

正骨水中徐长卿的提取工艺优化

覃葆^{1*}, 李琴², 邓欢¹, 蒋文佳¹, 韦东晓¹, 全丹丹¹, 贺勤¹

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西玉林制药集团有限责任公司, 广西 玉林 537001)

[摘要] 目的: 优选正骨水中徐长卿的提取工艺。方法: 以丹皮酚提取量为指标, 采用正交试验考察粉碎度、乙醇体积分数及提取时间对提取工艺的影响, 通过 HPLC 测定丹皮酚含量。结果: 最佳提取工艺为粉碎度 20 目, 加 70% 乙醇浸提 60 h, 丹皮酚提取量 5.34 mg·g⁻¹。结论: 该工艺稳定可行, 为正骨水的工业生产提供参考。

[关键词] 正骨水; 徐长卿; 丹皮酚

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)14-0047-03

[doi] 10.11653/syfy2013140047

Optimization of Extraction Technology for *Cynanchum paniculatum* in Zhenggu Mixtures

QIN Bao^{1*}, LI Qin², DENG Huan¹, JIANG Wen-jia¹, WEI Dong-xiao¹, TONG Dan-dan¹, HE Qin¹

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Guangxi Yulin Pharmaceutical Group Co. Ltd, Yulin 537001, China)

[收稿日期] 20120530(002)

[基金项目] 国家科技特派员项目(2009GJE10028)

[通讯作者] *覃葆, 教授, 硕士生导师, 从事中药炮制及中药质量标准研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: bbythemoon@yahoo.com.cn

用过程中发生了变化, 使皮肤表面的空隙发生了变化或者药物的累积渗透量达到了相对高值, 从而影响了药物分子的渗透; 泡腾颗粒剂与普通颗粒剂相比, 乌头总碱渗透速率有一定的提高, 其机制可能是泡腾剂促进颗粒的溶解, 使颗粒溶解完全, 进而颗粒中所含的乌头碱更易溶于生理盐水中, 或者可能是泡腾剂与鼠皮发生了相互作用, 使离体鼠皮表面孔隙和间距发生变化, 从而促进药物渗透; 复方药材提取液与单味药材提取液相比, 药物的渗透速率有一定的提高, 说明了复方的优越性。

[参考文献]

- [1] 李晓丽, 张少华, 秦林, 等. 川乌与防己配伍镇痛作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(3): 202.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 207.
- [3] 薛玲, 张惠云, 秦林, 等. 川乌与白芍配伍前后对大鼠佐剂关节炎的影响[J]. 中国中药杂志, 2000, 25

(3): 175.

- [4] 吴亚男. 川归护心经皮给药制剂的研究[D]. 天津: 天津大学, 2006: 35.
- [5] 王晶. 氢溴酸东食若碱微乳透皮制剂的研究[D]. 上海: 第二军医大学军队卫生学, 2008: 38.
- [6] 李文兰, 王艳萍, 季宇彬, 等. 渗透促进剂对川乌总生物碱和新乌头碱透皮吸收的影响[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(17): 1316.
- [7] 李玲慧. 双黄巴布剂的研制与体外透皮吸收研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010: 35.
- [8] 丁乐, 董建, 杨人泽. 凝胶材料对比对丁香罗勒油透皮凝胶体外透皮性能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 63.
- [9] 薛强强. 川红足浴泡腾颗粒药理学研究及沙棘原粉制备工艺研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2012: 10.
- [10] 王亚静. 马钱子透皮吸收制剂的研究[D]. 天津: 天津大学, 2006: 11.
- [11] 祁艳, 陈军, 李磊, 等. 不同促渗剂对马钱子碱贴剂体外透皮吸收的影响[J]. 中国药房, 2011, 22(3): 195.

[责任编辑 全燕]

[Abstract] Objective: To optimize extraction technology of *Cynanchum paniculatum* in Zhenggu mixtures. **Method:** With the content of paeonol as index, which was determined by HPLC, effect of grinding degree, ethanol concentration and extraction time on extraction technology was investigated by orthogonal test. **Result:** Optimum extraction technology conditions were as follows: grinding degree of raw material 20 mesh, maceration extracted 60 h with 70% ethanol, yield of paeonol $5.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. **Conclusion:** Optimized technology was stable and feasible, this study could provide a reference for industrial production of Zhenggu mixtures.

[Key words] Zhenggu mixtures; *Cynanchum paniculatum*; paeonol

正骨水是 2010 年版《中国药典》中药成方制剂中收藏的品种,由草乌、徐长卿、两面针、虎杖、碎骨木等 26 味中药组成,具有活血祛瘀、舒经活络、消肿止痛之功效,常用于治疗跌打扭伤、骨折脱位及体育运动前后疲劳^[1]。徐长卿为多年生草本植物,性温,味辛,具有祛风化湿、止痛止痒等功效,目前有野生、栽培 2 种,其主要成分为丹皮酚(又称牡丹酚)。徐长卿能散化淤血、活血通络,对牙痛、心腹痛、痛经、跌打损伤等均有较好的止痛效果^[2]。沈志磬^[3]以徐长卿为主药,参合复原活血汤加减,治疗带状疱疹后遗神经痛,取得满意疗效。本实验将正骨水拆方分析,以丹皮酚提取量为指标,通过正交试验优选该方中徐长卿的提取工艺条件,为该制剂的工业生产提供实验依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(G-1322A 型在线脱气机,A-1311A 型高压四元泵,G-1316A 型自动进样器,G-1316A 型智能化柱温箱,G-1316A 型紫外检测器,美国安捷伦科技公司),LG16-W 型高速台式离心机(北京京立离心机有限公司),BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯),DFY-300 型摇摆式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。

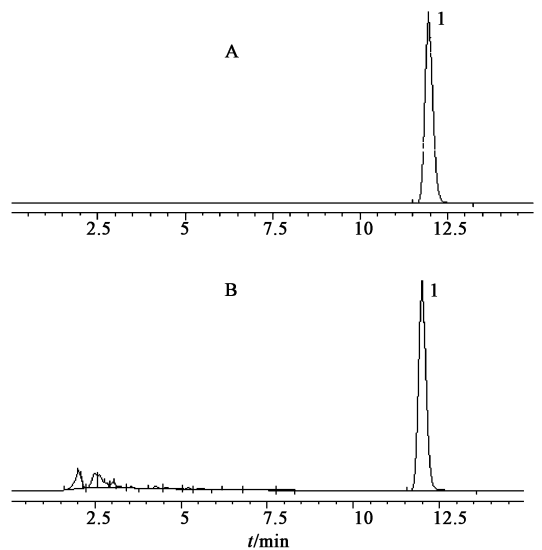
丹皮酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110708),徐长卿(广西玉林制药有限公司,经广西中医药大学何报作教授鉴定为萝藦科植物徐长卿 *Cynanchum paniculatum* (Bge.) Kitag. 的干燥根及根茎),甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹皮酚含量测定^[4-7]

2.1.1 色谱条件 Inertsil ODS-3 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(60:40),流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温室温,检测波长 274 nm,见图 1。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取丹皮酚对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,



A. 对照品; B. 供试品; 1. 丹皮酚

图 1 徐长卿提取液 HPLC

摇匀,制成 $24.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚对照品溶液;精密称量丹皮酚对照品 2.58 mg,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成 $0.516 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取徐长卿干燥粉末 1.0 g 于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密量取适量体积的溶媒,密封,静置提取,滤过,即得。

2.1.4 线性关系的考察 分别精密吸取 $24.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚对照品溶液 2, 4, 8, 15 μL 注入液相色谱仪;分别精密吸取 $0.516 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚对照品溶液 12, 15 μL 注入液相色谱仪,测定,以对照品质量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 57824X - 174.37$ ($r = 0.9997$),表明丹皮酚对照品在 0.0488 ~ 1.032 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验 精密吸取 $24.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚对照品 5 μL,连续进样 6 次,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果丹皮酚峰面积的 RSD 0.51%,表明仪器精密度较好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样 5 μL,按上述色谱条件测定,结果丹皮酚峰面积的 RSD 0.82%,表明丹皮酚于室

温下 24 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 称取徐长卿粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,分别加 70% 乙醇浸泡 60 h,滤过,取续滤液,按上述色谱条件测定,结果丹皮酚峰面积的 RSD 1.15%。

2.1.8 加样回收试验 称取徐长卿粉末 9 份,每份约 0.5 g,精密称定,加入适量对照品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果见表 1。

表 1 丹皮酚含量测定的加样回收率试验

No.	称样量 /g	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%
1	0.500 3	1.29	3.791 2	99.32	0.64
2	0.500 6	1.29	3.784 6	98.81	
3	0.500 4	1.29	3.773 1	97.92	
4	0.500 7	2.58	5.077 3	99.51	
5	0.500 8	2.58	5.062 5	98.93	
6	0.500 7	2.58	5.065 0	99.03	
7	0.500 5	3.87	6.337 8	98.91	
8	0.500 8	3.87	6.345 9	99.12	
9	0.500 6	3.87	6.287 1	97.60	

2.2 正交试验优选 选取粉碎度、乙醇体积分数、提取时间为考察因素,以丹皮酚提取量为考察指标,按 $L_9(3^4)$ 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 正骨水中徐长卿提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 粉碎度	B 乙醇体积分数/%	C 浸渍时间/h
1	原药材	95	36
2	20 目	70	48
3	40 目	50	60

表 3 正骨水中徐长卿提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	丹皮酚/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
1	1	1	1	1	2.75
2	1	2	2	2	4.23
3	1	3	3	3	3.63
4	2	1	2	3	5.12
5	2	2	3	1	6.57
6	2	3	1	2	4.42
7	3	1	3	2	3.61
8	3	2	1	3	3.75
9	3	3	2	1	3.69
K_1	10.61	11.48	10.92	13.01	
K_2	16.11	14.55	13.04	12.26	
K_3	11.05	11.74	13.81	12.50	
R	1.83	1.02	0.96	0.25	

由直观分析可知,各因素对丹皮酚提取量的影响顺序为粉碎度 > 乙醇体积分数 > 浸渍时间。方差分析表明 A, B 因素对提取工艺具有显著影响, C 因

表 4 徐长卿提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	6.23	2.00	3.11	63.68	<0.05
B	1.93	2.00	0.97	19.76	<0.05
C	1.49	2.00	0.75	15.27	>0.05
D(误差)	0.10	2.00	0.05	1.00	

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

素则无显著影响,确定最佳提取条件为 $A_2B_2C_3$,即粉碎度 20 目,乙醇体积分数 70%,浸渍时间 60 h。

2.3 验证试验 称取徐长卿粉末 6 份,每份 1.00 g,按最佳提取工艺条件进行验证试验,结果徐长卿中丹皮酚的平均提取量 $5.34 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 1.15%。

3 讨论

影响徐长卿中有效成分提取的因素较多^[8],综合原方工艺的完整性考虑,选取了粉碎度、乙醇体积分数、浸渍时间。一般而言,粉碎度越大提取率越高,达一定程度后,提取率增长较小,但丹皮酚在 40 目时,提取率较 20 目有所下降,推测可能与丹皮酚的稳定性有关,40 目的药材中酚类物质接触空气的面积增加,反而不利于酚类物质提取,所以粉碎度 20 目时的丹皮酚的提取率比较高,且对提取率的影响较为显著。在药材储存过程中,由于丹皮酚易挥发,含量可能有所下降,因此,提取率相对正交试验有所下降,但提取工艺是稳定可行的。本试验采用 HPLC 测定丹皮酚含量,建立的色谱方法简单、重复性好,可作为正骨水中有效成分检测方法。

[参考文献]

- [1] 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,2010:268,621.
- [2] 巩丽萍,王少云. 徐长卿及丹皮酚的研究进展[J]. 食品与药品,2005,7(6A):14.
- [3] 沈志磬. 徐长卿治疗带状疱疹后遗神经痛[J]. 中医杂志,2001,42(8):457.
- [4] 高锦红,张学英,朱海燕. 徐长卿中药中丹皮酚含量的测定[J]. 光谱实验室,2012,29(2):1207.
- [5] 闫晗,刘静,孙锐,等. 高效液相色谱法测定徐长卿药材、丹皮酚注射液及生物样品中丹皮酚含量[J]. 亚太传统医药,2012,8(5):14.
- [6] 吴忠义,陈宗良,吴立成,等. HPLC 测定不同煎法徐长卿中丹皮酚含量[J]. 中国现代中药,2009,11(9):31.
- [7] 李吉锋. 徐长卿 HPLC 指纹图谱分析及丹皮酚含量测定[J]. 西南民族大学学报:自然科学版,2008,34(6):1214.
- [8] 徐小娜,蒋军辉. GC-MS 联用技术分析徐长卿挥发性化学成分[J]. 南华大学学报:自然科学版,2011,25(2):84.

[责任编辑 全燕]