

3.2 影响树脂吸附性能的因素:本实验所采用的树脂有非极性(D4020)、极性(NKA-9)和弱极性(AB-8)3种类型,由实验结果可见,弱极性树脂AB-8的吸附量较大,这是由于珍珠菜总黄酮具有多酚结构,具有一定极性和亲水性,生成氢键的能力较强,有利于弱极性和极性树脂的吸附。另外,大孔树脂吸附原理主要为物理吸附,所以具有较高的比表面对吸附也有利,比表面增加,表面张力随之增大,吸附量提高。弱极性树脂AB-8的比表面明显大于NKA-9,所以其对黄酮吸附量也显著大于极性树脂NKA-9。

References:

- [1] Kim I S, Kim H J, Park H. Studies on the chemical constituents of *Lysimachia clethroides* [J]. *Yakhak Hoechi*, 1993, 37(4): 325-328.
- [2] Yasukawak K, Takido M. Studies on the chemical constituents of genus *Lysimachia* I. On the whole parts of *Lysimachia japonica* Thunb. and *Lysimachia clethroides* Duby [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1986, 106(10): 939-941.
- [3] Zou H Y, Tu P F. Study on flavonoids from *Lysimachia clethroides* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(1): 59-61.
- [4] Ren F Z, Qie J K, Qu H H, et al. Study on the chemical constituents of *Lysimachia clethroides* Duby [J]. *Pharm J PLA* (解放军药学报), 2002, 24(2): 178-180.
- [5] Xu X Y, Tang L H, Liang H Q. Study on anti-tumor effect of the extraction of *Lysimachia clethroides* Duby [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2003, 22(2): 31.

北豆根中蝙蝠葛酚性碱提取工艺的正交试验优选

刘长丽¹, 杨绍云², 曾繁典^{1*}

(1. 华中科技大学同济医学院 药理学系, 湖北 武汉 430030; 2. 湖北省医药工业研究院, 湖北 武汉 430061)

蝙蝠葛酚性碱(phenolic alkaloids of *Menispermum dauricum*, PAMD)是从防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 干燥根茎中提取得到的双苄基异喹啉类酚性生物碱,其主要成分为蝙蝠葛碱(dauroicine)^[1]。蝙蝠葛碱具有舒张冠脉,增加冠脉血流、抗心肌缺血、抗血小板聚集和抗动脉粥样硬化作用^[2~5]。PAMD中的生物碱均为双苄基异喹啉类生物碱,具有相同的分子骨架,相似的化学结构,宜作为有效部位进行研究和开发。PAMD有明显的抗实验性心律失常和抗心肌缺血的作用^[6]。此类生物碱兼有脂溶性和酸碱两性,据此特点设计PAMD提取工艺,通过酸水渗漉和乙醇回流提取得到PAMD。本实验采用正交试验设计以总生物碱的得量和蝙蝠葛碱的得量为考察指标对提取过程中酸水渗漉工艺和乙醇提取工艺的条件进行优选,以期优化提取工艺条件。

1 仪器与药品

RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); SP2000 泵(美国光谱物理公司); UV1000 紫外检测器, HP 3394A 数据处理器; PHS-3C 数字式酸度计(上海理达仪器厂); 瑞士 AE200 型电子分析天平。

蝙蝠葛根茎(北豆根药材)由伊春药业有限公司质量检验中心提供并鉴定; 蝙蝠葛碱对照品为自制,

用归一化法测定其质量分数在99.0%以上; 高效液相色谱用试剂为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总生物碱的测定: 参照《中国药典》2005年版一部北豆根片项下中和法。取粗总生物碱约0.1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加醋酸乙酯25mL, 振摇30min, 滤过, 用醋酸乙酯10mL分3次洗涤容器和滤渣, 洗液与滤液合并, 置水浴上蒸干, 加无水乙醇10mL使溶解, 精密加0.01mol/L硫酸滴定液25mL与甲基红指示液2滴。用0.02mol/L氢氧化钠滴定液滴定, 即得。每毫升0.01mol/L硫酸滴定液相当于6.248mg蝙蝠葛碱^[7]。

2.2 蝙蝠葛碱的HPLC法测定

2.2.1 色谱条件: 色谱柱 Inertsil ODS-3 C₁₈ 柱(150mm×4.6mm, 5μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸-三乙胺(15:85:0.2:0.2); 检测波长: 279nm; 体积流量: 1.5mL/min; 柱温: 室温。

2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取蝙蝠葛碱对照品50.35mg, 置100mL量瓶中, 加流动相适量, 超声处理使其溶解, 加流动相至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 标准曲线的制备: 从蝙蝠葛碱对照品溶液中精密移取5、10、15、20、25mL置50mL量瓶中, 加

收稿日期: 2006-11-11

作者简介: 刘长丽(1976—), 女, 黑龙江伊春人, 2004年获得华中科技大学同济医学院药理学硕士学位, 现在上海美迪西生物医药有限公司从事GLP质量保证工作。 E-mail: lucyliu7651@sina.com.cn

* 通讯作者 曾繁典 Tel: (027)83630652 E-mail: fdzeng@163.com

流动相至刻度。分别精密量取 20 μ L, 进样测定。以蝙蝠葛碱进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算得回归方程为 $Y=3\,348\,626.22 X-142\,520.0$, $r=0.999\,9$, 表明蝙蝠葛碱进样量在 1.0~5.0 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4 供试品溶液的制备: 精密称取 PAMD 样品约 30 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声处理使溶解, 再加流动相至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.5 测定: 精密吸取供试品溶液 20 μ L, 进样, 测定峰面积, 由回归方程计算蝙蝠葛碱的质量分数。

2.3 北豆根的酸水渗漉提取工艺的优化: 北豆根药材粗粉用硫酸溶液进行渗漉, 收集硫酸渗漉液进行碱沉、抽滤、干燥后得到粗总生物碱。因粗总生物碱主要含生物碱和一些非生物碱杂质, 故以总生物碱得量为考察指标, 选定影响酸水渗漉的主要因素, 即硫酸体积分数(A)、溶剂收集量(B)和渗漉速度(C)作为考察因素, 每个因素各取 3 个水平。称取 9 份北豆根粗粉, 每份 250 g, 分别按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 采用中和法测定粗总生物碱中总生物碱的量, 计算总生物碱得量, 即总生物碱得量=粗总生物碱量 $\times$ 总生物碱的质量分数。因素与水平见表 1, 试验结果见表 2。

表 1 酸水渗漉提取的因素与水平

Table 1 Factors and levels in extraction by acid water diffusion

水平	因素		
	A/%	B/L	C/(mL $\cdot$ min $^{-1}$)
1	0.3	2	1
2	0.5	2.5	3
3	0.7	3	5

结合极差直观分析, 以总生物碱得量为考察指标, 确定酸水渗漉最佳工艺为 $A_1B_1C_1$, 即渗漉用硫酸体积分数为 0.3%, 收集渗漉液溶剂量为 2 L (相当于 250 g 生药量的 8 倍), 渗漉速度为 1 mL/min。

2.4 北豆根的乙醇提取工艺的优选: 北豆根总生物碱经乙醇回流提取, 得到的提取液经减压回收溶剂后, 用碱溶酸沉的方法进行精制, 得到 PAMD。

PAMD 中由数种酚性生物碱组成, 蝙蝠葛碱为其中的主要有效成分且量最高, 故通过 HPLC 法测定 PAMD 中蝙蝠葛碱的量, 并计算蝙蝠葛碱的得量作为考察指标, 即蝙蝠葛碱得量=PAMD 的质量 $\times$ 蝙蝠葛碱的质量分数。将影响乙醇提取的乙醇体积分数(A)、溶剂量(B)和提取时间(C)作为考察因素, 每个因素各取 3 个水平, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行

表 2 酸水渗漉提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验设计和结果

Table 2 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test in extraction by acid water diffusion

试验号	A	B	C	D (空白)	总生物碱 得量/g
1	1	1	1	1	3.876 2
2	1	2	2	2	3.481 3
3	1	3	3	3	2.422 9
4	2	1	2	3	2.503 2
5	2	2	3	1	2.947 6
6	2	3	1	2	2.852 6
7	3	1	3	2	2.914 8
8	3	2	1	3	2.861 2
9	3	3	2	1	3.175 3
K_1	9.780 4	9.294 2	9.590 0	9.999 1	
K_2	8.303 4	9.290 1	9.159 8	9.248 7	
K_3	8.951 3	8.450 8	8.285 3	7.787 3	
R	0.492 3	0.281 1	0.434 9	0.737 3	

试验。取酸水渗漉工艺提取得到粗总生物碱 134.50 g (由 2.5 kg 北豆根药材提得), 均等分为 10 份, 取其中 9 份 (每份约 13.45 g), 分别进行乙醇提取, 因素水平、正交试验设计结果见表 3、4。

表 3 乙醇提取试验的因素水平

Table 3 Factors and levels for alcohol extraction

水平	因素		
	A/%	B/mL	C/h
1	85	30, 20	2, 1.5
2	90	35, 25	2, 1
3	95	40, 30	1.5, 1

表 4 乙醇提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验设计和结果

Table 4 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test for alcohol extraction

试验号	A	B	C	D(空白)	蝙蝠葛碱得量/g
1	1	1	1	1	1.524 0
2	1	2	2	2	1.534 5
3	1	3	3	3	1.580 2
4	2	1	2	3	1.678 6
5	2	2	3	1	1.610 6
6	2	3	1	2	1.704 8
7	3	1	3	2	1.493 1
8	3	2	1	3	1.558 1
9	3	3	2	1	1.499 9
K_1	4.638 7	4.695 7	4.786 9	4.634 5	
K_2	4.994 0	4.703 2	4.713 0	4.732 4	
K_3	4.551 1	4.784 9	4.683 9	4.816 9	
R	0.147 6	0.029 7	0.034 3	0.060 8	

以蝙蝠葛碱得量为考察指标, 极差直观分析可知 $A>C>B$, 因此确定由粗总生物碱经乙醇提取得到蝙蝠葛碱的最佳工艺为 $A_2B_3C_1$, 即乙醇体积分数为 90%, 提取溶剂量分别为 40、30 mL (分别相当于粗总生物碱的 3、2.2 倍), 回流提取时间分别为 2、1.5 h。

2.5 验证试验: 用最佳工艺条件提取, 得到粗总生物碱的量大于 20%, 蝙蝠葛碱的量大于 50%,

PAMD 的收率大于1%。

3 讨论

从药材中提取总生物碱通常有3种方法:有机溶剂提取法、醇提取法和酸水提取法。因有机溶剂价格高、有毒、易燃、易爆,故不适于工业化生产。醇类溶剂适用面宽、提取成分完全,但由于北豆根药材纤维性强,体积膨松,提取时溶剂耗量大,会增加生产成本。北豆根中的蝙蝠葛酚性碱(主要含蝙蝠葛碱、蝙蝠葛苏林碱)由一系列双苄基异喹啉生物碱组成,兼有脂溶性和酸碱两性。本实验采用的工艺利用此类生物碱的化学特性,选用了酸水渗漉法,先用酸水渗漉得到粗总生物碱,再利用其脂溶性特征选用乙醇回流,碱溶酸沉的方法,除去其他极性杂质如无机盐、多糖等,而保留其有效部位,不但达到了避免使用有毒及高成本有机溶剂的目的,并能得到较高量的PAMD。

References

- [1] Masao T, Yasuko O. Studies on the alkaloids of Menispermaceae Plants. CCW. Alkaloids of *Menispermum dauricum* DC. (Suppl. 3) Dauricine. [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1964, 84 (10): 1030.
- [2] Zhu J Q, Jia J F, Yan H W, et al. Effect of dauricine on myocardial contraction force and coronary circulation [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1986, 7(6): 543.
- [3] Zhu J Q, Hu C J. Effects of dauricine on the tolerance to anoxia and experimental myocardial ischemia and infarct [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1986, 2 (6): 21.
- [4] Zhou J, Ding Y X, Gu S F, et al. Investigation on platelet aggregation of dauricine in patients with cardiovascular diseases [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1994, 10(1): 33.
- [5] Luo X, Hu C J, Zeng F D. Antiatherosclerotic effect of dauricine [J]. *Chin J Arterioscl* (中国动脉硬化杂志), 1995, 3(2): 177.
- [6] Gong P L, Du Z H, Zeng F D, et al. Antiarrhythmia effects of phenolic alkaloids of *Menispermum dauricum* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1995, 6(3): 13.
- [7] *Ch P* (中国药典). Vol 1. 2005.

HPLC 法测定防芷鼻炎胶囊中 5-O-甲基维斯阿米醇苷

张 锐, 彭杨锐

(江西省药物研究所, 江西 南昌 330029)

防芷鼻炎胶囊处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第5册收载的防芷鼻炎片, 是由苍耳子、野菊花、鹅不食草、白芷、防风、墨旱莲、白芍、胆南星、甘草、茯苓和淀粉等辅料制成的胶囊剂, 用于治疗慢性鼻炎引起的喷嚏、鼻塞、头痛、过敏性鼻炎和慢性鼻窦炎。防风为本方主药之一, 其主要有效成分升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷属色原酮类化合物, 具有明显的解热、镇痛和抗炎作用^[1]。因此本实验建立高效液相色谱法测定 5-O-甲基维斯阿米醇苷的量, 为更有效地控制该成药的质量提供参考方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: 依利特 HPLC P200 I 泵, UV200 I 紫外检测器; AE100 Mettler 万分之一电子天平; M3 Mettler 百万分之一电子天平; KQ-250DE 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司); 乙腈、甲醇为色谱纯试剂, 水为自制新鲜重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯; 升麻苷(批号 1522-

200001)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(批号 111523-200401)对照品由中国药品生物制品检定所提供; 防芷鼻炎胶囊由江西万基药物研究院药业有限公司提供, 每粒约 0.5 g。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择: 测定波长为 254 nm^[3](5-O-甲基维斯阿米醇苷的甲醇溶液)。

2.2 对照品溶液的制备: 取 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 30 μg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取防芷鼻炎胶囊内容物, 充分研细, 取 0.5 g, 精密称定, 加甲醇 20 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 残渣用适量甲醇洗涤 3 次, 洗液并入滤液中, 滤液上中性 Al₂O₃ 柱(3 cm×1.5 cm), 收集洗脱液, 再用 30 mL 50%乙醇洗脱, 收集洗脱液, 合并两次洗脱液, 置水浴上蒸干, 残渣用甲醇分次溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

收稿日期: 2006-12-21

作者简介: 张 锐(1976—), 男, 江西进贤人, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中药化学成分及质量评价。

Tel: (0791)8102554 E-mail: work037@sohu.com