

## 跌打康复酊提取工艺优选

王谨慧, 郭钰龙, 靳子明, 陶翠祥, 杨锡仓\*

(甘肃中医学院附属医院, 兰州 730020)

**[摘要]** 目的: 优选跌打康复酊的浸出提取工艺条件。方法: 以浸出物质量及红花黄色素 A 质量为指标, 采用正交试验法, 考察乙醇体积分数、浸渍时间及浸渍次数等因素对提取工艺的影响。结果: 从浸出物质量角度考虑, 乙醇体积分数具有极显著性影响, 浸渍次数具有显著性影响; 由红花黄色素 A 质量角度考虑, 乙醇体积分数具有显著性影响, 其他因素均无显著性影响。最佳提取工艺为  $A_3B_2C_3$ , 即加 75% 乙醇浸渍 3 次, 每次 30 d。结论: 该优选工艺既保证了传统散剂改成现代酊剂时有效成分的提取, 且简单易行, 适合于中、小型医院推广使用。

**[关键词]** 跌打康复酊; 正交试验; 提取工艺; 浸出物; 红花黄色素 A

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0043-03

## Optimization of Extraction Technology of Dieda Kangfu Tinctures

WANG Jin-hui, GUO Yu-long, JIN Zi-ming, TAO Cui-xiang, YANG Xi-cang\*

(University Hospital of Gansu Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730020, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology conditions of Dieda Kangfu tinctures. **Method:** With weight of extract and the content of safflower yellow A as indexes, effects of ethanol concentration, extraction time and extraction times on extraction technology were investigated by orthogonal test. **Result:** According to weight of extract, the concentration of ethanol had very significant effect, extraction times had significant effect; According to the content of safflower yellow A, only the concentration of ethanol had significant effect. Optimum

**[收稿日期]** 20121013(002)

**[基金项目]** 甘肃省科学事业费资助项目(GS061-C33-29)

**[第一作者]** 王谨慧, 本科, 副主任中药师, 从事中药制剂研究与开发, E-mail: chuaihui@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 杨锡仓, 教授, 主任中药师, 从事中药制剂及鉴定研究, Tel: 0931-8635920

### [参考文献]

- [1] Lao L X, Fan A Y, Zhang R X, et al. Anti-hyperalgesic and anti-inflammatory effects of the modified Chinese herbal formula Huoluo Xiaoling Dan (HLXL) in rats[J]. Am J Chin Med, 2006, 34(5): 833.
- [2] Zhang R X, Fan A Y, Zhou A N, et al. Extract of Chinese herbal formula Huoluo Xiaoling Dan inhibited adjuvant arthritis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 121(3): 366.
- [3] Fan A Y, Lao L X, Zhang R X, et al. Preclinical safety evaluation of the aqueous acetone extract of Chinese herbal formula modified Huoluo Xiaoling Dan[J]. J Chin Integr Med, 2010, 8(5): 438.
- [4] 何巍. 美国研究者证实活络效灵丹的抗关节炎作用

- [J]. 中医药国际参考, 2010, 5(5): 25.
- [5] 沈嘉, 曹现峰, 刘九飞. 几种黄连解毒汤的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2003, 25(6): 433.
- [6] 尹雪, 黄月纯, 魏刚. 黄芪、白术、防风单煎、合煎对玉屏风煎剂 HPLC 指纹图谱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 15(3): 1.
- [7] 崔景朝, 赵自明. 中药配方颗粒研究进展(II)——中药单煎与合煎对比研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 240.
- [8] 冯果, 刘文, 张永萍, 等. 结合药效学指标正交优选复方止咳颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 32.
- [9] 王宁宁, 焉媛媛, 李月, 等. 不同提取方式对天麻复方的药效学影响[J]. 中药材, 2007, 30(4): 452.

[责任编辑 仝燕]

extraction technology was as following: impregnated 3 times with 75% ethanol, 30 days each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was not only benefiting for extraction of effective components in transition of powders to tinctures, but also simple and reasonable for industrial production in small and medium-sized hospitals.

[**Key words**] Dieda Kangfu tinctures; orthogonal test; extraction technology; extract; safflower yellow A

跌打康复酊(又名展筋酊)是我院知名教授宋贵杰的经验方,是“陇中正骨”中医学学术流派对“平乐展筋丹”的继承、创新产物<sup>[1-3]</sup>。该方以红花、血竭为君药,三七、乳香、没药、大黄为臣药,栀子、花椒为佐药,樟脑、麝香为使药。方中诸药大多含树脂、挥发油等脂溶性成分,同时红花中红花黄色素 A 等黄酮类成分及三七中皂苷类成分均具有一定极性。故拟采用醇浸法将其制成酊剂,以浸出物质量及红花黄色素 A 质量为指标,对醇浸工艺中乙醇体积分数、浸渍时间及浸渍次数进行正交试验优选,为该制剂的临床应用提供实验依据。

### 1 材料

600 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BP210S 型电子分析天平(Sartorius 公司), IEC Micromax 型离心机(美国 Thermo Electron 公司), Delta 320 型 pH 计(梅特勒-托利多仪器公司)。

跌打康复酊处方药材由甘肃中医学院附属医院提供,经杨锡仓主任中药师鉴定为正品;红花黄色素 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111637-201007),跌打康复酊(甘肃中医学院附属医院自制),甲醇为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

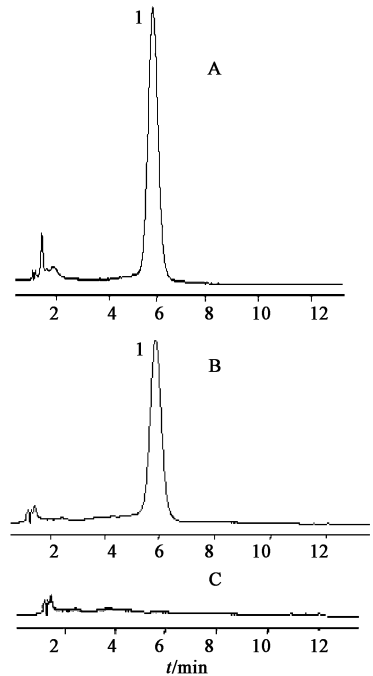
### 2 方法与结果

**2.1 红花黄色素 A 的含量测定**<sup>[4]</sup> 色谱条件为 Symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰乙酸(7:93:2),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 402 nm,柱温 20 °C。该条件下红花黄色素 A 峰型良好,阴性供试品无干扰(图 1)。

红花黄色素 A 在 96 ~ 960 ng 与峰面积呈良好线性关系,回归方程  $Y = 1\ 914.2X - 8\ 438$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ )。同一对照品溶液重复进样 5 次,每次 10 μL,红花黄色素 A 峰面积积分值 RSD 1.2%,表明仪器精密良好。同一供试品溶液 20 μL,分别于第 1, 2, 3 天各重复进样 5 次,红花黄色素 A 峰面积积分值日间 RSD 分别为 1.20%, 1.80%, 1.56%。供试品溶液在 72 h 内基本稳定,平均加样回收率 98.80% (RSD 2.85%)。

**2.2 醇浸物质量的测定** 参照《中国药典》2010 年版一部附录<sup>[5]</sup> 浸出物测定法。

**2.3 正交试验优选**<sup>[6-7]</sup> 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验,选



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照液; 1. 红花黄色素 A  
图 1 跌打康复酊 HPLC

取乙醇体积分数、浸渍时间及浸渍次数为考察因素,各设 3 个水平,因素水平见表 1。称取两倍量处方药材,血竭、三七、乳香、没药、大黄、栀子、花椒 7 味药除去杂质,碾成小碎粒与红花混合,合计 154 g,按正交试验号进行浸渍提取,浸渍液回收干燥。测定浸出物质量和红花黄色素 A 质量,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3, 4。

从浸出物质量角度考虑,由极值结果可知,各因数影响顺序为  $C > A > B$ ; 方差分析表明 C 因素具有极显著性差异, A 因素具有显著性差异, B 因素影响不大; 最佳提取工艺 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>; 从红花黄色素 A 质量角度考虑,极差结果表明各因数影响大小为  $A > C > B$ ; 方差分别表明 A 因素具有显著性差异,其他因素均无显著性差异; 最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>。考虑到 50% 乙醇浸出物可能会带出更多的水溶性成分,不利于酊剂的保存; 同时参考酊剂一般浸出方法,确定最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>, 即加 75% 乙醇浸渍 3 次,每次 30 d。

**2.4 验证试验** 称取处方量药材,共 6 份,按优选

表1 跌打康复酊浸渍提取工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C
	浸渍时间 /d	乙醇体积分数 /%	浸渍数 /次
1	10	50	1
2	20	75	2
3	30	95	3

表2 跌打康复酊浸渍提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	浸出物质量 /g	红花黄色素 A 质量 /mg
1	1	1	1	1	26.13	116.23
2	1	2	2	2	42.67	125.81
3	1	3	3	3	51.85	101.11
4	2	1	2	3	48.47	143.95
5	2	2	3	1	55.20	142.16
6	2	3	1	2	41.44	146.75
7	3	1	3	2	53.03	135.00
8	3	2	1	3	37.51	153.78
9	3	3	2	1	51.49	138.92
浸出物质量	$K_1$	120.65	127.62	105.07	132.81	
	$K_2$	145.10	135.38	142.63	137.14	
	$K_3$	142.03	144.78	160.08	137.83	
	R	24.45	17.16	55.01	5.02	
红花黄色素 A 质量	$K_1$	343.15	395.18	416.76	397.31	
	$K_2$	432.86	421.75	408.68	407.56	
	$K_3$	427.70	386.78	378.27	398.84	
	R	89.71	34.97	38.49	10.25	

表3 浸出物质量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	118.320	2	59.160	24.071	<0.05
B	49.172	2	24.586	10.004	>0.05
C	526.612	2	263.306	107.135	<0.01
D(误差)	4.915	2	2.458		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00, F_{0.01}(2,2) = 99$ (表4同)。

表4 红花黄色素 A 质量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	1 691.468	2	845.734	82.987	<0.05
B	222.158	2	111.079	10.900	>0.05
C	274.615	2	137.307	13.473	>0.05
D(误差)	20.382	2	10.191		

的提取工艺进行进行6次验证试验,结果平均浸出物质量( $58.37 \pm 0.77$ )g, RSD 1.32%;浸出物中红花黄色素 A 平均质量( $166.3 \pm 6.4$ )mg, RSD3.85%,

说明优选的工艺稳定可行。

### 3 讨论

来源于河南洛阳的平乐展筋丹历史悠久<sup>[1]</sup>,有关该方的开发利用得到众多关注<sup>[8-11]</sup>。跌打康复酊是在原方基础上适当加减研制而成的一种医院制剂<sup>[3-4]</sup>,酊剂的开发有利于制剂临床使用、保存及运输,有利于病人接受和推广使用。本实验采用正交试验优选的制剂工艺,不仅保证了传统散剂改成现代酊剂时有效成分的保留,而且简单易行,可推广于中、小医院应用。但该优选工艺存在提取周期长的缺点,还有待于进一步研究,为跌打康复酊的临床应用推广提供实验依据。

### [参考文献]

- [1] 郭福成. 平乐骨科外用“展筋丹”、“接骨丹”简析[J]. 河南中医,1987,10(3):14.
- [2] 宋鹏程,姜劲挺,吴建民,等. 接骨疗伤除病痛教书育人好园丁——宋贵杰教授传略及学术思想[J]. 甘肃中医,1996,8(4):6.
- [3] 郭成龙,宋光芬,杨锡仓,等. 展筋酊治疗跌打损伤190例疗效观察[C]. 兰州:甘肃省中医药学会,2008:300.
- [4] 王谨慧,靳子明,杨锡仓. RP-HPLC法测定展筋酊中红花黄色素 A 的含量[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(6):480.
- [5] 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,2010:17.
- [6] 王谨慧,靳子明,杨少军. 慈菇消脂丸提取工艺试验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(12):31.
- [7] 张燕,曹阳,黄彬,等. 正交试验法优选芪胶膏水提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(19):33.
- [8] 关志宇,陈丽华,王森,等. 黄连软膏制备工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):36.
- [9] 张来朝. 展筋丹外用集锦[J]. 中医正骨,2000,12(3):61.
- [10] 赵新杰,杜志谦,夏华玲. 展筋丹乳剂的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药,2002,13(10):622.
- [11] 杜志谦,杜天信,王中东,等. 展筋乳剂提取工艺的研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(1):32.

[责任编辑 仝燕]