

鼻敏康胶囊提取工艺的研究

王咏梅^{1*}, 范国强²

(1. 首都医科大学附属北京佑安医院, 北京 100069; 2. 北京同仁堂股份有限公司科学研究所, 北京 100011)

[摘要] **目的:** 研究鼻敏康胶囊制备中药材的提取工艺。**方法:** 应用正交试验方法分别对方药材中挥发油、水溶性成分、脂溶性成分的提取条件进行优选。**结果:** 优选的提取工艺为: 挥发油提取后, 选择挥发油与 β -CYD 用量比例 1: 8, 包合加水量 1: 4, 包合时间 20 min 为最佳包合条件; 以 6 倍量 70% 乙醇为提取溶媒提取 3 次, 每次 2 h, 提取脂溶性成分; 以 12 倍加水量提取 3 次, 每次 2 h, 提取水溶性成分。**结论:** 最佳提取工艺的确立为胶囊的制备提供了技术保证。

[关键词] 提取工艺; 正交试验; 挥发油; 水溶性成分; 脂溶性成分

[中图分类号] R286.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)12-0007-03

[收稿日期] 2006-04-01

[通讯作者] * 王咏梅, Tel: (010) 63293341

鼻敏康是由防风、黄芪、辛夷等 11 味药材加工而成的胶囊剂,用于肺脾气虚,风邪外袭所致过敏性鼻炎的治疗。根据处方中的药物有效成分的理化性质和药理作用,采用水蒸气蒸馏提取防风、辛夷等药味中的挥发油,提油后的药渣连同白芍、乌梅等进行水溶性成分提取,黄芪、五味子等用乙醇回流提取脂溶性成分。以挥发油包合率、升麻苷转移率、五味子醇甲转移率分别作为各类成分的评价指标,应用正交试验对提取工艺进行优选。

1 仪器和药品

Waters 600E 型高效液相色谱仪; Waters 2996 型 PDA 二极管阵列检测器; Waters M32 色谱工作站。试剂: 甲醇为色谱纯(MEEK 公司), 水为重蒸去离子水, 其它试剂均为分析纯。

升麻苷对照品(中国卫生部药品生物制品检定所提供, 批号为 1522-200001), 五味子醇甲对照品(中国卫生部药品生物制品检定所提供, 批号为 1320-200031)鼻敏康胶囊(自制, 批号 050020)。

2 方法和结果

2.1 升麻苷、五味子醇甲色谱分析条件 升麻苷: 色谱柱: ZORBAX Bonus-RP 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 甲醇-水(25: 75)为流动相, 检测波长 254 nm, 柱温为室温, 流速 1.0 mL/min, 理论板数按升麻苷峰计算, 应不低于 2 000。

五味子醇甲: 色谱柱: ZORBAX BONUS-RP 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 以甲醇-水(65: 35)为流动相; 柱温为室温, 流速 1.0 mL/min 检测波长为 250 nm; 理论板数按五味子醇甲峰计算应不低于 3 000。

2.2 挥发油包合工艺的研究 本试验防风、辛夷、当归混合提取的挥发油, 采用胶体磨法作为 β-CYD 包合物制备方法。通过 L₉(3)⁴ 正交试验考察 β-CYD 用量(g), 包合时间(min), 加水量(mL) 3 因素对包结率的影响, 优化最佳包合工艺条件。

表 1 正交试验 L₉(3)⁴ 因素水平

| 水平 | 油(mL): | β-CYD 用量(g): | 包合时间 (min) |
|----|--------------|---------------|---------------|
| | β-CYD 用量(g) | 加水量(mL) | |
| | A | B | C |
| 1 | 3: 18(1: 6) | 18: 36(1: 2) | 10 |
| 2 | 3: 24(1: 8) | 24: 96(1: 4) | 20 |
| 3 | 3: 30(1: 10) | 30: 180(1: 6) | 30 |

按上表中三个因素及水平, 采用液-液法进行包合。以 1 号试验为例, 称取 β-CYD 18 g, 加入 2 倍量

水中, 搅拌均匀, 置胶体磨中, 搅拌 5 min, 加入挥发油 3 mL, 继续包合 10 min, 取出, 包合物 0~ 5 °C 冷藏 24 h, 抽滤, 分别用蒸馏水和无水乙醇洗涤滤层, 将滤层连同滤纸一同取出, 阴干, 40 °C 低温干燥至恒重, 称重。取干燥后的 β-CYD 包合物, 置圆底烧瓶中, 加水适量, 用蒸馏法提取挥发油, 出油后读取挥发油量。并按下式计算包合率。

$$\text{包合率}\% = \frac{\text{包合物蒸馏出挥发油量(mL)}}{\text{加入挥发油量(mL)}} * 100\%$$

结果如表 2-1 所示, 方差分析如表 2-2 所示。β-CYD 用量与加水量对包合工艺效果有显著影响, 包合时间次之。最佳包合工艺条件选定为 ABC, 即选择挥发油与 β-CYD 用量比例 1: 8, 包合加水量 1: 4, 包合时间 20 min 为最佳包合条件。

表 2-1 正交试验 L₉(3)⁴ 结果

| 编号 | A | B | C | 误差 | 包合率(%) |
|----------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 84.3 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 90.3 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 85.3 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 88.3 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 91.3 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 86.0 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 82.3 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 85.7 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 84.7 |
| K ₁ | 86.63 | 84.97 | 85.33 | 86.77 | |
| K ₂ | 88.53 | 89.10 | 87.77 | 86.20 | |
| K ₃ | 84.23 | 85.33 | 86.30 | 86.43 | |

表 2-2 正交试验 L₉(3)⁴ 方差分析

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方和 | F 比 | 显著性 |
|------|-------|-----|-------|------|----------|
| A | 28.32 | 2 | 14.16 | 60.4 | P < 0.05 |
| B | 31.28 | 2 | 15.64 | 66.7 | P < 0.05 |
| C | 9.06 | 2 | 4.53 | 19.3 | P < 0.05 |
| 误差 D | 0.47 | 2 | 0.23 | 1 | |

2.3 脂溶性成分提取工艺条件优选 五味子、黄芪、柴胡等药材的提取工艺主要考虑乙醇浓度、加醇量、提取次数、提取时间对有效成分的影响。采用四因素三水平正交试验, 见表 3。

表 3 醇提因素水平表

| 水平 A(提取次数) | B(乙醇浓度, %) | C(时间, h) | D(乙醇用量, 倍) |
|------------|------------|----------|------------|
| 1 | 1 | 60% | 2 |
| 2 | 2 | 70% | 1.5 |
| 3 | 3 | 80% | 1 |

按处方取五味子、黄芪、柴胡等药材 450 g, 加 60% 乙醇 2 700 mL 提取 1 次, 提取 2 h。滤过, 回收乙醇, 浓缩得稠膏, 减压干燥, 得干膏。测干膏重量。取提取物约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入氯仿-乙醇(3:1) 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 Hz) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用氯仿-乙醇(3:1) 补足减失的重量, 滤过, 取续滤液 10 mL 蒸发皿中, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10 mL 的量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定五味子醇甲含量, 计算出五味子醇甲的转移率。结果见正交表 4-1, 4-2。

表 4-1 $L_9(3^4)$ 醇提正交试验结果

| | A | B | C | D | 五味子醇甲转移率(%) |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 40.84 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 48.78 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 33.86 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 48.13 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 55.87 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 54.98 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 62.03 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 82.39 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 75.98 |
| K_1 | 41.16 | 50.33 | 59.40 | 57.56 | |
| K_2 | 52.99 | 62.35 | 57.63 | 55.26 | |
| K_3 | 73.47 | 54.94 | 50.59 | 54.79 | |

表 4-2 醇提方差分析表

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方和 | F 比 | 显著性 |
|----|----------|-----|--------|-------|------------|
| A | 1 602.79 | 2 | 801.40 | 121.6 | $P < 0.01$ |
| B | 220.46 | 2 | 110.23 | 16.7 | |
| C | 130.59 | 2 | 65.30 | 9.9 | |
| D | 13.19 | 2 | 6.59 | 1 | |

方差分析表明: 因素对该品种醇提结果有显著影响, 以 A_3 、 B_2 、 C_1 、 D_1 为最佳提取条件, 即: 提取溶剂为 70% 乙醇, 提取次数为 3 次, 提取时间 2 h, 乙醇用量为 6 倍量。

2.3 水溶性成分提取工艺条件的优选 乌梅、甘草等药材采用水提取, 主要考虑加水量、提取次数、提取时间对升麻苷有效成分的影响。采用三因素、三水平正交试验, 见表 5。

表 5 水提取工艺正交试验因素水平表

| 水平 | 提取次数 A | 提取时间(h) B | 加水量(倍) C |
|----|--------|-----------|----------|
| 1 | 1 | 2 | 8 |
| 2 | 2 | 1.5 | 10 |
| 3 | 3 | 1 | 12 |

按处方取乌梅、甘草等药材共 252g, 共 9 份, 分

别编号, 连同防风等提油后的药渣按正交试验表要求条件进行水煎提取, 提取完成后将提取液分别合并水浴蒸干, 减压干燥, 得干膏。测干膏重量。取提取物约 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 的甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 KHz) 40 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 50% 的甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定升麻苷含量, 计算出升麻苷的转移率。结果见正交表 5-1, 5-2。

表 5-1 水提取工艺的正交试验结果

| 编号 | A | B | C | 误差 | 升麻苷转移率% |
|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 37.90 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 47.46 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 55.08 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 67.11 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 69.24 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 53.32 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 80.50 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 64.17 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 70.56 |
| K_1 | 46.81 | 61.84 | 51.80 | 59.23 | |
| K_2 | 63.22 | 60.29 | 61.71 | 60.43 | |
| K_3 | 71.74 | 59.65 | 68.27 | 62.12 | |

表 5-2 正交试验 $L_9(3)^4$ 方差分析

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方和 | F 比 | 显著性 |
|------|--------|-----|--------|------|------------|
| A | 963.21 | 2 | 481.60 | 76.0 | $P < 0.05$ |
| B | 7.57 | 2 | 3.78 | 0.6 | |
| C | 412.80 | 2 | 206.40 | 32.6 | $P < 0.05$ |
| 误差 D | 12.67 | 2 | 6.33 | 1 | |

对指标的直观分析及方差分析, 结果表明因素提取次数、加水量对水提工艺效果有显著影响, 最佳提取方案为 $A_3B_1C_3$, 即选择加水倍数 12 倍, 提取时间 2 h, 提取 3 次为最佳水提条件。

3 讨论

为了防止挥发性成分在贮藏过程中损失, 使液体药物固化, 因此采用 β -环糊精(β -CYD) 进行包合。常用的 β -CYD 包合物制备方法有水饱和溶液法、超声波法、胶体磨法。胶体磨法由于具有操作方便、包合率高等优点, 便于工业化生产。

我们采用正交试验, 以防风、五味子中的有效成分为指标考察提取工艺的合理性, 结果满意, 为干膏粉混合后干挤压制粒制备成胶囊提供了保证。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 附录 57.