

# 金水涤痰口服液的提取工艺考察

曹蕾<sup>1</sup>, 单丽芳<sup>1</sup>, 杨红梅<sup>1</sup>, 宋英<sup>2\*</sup>

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

**[摘要]** **目的:**优选金水涤痰口服液的提取工艺,为该制剂的工业化生产提供参考。**方法:**以挥发油提取率为指标,采用单因素试验考察芳香水的提取工艺。以橙皮苷、淫羊藿苷提取量及干膏收率的综合评分为指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验考察加水量、煎煮时间、煎煮次数对提取效果的影响。采用HPLC测定橙皮苷和淫羊藿苷的含量,流动相0.1%磷酸(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~11 min,77% A;11~13 min,77%~70% A;13~30 min,70% A;30~32 min,70%~77% A),检测波长283 nm,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃。**结果:**芳香水提取工艺为加10倍量水,以2 s/滴的速度蒸馏提取4 h,再以相同蒸馏速度将芳香水重蒸馏提取2 h,得2次蒸馏芳香水的体积约为药材质量的1.1倍。各因素对水提工艺的影响顺序为煎煮次数>煎煮时间>加水量,最佳提取工艺为加8倍量水煎煮3次,每次1.5 h;橙皮苷、淫羊藿苷提取量分别为27.77,15.30 mg·g<sup>-1</sup>,干膏收率40.13%。**结论:**优选的提取工艺稳定、可行,可为金水涤痰口服液的工业化生产提供参考。

**[关键词]** 芳香水;淫羊藿苷;橙皮苷;综合评分法;干膏收率

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R284.2;R944.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0031-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070031

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160215.1124.002.html>

**[网络出版时间]** 2016-02-15 11:24

## Investigation of Extraction Process of Jinshui Ditan Oral Liquid

CAO Lei<sup>1</sup>, SHAN Li-fang<sup>1</sup>, YANG Hong-mei<sup>1</sup>, SONG Ying<sup>2\*</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;

2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Jinshui Ditan oral liquid. **Method:** Single factor tests were adopted to optimize extraction technology of aromatic water with extraction rate of volatile oil as index. With composite score of extracting amounts of hesperidin and icariin, yield of dry extract as index, orthogonal test was adopted to investigate effects of the amount of water, decocting time and times on extraction process. HPLC was employed to determine contents of hesperidin and icariin. **Result:** Aromatic water extraction process was distilled 4 hours with 10-fold water at a speed of 2 seconds per drop, then distilled 2 hours from aromatic water at the same speed, the final volume of distilled fragrance water was about 1.1 times weight of medicine. Water extraction technology was as follows: decocted thrice with 8-fold water, each time for 1.5 hour; extracting amounts of hesperidin and icariin were 27.77, 15.30 mg·g<sup>-1</sup>, yield of dry extract was 40.13%. **Conclusion:** These optimized processes are stable and feasible, they can provide a reference for industrial production of Jinshui Ditan oral liquid.

**[Key words]** aromatic water; icariin; hesperidin; comprehensive evaluation method; dry extract yield

**[收稿日期]** 20150624(006)

**[基金项目]** 成都中医药大学附属医院基金项目(2010-D-YY-03)

**[第一作者]** 曹蕾,硕士,从事中药制剂学研究,Tel:13408599958,E-mail:1206490185@qq.com

**[通讯作者]** \*宋英,主任中药师,硕士生导师,从事中药药剂与炮制研究,Tel:028-87783735,E-mail:806380106@qq.com

金水涤痰口服液是在《景岳全书》中所载的金水六金煎<sup>[1]</sup>的基础上加味所成,处方由熟地黄、陈皮、当归、淫羊藿、法半夏、土茯苓、甘草组成,主治脾肺虚寒、肾气不足等证。方中熟地黄滋阴补肾,为君药。当归养血活血,《神农本草经》谓其主咳逆上气,协助君药以滋阴益气、养血平喘,为臣药。陈皮、法半夏健脾燥湿、理气化痰,以祛除哮喘痰饮宿根;土茯苓健脾胃、除湿邪、强筋骨,以补益脏腑之虚损,杜绝生痰之源;淫羊藿补肾温阳,补先天以助后天,还可协助肺金主一身之气,一药而兼顾三焦,这 4 味药为佐助药。炙甘草益气补中、缓急止痉,为方中使药。全方扶正与祛邪并用,攻补兼施,共奏补肾定喘、健脾补肺、温阳化饮、金水互生、扶正固本之功。

从现代药理学角度分析,陈皮挥发油具有一定的抗过敏、镇咳、平喘、抗变应炎症作用<sup>[2]</sup>。当归、熟地黄均可抗炎、提高机体免疫功能;当归挥发油有较强的解痉平喘作用,可松弛支气管平滑肌,对抗组织胺、乙酰胆碱引起的支气管哮喘<sup>[3]</sup>;淫羊藿具有镇咳、平喘、祛痰、抗炎、镇静、促进机体免疫功能的作用<sup>[4-7]</sup>。因此,有利于呼吸道炎症的修复和改善症状,临床疗效较好。该方以汤剂形式在成都中医药大学附属医院儿科使用多年,考虑到受众群体的特殊性,使其容易为儿童患者所接受,拟将其改制成口服液。为了保证该药品的质量,本实验采用单因素试验和正交试验优选提取工艺,为金水涤痰口服液的工业化生产和临床推广提供参考。

## 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Phlex ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),CXP-500A 型高速多功能粉碎机(上海市中晟喜制药机械有限公司)。熟地黄等药材均购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学附属医院药剂科副主任药师盛蓉鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下要求;橙皮苷、淫羊藿苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110721-201115, 110737-200415),甲醇、乙腈为色谱纯,水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 芳香水提取工艺考察

**2.1.1 陈皮、当归药材吸水率的测定** 称取 2 倍处方量的陈皮、当归药材共 22 g,置于锥形瓶中,加入 10 倍量水,密塞,静置过夜。按吸水率 =  $(V_{\text{加入前}} -$

$V_{\text{吸水后}})/m_{\text{药材}} \times 100\%$  计算,结果吸水率 193%。

**2.1.2 挥发油总量的测定**<sup>[8]</sup> 按处方比例称取陈皮粗粉 100 g,当归粗粉 120 g,加入碎瓷片和水 2.65 L,浸泡 30 min,按 2010 年版《中国药典》一部附录 X D 挥发油测定法乙法测定挥发油总量,每小时记录挥发油体积,直到挥发油体积基本不变,共提取了 6 h,结果挥发油 0.69 mL。

**2.1.3 陈皮、当归芳香水提取量的确定** 按处方比例称取生产 1 L 成品所需的陈皮、当归粗粉共 183 g,共 2 份,加 10 倍量水采用水蒸气蒸馏法提取 8 h,按吸水率补加吸水量,每隔 2 h 收集芳香水约 200 mL。第 1 组所得芳香水按照 2010 年版《中国药典》一部附录 X D 挥发油测定法乙法测定挥发油每 2 h 的提取量分别为 0.38, 0.12, 0.08, < 0.01 mL;第 2 组芳香水留取备用。

结果表明药材提取 4 h 后挥发油含量 < 0.1 mL,芳香水中挥发油提取率可达 82.8%。此时芳香水的收集量约 400 mL,约为药材量的 2.2 倍,蒸馏速度约 0.5 滴/s。考虑到芳香水的收集量一般不超过成品的 30%,故芳香水的收集量明显过多,因此,需重蒸馏以减少芳香水的体积。取第 2 组芳香水,将 0~4 h 所得芳香水混合后重蒸馏,每小时收集芳香水约 100 mL,计算挥发油提取量分别为 0.35, 0.12, < 0.1, < 0.1, < 0.1 mL,提取率依次为 60.0%, 77.8%, 77.8%, 77.8%, 77.8%。结果表明重蒸馏至第 2 h 后,芳香水中挥发油含量很少,故确定蒸馏速度 0.5 滴/s,重蒸馏芳香水收集量 200 mL,约为药材量的 1.1 倍。

**2.1.4 验证试验** 按处方比例称取陈皮、当归粗粉 183 g,共 3 份,按优选的提取工艺进行验证试验,收集芳香水,结果挥发油提取分别为 0.47, 0.45, 0.46 mL,表明该工艺稳定可行。确定芳香水提取工艺为当归、陈皮粉碎为粗粉,加 10 倍量水,以 2 秒每滴的速度蒸馏提取 4 h,以相同的蒸馏速度将收集的芳香水重蒸馏提取 2 h。

### 2.2 橙皮苷、淫羊藿苷的含量测定

**2.2.1 色谱条件**<sup>[9-11]</sup> Boston pHlex ODS-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),进样量 5 μL,流动相 0.1% 磷酸(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~11 min, 77% A; 11~13 min, 77%~70% A; 13~30 min, 70% A; 30~32 min, 70%~77% A),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 283 nm,柱温 30 ℃。理论塔板数按橙皮苷计算不低于 2 000,按淫羊藿计不低于 1 500。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取橙皮苷、

淫羊藿苷对照品 10.07, 14.52 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 得质量浓度分别为 0.402 8, 0.580 8 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 吸取提取液 5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.2.4 标准曲线绘制** 精密吸取 2.2.2 项下混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别注入 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并定容至刻度, 按 2.2.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得淫羊藿苷、橙皮苷的回归方程分别为  $Y = 1\ 801.6X - 14.44$  ( $r = 0.999\ 9$ ),  $Y = 7\ 481.5X - 66.08$  ( $r = 0.999\ 9$ ), 线性范围依次为 0.58 ~ 2.9, 0.4 ~ 2.0 μg。

### 2.3 淫羊藿、熟地黄等水提工艺优选

**2.3.1 药材吸水率的测定** 按处方比例称取 2 倍

量处方的药材 (不包括陈皮和当归) 共 66 g, 加入 10 倍量水, 置于 1 L 量筒中, 密塞, 静置过夜, 按 2.1.1 项下方法测得吸水率 245%。

**2.3.2 正交试验** 根据预试验结果, 选择提取时间、提取次数、加水量为考察因素, 每个影响因素取 3 个水平<sup>[12]</sup>, 按处方比例称取 9 份药材, 每份 88 g, 陈皮、当归先提取芳香水, 药渣与其余药材合并, 按表 3 中因素水平方案, 加规定量的水浸泡 0.5 h, 煎煮相应的时间和次数。过滤, 合并滤液, 减压浓缩至 500 mL, 备用。以橙皮苷、淫羊藿苷含量及干膏收率的综合评分为指标, 考察各因素对提取工艺的影响。试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。综合评分 = (橙皮苷含量/橙皮苷含量最大值) × 40 + (淫羊藿苷含量/淫羊藿苷含量最大值) × 40 + (干膏收率/干膏收率最大值) × 20。

表 1 金水涤痰口服液水提工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of water extraction process of Jinshui Ditan oral liquid

No.	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮数/次	橙皮苷/mg·g <sup>-1</sup>	淫羊藿苷/mg·g <sup>-1</sup>	干膏收率/%	综合评分
1	8	0.5	1	10.261	9.429	24.03	48.55
2	8	1.0	2	20.504	13.113	36.48	76.99
3	8	1.5	3	31.106	15.305	41.90	98.77
4	10	0.5	2	18.294	12.308	34.18	71.02
5	10	1.0	3	27.586	14.588	34.90	89.08
6	10	1.5	1	12.938	9.232	34.98	56.72
7	12	0.5	3	25.911	15.792	36.76	90.87
8	12	1.0	1	12.949	10.749	30.80	58.58
9	12	1.5	2	26.299	15.692	40.92	93.10

表 2 水提工艺综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score of water extraction process

方差来源	SS	MS	F	P
A	116.63	58.31	18.20	>0.05
B	247.80	123.9	38.66	<0.05
C	2286.54	1143.27	356.74	>0.01
D(误差)	6.41	3.2	1.0	

注:  $F_{0.01}(2, 2) = 99$ ,  $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由直观分析可知, 影响提取效果的因素顺序为  $C > B > A$ , 最佳提取工艺为  $A_3B_3C_3$ 。方差分析表明因素 C 对提取工艺的影响极显著, 因素 B 具有显著性影响, 因素 A 则对提取效果的影响无统计学意义。综合考虑, 确定最优提取工艺为  $A_1B_3C_3$ , 即加 8 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h。称取 4 倍处方量药

材, 共 3 份, 每份 176 g, 按优选的工艺条件进行 3 次验证试验。结果橙皮苷提取量分别为 28.28, 27.51, 27.53 mg·g<sup>-1</sup>, 淫羊藿苷提取量依次为 15.34, 15.46, 15.11 mg·g<sup>-1</sup>, 干膏收率依次为 40.55%, 40.49%, 39.36%, RSD 均 < 3.0%, 表明该工艺稳定可行。

### 3 讨论

处方中陈皮镇咳、平喘、抗变应性炎症作用的有效成分为挥发油; 当归挥发油中藁本内酯具有较强的解痉平喘作用, 可松弛支气管平滑肌。所以将陈皮和当归单提芳香水, 药渣与其他药材一起煎煮。在实验过程中, 陈皮和当归挥发油提取的考察是难点, 尤其是对火力的控制。火力太大蒸馏量比较多, 后续重蒸馏有困难; 火力太小, 为保证挥发油的提取率, 提取时间要延长。有学者提出淫羊藿苷、橙皮苷在水中溶解度不高而采用醇提<sup>[13]</sup>, 然而根据预试验

及淫羊藿苷、橙皮苷的理化性质,二者都是溶于水的,发现在提取之前,先将药材浸泡 0.5 h 能得到较好的提取效果。

方中熟地黄为君药,但是由于毛蕊花糖苷的含量特别低,而且在专属性考察中阴性有干扰。经离体和体试验表明,方中陈皮所含橙皮苷具有较强的抗炎活性,并且具有一定的抗病毒、抗菌等作用<sup>[14]</sup>;淫羊藿味辛、甘,性温,归肝、肾、肺经,有补肾助阳、祛风除湿之功效。李炼等<sup>[4]</sup>在临床中运用以淫羊藿为主药治疗久咳虚喘 28 例,曾丽绚<sup>[15]</sup>用淫羊藿苷抑制大鼠慢性阻塞性肺疾病模型炎症。而且橙皮苷和淫羊藿苷都为黄酮苷类成分,这也正是二者能同时测定的根本原因。在综合评分中,一般干膏收率都是给予 30% 的权重,因为考虑到本剂型为口服液,对药液的澄清晰度要求比较高,故在综合评分中只给予 20% 的权重。

#### [参考文献]

[1] 刘顺香,肖逢燕,易锦锦. 金水六君煎治疗小儿痰湿型久咳 108 例报告[J]. 四川中医,2000,18(10):43.  
[2] 王春燕. 浅谈陈皮的药理作用及临床应用[J]. 中国中医药现代远程教育,2013,11(3):120,131.  
[3] 倪竹南,吕圭源,楼招欢,等. 当归挥发油化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(7):93-95.  
[4] 李炼,代建中. 淫羊藿善治久咳虚喘[J]. 中医杂志,2000,41(1):12.

[5] 夏奇卉. 重用淫羊藿治疗慢性支气管炎[J]. 中医研究,2003(1):65.  
[6] 宋根伟,汪选斌,姚霜,等. 高效液相色谱法测定黄龙止咳颗粒中淫羊藿苷含量[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(31):3991-3992.  
[7] 喻清和,邱志楠. 补肾化痰法在难治性呼吸系统疾病中的应用[J]. 光明中医,2008,23(12):1893-1895.  
[8] 井山林,郭立玮,彭国平,等. 陈皮挥发油与橙皮苷提取工艺的实验研究[J]. 基层中药杂志,2001,15(1):6-7.  
[9] 易廷平. 高效液相色谱法测定肾舒康胶囊淫羊藿苷含量[J]. 实用中医药杂志,2012,28(6):514-515.  
[10] 喻录容,何先元. 高效液相色谱法测定补肾益寿胶囊中的淫羊藿苷[J]. 光谱实验室,2013,30(3):1071-1074.  
[11] 李顺浓. 延年乐口服液中淫羊藿苷的鉴别和含量测定[J]. 天津药学,2008,20(3):19-21.  
[12] 谷宇锋,黄亚军,王琴,等. 正交设计优化复方淫羊藿的提取工艺研究[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(3):255-257.  
[13] 陈毅平,陈双英,陈文财,等. 淫羊藿苷的稳定性及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(5):78-81.  
[14] 何娟,欧阳吉德,方艳琳,等. 高效液相色谱法测定化痰止咳糖浆中橙皮苷的含量[J]. 湖南中医杂志,2011,27(3):139-140.  
[15] 曾丽绚. 淫羊藿苷抑制大鼠慢性阻塞性肺疾病炎症的实验研究[D]. 上海:复旦大学,2010.

[责任编辑 刘德文]