

肠胃散片挥发油提取及 β -环糊精包合工艺

张海英, 陈良, 薛洁*

(新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000)

[摘要] 目的: 考察肠胃散片中佛手、高良姜、肉桂、荜拔、木香等药材挥发油的最佳提取工艺和 β -环糊精最佳包合工艺。方法: 采用单因素及 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 以挥发油得率作为评价指标优选肠胃散片挥发油提取工艺; 以包合物收得率和挥发油包合率的综合评分作为评价指标优选 β -环糊精包合工艺。结果: 挥发油最佳提取工艺为加水 12 倍量, 浸泡 1.0 h, 提取 2.5 h; 挥发油的最佳包合工艺为采用饱和水溶液法, 挥发油与 β -环糊精的配比为 1:8, 包合温度 40 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间 60 min。结论: 所选提取工艺提取率高, 包合工艺合理, 节约成本。

[关键词] 肠胃散片; 挥发油提取; β -环糊精包合物; 单因素试验; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0036-05

Extraction process of Volatile Oils and β -cyclodextrin Inclusion of Changweisan Tablets

ZHANG Hai-ying, CHEN Liang, XUE Jie*

(Traditional Chinese Medical Hospital affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

[收稿日期] 20101206(004)

[第一作者] 张海英, 硕士, 副主任中药师, 从事中药新药研发, Tel: 0991-5814127, E-mail: zhy200707@163.com

[通讯作者] * 薛洁, 教授, 博士生导师, 从事中药复方新制剂研发, Tel: 0991-5801584, E-mail: kjkxuejie@163.com

无统一标准。本研究采用 33% 大鼠盲肠内容物降解壳聚糖, 效果不佳。人体结肠部位存在大量 β -葡萄糖苷酶^[7], 本研究利用 β -葡萄糖苷酶降解壳聚糖原理模拟包衣层在体内结肠部位的降解释药原理。由于酶降解壳聚糖的作用, 包衣片在各加酶的模拟结肠液中释药速率要大于不加酶组, 此外, 壳聚糖在酸性溶液中易溶解, 且酸性越强, 溶解越快^[8], 使得在酸性介质中药物释药量大于在弱碱性介质中的释药量。

试验所用的丙烯酸树脂类包衣材料均为水分散体, 制备过程中不需要加入有机溶剂, 且配制方便, 包衣过程中污染小, 具有环保意义, 无需安装防爆设备, 在生产中可显著降低危险性。

[参考文献]

- [1] Watts P J, Illum L. Colonic drug delivery [J]. Drug Dev. Ind Pharm, 1997, 23: 893.
- [2] Jae H P, Gurusamy S, Kwangmeyung K, et al. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its

derivatives [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2010, 62: 28.

- [3] 郑萍, 牛凤丽, 刘文忠, 等. 氧化苦参碱对葡聚糖硫酸钠诱导大鼠结肠炎的抗炎作用机制研究 [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(4): 207.
- [4] 中国药典. 二部 [S], 2010.
- [5] Wu C, McGinity. Non-traditional plasticization of polymeric films [J]. Int J Pharm, 1999, 177: 15.
- [6] Orienti I, Cerchiara T, Luppi B, et al. Influence of different chitosan salts on the release of sodium diclofenac in colon-specific delivery [J]. Int J Pharm, 2002, 238(1/2): 51.
- [7] Zhang Hua, Steven H Neau. *In vitro* degradation of chitosan by bacterial enzymes from rat cecal and colonic contents [J]. Biomaterials, 2002, 23: 2761.
- [8] Norihito Shimono, Toshihito Takatori, Masumi Ueda, et al. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery [J]. Int J Pharm, 2002, 245: 45.

[责任编辑 全燕]

[Abstract] Objective: To optimize the process of volatile oils extraction and β -cyclodextrin (β -CD) inclusion from Fructus Citri Sarcodactylis, Rhizoma Alpiniae Officinarum, Cortex Cinnamomi, Fructus Piperis Longi and Radix Aucklandiae of Changweisan Tablets. **Method:** The study was carried out with single factor and orthogonal design of $L_9(3^4)$. Determine the optimum conditions for volatile oils extraction with the yield of volatile oils extraction as index. Optimize the process of β -CD inclusion with inclusion ratio of volatile oils and recovery ratio of inclusion compounds as comprehensive evaluation index. **Result:** The optimized extraction process was as follows: Crude herbal materials extracted for 2.5 hours after soaking 1.0 hours with 12 times amount of water. The optimized inclusion conditions were: applied saturated aqueous solution, the proportion of oil to β -CD was 1:8 (mL:g), inclusion temperature at 40 °C, inclusion time was 60 minutes. **Conclusion:** The optimum extraction process is suitable with high oil-extraction ratio, The inclusion process is reasonable with minimum cost.

[Key words] Changweisan tablets; extraction of volatility oil; β -CD inclusion compounds; single factor test; orthogonal design test

肠胃散片由佛手、高良姜、肉桂、荜茇、木香、鸡内金等中药组成,为新疆医科大学附属中医医院院内制剂,具有温中散寒、健胃、止酸止痛之功效。用于治疗慢性胃溃疡及慢性胃炎的胃脘疼痛,对慢性十二指肠溃疡也有一定疗效。肠胃散片中药材含有较多具较强的生理活性挥发油,为了防止挥发油逸失,增加其在制剂中的稳定性,提高机体生物利用度,本实验采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,采用 β -环糊精包合挥发油,并对影响提取及包合的工艺条件进行了研究,优选出最佳提取工艺及包合工艺。

1 仪器与试剂

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),85-2 型恒温磁力搅拌器(金坛市华峰仪器有限公司),SHZ-III 型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂),KDM 型控温电热套(山东甄城华鲁电热仪器厂)。

佛手、高良姜、肉桂、荜茇、木香等药材饮片(由新疆参茸医药公司提供,经新疆医科大学附属中医医院李永和主任中药师鉴定为正品,均符合《中国药典》2005 年版规定)。 β -环糊精(含量 $\geq 99\%$,天津市百世化工有限公司);甲苯、乙酸乙酯、无水乙醇、石油醚等化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺

2.1.1 单独提取与混合提取挥发油的比较 为验证提取工艺的合理性,将佛手、高良姜、肉桂、荜茇、木香等适当粉碎,将药材粗粉与相应倍量的水置蒸馏烧瓶中,加入玻璃珠数粒,振摇混匀,浸泡适当时间,连接挥发油提取器与回流冷凝管。置电热套中

缓缓加热至沸,并保持微沸至规定时间^[1],收集挥发油。先对各药材单独提取挥发油,再按处方量混合后提取挥发油,对二者的挥发油得率进行比较。结果发现佛手、高良姜、肉桂、荜茇和木香单独提取挥发油得率分别为 0.215%, 0.524%, 2.876%, 0.315%, 0.642%。药材混合提取挥发油的得率为 1.12%。

结果表明,处方中药材的挥发油得率差异较大,单独提取工艺复杂,耗时费力,不利于工业化大生产;而药材混合提取,挥发油得率较高,且节省时间,节约能源,有利于制剂批量生产。故确定工艺为佛手、高良姜、肉桂、荜茇、木香等按处方量混合后,用水蒸气蒸馏法提取,将提取得到的挥发油用无水硫酸钠脱水,得干燥的挥发油(淡黄色)。经测定挥发油的比重 $D = 0.8360 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,将挥发油与无水乙醇按体积 1:1 配成挥发油的乙醇溶液备用。

2.1.2 单因素考察 考察某因素时挥发油得率为考察指标进行单因素考察。精密称取佛手、高良姜、肉桂、荜茇、木香等药材粗粉,按照上述单因素试验表进行挥发油提取试验,计算挥发油得率,结果见图 1~3。

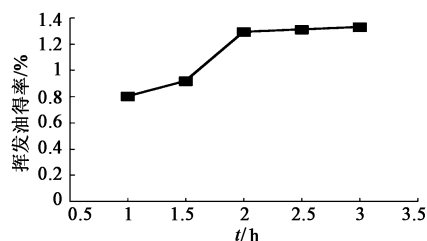


图 1 提取时间对挥发油得率的影响

从结果来看,提取时间选择挥发油得率较高的

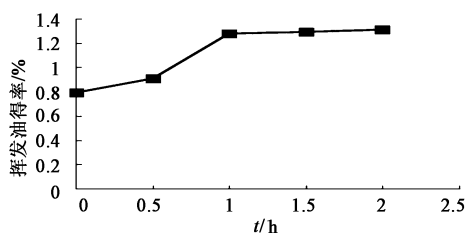


图 2 浸泡时间对挥发油得率的影响

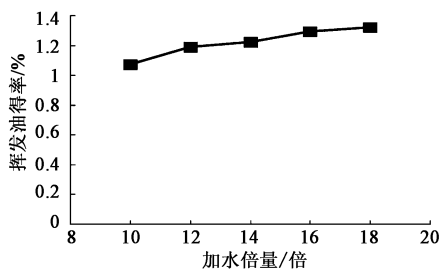


图 3 加水倍数对挥发油得率的影响

1.5, 2.0, 2.5 h 3 个水平进入正交试验, 浸泡时间选择挥发油得率较高的 1.5, 2.0, 2.5 h 3 个水平进入正交试验, 加水倍数中挥发油得率较高的是 14, 16, 18 倍量, 但考虑到 18 倍用量太大, 从节省成本考虑, 选择 12, 14, 16 倍量进入正交试验。

2.1.3 正交试验设计及结果 按照单因素试验结果, 以加水倍数 (A)、浸泡时间 (B)、提取时间 (C) 为考察因素, 以挥发油得率为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 表进行正交试验设计, 并进行数据统计分析, 结果见表 1~3。

表 1 肠胃散片挥发油提取正交试验因素水平

水平	A 加水倍数/倍	B 浸泡时间/h	C 提取时间/h
1	12	1.0	1.5
2	14	1.5	2.0
3	16	2.0	2.5

由极差分析结果可以看出提取时间对挥发油得率的影响较大, 各因素对挥发油得率的影响程度为 $C > B > A$ 。方差分析结果表明提取时间 (C) 对挥发油得率的影响有统计学意义, 而浸泡时间和加水倍数对挥发油得率没有统计学意义。因此, 因素水平优化组合为 $A_1B_1C_3$, 即加水 12 倍, 浸泡时间 1.0 h, 提取时间 2.5 h。

2.1.4 验证试验 取 3 份肠胃散片样品, 根据正交实验确定的优选工艺 $A_1B_1C_3$ 进行验证实验, 结果挥发油平均提取率为 1.18%, 说明优选的提取工艺稳定、可行。

2.2 挥发油包合物的制备工艺 精密称取规定质

表 2 肠胃散片中药材挥发油提取正交试验安排及结果

No.	A	B	C	D	挥发油得率/%
1	1	1	1	1	0.872
2	1	2	2	2	1.066
3	1	3	3	3	1.108
4	2	1	2	3	1.092
5	2	2	3	1	1.103
6	2	3	1	2	1.008
7	3	1	3	2	1.113
8	3	2	1	3	0.887
9	3	3	2	1	1.097
K_1	3.05	3.08	2.77	3.07	
K_2	3.20	3.06	3.26	3.19	
K_3	3.10	3.21	3.32	3.09	
R	0.15	0.16	0.55	0.12	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.004 3	2	0.002 1	1.641 2	>0.05
B	0.004 8	2	0.002 4	1.858 7	>0.05
C	0.061 5	2	0.030 7	23.588 7	<0.05
D (误差)	0.002 6	2	0.001 3		

注: $F_{0.05(2,2)} = 19.0$ 。

量的 β -环糊精 (β -CD), 置具塞锥形瓶中, 加入适量蒸馏水, 在规定温度下配置成饱和水溶液, 在一定转速下缓缓加入 2 mL 挥发油-无水乙醇溶液, 搅拌一定时间, 待溶液冷却至室温后, 冰箱冷藏静置 24 h, 抽滤, 包合物用石油醚 (总量 10 mL) 分 3 次洗涤, 40 °C 干燥, 即得包合物^[2]。

将制得的包合物装入 500 mL 圆底烧瓶中, 加蒸馏水 200 mL, 用挥发油提取器加热回流, 读数并记录收得的挥发油, 即得包合物中挥发油的含油量。按下列公式计算考察指标。

包合率 = 包合物中挥发油含油量 (mL) / 挥发油加入量 (mL) $\times 100\%$

包合物收得率 = 包合物质量 (g) / [β -CD (g) + 挥发油加入量 (mL) \times 挥发油比重 ($0.836 0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)] $\times 100\%$

综合评分 = 包合率 $\times 80$ + 包合物收得率 $\times 20$

2.2.1 单因素试验 考察某因素时, 以挥发油包合率和包合物收得率为考察指标进行单因素考察。影响包合物的主要因素有挥发油量和 β -CD 的比值, 包合温度, 包合时间等 3 个因素。本研究以挥发油包合率和包合物收得率的综合评分为指标, 分别考察

这3个因素在不同条件下对综合评分的影响。结果见图4~6。

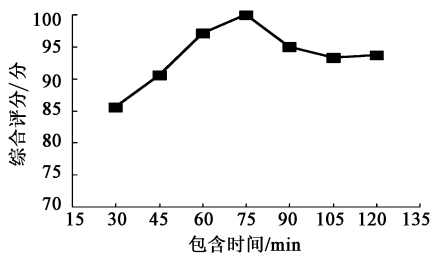


图4 包合时间对综合评分的影响

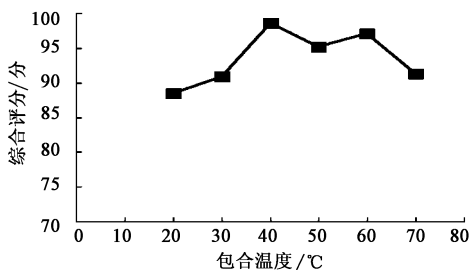


图5 包合温度对综合评分的影响

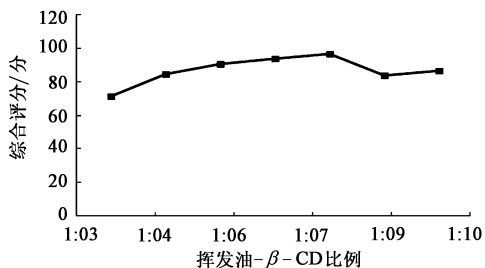


图6 挥发油与 β -CD的比例对综合评分的影响

从试验结果来看,包合时间选择综合评分较高的60,75,90 min 3个水平进入正交试验,包合温度选择综合评分较高的40,50,60℃ 3个水平进入正交试验,挥发油与 β -CD的比例选择综合评分较高的是1:6,1:7,1:8 3个水平进入正交试验。

2.2.2 正交试验 按照单因素试验结果,以挥发油与 β -CD的比例(A)、包合温度(B)、包合时间(C)为考察因素,以挥发油包合率和包合物收得率的综合评分为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 表进行正交试验设计,并进行数据统计分析,结果见表4-6。

由正交试验极差分析结果可以看出挥发油量和 β -CD的比值对综合评分的影响较大,各因素对提取率的影响程度为 $A > C > B$ 。方差分析结果表明A因素(挥发油量和 β -CD的比值)对挥发油包合的影响有统计学意义,而包合温度和包合时间对挥发油包合没有统计学意义。因此,因素水平优化组合为

$A_3B_1C_1$,即挥发油(mL): β -环糊精(g)为1:8,在40℃下包合60 min。

表4 肠胃散片挥发油包合物制备工艺正交试验设计因素水平

水平	A 油: β -CD /mL·g ⁻¹	B 包合 温度/℃	C 包合 时间/min
1	1:6	40	60
2	1:7	50	75
3	1:8	60	90

表5 肠胃散片挥发油包合物制备工艺正交试验安排及结果

No.	A	B	C	D	包合率 /%	收得率 /%	评分
1	1	1	1	1	60.59	79.45	77.18
2	1	2	2	2	62.27	87.38	80.63
3	1	3	3	3	77.73	85.25	95.20
4	2	1	2	3	72.39	84.15	89.75
5	2	2	3	1	75.87	81.20	92.46
6	2	3	1	2	75.59	80.23	91.97
7	3	1	3	2	82.41	75.33	97.48
8	3	2	1	3	75.66	73.01	90.38
9	3	3	2	1	82.16	81.48	98.65
K_1	253.01	264.41	259.53	268.29			
K_2	274.18	263.47	269.03	270.08			
K_3	286.51	285.82	285.14	275.33			
R	33.50	22.35	25.61	7.04			

表6 方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
A	191.383 1	2	95.691 5	21.442 6	<0.05
B	106.532 7	2	53.266 3	11.936 0	>0.05
C	111.739 4	2	55.869 7	12.519 3	>0.05
D(误差)	8.925 4	2	4.462 7		

注: $F_{0.05(2,2)} = 19.0$ 。

2.2.3 验证试验 根据正交实验确定的优选工艺 $A_3B_1C_1$ 进行验证实验,结果挥发油包合综合评分为95.16%,说明优选的包合工艺稳定、可行。

2.3 β -CD包合物形成的验证

2.3.1 包合物的显微鉴别 取含挥发油的包合物与不含挥发油的空白包合物少许,用水装片置于光学显微镜下观察(10×10倍),结果可见空白包合物为不规则的半透明板状结晶,含油的包合物为不规则的粉末状或内含黑色物质的不透明块状物。证明

挥发油与 β -CD 确已形成包合物。

2.3.2 包合物的紫外鉴别 挥发油乙醇液(1号):精密量取挥发油 1 mL,置 200 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,备用。

包合物石油醚洗脱液(2号):精密称取 6 g β -CD,对 1 mL 挥发油进行包合,得包合物,用石油醚(30~60 °C)250 mL 分 5 次洗涤(50 mL \times 5),收集末次洗脱液,40 °C 水浴挥干,加入无水乙醇溶解并定容至 200 mL,备用。

包合物乙醇提取液(3号):取经石油醚洗涤的包合物,自然挥干石油醚,置 250 mL 烧瓶中,加无水乙醇 100 mL 回流 1 h,放冷,过滤,滤液定容至 200 mL,备用。

β -环糊精乙醇提取液(4号):精密称取 β -环糊精 6 g,置 250 mL 烧瓶中,加乙醇 100 mL 回流 1 h,放冷,过滤,滤液定容至 200 mL,备用。

取上述样品 1,2,3,4 号,分别于 200~400 nm 进行紫外扫描,结果见图 7。

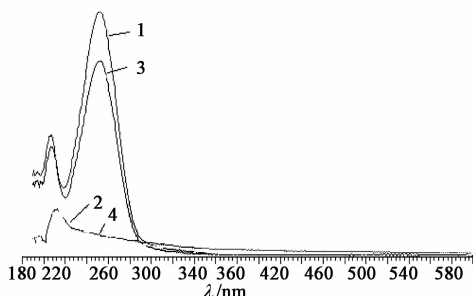


图 7 肠胃散片样品的紫外扫描

结果表明,挥发油乙醇液(1号)的吸收图谱与包合物乙醇提取液(3号)的吸收光谱相似,说明挥发油在包合前后成分没有变化; β -环糊精乙醇提取液(4号)与包合物石油醚洗脱液(2号)的吸收图谱相似,表明挥发油已经被 β -CD 包合。

2.3.3 包合物的薄层色谱鉴别 将原药材提取的挥发油,及从包合物中回收的挥发油分别点于同一硅胶 F 薄层板上,点样量为 10 μ L。以甲苯-乙酸乙酯(19:1)为展开剂展开,置紫外 256 nm 下观察。结果包合物中回收的挥发油与原药材提取得到的挥发油在相同的位置显相同颜色的荧光斑点,说明包合物中的挥发油与原挥发油成分相同,经包合的挥发油性稳定,无变化,包合过程对挥发油成分无影响。

3 讨论

现代研究结果表明,佛手挥发油对二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致大鼠足肿胀有一定的抑制作用,表现为抗炎镇痛的药理作用^[3]。胶原肉桂油混合剂能降低胃黏膜损伤指数,增加胃黏膜细胞的 DNA 含量,且使小鼠耳廓血管扩张,有促进微循环作用^[4];肉桂精油对细菌、霉菌和酵母均有很强的抑制作用,还具有一定的抗氧化性能^[5]。高良姜挥发油有较强的抑真菌活性^[6]。萆薢挥发油乳剂对大鼠结扎幽门型胃溃疡、胃液量、胃液总酸度均有显著抑制作用^[7]。木香挥发油能明显降低胃溃疡模型大鼠胃黏膜的溃疡指数,并能缩小溃疡面积,抑制胃酸分泌,对大鼠胃溃疡有明显改善作用^[8]。故在进行制剂工艺研究时,对佛手、肉桂、高良姜、萆薢、木香等药材提取挥发油。

挥发油的制备方法有饱和水溶液法、超声波法和胶体磨法,经预试验饱和水溶液法较适宜。本实验得到的最佳提取和包合条件,经过大生产证实,工艺稳定、可靠,适合产业化生产。

[参考文献]

- [1] 贾忠,马继忠,周红梅,等. 护肝颗粒中茵陈等挥发油提取和 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(1):38.
- [2] 赵开军,濮存海,关志宇. 小儿感冒舒颗粒中荆芥挥发油 β -环糊精包合的工艺研究[J]. 中药材,2006,29(2):181.
- [3] 王建英,施长春,朱婉萍,等. 金华佛手挥发油抗炎及急性毒性的实验研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,15(2):46.
- [4] 王伟,薛琪,陈玉林. 胶原肉桂油对无水酒精所致胃黏膜损伤的保护作用[J]. 第二军医大学学报,1996,17(增刊):68.
- [5] 顾仁勇,傅伟吕,李佑翟,等. 肉桂精油抑菌及抗氧化作用的研究[J]. 食品研究与开发,2008,29(10):29.
- [6] 桂蜀华,蒋东旭,袁捷. 花椒、高良姜挥发油体外抗真菌活性研究[J]. 中国中医药信息,2005,12(8):21.
- [7] 白音夫,杨宏昕. 萆薢挥发油对动物试验性胃溃疡的保护作用[J]. 中草药,2000,31(1):40.
- [8] 张桂英,裴丽娜,张永玲. 木香内酯对大鼠水拘禁应激性胃溃疡模型的影响[J]. 山东医药,2008,48(16):31.

[责任编辑 仝燕]