

小儿腹泻脐贴提取工艺

冯果¹, 刘文^{1*}, 冯勇²

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 威宁彝族回族苗族自治县人民医院, 贵州 威宁 553100)

[摘要] 目的: 优选小儿腹泻脐贴的提取工艺条件。方法: 以方中的药效成分吴茱萸次碱为评价指标, 采用单因素试验和正交试验设计法相结合, 优选小儿腹泻脐贴的最佳提取工艺条件。结果: 处方中药材的挥发油提取时间为 2.5 h; 非挥发性有效成分的最佳提取工艺条件为加 8 倍量 70% 乙醇, 回流提取 2 次, 每次 1 h。结论: 经工艺验证试验表明, 优选出的小儿腹泻脐贴的最佳提取工艺提取率较高, 有较好的稳定性、合理、可行。

[关键词] 小儿腹泻脐贴; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0016-03

Extraction Process of Xiao'er Fuxie Navel Patch

FENG Guo¹, LIU Wen^{1*}, FENG Yong²

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Weining Autonomous County People's Hospital, Weining 553100, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction conditions of Xiao'er Fuxie navel patch. **Method:** Single factor and orthogonal experimental design was used to optimize extracting technology of Xiao'er Fuxie navel patch with the content of rutaecarpine as index. **Result:** The extraction time of essential oil in the Prescription was 2.5 h; the optimum extraction conditions of Non-volatile active ingredients were reflux extracting 2 times for 1 h each time with 8 times the amount of 70% ethanol. **Conclusion:** The process validation tests showed that the optimized extraction of Xiao'er Fuxie navel patch was efficient, preferable stability, reasonable and feasible.

[Key words] Xiao'er Fuxie navel patch; extraction process; orthogonal experiment

小儿腹泻脐贴是透皮给药贴剂, 其处方来源于 2010 年版《中国药典》一部小儿腹泻外敷散, 处方由吴茱萸、丁香、胡椒、肉桂 4 味中药组成, 用于脾胃虚寒所致的泄泻, 症见大便溏泻、浣腹疼痛、喜温喜按^[1], 是临床上治疗小儿腹泻的常用药。本试验以方中的有效成分吴茱萸次碱的含量作为评价指标, 采用单因素试验和正交试验设计法相结合, 优选小儿腹泻脐贴的最佳提取工艺条件, 为小儿腹泻脐贴的研制奠定基础, 探索适合于工业化大生产、操作简

单、稳定可行、提取效率高的提取工艺。

1 材料

M301418 型挥发油提取器, 高效液相色谱仪 (Waters2487 检测器、Waters600 色谱泵), JA2003 型电子天平 (上海良平仪器仪表有限公司), HH-4 型数显恒温水浴锅 (常州澳华仪器有限公司)。

吴茱萸次碱对照品 (中国药品生物制品检验所, 供含量测定用, 批号 110802), 吴茱萸、丁香、肉桂、胡椒药材 (购于贵州同济堂药材公司, 经贵阳中医学院中药鉴定教研室刘芑教授鉴定, 符合 2010 年版《中国药典》规定), 乙腈 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心, 批号 20060112), 水为超纯水 (批号 20100710, 20100815), 四氢呋喃 (色谱纯, TEDIA, USA, LOT408100), 冰醋酸 (分析纯, 广州化学试剂厂产品, 批号 071102-24)。

[收稿日期] 20110211(009)

[基金项目] 贵州省卫生厅项目 (gzwkj2010-1-45)

[第一作者] 冯果, 讲师, 中药学硕士, 从事中药新制剂研究, Tel: 15608513563, E-mail: 453989352@qq.com

[通讯作者] * 刘文, 教授, 中药学硕士, 从事中药新制剂研究, Tel: 13984416258, E-mail: Liuwen16258@sina.com

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 称取处方量(吴茱萸 10 g,丁香 4 g,肉桂 2 g,胡椒 4 g)药材,置 500 mL 圆底烧瓶中,加入 10 倍量的水,连接挥发油提取器,加热煮沸后,提取挥发油,每 0.5 h 测量 1 次挥发油的体积,以挥发油体积为纵坐标,提取时间为横坐标,绘制挥发油体积-时间图(图 1)。

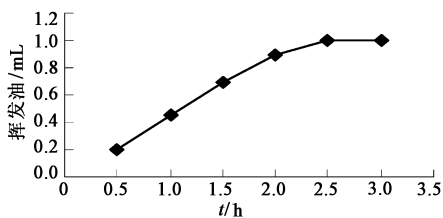


图 1 挥发油的提取时间

从图 1 可以看出,当挥发油的提取时间到 2.5 h 后,挥发油没有明显的增加,故挥发油的提取时间定为 2.5 h。

2.2 吴茱萸次碱的含量测定^[2]

2.2.1 色谱条件 20RBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水-四氢呋喃-冰醋酸(6:5:0.9:0.1),检测波长 345 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,柱温 30 ℃,理论塔板数不低于 3 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取吴茱萸次碱对照品 7.300 mg,置 50 mL 量瓶内,加甲醇溶解定容,即得 0.146 g·L⁻¹的吴茱萸次碱对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取提取液 10 mL,置恒温水浴锅上蒸干,加甲醇溶解并定容至 10 mL,取溶液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的制备 分别精密吸取对照品溶液 2,4,8,12,16,20 μL 分别注入高效液相色谱仪,按照上述色谱条件测定峰面积,以吴茱萸次碱进样量(μg)为横坐标,以峰面积值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 29\ 627X + 3\ 524.3$ ($r = 0.9994$)。结果表明,吴茱萸次碱在 0.292 ~ 2.920 μg 呈良好的线性关系。

2.2.5 含量测定 按照 2010 年版《中国药典》一部附录 VID 项高效液相色谱法测定。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,按上述色谱条件进样测定,计算其含量。

2.3 非挥发性成分提取溶剂的选择 取处方量药材(吴茱萸 10 g,丁香 4 g,肉桂 2 g,胡椒 4 g)2 份,按挥发油提取方法先提取挥发油,然后将挥发油提

取装置改为回流提取装置,分别加入 10 倍量的水和乙醇溶剂,加热回流提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,回收乙醇后浓缩至适量,放冷,再分别将浓缩液加水定容至 200 mL,得提取液。再按 2.2 吴茱萸次碱的含量测定方法测各提取液中吴茱萸次碱的含量。结果表明,采用乙醇作为溶剂的提取溶液所含的有效成分吴茱萸次碱约为水作为溶剂的 2.6 倍,因此,选择乙醇作为非挥发性成分的提取溶剂。

2.4 非挥发性成分提取工艺条件的优选

2.4.1 正交试验设计 本试验以乙醇为提取溶剂,采用乙醇回流提取法对小儿腹泻脐贴非挥发性成分进行提取,在回流提取中,影响有效成分的提取因素有乙醇体积分数(A)、溶剂的用量(B)、提取时间(C)、提取次数(D),故采用 L₉(3⁴) 正交表来安排试验,以方中有效成分吴茱萸次碱的含量作为评价指标,对小儿腹泻脐贴非挥发性成分的提取工艺条件进行优选。因素水平见表 1。

表 1 小儿腹泻脐贴醇提工艺因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/h	D 提取次数/次
1	50	8	1.0	1
2	70	10	1.5	2
3	90	12	2.0	3

2.4.2 正交试验安排及结果分析 分别称取处方量药材(吴茱萸 10 g,丁香 4 g,肉桂 2 g,胡椒 4 g),提取挥发油后,采用 L₉(3⁴) 表安排试验,分别进行回流提取,提取液回收乙醇,浓缩至适量,放冷,分别定容至 200 mL 的量瓶中,测定各提取液中吴茱萸次碱的含量。其正交试验安排及结果见表 2,方差分析结果见表 3。

从表 2 直观分析可见,由极差大小可得各因素影响提取效率的顺序为 $A > D > C > B$,最佳提取工艺条件为 $A_2B_2C_3D_2$ 。以极差最小的 B 因素为误差项进行的方差分析结果表明,A 因素对提取效率有显著性影响,C,D 因素无显著性影响,结合生产成本,综合考虑确定最佳提取工艺条件为 $A_2B_1C_1D_2$,即取处方量药材,提取挥发油后,再加 8 倍量的 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h。

2.5 工艺验证试验 根据正交试验结果筛选的工艺条件 $A_2B_1C_1D_2$,进行 3 批验证试验,按处方量的 20 倍称取药材,提取挥发油后,加 8 倍量的 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,合并滤液,回收乙醇后浓

表 2 小儿腹泻脐贴醇提工艺 $L_9(3^4)$
正交试验安排及结果

No.	A	B	C	D	吴茱萸次碱/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	1	1	1	1	33.58
2	1	2	2	2	44.02
3	1	3	3	3	43.95
4	2	1	2	3	116.8
5	2	2	3	1	110.8
6	2	3	1	2	80.3
7	3	1	3	2	89.5
8	3	2	1	3	85.5
9	3	3	2	1	99.7
K_1	40.517	79.960	81.360	66.460	
K_2	102.633	80.107	71.273	86.840	
K_3	91.567	74.650	82.083	81.417	
R	62.116	5.457	10.810	20.380	

表 3 小儿腹泻脐贴醇提工艺方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	6 587.054	2	113.584	< 0.01
B(误差)	57.993	2	41.000	
C	219.120	2	3.778	> 0.05
D	668.459	2	11.527	> 0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

缩至适量,放冷,加水定容至 4 000 mL,得提取液。
再按 2.2 项下吴茱萸次碱的含量测定方法测各提取

液中吴茱萸次碱的含量,结果分别为 117.5,116.5,118.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其吴茱萸次碱含量无明显差异,说明优选的最佳提取工艺稳定可行,重复性好。

3 讨论

在挥发油的提取过程中,由于药材中的挥发油含量不高和重油的影响,一开始时挥发油和水混合形成油水混合物,无法得出挥发油的体积,后来相继用了二甲苯和异丙醇进行富集挥发油,虽能得到挥发油,但从用药安全方面考虑,二甲苯和异丙醇都有一定的毒性,不能用于医疗,因而舍去不用,最后考虑以油集油的方法进行提取,试验证明,该方法有效,而且安全系数较高。试验过程中选择了水和乙醇作为溶剂进行比较试验,其结果表明采用乙醇作为溶剂的提取效果要优于水。

本试验以 HPLC 测定其处方中有效成分吴茱萸次碱的含量作为评价指标,采用正交试验法与方差分析对小儿腹泻脐贴非挥发性有效成分的最佳提取工艺条件进行优选,经工艺验证试验表明,优选出的最佳提取工艺条件稳定可行,重复性好。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:501.
- [2] 谢娟,张启云,余日跃,等.吴茱萸水提物中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的高效液相色谱的含量测定[J].时珍国医国药,2008,19(7):1571.

[责任编辑 全燕]