

# 正交试验优选辽源七厘复方中药提取工艺<sup>△</sup>

江尚飞\*,刘应杰,杨宗发#,潘伦,谭小梅,何静,邱妍川(重庆医药高等专科学校,重庆 401331)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)27-2521-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.27.08

**摘要** 目的:优选辽源七厘复方中药提取工艺条件。方法:以平均提取率为评价指标,甲醇体积分数、超声时间、甲醇用量为三因素通过正交试验法对提取工艺进行优选。结果:优选提取工艺为250 ml体积分数为80%的甲醇超声提取1.0 h。结论:优选的提取工艺可行、重现性好,可为工业化生产提供一定参考。

**关键词** 辽源七厘散;正交试验;超声;工艺优化

## Optimization of Extraction Technology of Liaoyuan Qili Compound

JIANG Shang-fei, LIU Ying-jie, YANG Zong-fa, PAN Lun, TAN Xiao-mei, HE Jing, QIU Yan-chuan (Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Liaoyuan qili compound by orthogonal test. METHODS: The extraction technology was optimized by orthogonal test with the average extraction rates as index using ethanol concentration, ultrasonic extraction time, the amount of methanol as factors. RESULTS: Optimized extraction technology was as follows: 80% methanol 250 ml, extracting for 1.0 h. CONCLUSIONS: The optimized technology is feasible and reproducible, and can provide reference for industrial production.

**KEYWORDS** Liaoyuan qili powder; Orthogonal test; Ultrasonic extraction; Technology optimization

中药处方七厘散出自清·谢元庆《良方集腋》,方中包括血竭、红花、三七、当归等药物,具有活血散瘀、止痛止血功效。内服常用于治疗慢性疼痛<sup>[1]</sup>。如,使用七厘散治疗腰腿疼痛<sup>[2]</sup>,跌打七厘片治疗老年人骨关节炎<sup>[3]</sup>,接骨七厘片治疗四肢骨折<sup>[4]</sup>,七厘散治疗外伤<sup>[5-6]</sup>、软组织伤<sup>[7-9]</sup>,都取得良好的效果。本研究用正交设计法对辽源七厘复方提取工艺进行筛选。

## 1 材料

### 1.1 仪器

SB-120DT型超声波清洗机、SE-80型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);JCE-3K型高精度计数桌秤(台湾钰恒电子称厂);TU-1901型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);PC4010型高效液相色谱仪,包括二元高压泵、Mode 201紫外检测器(美国兰博公司);AUX220型双量程分析天平(日本岛津公司);ZN-100型高速中药粉碎机(长沙市岳麓区中南制药机械厂)。

### 1.2 药材

血竭(原产地云南,批号:110415)购自西双版纳药业有限责任公司;红花(原产地新疆,批号:111101)、三七(原产地云南,批号:110501)、当归(原产地甘肃,批号:120101)、乳香(制,原产地广西,批号:111202)、没药(制,原产地广西,批号:120101)、土鳖虫(原产地安徽,批号111101)、方海(原产地广东,批号:110516)、骨碎补(原产地四川,批号:111101)、大黄(原产地四川,批号:111101)、儿茶(原产地云南,批号:

110401)、冰片(原产地四川,批号:110922)、降香(原产地河南,批号:110801)均购自重庆慧远药业有限公司。

### 1.3 试剂

龙血素B(批号:111558-201006)、羟基红花黄色素A(批号:111637-201207)、三七皂苷R<sub>1</sub>(批号:110745-200617)、阿魏酸(批号:110773-201012)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 中药组方

血竭50 g,红花450 g,三七50 g,当归90 g,乳香(制)240 g,没药(制)200 g,土鳖虫80 g,方海240 g,骨碎补(烫,去毛)240 g,大黄240 g,儿茶160 g,冰片16 g,降香240 g。

### 2.2 提取工艺

取中药组方13味中药用量1/10,精密称定,分别粉碎混合。装于带塞三角瓶中,精密加一定量的甲醇溶液,密塞后称定质量,放置过夜,置超声波清洗机(功率:280 W,频率:60 kHz)中常温超声提取一定时间,放冷后再称定质量,用甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液过0.45 μm微孔滤膜,按“2.3”项下方法测定血竭、红花、三七、当归4味中药的主要活性成分含量。

### 2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:以甲醇为流动相(A),以含1%冰醋酸的水溶液为流动相(B),梯度洗脱(0~5 min, 25% A→30% A; 5~15 min, 30% A→35% A; 15~30 min, 5% A→40% A; 30~60 min, 40% A→45% A);检测波长:206 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:25 ℃;进样体积:20 μl。

2.3.2 对照品溶液的制备 (1)龙血素B对照品溶液的制备:

<sup>△</sup>基金项目:重庆市卫生局中医药科技基金资助项目(No.2011-2-171)

\* 讲师。研究方向:药物制剂。电话:023-86262044。E-mail: jion0729@126.com

# 通信作者:教授。研究方向:药物制剂。电话:023-86262375。E-mail: yzf3721@126.com

取龙血素B对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml 约含12.0 μg 的溶液,即得。(2)羟基红花黄色素A对照品溶液的制备:取羟基红花黄色素A对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml 中约含292.0 μg 的溶液,即得。(3)三七皂苷R<sub>1</sub>对照品溶液的制备:取三七皂苷R<sub>1</sub>对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml 中约含4.0 μg 的溶液,即得。(4)阿魏酸对照品溶液的制备:取阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml 中约含48.0 μg 的溶液,即得。(5)对照品混合溶液的制备:分别取龙血素B、羟基红花黄色素A、三七皂苷R<sub>1</sub>、阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml 中约含龙血素B 20.0 μg、羟基红花黄色素A 300.0 μg、三七皂苷R<sub>1</sub> 5.0 μg、阿魏酸50.0 μg 的溶液,即得。

2.3.3 标准曲线的制备 精密量取对照品混合溶液5、10、15、20 ml,置25 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以峰面积(A)为纵坐标,药物质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得龙血素B、羟基红花黄色素A、三七皂苷R<sub>1</sub>、阿魏酸回归方程分别为 $A=860.152.2c-1600.5$ ( $r=0.9996$ )、 $A=6906.4c+1360.8$ ( $r=0.9993$ )、 $A=55546.1c+189.2$ ( $r=0.9992$ )、 $A=31729.1c-730.6$ ( $r=0.9997$ )。结果表明,龙血素B、羟基红花黄色素A、三七皂苷R<sub>1</sub>、阿魏酸质量浓度分别在0.20~20.00 μg/ml、3.00~300.00 μg/ml、0.05~5.00 μg/ml、0.50~50.00 μg/ml 范围内与各自峰面积呈良好线性关系。

## 2.4 正交试验优选提取工艺

2.4.1 试验设计与结果 选择甲醇作为提取溶剂,以甲醇体积分数(A)、超声时间(B)、甲醇用量(C)为考察因素,每个因素选取3个水平,以平均提取率作为评价指标,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表进行试验。超声处理前后称定质量,用甲醇补足减失的质量,取续滤液过0.45 μm 微孔滤膜,上HPLC测定龙血素B、羟基红花黄色素A、三七皂苷R<sub>1</sub>、阿魏酸的含量。提取率(%)=药材实际提取含量/药材平均含量×100%。因素与水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, h	C, ml
1	60	0.5	150
2	80	1.0	250
3	100	1.5	500

由表2、表3可知,各因素影响提取效果的大小顺序为超声时间(B)>甲醇用量(C)>甲醇体积分数(A),其最优制备工艺为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即甲醇体积分数80%,超声时间1.0 h,甲醇用量250 ml。

2.4.2 验证试验 按最佳条件,连续提取6批样品,按“2.3”项下方法测定血竭、红花、三七、当归4味中药的主要成分含量。结果,在20 g 浸膏中,龙血素B平均含量为3.00 mg,羟基红花黄色素A为738.04 mg,三七皂苷R<sub>1</sub>为10.03 mg,阿魏酸为124.94 mg,与正交试验结果相当,表明优选的提取工艺合理、可行。

## 3 讨论

辽源七厘复方有13味中药,成分非常复杂,目前未见13味药统一提取有效成分的报道,其中单味药提取有效成分常选用煎煮法和渗漉法等。辽源七厘复方主要用于舒筋活血、

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal experiment

序号	A	B	C	D	血竭提取率, %	红花提取率, %	三七提取率, %	当归提取率, %	平均提取率, %
1	1	1	1	1	75.6	74.9	76.2	74.1	75.2
2	1	2	2	2	96.3	96.8	96.4	96.9	96.6
3	1	3	3	3	67.4	67.9	67.1	67.6	67.5
4	2	1	2	3	88.9	90.2	90.1	89.2	89.6
5	2	2	3	1	95.1	96.2	94.5	95.4	95.3
6	2	3	1	2	78.6	77.9	78.2	78.1	78.2
7	3	1	3	2	80.6	79.2	80.1	81.7	80.4
8	3	2	1	3	92.1	92.8	92.9	91.8	92.4
9	3	3	2	1	81.7	82.2	82.4	83.7	82.5
K <sub>1</sub>	239.3	245.2	245.8	252.9					
K <sub>2</sub>	263.1	284.3	268.7	255.2					
K <sub>3</sub>	255.3	228.2	243.2	249.5					
$\bar{K}_1$	79.8	81.7	81.9	84.3					
$\bar{K}_2$	87.7	94.8	89.6	85.1					
$\bar{K}_3$	85.1	76.1	81.1	83.2					
R	7.933	18.7	8.5	1.9					

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	98.142	2	17.815	6.466	
B	551.669	2	100.140	36.349	<0.05
C	131.269	2	23.828	8.649	<0.05
D(误差)	5.510	2	2.755		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

散瘀止痛,关键是血竭、红花、三七、当归4味中药发挥作用。经过多次工艺摸索,采用超声波提取4味主药的活性成分,其中甲醇体积分数、超声时间、甲醇用量三个因素对4味主药的活性成分提取影响较大,优选的提取。

综上,优选的提取工艺稳定、可行,重现性好,可为辽源七厘复方中药制成控释制剂提供技术支持。

## 参考文献

- [1] 段富津.方剂学[M].1版.上海:上海科学技术出版社,1995:200
- [2] 郝秦.七厘散加减治疗腰腿痛的应用[J].黑龙江中医药,2009,37(4):285.
- [3] 陶成丽.跌打七厘片治疗高龄老年人骨关节炎的临床观察[J].中国中医急症,2013,22(3):502.
- [4] 卢国华,查细国.接骨七厘片治疗四肢骨折45例[J].中国药业,2013,22(4):66.
- [5] 童良春.七厘散结合高压氧治疗急性期手外伤疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2008,17(10):1510.
- [6] 屠震宇.接骨七厘片联合手术切开内固定治疗骨质疏松症桡骨远端骨折临床观察[J].中国中医急症,2013,22(2):314.
- [7] 毕玉林,王华,曹春启.特定电磁波治疗仪加七厘散治疗软组织伤66例体会[J].沈阳部队医药,2008,21(2):140.
- [8] 赵富花,张荣.七厘散外敷治疗下肢关节周围急性软组织损伤38例[J].人民军医,2013,56(3):266.
- [9] 邓志刚.跌打七厘片治疗急性软组织损伤30例疗效观察[J].临床合理用药杂志,2013,6(5):57.

(收稿日期:2013-08-27 修回日期:2014-03-23)