

## 正交试验优选复方黑骨藤提取工艺

贾荷丽, 王宇卿\*, 杨媛媛, 郭万周

(南阳医学高等专科学校, 河南 南阳 473061)

**[摘要]** 目的: 优选复方黑骨藤的提取工艺。方法: 以总生物碱得率和干膏得率的综合评分为指标, 采用正交设计考察乙醇体积分数、固液比、提取时间、提取次数对复方黑骨藤提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为药材粗粉加 6 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 可用于复方黑骨藤新制剂的制备。

**[关键词]** 复方黑骨藤; 正交设计; 提取工艺; 总生物碱

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0037-03

**[doi]** 10.11653/syfj2013130037

## Optimization of Extraction Process for Compound Preparation of *Periploca forrestil* by Orthogonal Test

JIA He-li, WANG Yu-qing\*, YANG Yuan-yuan, GUO Wan-zhou

(Nanyang Medical College, Nanyang 473061, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of compound preparation of *Periploca forrestil*. **Method:** Orthogonal design was used to investigate effect of solid-liquid ratio, ethanol concentration, extraction time and times on extraction technology of compound preparation of *P. forrestil* with composite score of total alkaloids yield and dry extract rate as index. **Result:** The best extraction conditions were as followings: extracted 3 times with 6-fold 70% ethanol, 1 hour for each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and feasible for preparing new formulation of extraction technology of compound *P. forrestil*.

**[Key words]** compound *Periploca forrestil*; orthogonal design; extraction process; total alkaloids

复方黑骨藤是根据苗族医药理论组成的民间验方, 收载于卫生部颁药品标准中, 由黑骨藤、追风伞、青风藤等 3 味药材组成, 具有祛风除湿、活血通络及消痹止痛的功效, 临床用于治疗风湿、类风湿疾病<sup>[1-3]</sup>。但由于风湿类疾病为慢性疾病, 需长期给药, 目前该方的现有制剂存在使用不便及胃肠道刺激较重等问题, 临床应用受到极大限制, 因此, 拟将

复方黑骨藤制备成凝胶剂或巴布剂。本实验以干膏率和总生物碱得率为综合评价指标, 通过正交试验优选复方黑骨藤新制剂的提取工艺, 为其临床推广提供参考。

### 1 材料

PTHW 型电热套(南京科尔仪器设备有限公司), TU-1901 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用), AE240 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), Millipore Q 型超纯水机(美国 Millipore 公司), R-200 型旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司)。

青风藤(江苏, 批号 20110608)、黑骨藤(贵州, 批号 20110509)、追风伞(贵州, 批号 20111002)均购自亳州药材市场, 经南阳医专生药学教研室吴立明教授鉴定分别为防己科植物毛青藤 *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils. var. *cinereum* Rehd. et Wils. 的干燥藤茎, 萝藦科植物黑骨藤

**[收稿日期]** 20130130(020)

**[基金项目]** 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2011C350002); 南阳市科技攻关计划项目(2012GG059)

**[第一作者]** 贾荷丽, 本科, 主管中药师, 从事中药新制剂研究, Tel: 13937708126, E-mail: jiaheli66@126.com

**[通讯作者]** \* 王宇卿, 博士, 讲师, 从事中药质量控制及新制剂研究, Tel: 18651676813, E-mail: wyq2013@163.com

*Periploca forrestii* Schltr 的根茎,报春花科植物追风伞 *Lysimachia paridiformis* Franch. var *Stenophylla* Franch. 的干燥地上部分。青藤碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0774-200206),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 正交试验设计**<sup>[4]</sup> 在预试验基础上,采用乙醇回流法提取。选取乙醇体积分数、固液比、提取时间、提取次数为考察因素,因素水平见表 1。

表 1 复方黑骨藤的乙醇提取工艺正交试验因素水平

	A	B	C	D
水平	乙醇体积分数 /%	固液比	提取数 /次	提取时间 /min
1	50	6	1	60
2	70	8	2	90
3	90	10	3	120

**2.2 样品溶液的制备** 称取青风藤 600 g,黑骨藤 400 g,追风伞 340 g,粉碎成粗粉,按正交设计进行回流提取,滤过,合并滤液,浓缩至 1 L 流浸膏(相对密度 1.25 ~ 1.30,25 ℃),即得。

**2.3 干膏率的测定** 精密吸取上述样品液 10 mL,置 105 ℃ 已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 ℃ 干燥 5 h 至恒重,置干燥器中冷却至室温,迅速称定质量,计算干膏率。

**2.4 总生物碱含量测定**<sup>[5-6]</sup>

**2.4.1 对照品溶液的制备** 精密称取青藤碱对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,加 70% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4.2 标准曲线的制备** 精密吸取对青藤碱对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 分别置于分液漏斗中。分别加入麝香草酚蓝溶液 5 mL,加三氯甲烷适量萃取 3 次,密塞剧烈振摇后静置 1 h,合并三氯甲烷层,加无水硫酸钠脱水,相应试剂作空白,于 417 nm 测定吸光度(A)<sup>[7]</sup>。以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y = 0.0035X - 0.0566$  ( $r = 0.9995$ ),表明青藤碱在 50.0 ~ 250.0 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.4.3 精密度考察** 精密量取同一对照品溶液重复测定 6 次,计算 A 的 RSD 2.09%,表明仪器精密度良好。

**2.4.4 重复性考察** 取样品溶液 6 份,按 2.4.2 项下方法显色,测定 A。结果 RSD 1.63%,表明该方法重复性良好。

**2.4.5 稳定性考察** 取同一供试品溶液,分别于

0,6,12,24,36 h 按 2.4.2 项下方法显色,测定 A。结果 RSD 1.50%,表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

**2.4.6 加样回收率试验** 分别称取已知总生物碱含量的复方黑骨藤提取物样品共 6 份,依次按样品中总生物碱含量的 80%,100%,120% 精密加入对照品,每个水平 2 份,测定吸光度,计算回收率。结果平均回收率 95.16%,RSD 2.25%,表明该方法回收率较高。

**2.4.7 样品测定** 精密吸取样品溶液置分液漏斗中,按 2.4.2 项下方法显色,测定 A,计算总生物碱得率。正交试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。综合评分 = (干膏率/最大干膏率) × 20% + (总生物碱得率/最大总生物碱得率) × 80%。

表 2 复方黑骨藤乙醇提取工艺优选正交试验安排及结果

No.	A	B	C	D	出膏率 /%	总生物碱得率 /%	综合评分
1	1	1	1	1	20.33	14.33	89.02
2	1	2	2	2	21.44	14.56	90.98
3	1	3	3	3	20.45	13.55	85.01
4	2	1	2	3	23.42	14.11	89.97
5	2	2	3	1	25.10	15.25	97.10
6	2	3	1	2	25.85	13.98	90.95
7	3	1	3	2	29.36	13.73	92.00
8	3	2	1	3	24.99	12.02	80.08
9	3	3	2	1	27.30	13.99	91.99
K <sub>1</sub>	88.337	90.330	86.683	92.703			
K <sub>2</sub>	92.673	89.387	90.980	91.310			
K <sub>3</sub>	88.023	89.317	91.370	85.020			
R	4.650	1.013	4.687	7.683			

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	40.527	2	21.086	<0.05
B(误差)	1.922	2	1.000	
C	40.578	2	21.112	<0.05
D	100.539	2	52.310	<0.05

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $D > C > A > B$ ;以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果表明 A, C, D 因素均有显著性差异,确定优选工艺为  $A_2B_1C_3D_1$ ,即加 6 倍量 70% 乙醇提取 3 次,每次 1 h。

**2.5 验证试验** 按处方量称取 3 份药材,每份 1 340 g,按优选的提取工艺进行 3 次验证试验,结果平均出膏率 27.7%,总生物碱得率 14.9%,3 批样品综合评分的 RSD 1.22%,表明此工艺稳定可行。

## 3 讨论

复方黑骨藤中主要含吗啡类两性生物碱,溶于

# 不同大孔树脂富集山茱萸中环烯醚萜苷的效果比较

蔡黎明, 周盈, 蔡宝昌, 刘芳, 皮文霞\*  
(南京中医药大学, 南京 210046)

**[摘要]** 目的: 考察不同类型大孔树脂对山茱萸中环烯醚萜苷类成分的分离效果。方法: 采用 HPLC 测定山茱萸中马钱苷及莫诺苷的含量, 考察不同大孔吸附树脂分离山茱萸中环烯醚萜苷类成分的有效性。结果: 马钱苷、莫诺苷的回归方程依次为  $Y = 17.245X + 13.362 (r = 0.9999)$ ,  $Y = 15.468X - 41.275 (r = 1.0000)$ ; 线性范围分别为 21.75 ~ 435, 35.8 ~ 716  $\mu\text{g}$ ; 加样回收率分别为 98.27%, 96.29%。HPD-400 型大孔树脂的分离效果最好。结论: 选取马钱苷和莫诺苷含量为指标筛选富集环烯醚萜苷的大孔树脂类型是可行的, 研究结果为分离山茱萸中有效部位的后续研究提供实验依据。

**[关键词]** 山茱萸; 大孔树脂; 环烯醚萜苷; 马钱苷; 莫诺苷

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0039-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013130039

## Comparison of Enrichment Effect of Iridoid Glycosides from *Cornus officinalis* by Different Macroporous Resins

CAI Li-ming, ZHOU Ying, CAI Bao-chang, LIU Fang, PI Wen-xia\*

**[收稿日期]** 20130117(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274056)

**[第一作者]** 蔡黎明, 硕士, 从事中药物质基础及新药开发研究, Tel: 15895897362, E-mail: cailimin@yeah.net

**[通讯作者]** \* 皮文霞, 副教授, 从事中药物质基础及新药开发研究, Tel: 025-85811512, E-mail: piwenxia@163.com

乙醇、丙酮、三氯甲烷和稀碱, 微溶于水; 含有的甾体皂苷、黄酮类成分, 易溶于乙醇, 稍溶于冷水<sup>[8-9]</sup>, 因此采用乙醇回流法进行提取。

中药复方为多成分多靶点的协同作用, 其物质基础往往不明确, 因此仅选择君药或某味药的单一成分作为考察指标缺乏说服力<sup>[10]</sup>。本实验选取复方黑骨藤的总生物碱和总提取物得率为综合评价指标, 以优选更符合中药作用特点的提取工艺。

在总生物碱测定时, 应注意控制麝香草酚蓝溶液的 pH, 其会影响离子对的形成; 采用无水硫酸钠脱水是为保证实验结果的稳定性。

### [参考文献]

[1] 王和鸣, 葛继荣, 陈治英. 黑骨藤追风活络胶囊治疗痹病的临床研究[J]. 中国中医骨伤科, 1999, 7(2): 12.  
[2] 陈芳, 汪毅. 苗药黑骨藤的研究及开发应用[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(1): 6.  
[3] 黄明进, 罗春丽, 郭刚, 等. 黑骨藤抗类风湿性关节炎作用及其分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,

17(12): 174.  
[4] 谢林, 韩建伟, 付聪, 等. 正交试验优选伤科熏洗汤剂的水提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 17.  
[5] 董洁, 朱会敏, 胡凯文, 等. 大孔树脂纯化浙贝母中总生物碱工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 18.  
[6] 郭胜伟, 王天山, 杨冬冬, 等. 分光光度法测定抗风痛胶囊中总生物碱的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(5): 290.  
[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: 附录 VA 30.  
[8] 徐冉, 张援虎, 赵延涛. 黑骨藤化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(11): 823.  
[9] 朱欣婷. 黑骨藤的化学成分研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2007.  
[10] 石任兵, 刘斌, 石钺, 等. 中药复方化学与创新药物研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2003, 5(6): 6.

[责任编辑 仝燕]