

# 伤速康涂膜剂提取工艺研究

邓体瑛<sup>1</sup>, 左亚杰<sup>2</sup>, 欧阳荣<sup>2</sup>, 谢玲<sup>1</sup>

(1. 湖南中医学院, 湖南长沙 410007; 2. 湖南中医学院附属第一医院, 湖南长沙 410007)

**摘要:**目的: 优选伤速康涂膜剂提取工艺。方法: 采用正交分析法, 测定挥发油含量, 大黄素和绿原酸含量。结果: 挥发油提取时, 加水量(A)、蒸馏时间(C)二因素均对挥发油含量有显著性影响( $A < 0.05, C < 0.01$ )。乙醇回流提取时, 乙醇用量(D)对大黄素含量有显著性影响( $D < 0.01$ ), 乙醇浓度(A)和提取次数(C)对绿原酸含量有显著性影响( $A < 0.1, C < 0.1$ )。结论: 本方最佳提取工艺为挥发性药材先用 8 倍量水浸泡 6 h, 水蒸汽蒸馏法提取挥发油 8h, 其药渣与其余药材一起用 10 倍量 65% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1h。

**关键词:** 伤速康涂膜剂; 正交试验; 挥发油; 大黄素; 绿原酸

**中图分类号:** R283.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)06-0011-03

伤速康涂膜剂是由大黄、金银花、当归、白芷等十一味中药组成, 具有活血止痛, 清热消肿, 散瘀通络的作用, 临床上应用于治疗急性软组织损伤, 具有消肿止痛快、疗程短、疗效好的优点, 但原剂型(散剂)存在使用不便, 易弄脏衣物等不足, 阻碍其进一步推广运用。于是我们根据透皮吸收理论(TTS), 将其改为涂膜剂, 本文对其工艺研究进行报道。

## 1 仪器与药品

高效液相色谱仪(Aglient 1100 series), 电子分析天平(DT-100), KQ-600 型超声波清洗器, 挥发油提取

器, 大黄素标准品, 绿原酸标准品(中国药品生物制品检验所), 医用乙醇(长沙白沙酒厂出品), 其它试剂均为分析纯。大黄等中药材饮片购自湖南省药材公司。

## 2 工艺设计<sup>[1]</sup>

方中香附、白芷、薄荷、当归、羌活、姜黄含有挥发油。采用水蒸汽蒸馏法提取挥发油, 其余下药渣水提取, 其它药材进行乙醇回流提取, 合并, 浓缩提取液至一定体积后加入挥发油, 最终制得涂膜剂。提取工艺见图 1。

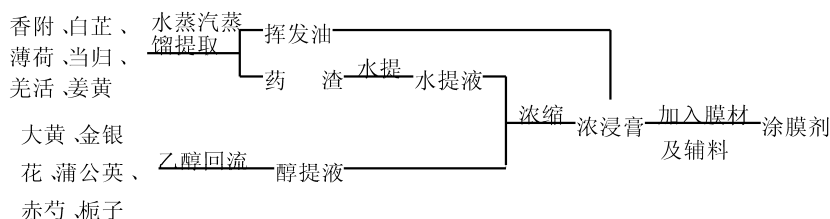


图 1 伤速康涂膜剂提取制备工艺简图

## 3 方法与结果

### 3.1 挥发油的提取

**3.1.1 试验因素水平选择** 选加水量(A)、浸泡时间(B)、蒸馏时间(C)为试验考察因素, 采用四因素 3 水平  $L_9(3^4)$  正交表安排试验。因素水平安排见表 1。

**3.1.2 正交安排与结果** 按正交表确定的条件安排实验, 参照《中国药典》2000 版一部附录“挥发油测定法”测定挥发油, 结果见表 2。

表 1 提取挥发油的因素水平表

水平	因素		
	加水量(A, 倍)	浸泡时间(B, h)	蒸馏时间(C, h)
1	8	6	4
2	10	12	6
3	12	24	8

对表 2 中提取挥发油的正交试验进行方差分析, 结果见表 3, 可知 A 因素有显著影响, C 因素有极显著影响, B 因素的极差比空白列 D 还要小, 故将 B 与 D 合并为误差项, 最优提取方案为  $A_1B_1C_3$ , 即先用 8 倍量水浸泡挥发性药材 6h, 水蒸汽蒸馏 8h。

表 2 提取挥发油的正交试验结果

试验号	因素				挥发油得率 (mL/100g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.369
2	1	2	2	2	0.385
3	1	3	3	3	0.462
4	2	1	2	3	0.338
5	2	2	3	1	0.446
6	2	3	1	2	0.323
7	3	1	3	2	0.446
8	3	2	1	3	0.308
9	3	3	2	1	0.323
I	1.216	1.153	1.000	1.138	
II	1.107	1.139	1.046	1.154	$\Sigma Y = 3.4$
III	1.077	1.108	1.354	1.108	$\Sigma Y^2 = 1.3134$
R	0.139	0.045	0.354	0.046	

表 3 提取挥发油正交试验方差分析

变异来源	SS	V	MS	F	P
总变异	0.029	8	$3.62 \times 10^{-3}$		
A	$3.611 \times 10^{-3}$	2	$1.8055 \times 10^{-3}$	8.96	< 0.05
B	$3.98 \times 10^{-4}$	2	$1.99 \times 10^{-4}$	1	
C	$2.474 \times 10^{-2}$	2	$1.237 \times 10^{-2}$	61.39	< 0.01
D	$4.08 \times 10^{-4}$	2	$2.04 \times 10^{-4}$		

$F_{0.05}(2, 4) = 6.94$   $F_{0.01}(2, 4) = 18.00$

### 3.2 大黄、金银花等药材乙醇回流提取工艺

**3.2.1 含量测定检测方法的建立** 本方以大黄、金银花为君药,故选用大黄中的大黄素,金银花中的绿原酸两个的含量作为考察指标,综合优选最佳工艺。并采用 HPLC 法测定大黄素、绿原酸的含量。

**3.2.1.1 大黄素的含量测定** 高效液相色谱仪: Agilent 1100 series; 色谱柱: sciencome ODS-1200 \* 4.6mm 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸(65:35),柱温 45℃,流速 1mL/min。

标准曲线的制备:精密称取大黄素对照品 5mg 于 50mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,精密量取甲醇液 5mL 到 50mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度即得大黄素对照品溶液,分别吸取大黄素对照品溶液 2, 4, 8, 12, 16, 20μL 注入液相色谱仪,记录峰面积,以浓度 C 对峰面积 A 回归得回归方程  $Y = 2.5454X - 4.9378$ ,  $r = 0.9992$ , 大黄素在  $0.02256\mu\text{g} \sim 0.2256\mu\text{g}$  范围内呈良好线性关系。

样品含量测定:量取 2mL 提取液到 25mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,超声提取 30min,过滤,取

续滤液,进样前再以 0.45μm 微孔滤膜滤过即得供试品溶液。在上述色谱条件下进样 5μL,测定大黄素峰面积。

**3.2.1.2 绿原酸的含量测定** 色谱条件:流动相: 甲醇-0.1% 磷酸(14:86),柱温 25℃,流速 1mL/min。

标准曲线制备:精密称取绿原酸对照品,用甲醇定容并稀释,分别量取绿原酸对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 20μL,注入液相色谱仪,记录峰面积,得回归方程为  $Y = 275.599X - 47.2734$ ,  $r = 0.9997$ ,线性范围为  $1.352\mu\text{g} \sim 13.52\mu\text{g}$ 。

样品含量测定:取 3.2.1.1 项下供试品溶液进样 5μL,测定绿原酸峰面积。

**3.2.2 试验因素水平选择** 选取乙醇浓度(A),提取时间(B),提取次数(C),乙醇用量(D)为试验考察因素,采用四因素 3 水平  $L_9(3^4)$  正交表安排试验。因素水平安排见表 4。

表 4 乙醇回流的因素水平表

水平	因素			
	A	B	C	D
	乙醇浓度(%)	提取时间(h)	提取次数(次)	乙醇用量(倍)
1	95	0.5	1	6
2	75	1.0	2	8
3	65	1.5	3	10

**3.2.3 正交安排与结果** 按正交表确定条件安排实验,以大黄素、绿原酸含量为考察指标,结果见表 5。

表 5 乙醇回流工艺正交试验表及结果

试验号	因素				大黄素含量 (mg)	绿原酸含量 (g)
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	9.372	0.862
2	1	2	2	2	18.195	1.280
3	1	3	3	3	26.078	1.402
4	2	1	2	3	16.341	1.308
5	2	2	3	1	15.448	1.575
6	2	3	1	2	14.183	1.242
7	3	1	3	2	12.100	1.579
8	3	2	1	3	24.561	1.465
9	3	3	2	1	9.856	1.452
大黄素含量						
I	53.645	37.813	48.116	34.676	$\Sigma Y = 146.134$	
II	45.972	58.204	44.392	44.478	$\Sigma Y^2 = 2652.5744$	
III	46.517	50.117	53.626	66.980		
R	7.673	20.391	9.234	32.304		
绿原酸含量						
I	3.544	3.749	3.569	3.889		
II	4.125	4.320	4.040	4.101	$\Sigma Y = 12.165$	
III	4.496	4.096	4.556	4.175	$\Sigma Y^2 = 16.8289$	
R	0.952	0.571	0.987	0.286		

对乙醇回流提取正交试验的大黄素和绿原酸含

量进行方差分析,结果分别见表 6,表 7。

表 6 乙醇回流正交试验大黄素含量的方差分析

变异来源	SS	V	MS	F	P
总变异	279.79	8			
A	12.22	2	6.11		
B	79.29	2	35.14	5.75	> 0.05
C	14.39	2	7.20	1.18	> 0.05
D	182.89	2	91.44	14.97	< 0.1

$F_{0.10}(2, 2) = 9.00$

表 7 乙醇回流正交试验绿原酸含量的方差分析

变异来源	SS	V	MS	F	P
总变异	0.3859	8			
A	0.1535	2	0.0765	10.43	< 0.1
B	0.05520	2	0.0276	3.75	> 0.05
C	0.1625	2	0.08125	11.04	< 0.1
D	0.01472	2	0.00736		

由表 6 可知 D 因素对大黄素含量有显著性影响, B、C 因素无显著性影响。

由表 7, A、C 因素对绿原酸含量有显著性影响。综合表 6 和表 7, 结合极差, 考虑生产成本, A 因素选择 A<sub>3</sub>, B 因素选择 B<sub>2</sub>, C 因素选择 C<sub>3</sub>, D 因素选择 D<sub>3</sub>。即乙醇回流提取工艺的最佳条件为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, 以 10 倍量 65% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1h。

#### 4 讨论

伤速康涂膜剂有十一味药, 药味多, 而且其中一半药物主含挥发油, 本实验即考虑到水蒸汽蒸馏法

提取挥发油, 同时又考虑到其它不具挥发性成分的提取。根据君药大黄中主要有效成分大黄素易溶于热乙醇不溶于水, 采用乙醇回流提取, 因此整个提取工艺由挥发油提取与乙醇回流法组成。

选择含量测定方法时, 曾考虑采用梯度洗脱同时测定大黄素及绿原酸含量, 经过预试, 由于两者所用流动相极性相差太远, 导致梯度洗脱的效果不好。文献曾报道, 大黄素在流动相: 甲醇-水-磷酸(850:150:1)条件下可在较短时间内出峰(10min)<sup>[4]</sup>, 由于本方药味太多, 成分复杂, 甲醇-0.1%磷酸(65:35)条件下大黄素峰才能获得良好分离。同样由于本方中成分复杂, 选择紫外分光或薄层扫描法测定含量易受干扰, 故采用分离度好, 精密度高的 HPLC 法测定含量。

#### 参考文献:

- [1] 贺福元, 邓元江, 陈玉云, 等. 头痛康颗粒剂提取工艺研究[J]. 中成药, 2000, 22(10): 678-690.
- [2] 黄园, 徐维良, 张志荣, 等. 正交试验法研究水提与醇提对大黄蒽醌提取率的影响[J]. 中成药, 2003, 25(4): 273-276.
- [3] 刘祥兰, 刘重芳, 张英, 等. 金银花中绿原酸提取工艺的比较和优化研究[J]. 中成药, 2000, 22(6): 402-404.
- [4] 杨东辉, 魏璐雪, 蔡少青, 等. HPLC 法测定何首乌及复方虫草胶囊中大黄素、大黄素甲醚的含量[J]. 中草药, 2000, 31(3): 177-179.