

## 正交试验优化铁棒锤生物碱提取工艺

杜弢, 陈红刚, 林丽\*, 魏学明  
(甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 优选铁棒锤生物碱的最佳提取工艺。方法: 选择溶剂、提取次数、洗涤次数为考察因素, 以总生物碱的含量为考察指标, 采用正交试验法优选铁棒锤生物碱的最佳提取工艺。结果: 铁棒锤生物碱的最佳提取工艺为浸提次数 3 次, 提取溶剂为乙醚-三氯甲烷(3 1), 洗涤 1 次。结论: 优选得到的提取工艺稳定性好、得率高、简便可行。

[关键词] 正交试验; 铁棒锤生物碱; 提取工艺; 酸碱滴定法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0020-03

## Study on Optimization of Extraction Technology for Total Alkaloids of *Aconitum flavum* by Orthogonal Design Method

DU Tao, CHEN Hong-gang, LIN Li\*, WEI Xue-ming

(Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract] Objective:** To optimize the extraction technology for total alkaloids in the root of *Aconitum flavum*. **Method:** Dissolvent, times of extraction and washing were the test factors and the total alkaloids were the test index. The orthogonal design was used to optimize the extraction technology of total alkaloids. **Result:** The optimal extraction method was as follows: the ether: chloroform (3 1) as dissolvent, extraction 3 times and washing once. **Conclusion:** The technology after optimization had a good stability, the yield of total alkaloids was high, and the method was easy to operate.

**[Key words]** orthogonal design; total alkaloids of *Aconitum flavum*; extraction technology; acid-base titrations

铁棒锤为毛茛科乌头属植物铁棒锤 *Aconitum pendulum* Busch 和伏毛铁棒锤 *A. flavum* Hand. - Mazz. 的块根, 主产于西藏、青海、甘肃南部、陕西南部及河南西部等地, 具有活血化瘀, 止痛消肿的功效, 用于跌打损伤、风湿关节痛、牙痛等。铁棒锤中主要含生物碱, 包括乌头碱、去氧乌头碱, 3-乙酰乌头碱, 纳派林碱等<sup>[1]</sup>。

近年来, 随着铁棒锤药用价值的发现, 其综合开

发利用研究受到关注。目前针对铁棒锤生物碱提取工艺的相关研究很少, 而以正交试验法优化铁棒锤生物碱提取条件的研究鲜见报道。铁棒锤生物碱的提取方法与条件的不同, 不但会影响其药效成分提取含量, 还会影响其临床运用效果。为此, 本实验以甘肃永登县栽培的铁棒锤为研究对象, 以总生物碱的含量为指标, 对提取溶剂、提取次数、洗涤次数等因素进行优化, 应用酸碱滴定法对铁棒锤总生物碱的含量进行测定, 并运用统计学原理结合正交试验结果对铁棒锤生物碱的提取工艺进行科学分析, 筛选出铁棒锤生物碱最佳提取方案, 为合理利用甘肃地产铁棒锤提供科学的依据。

### 1 材料

**1.1 试药** 药材来源: 采集于甘肃省永登县武胜驿镇聂家湾村的栽培品。由甘肃中医学院林丽高级实

[收稿日期] 20100924(003)

[基金项目] 2009 年甘肃省教育厅科研项目(0906B-07)

[第一作者] 杜弢, 副教授, 研究方向为药用植物栽培及质量控制, Tel: 0931-8765342, E-mail: gslzdt@163.com

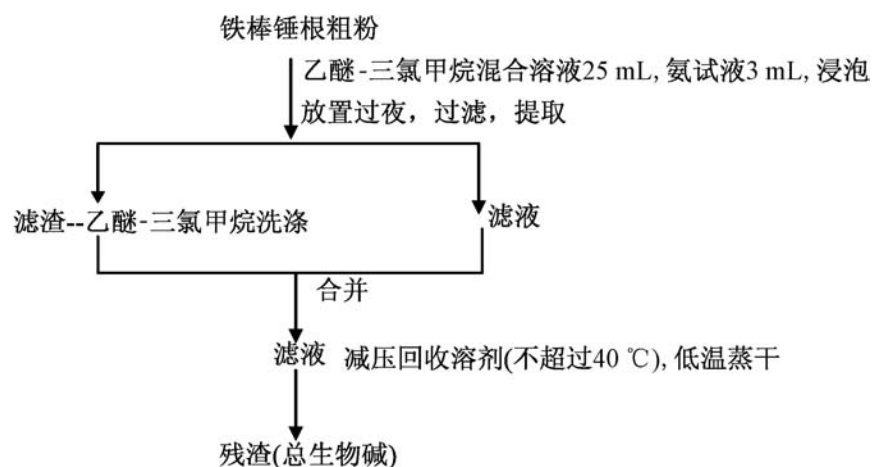
[通讯作者] \* 林丽, 高级实验师, 研究方向为中药质量评价, Tel: 0931-8765396, E-mail: zhysly@gszy.edu.cn

验师鉴定为毛茛科乌头属植物铁棒锤 *A. pendulum* Busch的干燥块根。硫酸、氢氧化钠配制及标定按2005年版《中国药典》一部<sup>[2]</sup>硫酸滴定液(0.01 mol·L<sup>-1</sup>)、氢氧化钠(0.01 mol·L<sup>-1</sup>)配制及标定方法进行, 经过标定所用硫酸滴定液为0.011 3 mol·L<sup>-1</sup>, 氢氧化钠滴定液为0.010 4 mol·L<sup>-1</sup>; 乙醚、三氯甲烷、95%乙醇均购自天津化学试剂三厂, 为分析纯; 氨试液、甲基红-溴甲酚绿(3 2)指示剂为化学纯; 蒸馏水自制。

**1.2 仪器** BS224 S型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); APH-I-ST纯水机(优普超纯水制造系统)。

## 2 方法与结果

**2.1 总生物碱提取方法** 将药材粉末5g置于装有25 mL乙醚-三氯甲烷混合溶液和3 mL氨试液的锥形瓶中浸泡, 放置过夜, 滤过, 再用乙醚-三氯甲烷混合溶液洗涤滤渣, 合并滤液后, 回收大部分溶剂, 其余少量低温蒸干, 所得固体残渣即为总生物碱, 然后进行含量测定。具体的提取步骤为:



**2.2 正交试验设计<sup>[3-4]</sup>** 按上述试验的提取工艺, 正交试验设计为: 浸提溶液(A)、提取次数(B)、洗涤次数(C)3个因素, 每因素3水平(见表1), 每处理重复3次, 以铁棒锤总生物碱质量分数(Y)为考察指标, 用L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交表安排试验及结果见表2, 方差分析见表3。

表1 提取工艺正交试验因素水平

水平	A	B/次	C/次
1	2 1	1	1
2	3 1	2	2
3	4 1	3	3

**2.3 总生物碱含量测定<sup>[5]</sup>** 总生物碱的含量测定按酸碱滴定(反滴定法)的方法进行, 将2.1中所得残渣加5 mL乙醇溶解, 精密加入经标定的硫酸滴定液(0.011 3 mol·L<sup>-1</sup>)10 mL, 蒸馏水10 mL与甲基

表2 提取工艺正交试验结果

No.	A	B	C	总生物碱 Y/%			Y/%
				1	2	3	
1	1	1	1	0.49	0.52	0.53	1.54
2	1	2	2	0.77	0.66	0.69	2.11
3	1	3	3	0.75	0.82	0.79	2.37
4	2	1	2	0.67	0.65	0.74	2.06
5	2	2	3	0.73	0.81	0.83	2.37
6	2	3	1	0.83	0.83	0.84	2.50
7	3	1	3	0.77	0.78	0.75	2.29
8	3	2	1	0.75	0.75	0.77	2.27
9	3	3	2	0.79	0.74	0.80	2.33
K <sub>1</sub>	6.02	5.89	6.31				
K <sub>2</sub>	6.93	6.75	6.50				
K <sub>3</sub>	6.90	7.20	7.03				
R	0.91	1.32	0.72				

表3 总生物碱含量方差分析

误差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.059	2	0.030	22.78	<0.01
B	0.099	2	0.050	38.07	<0.01
C	0.031	2	0.015	11.73	<0.01
SS <sub>e</sub>	0.023	18	0.001		

注:  $F_{0.05(2,18)} = 4.5597$ ,  $F_{0.01(2,18)} = 7.2148$ 。

红-溴甲酚绿(3 2)混合指示剂7滴, 用经标定的氢氧化钠滴定液(0.010 4 mol·L<sup>-1</sup>)滴定至绿色, 每1 mL硫酸滴定液(0.01 mol·L<sup>-1</sup>)相当于12.9 mg乌头碱。

**2.5 料液比的考察** 在最佳提取工艺的基础上, 采用不同体积的乙醚-三氯甲烷(3 1)混合溶液按总生物碱提取方案进行提取。料液比的考察结果见表4。

表4 料液比的考察

样品量/g	乙醚-三氯甲烷(3 1)体积/mL	消耗碱体积/mL	总生物碱质量分数/%
5.000 7	20	16.2	0.74
5.000 6	25	16.1	0.75
5.000 5	30	15.6	0.82
5.000 2	35	15.0	0.90
5.000 4	40	15.1	0.89
5.000 9	45	15.2	0.87
5.000 9	50	15.2	0.87

## 3 结果与讨论

由表 2 中的  $R$  值来分析, 影响铁棒锤总生物碱提取含量的因素排序为:  $B > A > C$ 。说明提取过程中, 提取次数和提取溶剂对铁棒锤总生物碱含量的测定影响较大。相同条件下, 提取次数为 3 次时, 提取出铁棒锤总生物碱的含量最高; 提取溶剂采用乙醚-三氯甲烷(3:1)时铁棒锤生物碱含量最高。洗涤次数因素对铁棒锤总生物碱提取含量的影响则稍小, 随着洗涤次数的增多, 铁棒锤生物碱含量有少量增加。从  $K_1, K_2, K_3$  可以得出, 铁棒锤总生物碱提取的最佳工艺条件为  $A_2 B_3 C_1$ 。表 3 的方差分析结果则表明  $A, B, C$  均为主要影响因素, 具有显著性影响。进一步对提取次数进行研究, 发现提取 4 次所得的生物碱含量与提取 3 次的结果相近, 表明总生物碱提取 3 次已完全, 再增加提取次数对结果影响不大。故铁棒锤生物碱最佳提取工艺条件应为: 提取溶剂为乙醚-三氯甲烷(3:1), 提取次数 3 次, 洗涤次数 1 次。

由表 4 中总生物碱的含量来分析, 在最佳提取工艺的基础上, 当样品量为 5 g, 乙醚-三氯甲烷(3:1)混合溶液体积为 35 mL 时, 即当料液比为 1:7 时, 所测得总生物碱含量最高, 提取最完全。

铁棒锤根中主要含有乌头碱、去氧乌头碱、3-乙酰乌头碱、纳派林碱、伏乌碱等生物碱。乌头碱、次乌头碱、中乌头碱这些双酯型生物碱成分亲脂性较强, 具有一般生物碱的溶解性能, 易溶于乙醚, 但乙

醚的挥发性较大, 在提取中易散失, 影响测定结果的准确性, 故在乙醚中加入不同体积的三氯甲烷提取总生物碱, 以降低乙醚的挥发性。

在测定总生物碱含量的试验过程中, 曾用《中国药典》2005 年版一部制草乌项下所用的甲基红作为指示剂进行滴定, 但由于铁棒锤总生物碱提取物的本底颜色(黄)使滴定终点颜色变化不明显(红至黄), 导致测定实验结果的重现性差。改用甲基红-溴甲酚绿混合指示剂后, 终点颜色变化明显(酒红至绿)。甲基红滴定曲线突跃范围为 pH 4.4~6.2, 而甲基红-溴甲酚绿混合指示剂的变色点(5.1)在突跃范围内, 所以选择该混合指示剂可以准确滴定。

#### [参考文献]

- [1] 胡君茹, 姜华. 藏药铁棒锤的化学成分及药理作用研究进展[J]. 甘肃中医, 2006, 11(19): 18.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005: 附录 102.
- [3] 罗一帆, 吴伟康, 陈学文, 等. 正交试验优化附子生物碱提取条件的实验研究[J]. 中药材, 2005, 28(15): 1109.
- [4] 徐建东, 王洪泉, 姜翠敏, 等. 附子提取工艺的优化选择[J]. 辽宁中医杂志, 2000, 27(2): 88.
- [5] 杨建忠, 刘建峰, 党秋萍. 铁棒锤中总生物碱的含量测定[J]. 陕西中医, 2007, 28(2): 221.

[责任编辑 仝燕]