量低于生当归, 而其他炮制品中总鞣质含量明显高于生当归, 排序为当归炭(0.702%) > 土炒当归(0.491%) > 生当归(0.352%) > 酒炙当归(0.339%)。结论: 不同炮制方式对当归中有效成分含量存在一定影响。

[关键词] 当归; 炮制工艺; 挥发油; 阿魏酸; 总鞣质; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0042-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070042

Effect of Different Processing Methods on Contents of Active Ingredients in *Angelicae Sinensis Radix*

WANG Yan-mei*, REN Jing-li, ZHU Wu-yuan, CUI Yan-bing

[收稿日期] 20131021(001)

[基金项目] 河南省高等学校青年骨干教师项目(2011GGJS-282)

[通讯作者] * 王雁梅, 硕士, 副教授, 从事中药药理研究, Tel:0395-2969417, E-mail: yanmeiwang_student@sina.com

醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h。

2.5 验证试验 称取东风桔 3 份, 每份 25.0 g, 按最佳提取工艺进行验证试验, 结果总生物碱平均提取量 $4.88 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.94%, 说明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

东风桔中总生物碱大部分为吡啶酮生物碱类化合物, 目前已分离出 Buxifoliadine-B, 约占总生物碱的 3.33%, 故选择 Buxifoliadine-B 为指标成分。采用酸性染料比色法测定总生物碱含量时, 萃取后三氯甲烷层含有微量水分, 呈现浑浊, 会带入酸性染料, 导致测定结果不稳定, 本文通过滤纸滤过吸走微量水分, 消除影响, 以保证试验结果的准确性和可重复性。

在前期试验中, 比较酸水、乙醇 2 种溶媒对东风桔总生物碱提取率的影响, 结果表明乙醇的提取率高于酸水, 原因可能为东风桔中生物碱类成分大部分为吡啶酮生物碱类, 为脂溶性叔胺型生物碱, 碱性较弱, 不易成盐, 故选择乙醇为提取溶剂。

[参考文献]

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第 1 册[S]. 广州: 广东科技出版社, 2010:52.
- [2] 杨涛. 酒饼筋根的生物活性成分研究[D]. 海口: 海南大学, 2012.
- [3] 覃德康. 东风桔吡啶酮生物碱[J]. 药学学报, 1986, 21(9):683.
- [4] 顾国明. 东风桔化学成分的研究[J]. 药学学报, 1987, 22(12):886.
- [5] 孙维广. 复方救必应制剂化学体系及新剂型研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:34.
- [7] 董常青, 周莹, 易红, 等. 广西地不容总生物碱的含量测定方法[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(9):915.
- [8] 黄晓玲, 郑兆广, 封亮, 等. 正交试验优化板蓝根总生物碱的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9):66.

[责任编辑 仝燕]