# 剧痛宁贴剂的醇提工艺

徐男[1],张超[1*],蔡梅超[1],王淑玲[2],时海燕[3]
(1. 山东中医药大学药学院,济南 250355;2. 杭州师范大学生物医药与健康研究中心,杭州 310012;
3. 北京大学医学部药学院,北京 100191)

[**摘要**] **目的:**优选剧痛宁贴剂的最佳乙醇提取工艺。**方法:**以芍药苷、总生物碱和醇浸膏量为指标,采用直接比较法对乙醇提取体积分数进行优选;以芍药苷和醇浸膏量为指标,采用正交试验法对剧痛宁贴剂中白芍、黄连、延胡索的乙醇提取工艺进行优选。**结果:**将药材中白芍、黄连、延胡索粉碎成粗粉,分别加 10,8 倍量 70% 的乙醇提取 2 次,每次提取 2 h。**结论:**确定的工艺合理,有效成分提取率高。

[**关键词**] 剧痛宁贴剂;芍药苷;总生物碱;醇浸膏量;正交试验法。
[**中图分类号**] R283.6 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1005-9903(2011)19-0035-03

# Ethanol Extraction Process of Jutongning Patch

*XU Nan*[1], *ZHANG Chao*[1*], *CAI Mei-chao*[1], *WANG Shu-ling*[2], *SHI Hai-yan*[3]
(1. *College of Pharmacy*, *Shandong University of Traditional Chinese Medicine*, *Jinan* 250014, *China*;
2. *Research Center of Biomedicine and Health*, *Hangzhou Normal University*, *Hangzhou* 310012, *China*;
3. *College of Pharmacy*, *Medical Department*, *Peking University*, *Beijing* 100191, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To optimize ethanol extraction process of Jutongning patch. **Method**: Optimized concentration of ethanol extract are investigated by direct comparison with paeoniflorin, total alkaloids and the amount of alcohol extracts as index. Optimized ethanol extraction processes of Paeoniae Radix Alba, Coptidis Rhizoma, Corydalis Rhizoma from Jutongning patch are investigated by using orthogonal design. Paeoniflorin and the amount of alcohol extracts were used as index in the investigation. **Result**: Paeoniae Radix Alba, Coptidis Rhizoma, Corydalis Rhizoma were ground to coarse powder and extracted twice in 70% ethanol with 2 h per time, 10 times ethanol for the first time and 8 times ethanol for the second time. **Conclusion**: The optimum process are rational and has high yield of active constituents.

[**Key words**] Jutongning patch; paeoniflorin; total alkaloids; the amount of alcohol extracts; orthogonal test

剧痛宁为济南鑫康生物技术有限公司生产的中药制剂。原制剂是将药物加水煎煮浓缩,加入适量的凡士林与羊毛脂混匀制成软膏,用于癌症患者的疼痛具有明显的效果。但临床使用中存在易污染衣服,剂量不够准确等缺点,贴剂具有制法简单,使用方便的特点,尤其在本制剂中含有蟾酥、芥子等具有刺激性的药物,贴剂可以降低刺激性。本研究拟将原软膏剂改为贴剂,同时通过对提取工艺的优化进一步提高疗效。

[**收稿日期**] 20110510(020)
[**第一作者**] 徐男,博士,从事中药新药研究与炮制原理的研究, Tel: 0531-85187216, E-mail: 93679706@qq.com
[**通讯作者**] * 张超,博士,讲师,从事中药新药研究与中药炮制原理研究, Tel: 0531-89628590, E-mail: zhangchaotcm@126.com

## 1 材料[1]

SPD-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津),CS-9301 型双波长扫描仪(岛津),U-3010 紫外-可见分光光度计(日立),1/10 万电子分析天平(梅特勒公司)。

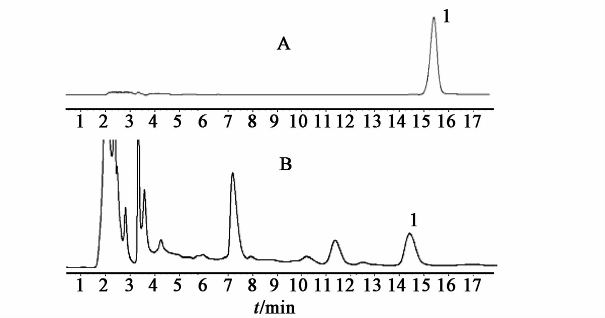
药材经山东中医药大学林桂涛教授鉴定:延胡

索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* 的干燥块茎,黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎,白芍为毛茛科植物芍药 *Pulsatilla chinensis* 的干燥根。对照品芍药苷(批号 736-9608)、盐酸小檗碱(批号 0713-9906),均购于中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1** 提取溶剂的选择　以白芍中的芍药苷及黄连与延胡索中总生物碱为指标,考察水及不同浓度的乙醇对提取结果的影响,找出最佳的提取溶剂。按处方准确称取延胡索、白芍、黄连,共 4 份,分别 10,8 倍加水、50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇,加热回流提取 2 次,第 1 次提取 2 h,第 2 次提取 1.5 h,合并提取液,滤过,滤液回收乙醇至无醇味,加水稀释,定容至 100 mL,混匀,即得。

**2.2** 芍药苷的测定[2]　Kromasil $C_{18}$(4.6 mm × 200 mm,5 μm)色谱柱,流动相乙腈-水(13∶87),检测波长 230 nm,柱温室温。理论塔板数按芍药苷峰计算不低于 3 000。图 1 可知在该色谱条件下,芍药苷与其他成分可达基线分离,其他药材成分对测定无干扰。




A. 对照品;B. 样品;1. 芍药苷

**图 1　剧痛宁贴剂芍药苷 HPLC**

标准曲线的绘制　精密称取芍药苷对照品 2.52 mg,置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并加甲醇至刻度,摇匀。分别吸取对照品质量溶液 0.05,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,置于 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。分别吸取不同质量浓度的对照品溶液,测定。以延胡索乙素对照品浓度对峰面积进行线性回归,得回归方程 $Y = 596.53 + 14\ 757.99\ X$($r = 0.999\ 7$),结果延胡索乙素对照品在 12.6 ~ 252 mg·$L^{-1}$有良好的线性关系。

供试液的制备　精密吸取不同溶剂的提取液各 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,超声处理 10 min,滤过,弃去初滤液,吸取各续滤液和芍药苷对照品溶液 20 μL,注入高效液相色谱仪,测定,结果见表 1。

**表 1　不同提取溶剂对剧痛宁贴剂提取的影响**

| 提取溶剂 | 芍药苷量 /g·$L^{-1}$ | 总生物碱含量 /g·$L^{-1}$ | 浸膏量 /g·$mL^{-1}$ |
|---|---|---|---|
| 水 | 1.89 | 14.89 | 0.206 5 |
| 50% 乙醇 | 2.98 | 17.01 | 0.177 3 |
| 70% 乙醇 | 3.12 | 18.28 | 0.154 9 |
| 95% 乙醇 | 2.01 | 17.51 | 0.082 9 |

**2.3** 总生物碱的测定[3]　精密吸取不同溶剂的提取液各 1 mL,置入 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,混匀,滤过。弃去初滤液,吸取 1 mL 置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,混匀,供测定小檗碱。吸取供试品溶液 2 μL 及盐酸小檗碱对照品溶液 1,3 μL,交叉点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水(6∶3∶1.5∶1.5∶0.3)为展开剂,另槽加入等体积的浓氨试液,预平衡 15 min,展开,取出,挥干,对小檗碱斑点进行荧光扫描,激发波长为 366 nm,总生物碱的含量以盐酸小檗碱计算,结果见表 1。

**2.4** 醇浸膏量的测定　精密吸取各药液 5 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴挥去溶剂,于 105 ℃ 烘 3 h,取出,置于玻璃干燥器中,冷却后称重,计算醇浸膏量,结果见表 1。

由表 1 可以看出,4 种提取溶剂比较,无论芍药苷还是总生物碱的提取量均以 70% 乙醇为最好,故选用 70% 乙醇作为醇提取溶剂。

**2.5** 乙醇提取工艺　药材的粒度,溶剂的用量和提取时间是影响提取效果的主要因素。故在预先确定 2 次提取的前提下,采用正交试验的方法研究药材粒度、溶剂用量和提取时间各因素对提取效果的影响。设计的因素及水平见表 2。

**表 2　剧痛宁贴剂乙醇提取工艺正交因素水平**

| 水平 | *A* 粒度 | *B* 溶剂量/倍 | *C* 提取时间/h |
|---|---|---|---|
| 1 | 饮片 | 10 | 1 |
| 2 | 10 目 | 14 | 2 |
| 3 | 40 目 | 18 | 3 |

注:提取溶剂的用量分配 10(6,4),14(8,6),18(10,8);提取时间指每次提取时间。

按 $L_9(3^4)$正交表的布表组合,取不同粒度的延胡索、白芍、黄连共 9 份,加 70% 乙醇回流提取,各提取液回收乙醇,浓缩,定容至 100 mL。按 **2.1** 项下方

法测定芍药苷的量。结果及见表 3，方差分析表 4，5。

表 3　剧痛宁贴剂乙醇提取工艺正交试验结果

| No. | | A | B | C | D | 芍药苷 /g·L$^{-1}$ | 浸膏量 /g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 2.96 | 0.600 8 |
| 2 | | 1 | 2 | 2 | 2 | 3.70 | 0.664 7 |
| 3 | | 1 | 3 | 3 | 3 | 4.00 | 0.789 6 |
| 4 | | 2 | 1 | 2 | 3 | 4.06 | 0.757 5 |
| 5 | | 2 | 2 | 3 | 1 | 4.59 | 0.814 2 |
| 6 | | 2 | 3 | 1 | 2 | 4.39 | 0.688 9 |
| 7 | | 3 | 1 | 3 | 2 | 4.13 | 0.841 8 |
| 8 | | 3 | 2 | 1 | 3 | 4.27 | 0.769 3 |
| 9 | | 3 | 3 | 2 | 1 | 4.75 | 0.981 6 |
| 芍药苷 | $K_1$ | 10.66 | 11.15 | 11.62 | 12.30 | | |
| | $K_2$ | 13.04 | 12.56 | 12.51 | 12.22 | | |
| | $K_3$ | 13.15 | 13.14 | 12.72 | 12.33 | | |
| | $R$ | 2.49 | 1.99 | 1.10 | 0.11 | | |
| 浸膏量 | $K_1$ | 2.055 | 2.200 | 2.059 | 2.397 | | |
| | $K_2$ | 2.261 | 2.248 | 2.404 | 2.195 | | |
| | $K_3$ | 2.593 | 2.460 | 2.446 | 2.316 | | |
| | $R$ | 0.538 | 0.260 | 0.387 | 0.202 | | |

表 4　芍药苷方差分析

| 方差来源 | SS | f | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 1.319 2 | 2 | 0.659 6 | 439.73 | 0.01 |
| B | 0.697 9 | 2 | 0.349 0 | 232.67 | 0.01 |
| C | 0.226 9 | 2 | 0.113 5 | 75.67 | 0.05 |
| D(误差) | 0.003 0 | 2 | 0.001 5 | | |

表 5　浸膏量方差分析

| 方差来源 | SS | f | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0.049 1 | 2 | 0.024 6 | 7.24 | 0.05 |
| B | 0.012 7 | 2 | 0.006 4 | 1.89 | 0.05 |
| C | 0.030 0 | 2 | 0.015 | 4.41 | 0.05 |
| D(误差) | 0.006 8 | 2 | 0.003 4 | | |

醇浸膏量的测定：精密吸取各药液 5 mL，置已干燥至恒重的蒸发皿中，水浴挥去溶剂，于 105 ℃烘 3 h，取出，置于玻璃干燥器中冷却后称重，计算醇浸膏量，结果见表 3，方差分析表 4，5。

由表 3 可以看出，无论以芍药苷为指标还是以浸膏提取量指标，最佳的提取条件为 $A_3B_3C_3$。以芍药苷为指标，3 因素对提取结果均有较大的影响，影响大小为 $A>B>C$；以浸膏的提取量为指标，3 因素对提取结果的影响有 $A>C>B$，A、C 因素 $K_2$ 与 $K_3$ 均较接近，因此结合生产的实际，最后确定乙醇提取条件选用 $A_2B_3C_2$，即将药材粉碎成粗粉，加 70% 的乙醇提取 2 次，第 1 次加 10 倍量，第 2 次加 8 倍量，每次提取 2 h。

**2.6**　验证试验及提取次数的考察　前述所确定的条件是在提取 2 次的条件下得到的结果。又进行提取次数的考察。分别提取 2、3 次，第 3 次的提取方法同第 2 次。从芍药苷的提取量可以看出，随着溶剂量的增多，芍药苷的提取量增加，故对溶剂用量进行了探讨。分别测定 3 种条件提取液中芍药苷的量与浸膏量，结果见表 6。

表 6　提取次数对提取结果的影响

| No. | 提取次数(倍) | 芍药苷/g·L$^{-1}$ | 浸膏量/g·mL$^{-1}$ |
|---|---|---|---|
| 1 | 2(10，8) | 4.75 | 0.196 3 |
| 2 | 3(10，8，8) | 4.80 | 0.204 3 |
| 3 | 2(12，10) | 4.79 | 0.204 1 |

由表 6 可以看出增加提取次数或增加溶剂用量虽都能提高芍药苷和浸膏的提取量，但提高的量很小，从大生产的角度考虑已无意义。故工艺采用已确定的条件。

## 3　讨论

本方中白芍所含有的芍药苷及白芍总苷具有明显的抗炎作用。延胡索的活性成分为生物碱有较强的镇痛、镇静、催眠作用[4]。黄连的活性成分亦为生物碱，有镇痛和镇静的作用。文献显示白芍以 70% 乙醇提取，芍药苷的提取量显著比水及其他浓度的乙醇溶液提取的多，白芍应以 70% 乙醇回流提取。延胡索生物碱与黄连中的生物碱易溶于乙醇，在水中溶解度较小，故延胡索、黄连、白芍应以乙醇回流提取。

［参考文献］


［1］　中国药典. 一部［S］. 2005：90.

［2］　刘芳，杨广德，白芍中芍药苷的提取方法研究［J］. 中成药. 2003，25(10)：792.

［3］　李虹，林杰，才猛. 荧光扫描法测定湿热痹颗粒中盐酸小檗碱的含量［J］. 时珍国医国药，2005，16(1)：24.

［4］　赵翠仙，杨来秀，王晓东. 延胡索碱的药理学研究概况［J］. 内蒙古科技与经济，2001，2：125.


［责任编辑　仝燕］