

## 戒毒瘾丸中罗布麻叶提取工艺优选

王洛临<sup>\*</sup>, 施之琪, 陈玉兴, 李智勇, 徐文杰  
(广东省中医研究所, 广州 510095)

**[摘要]** 目的: 优选戒毒瘾丸中罗布麻叶的提取工艺。方法: 以镇痛药效反应、金丝桃苷含量为指标, 采用单因素试验筛选提取溶剂; 以干浸膏得量和金丝桃苷含量为综合评价指标, 通过正交试验考察料液比、提取时间和提取次数对罗布麻叶提取工艺的影响, 利用 HPLC 测定金丝桃苷含量。结果: 最佳提取工艺为加 12 倍量 50% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h。结论: 优选的工艺稳定有效, 为戒毒瘾丸的深入研究提供参考。

**[关键词]** 戒毒瘾丸; 镇痛; 提取工艺; 金丝桃苷; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6, R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0038-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013150038

## Optimization of Extraction Technology of *Apocynum venetum* in Jieduyin Pills

WANG Luo-lin<sup>\*</sup>, SHI Zhi-qi, CHEN Yu-xing, LI Zhi-yong, XU Wen-jie  
(Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of *Apocynum venetum* in Jieduyin pills. **Method:** With the content of hyperoside and analgesic efficacy reaction as indexes, extraction solvent was selected by single-factor test; With the content of hyperoside and dry extract yield as comprehensive index, effect of the amount of solvent, extraction time and frequencies on extraction technology was investigated by orthogonal test. the content of hyperoside was determined by HPLC. **Result:** Optimum extraction technology was as following: extracted 3 times with 12 times the amount of 50% ethanol, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and effective, which could lay foundation for further study of Jieduyin pills.

**[Key words]** Jieduyin pills; analgesic effect; extraction technology; hyperoside; orthogonal test

戒毒瘾丸处方源于广东省民间验方, 由罗布麻叶、银杏叶、罗汉果等组成, 具有清热解毒、止咳祛痰、通脉止痛之功效, 临床用于阿片类成瘾戒断症状, 疗效确切。原制备方案为方中罗布麻叶提取、浓缩成浓缩液, 备用; 其余药味粉碎成细粉与浓缩液混合制成浓缩水丸。罗布麻叶主要含黄酮类等成分, 金丝桃苷是主要黄酮类成分之一<sup>[1-3]</sup>。罗布麻叶总黄酮具有抗忧郁作用<sup>[4-5]</sup>, 金丝桃苷具有解痉镇痛作用<sup>[6]</sup>。为缓解阿片戒断综合症的疼痛症状, 本实验以提取液的镇痛药效、金丝桃苷和水不溶性杂质含量为指标, 通过单因素试验对罗布麻叶提取溶剂

进行筛选, 采用正交试验优选其提取工艺, 为戒毒瘾丸的后续研究提供依据。

### 1 材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司), DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司)。金丝桃苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111521-201014, 纯度 93.9%), 对乙酰氨基酚片(中美天津史克制药有限公司, 批号 11100990), 罗布麻叶等药材(均购自广州市中之源中药有限公司, 经广东省中医研究所毕晓黎教授鉴定, 均符合《中国药典》2010 年版相关药材项下规定, 罗布麻叶中金丝桃苷质量分数 0.394%), 所用试剂均为色谱纯。SPF 级 NIH 小鼠, 雌性, 18 ~ 22 g, 由广东省实验动物中心提供, 合格证号 0097273。

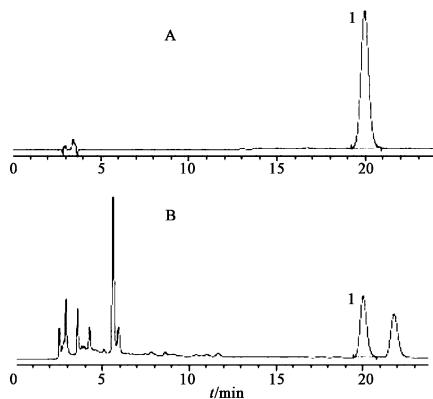
**[收稿日期]** 20130223(002)

**[通讯作者]** \* 王洛临, 副主任中医师, 从事中药药理学与中药新药开发研究, Tel: 020-83501292, E-mail: luolin\_w@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 金丝桃苷含量测定<sup>[7]</sup>

**2.1.1 色谱条件与系统适用性试验** Agilent Exteng-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.2% 磷酸水(15:85), 柱温 30 °C, 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 256 nm, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 金丝桃苷

图 1 罗布麻叶提取液 HPLC

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取于 60 °C 减压干燥 4 h 的金丝桃苷对照品 7.16 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 精密量取 10 mL 至 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 即得。

**2.1.3 标准曲线的绘制** 精密量取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 μL, 按上述条件分别进样, 测定峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程  $Y = 3.2788X + 2.2298$  ( $r = 0.99994$ ), 表明金丝桃苷进样量在 53.786 ~ 430.287 ng 线性关系良好。

**2.1.4 供试品溶液的制备** 精密移取罗布麻叶浓缩液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加 55% 甲醇定容, 摇匀, 静置, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取供试品溶液 5 μL, 按上述色谱条件进样 6 次, 结果峰面积积分值的 RSD 0.47%。

**2.1.6 稳定性试验** 精密吸取同一份供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 按上述色谱条件进样 5 μL, 结果峰面积积分值的 RSD 0.49%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 取同一浓缩液样品, 按 2.1.4 项下方法制备 5 份供试品溶液, 按上述色谱条件进样 5 μL, 结果峰面积积分值的 RSD 0.96%。

**2.1.8 加样回收率试验** 取已知含量的罗布麻叶浓缩液样品 9 份, 分别精密加入一定量黄芩苷对照品, 按 2.1.4 项下方法制备供试品溶液, 测定, 计算

黄芩苷含量, 结果黄芩苷平均回收率 97.53%, RSD 1.19%。

**2.2 干浸膏量的测定** 精密吸取浓缩液 50 mL 置已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 照《中国药典》2010 年版一部附录 IX G 干燥失重测定法测定, 计算干浸膏质量。

### 2.3 单因素试验

**2.3.1 供试品的制备** 称取处方量药材, 加 14 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h, 制成 1 g 浸膏含 1.02 g 药材的浸膏, 得样品 1。称取处方量罗布麻叶药材 3 份, 分别加 14 倍量水、50% 乙醇、80% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 制成浸膏, 加入方中其余药材细粉, 混匀, 分别制备成每 1 g 混合物相当于 1.006, 1.232, 1.40 g 药材的样品 2, 3, 4。

**2.3.2 疼痛反应考察<sup>[8]</sup>** 取小鼠 60 只, 雌雄各半, 适应环境后, 按体重随机分为 6 组(对照组、对乙酰氨基酚片组、样品 1、样品 2、样品 3、样品 4), 每组 10 只。各给药组小鼠按剂量灌胃给药, 对照组灌胃给予等体积水, 给药体积 20 mL·kg<sup>-1</sup>, 每天 1 次, 连续 7 d。末次给药后 1 h, 各组小鼠均按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 剂量腹腔注射 0.6% 冰醋酸生理盐水溶液, 开始计时, 计数 15 min 内小鼠的扭体次数(扭体反应为腹部凹陷、伸展后退、臀部抬高), 见表 1。结果表明, 与对照组相比, 各样品组小鼠扭体次数均显著减少; 样品组间相互比较, 均无显著性差异, 且处方中罗布麻叶采用乙醇提取的镇痛效果优于水提取, 其中以 50% 乙醇提取工艺的镇痛作用最好。

**2.3.3 乙醇体积分数考察<sup>[3,4]</sup>** 称取罗布麻叶药材 4 份, 每份 120 g, 分别加入 12 倍量体积分数为 35%, 50%, 65%, 80% 的乙醇溶液回流提取 1 次(1.5 h), 浓缩并定容至 1 L, 测得金丝桃苷质量浓度分别为 0.202, 0.273 7, 0.274 5, 0.239 8 g·L<sup>-1</sup>, 结合镇痛药效结果, 确定选择 50% 乙醇为提取溶媒。

表 1 罗布麻提取液对冰醋酸

所致小鼠扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	给药剂量/g·kg <sup>-1</sup>	扭体数/次
对照	-	15.60 ± 3.24
对乙酰氨基酚片	0.39	0.80 ± 0.92
样品 1	5.72	5.10 ± 3.81
样品 2	5.72	4.80 ± 4.49
样品 3	5.72	2.80 ± 2.82
样品 4	5.72	3.70 ± 2.83

**2.4 提取工艺优选** 选取料液比、回流时间和回流次数为考察因素, 因素水平见表 2。称取罗布麻叶

药材 9 份,每份 120 g,按  $L_9(3^4)$  正交表进行提取,合并提取液,浓缩并定容至 500 mL,测定干浸膏得量 ( $X_1$ ) 和金丝桃苷含量 ( $X_2$ ),按  $Y = [(X_{1i}/X_{1max}) \times 0.4 + (X_{2i}/X_{2max}) \times 0.6] \times 100$  计算综合评分值 ( $Y$ ),以综合评分值为考察指标,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 2 戒毒丸中罗布麻叶的提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇用量/倍	B 回流时间/h	C 回流数/次
1	10	1	1
2	12	2	2
3	14	3	3

表 3 戒毒丸中罗布麻叶的提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	干浸膏 得量 /g	金丝桃苷 质量浓度 /g·L <sup>-1</sup>	综合 评分
1	10	1	1	1	20.80	0.568	68.14
2	10	2	2	2	24.93	0.732	85.52
3	10	3	3	3	26.23	0.734	87.26
4	12	1	2	3	29.37	0.744	91.87
5	12	2	3	1	31.27	0.800	98.40
6	12	3	1	2	21.97	0.656	76.18
7	14	1	3	2	32.57	0.757	96.78
8	14	2	1	3	22.37	0.664	77.27
9	14	3	2	1	29.20	0.754	92.41
$K_1$	240.93	256.79	221.60	258.96			
$K_2$	266.46	261.19	269.80	258.47			
$K_3$	266.46	255.86	282.44	256.41			
R	25.53	5.34	60.84	2.55			

表 4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	144.86	2	72.43	117.77	<0.05
B	5.42	2	2.71	4.41	>0.10
C	687.19	2	343.60	558.69	<0.05
D(误差)	1.23	2	0.62		

注:  $F_{0.1}(2,2) = 9.00, F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $C > A > B$ 。方差分析表明因素 C, A 对提取工艺具有显著性影响, B 因素则无显著性影响,确定最佳提取工艺为  $A_2B_1C_3$ ,即加 12 倍量 50% 乙醇提取 3 次,每次 1 h。

**2.5 验证试验** 称取罗布麻叶 120 g,按优选的提取工艺进行 3 次验证试验,结果干膏得率分别为 26.83%,27.03%,27.53%,金丝桃苷质量浓度依次为 0.775,0.762,0.771 g·L<sup>-1</sup>,计算金丝桃苷提取率分别为 81.93%,80.53%,81.58%,表明该提取工

艺稳定可行。

### 3 讨论

阿片类药物依赖者的稽延性戒断症状主要表现为顽固性失眠、焦虑烦躁、周身疼痛、纳差、疲乏无力、心境恶劣和长期存在对毒品的心理渴求等,是导致复吸的主要原因。扭体法是镇痛药物筛选的常用方法,罗布麻叶用不同溶媒制备的提取物制成的浓缩水丸均有一定镇痛作用,但效应强弱有差别,对缓解阿片戒断综合症的疼痛会有一定帮助,但其镇痛机制尚不明确,是否与其改善微循环血流量、带走炎症介质和局部代谢产物有关还需确定。

罗布麻叶含有大量叶绿素等水不溶杂质,该类杂质黏性大,大量溶出往往会影响到本制剂的溶散时限,而提取溶媒的极性不同会导致溶出成分比例不同,在筛选提取溶媒时<sup>[9-10]</sup>,除考察提取溶媒对药效学指标的影响外,还考察了提取溶媒对指标成分和水不溶性杂质的溶出能力。设置权重指标时,除考虑指标成分外,还考虑制剂成型过程中固形物的影响,使优选的提取工艺更为合理。

### 【参考文献】

- [1] 许虎,刘训红,王媚,等.罗布麻叶研究现状及设想[J].现代中药研究与实践,2012,26(3):85.
- [2] 李珍丹,张录霞,马兵钢,等.罗布麻化学成分提取及药理活性研究进展[J].新疆大学学报:自然科学版,2007,24(增刊):135.
- [3] 王明时.罗布麻叶化学成分的研究(II)罗布麻叶鞣质对烟碱的作用[C].南京:罗布麻药用研究论文集,1987.
- [4] 郑梅竹,范亚军,修瑾,等.罗布麻叶总黄酮抗抑郁作用参与 5-HT 能系统可能机制的研究[J].辽宁中医杂志,2012,39(5):935.
- [5] 翟丽莉,吕建华.罗布麻的现代药理研究及临床应用[J].中国中医药现代远程教育,2009,74(6):187.
- [6] 李敏芳,李慧,王学美.金丝桃苷药理作用研究进展[J].中国中医药信息杂志,2008,15(4):102.
- [7] 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,2010:196.
- [8] 颜昌云,周萍,吴建新,等.吉祥戒毒液的镇痛作用和急性毒性反应研究[J].中国药物滥用防治杂志,2010,16(4):209.
- [9] 叶菊,苏印泉.罗布麻叶总黄酮提取工艺研究[J].安徽农业科学,2008,36(10):3939.
- [10] 杨华生,张坤,尹小英,等.多指标正交试验优选罗布麻定时脉冲片提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):14.

【责任编辑 全燕】