

## 寒痹贴的提取工艺优选

段晓颖<sup>1\*</sup>, 平佳宜<sup>2</sup>, 孙广科<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** 目的: 优选寒痹贴的最佳提取工艺。方法: 草乌以总生物碱的提取量为考察指标, 采用正交试验优选醇提工艺; 赤芍等 6 味中药以芍药苷的提取量为考察指标, 采用正交试验优选水煎工艺。结果: 寒痹贴的最佳提取工艺为草乌加 70% 乙醇 6 倍, 回流 2 次, 每次 2 h; 赤芍等药材加水 8 倍量, 煎煮 3 次, 每次 1 h。结论: 优选出的提取工艺合理、可行, 为其生产提供了科学依据。

**[关键词]** 寒痹贴; 提取工艺; 正交试验; 总生物碱; 芍药苷

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0038-03

## Study on Extraction Technology of Hanbi Patch

DUAN Xiao-ying<sup>1\*</sup>, PING Jia-yi<sup>2</sup>, SUN Guang-ke<sup>1</sup>

(1. First Affiliated Hospital, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;  
2. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the best extraction technology of Hanbi patch. **Method:** Orthogonal test was used to optimize alcohol extraction process of Aconiti Kusnezoffii Radix with the yield of total alkaloid as index; Optimize decocting technology of Paeoniae Radix Rubra and other five herbs by orthogonal design with the extraction amount of paeoniflorin as index. **Result:** The optimum extraction technology was as follows: Aconiti Kusnezoffii Radix was refluxed with 6 times amount of 70% ethanol for two times by 2 h per time. Paeoniae Radix Rubra and other herbs was added 8 times amount of water for three times with 1 h each time. **Conclusion:** The optimized extraction process is reasonable, feasible and provide scientific basis for the production.

**[Key words]** Hanbi patch; extraction technology; orthogonal test; total alkaloid; paeoniflorin

寒痹贴为临床经验方, 是由草乌、赤芍、当归、蜈蚣、川芎 5 味中药组成的外用透皮贴剂, 具有温经祛寒, 活瘀通络, 消肿止痛之功效, 主要用于寒痹症。草乌为方中君药, 主要含叔胺碱, 难溶于水; 而赤芍、当归等其余 4 味有效成分均具有一定水溶性。为制定科学合理的提取工艺, 根据上述药味中有效成分的理化性质, 设计了 2 条提取工艺路线, 分别考察不同乙醇体积分数、加醇量、回流时间对草乌提取的影响及加水量、提取时间、提取次数对赤芍、当归等 4

味药中有效成分提取的影响, 以确定寒痹贴的最佳提取工艺。

### 1 材料

LC-10A 型高效液相色谱仪 (SPD-10A 紫外检测器, 日本岛津公司), Sartorius CP225D 型电子天平 (德国赛多利斯公司), 草乌、赤芍、当归 (购于安徽亳州, 经本实验室检验符合 2010 年版《中国药典》规定), 芍药苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0736-9913, 供含量测定用), 甲基红指示剂 (上海崇明欲安欲西制剂厂),  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$  滴定液均由本实验室标定, 甲醇为色谱纯, 乙醇为药用规格, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**[收稿日期]** 20110609(001)

**[通讯作者]** \* 段晓颖, 主任药师, 硕士生导师, 从事中药新技术新剂型研究, Tel: 0371-66233639, Fax: 0371-662451424, E-mail: dxy137@sina.com

## 2.1 草乌的醇提工艺

**2.1.1 提取次数考察** 取草乌粗粉 100 g,加 80% 乙醇回流 3 次,每次 1 h,分别收集回流液,按 2.1.4 项下方法测定 3 次回流液中总生物碱的质量分数,分别为 5.03,1.38,0.21 mg·g<sup>-1</sup>,结果表明回流 2 次可将草乌中大部分总生物碱提出,第 3 次回流液中总生物碱已很少,故将草乌提取次数固定为 2 次。

**2.1.2 正交试验设计** 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表试验,以总生物碱的提取量为指标,考察乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间对草乌中总生物碱提取的影响。见表 1。

表 1 草乌醇提工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/h
1	90	6	1
2	80	8	1.5
3	70	10	2

**2.1.3 正交样品溶液的制备** 称取草乌粗粉 9 份,每份 100 g,按正交表各行所列条件进行提取,过滤,得 9 份正交样品提取液,量取体积。测定总生物碱的含量,见表 2,3。

表 2 草乌醇提工艺正交试验

No.	A	B	C	D(空白)	总生物碱的 提取量/mg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	5.36
2	1	2	2	2	5.97
3	1	3	3	3	6.68
4	2	1	2	3	7.36
5	2	2	3	1	7.41
6	2	3	1	2	6.44
7	3	1	3	2	7.45
8	3	2	1	3	6.39
9	3	3	2	1	7.50
K <sub>1</sub>	18.21	20.37	18.36	20.5	
K <sub>2</sub>	21.21	19.8	20.83	19.83	
K <sub>3</sub>	21.34	20.59	21.57	20.43	
R	3.13	0.79	3.21	0.67	

方差分析结果表明,因素 A、C 有显著性差异。结合直观分析,A<sub>3</sub>≈A<sub>2</sub>>A<sub>1</sub>,从节约成本的角度考虑,选择 A<sub>3</sub>,即 70% 的乙醇;C<sub>3</sub>>C<sub>2</sub>>C<sub>1</sub>,选择 C<sub>3</sub>,即回流提取 2 h;B 无显著性差异,选择最低水平 B<sub>1</sub>。综合考虑各影响因素,确定最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即加 70%

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.09	2	1.04	23.64	<0.05
B	0.108	2	0.054	1.23	
C	1.88	2	0.94	21.36	<0.05
D(误差)	0.087 9	2	0.044		

注:F<sub>0.05</sub>(2,2)=19.00,表 6 同。

乙醇 6 倍,回流提取 2 次,每次 2 h。

**2.1.4 含量测定** 精密吸取上述制得的提取液各 25 mL,挥去乙醇,加氨试液 4 mL,用乙醚-三氯甲烷(3:1)的混合液萃取 4 次,每次 20 mL,合并萃取液至锥形瓶中,蒸干。残渣再用上述混合液 5 mL 溶解后,蒸干,然后将残渣用 5 mL 乙醇溶解。精密加入 0.01 mol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 滴定液 10 mL 和水 15 mL,使其充分混合后,加入 3 滴甲基红指示剂,用 0.02 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 滴定液滴至终点。计算总生物碱的提取量,即得。

## 2.2 赤芍、当归等饮片水提工艺

**2.2.1 正交试验设计** 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表试验,以臣药赤芍中芍药苷的提取量为指标,考察加水倍数、提取时间、提取次数对赤芍等处方中其余 4 味饮片中有有效成分提取的影响。见表 4。

表 4 赤芍、当归等饮片水提工艺因素水平

水平	A 加水倍数/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	8	1	1
2	10	2	2
3	12	3	3

**2.2.2 正交样品溶液的制备** 按处方比例称取赤芍、当归等药材 9 份,每份 100 g。按正交表各行所列条件进行提取,过滤,得 9 份正交样品提取液,量取体积。测定芍药苷的含量,见表 5,6。

从方差分析结果表明,因素 A、B 无显著性差异;C 有显著性差异。综合考虑各影响因素,确定最佳提取工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即加水 8 倍,回流提取 3 次,每次 1 h。

**2.2.3 含量测定** Agilent ZORBAX Eclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相甲醇-0.05 mol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(40:65),流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 230 nm。

精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.019 mg 的对照品溶液。从 1~9 号水煎液

表 5 赤芍、当归等饮片水提工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	芍药苷的提取量 /mg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	21.2
2	1	2	2	2	29.9
3	1	3	3	3	35.2
4	2	1	2	3	29.4
5	2	2	3	1	36.0
6	2	3	1	2	22.9
7	3	1	3	2	29.6
8	3	2	1	3	23.5
9	3	3	2	1	25.5
K <sub>1</sub>	86.3	80.2	67.6	82.7	
K <sub>2</sub>	88.3	89.4	84.8	82.4	
K <sub>3</sub>	78.6	83.6	100.8	88.1	
R	9.7	9.2	33.2	5.4	

表 6 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	17.4	2	8.7	2.6	
B	14.4	2	7.2	2.1	
C	183.7	2	91.8	27.0	<0.05
D(误差)	6.8	2	3.4		

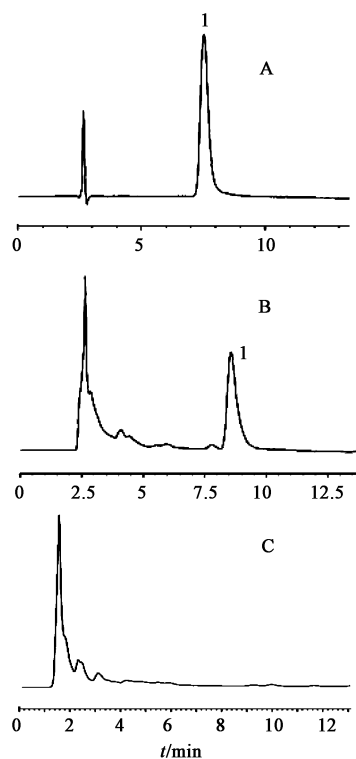
中分别精密吸取相当于 30 ~ 60 mg 赤芍药材的溶液,加入甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;取缺赤芍的其余药材按样品溶液的制备,进行相同操作,即得阴性对照液。

在上述色谱条件下分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10 μL,进样,记录色谱图。见图 1。

**2.2.4 水提工艺验证** 取一个处方量的药材 3 份。按照正交优选的最佳水提工艺条件提取,即加水 8 倍,回流提取 3 次,每次 1 h,平行试验 3 份。  
**2.2.3 含量测定方法** 项下,测定芍药苷的含量。结果芍药苷的提取量分别为 31.5, 32.9, 32.4 mg·g<sup>-1</sup>, 平均提取量为 32.26 mg·g<sup>-1</sup>,表明该工艺参数合理可行。

### 3 讨论

草乌为本方中的君药,其主要成分为生物碱,如乌头碱(aconitine)、中乌头碱(mesaconitine)、次乌头碱(atisine)等<sup>[1]</sup>,药理实验表明其具有镇痛、抗炎、



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 芍药苷

图 1 赤芍、当归等饮片水提芍药苷含量测定 HPLC

止痛等多种药理作用<sup>[2]</sup>。总生物碱经典的提取方法常为酸水提取和乙醇回流提取<sup>[3]</sup>,因酸水提取对生产设备要求较高,因此采用乙醇提取。实验结果表明乙醇回流提取工艺安全、简便、易行,适合工业化大生产。

赤芍为本方臣药,其主要成分为芍药苷、氧化芍药苷、苯甲醛芍药苷、白芍苷等<sup>[4]</sup>,药理实验表明芍药苷有明显的镇痛作用,能加强吗啡、可乐定抑制小鼠扭体反应,并有一定的抗炎作用<sup>[5]</sup>。因此,以芍药苷煎出量为指标,优选最佳水提工艺。

### [参考文献]

[1] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 科技出版社, 1997: 158.  
 [2] 徐文龙, 丁丽, 都希格. 草乌蒙中医用药及浅析[J]. 中国民族医药杂志, 2003, 10(4): 52.  
 [3] 吴涓, 刘汉清. 祛风止痛颗粒中草乌提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2006, 20(2): 52.  
 [4] 郑虎占, 董泽红, 余靖, 等. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 1812.  
 [5] 杨媛媛, 周刚. 赤芍的研究进展[J]. 医药导报, 2008, 27(2): 67.

[责任编辑 全燕]