

鼻渊滴丸提取工艺的研究

孟祥平, 王治平, 王一飞, 李贵生, 杨 柯

(1. 暨南大学生物医药研究开发基地, 广东 广州 510632; 2. 暨南大学生物工程系, 广东 广州 510632)

摘要:目的 对鼻渊滴丸提取工艺进行探讨。方法 水提取工艺以浸膏得率和盐酸小檗碱含量为考察指标, 蒸馏提取工艺以挥发油得率为考察指标, 分别采用正交设计法对其最佳提取工艺条件进行优选。结果 加 15 倍水, 浸泡 1h, 煎煮 3 次, 每次 1h 为水提最佳工艺条件; 挥发油提取最佳工艺条件为: 药材粗粉, 加 9 倍量水浸泡 1h, 蒸馏提取 4h。结论 试验结果为确定鼻渊滴丸的提取工艺提供了试验依据。

关键词: 正交设计; 小檗碱; 挥发油; 滴丸

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)06-0008-03

Study on the Extraction Process of *Biyuan* Dropping Pills

MENG Xiang-ping², WANG Zhi-ping¹, WANG Yi-fei¹, LI Gui-sheng², YANG Ke¹

(1. Biomedical Research and Development Center of Jinan University, Guangzhou Guangdong 510632, China;

2. Bioengineering Department of Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

Abstract: Objective To optimize the conditions for the extraction process of *Biyuan* dropping pills. Methods With the obtaining rate of extract and the content of total berberine presented in the extract as the indexes for the water extraction process, and with the increase in the volatile oil as the indexes for the extraction of the volatile oil, orthogonal design was used to optimize the conditions for the extraction process respectively. Results The optimal conditions for the water extraction of *Biyuan* dropping pills was as follows: maceration 1 hour with 15 times water, decocting 3 times, 1 hour for each time. The optimal process of the volatile oil for *Biyuan* dropping Pills was to crush the herbal material into coarse powder, to macerate 1 hour with 9 times water and to distill for 4 hours. Conclusion This experimental results may provide the basis for the ascertainment of extraction process of *Biyuan* dropping pills at the manufacturing scale.

Key words: orthogonal design; berberine; volatile oil; dropping pills

鼻炎是由表邪袭肺, 肺气失宣而引起以鼻塞、喷嚏、流涕、鼻痒、部分失嗅、失痛等一系列临床表现为主的一类疾病, 祖国医学称之为鼻渊。本实验室研制的鼻用鼻渊滴丸, 由甜瓜蒂、黄连、辛荑、细辛等组成。其中甜瓜蒂、黄连等加水煎煮提取; 辛荑、细辛提取挥发油, 所得挥发油经滴丸基质的包埋, 能增加药物的稳定性^[1]。

局部用滴丸已有鼻用滴丸如鼻用薄荷滴丸, 耳用滴丸如治疗中耳炎的诺氟沙星滴丸等。这些滴丸克服了传统的滴剂等制剂的易被冲洗、稀释的缺点, 药物从载体基质中缓缓释出, 可保持局部药物浓度高、作用持久的特点^[2,3]。

本文采用正交试验法对鼻渊滴丸提取工艺进行

了优选研究。

1 仪器、试剂及药材

仪器: Waters 2487-600-717 高效液相色谱仪, ZORBAX RSB-C18 柱(4.6 × 150mm); 挥发油提取器, 符合中国药典标准。对照品: 盐酸小檗碱(110713-200208) 由中国药品生物制品检定所提供。试剂: 乙腈为色谱纯, 甲醇为优级纯, 水为三次蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。药材: 药材均购自广州中医药大学大药房有限公司。

2 水提取工艺研究

2.1 正交试验设计 根据处方药物的组成, 以浸膏得率及其盐酸小檗碱含量为考察指标, 根据相关资料和有关预试验结果, 选用 L₉(3⁴) 正交表, 对煎煮时的加水量、浸泡时间、煎煮时间和煎煮次数进行了探讨。煎煮效果以浸膏得率及盐酸小檗碱含量为评价指标, 采用综合评分法进行数据分析, 其权重系数分

别取 0.3、0.7。浸膏得率评分 = 浸膏得率 / 最大浸膏得率 × 0.3 × 100; 盐酸小檗碱含量评分 = 盐酸小檗碱含量 / 最大盐酸小檗碱含量 × 0.7 × 100; 综合评分 = 浸膏得率评分 + 盐酸小檗碱含量评分。因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素			
	A	B	C	D
	加水量(倍)	浸泡时间(h)	煎煮时间(h)	煎煮次数(次)
1	9	0	1.0	1
2	12	1	1.5	2
3	15	2	2.0	3

2.2 提取工艺和结果

2.2.1 药物的提取及浸膏得率的测定

按处方配比称取药材合计 100g, 依试验设计确定的条件进行煎煮, 合并煎煮液, 滤过, 滤液浓缩, 置已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 75℃减压干燥至恒重后, 称重, 计算浸膏得率, 结果见表 2。

表 2 正交试验表及结果

试验号	因素				评价指标		
	A	B	C	D	浸膏得率 (%)	盐酸小檗碱提取量 (mg/100g 药材)	综合评分
	1	1	1	1	1	10.46	1036
2	1	2	2	2	15.24	1260	74.61
3	1	3	3	3	16.80	1390	82.30
4	2	1	2	3	18.00	1579	91.68
5	2	2	3	1	12.22	1179	66.42
6	2	3	1	2	15.30	1500	84.09
7	3	1	3	2	17.70	1461	86.57
8	3	2	1	3	17.30	1792	98.88
9	3	3	2	1	13.30	1346	74.74
K_1	214.81	236.15	240.87	199.06			
K_2	242.19	239.91	241.03	245.27	$CT = (\sum Y)^2 / 9 = 57151.28$		
K_3	260.19	241.13	235.29	272.86	$Q = (k_1)^2 + (k_2)^2 + (k_3)^2$		
R	50.36	4.98	5.74	73.80			
SS	348.11	4.49	7.12	927.00	$SS = Q/3 - CT$		

2.2.2 盐酸小檗碱提取量的测定

色谱条件: 用十八烷基硅胶为填充剂; 0.05mol/L 磷酸二氢钠(磷酸调节 pH 值为 3.0)-乙腈(70:30)为流动相, 流速为 1.0mL/min 检测波长为 277nm。理论板数按盐酸小檗碱计算应不低于 4000。

标准曲线的制备: 精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加稀乙醇制成每 1mL 含 100μg 的溶液。分别吸取盐酸小檗碱对照品溶液 1、2、4、5、6、8、10μL, 在

上述色谱条件下注入高效液相色谱仪进行测定, 以峰面积和进样量绘制标准曲线, 得回归方程为: $Y = 192.89X - 43.908, r = 0.9999$ 。结果表明盐酸小檗碱进样量在 0.1~1μg 的范围内线性关系良好。

样品的测定: 取 0.5g 浸膏, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 超声处理 20min, 放置过夜, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 滤过, 摇匀, 取续滤液。再吸取续滤液 0.5mL 于 10mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 即得。结果见表 2。

2.3 结论与分析

对以上试验数据进行分析, 结果见表 2、表 3。表 2 的数据分析结果表明 $R_D > R_A > R_C > R_B$, 即煎煮次数为影响提取效果的主要因素, 加水量次之, 煎煮时间再次, 浸泡时间最次。表 3 将因素 B 作为误差项进行方差分析, 结果也表明煎煮次数和加水量对提取结果的影响最为显著 ($P < 0.01$), 其它因素均无显著影响 ($P > 0.05$)。根据生产实际情况以及从经济的角度考虑, 浸泡时间选择 1h。煎煮时间选取第一水平(1h/次)。最佳工艺条件为 $A_3B_2C_1D_3$, 即加药材量 15 倍的水, 浸泡 1h, 煎煮 3 次, 每次煎煮 1h。其最佳工艺经验证, 其结果为: 浸膏得率为 17.1%, 小檗碱提取量为 1786mg/100g 药材, 证明最佳工艺确实可行。

表 3 方差分析表

方差来源	SS	f	MS	F 值	P^* 值
A	348.11	2	174.055	77.53	< 0.05
B(误差)	4.49	2	2.245		
C	7.12	2	3.560	1.59	> 0.05
D	927.00	2	468.50	208.69	< 0.01

* $F_{0.05(2,2)} = 19.00; F_{0.01(2,2)} = 99.00$

3 挥发油提取工艺研究

3.1 考察因素及其水平

本试验采用水蒸汽蒸馏法提取上述两药中挥发油成分, 选择可能对提取结果影响较大的药材粒度、加水量、浸泡时间及蒸馏时间四个因素, 在预试验的基础上, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。因素水平见表 5。

3.2 提取工艺和结果

挥发油提取参照 2000 版中国药典一部附录《挥发油测定法》进行^[4]。在预试验的基础上, 照正交试验设计的方法进一步进行试验。按处方量称取辛荑、细辛(1:2)两味药材共计 100g, 置于适宜容量的硬质烧瓶中, 加入适量的水, 连接挥发油测定器, 自测定器上端加水使充满刻度部分并

溢流人烧瓶时为止, 然后连接回流冷凝管。置电热套中加热至沸, 蒸馏完毕后, 放置 1h, 再开启活塞使油层下降至其上端恰与刻度 0 线平齐, 读取挥发油量。测定结果见表 4, 表 6。

表 4 预试验各条件下挥发油提取率(%, mL/g)

样品	时间(h)									
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	
辛荇粗粉	2.60	3.20	3.40	3.50	3.60	3.70	3.80	3.90	3.95	
辛荇饮片	0.30	0.50	1.20	1.30	1.50	1.70	1.90	2.00	2.10	
细辛粗粉	1.45	1.80	1.95	1.97	2.00	2.01				
细辛饮片	1.20	1.60	1.75	1.85	1.85					
辛荇、细辛粗粉 (1:2)	1.25	1.60	2.00	2.10	2.30	2.35				

表 5 正交试验因素水平表

水平	因素			
	A	B	C	D
	加水量(倍)	浸泡时间(h)	蒸馏时间(h)	药材粒度
1	9	0	2	粗粉
2	11	1	4	细粉
3	13	2	6	饮片

表 6 正交试验表及结果

试验号	因素				试验结果 挥发油提取率% (mL/g 药材)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1.30
2	1	2	2	2	2.10
3	1	3	3	3	1.50
4	2	1	2	3	1.45
5	2	2	3	1	2.00
6	2	3	1	2	1.40
7	3	1	3	2	2.05
8	3	2	1	3	1.20
9	3	3	2	1	1.90
K_1	4.90	4.80	3.90	5.20	
K_2	4.85	5.30	5.45	5.55	$CT = (\sum Y)^2/9 = 24.668$
K_3	5.15	4.80	5.55	4.15	$Q = (k_1)^2 + (k_2)^2 + (k_3)^2$
R	0.30	0.50	1.65	1.45	
SS	0.0170	0.0554	0.5704	0.3537	$SS = Q/3 - CT$

表 7 方差分析表

方差来源	SS	f	MS	F 值	P* 值
A(误差)	0.0170	2	0.0085		
B	0.0554	2	0.0277	2.18	> 0.05
C	0.5704	2	0.2852	22.46	< 0.05
D	0.3537	2	0.1768	20.8	< 0.05

* $F_{0.05(2,2)} = 19.00$

3.3 结论与分析 本次正交试验前已进行了预试验, 分别就辛荇和细辛(粗粉或饮片)提取挥发油量的情况作了比较(表 4)。发现用辛荇粗粉提取的挥发油量与直接用饮片提取的挥发油量有很大的差异。主要是由于辛荇有多层苞片等包裹^[5], 水份不易浸透, 粉碎成粗粉后, 增大了接触面, 因而能大大加速挥发油的析出。细辛木质细而且柔软。所以用细辛粗粉提取的挥发油量与直接用饮片提取挥发油量的差异不大。细辛粗粉或饮片的挥发油提取量在 3~4 个 h 后就基本不再增加, 但粉碎成粗粉能加速挥发油的析出。经计算, 分别提取比混合提取的挥发油量稍多。

表 6 的数据分析结果表明 $R_C > R_D > R_B > R_A$, 即蒸馏时间为影响提取效果的主要因素, 药材粒度次之, 浸泡时间再次, 加水量最次。表 7 将因素 A 作为误差项进行方差分析, 结果也表明蒸馏时间和药材粒度对提取效果的影响最为显著 ($P < 0.05$), 其它因素均无显著影响 ($P > 0.05$)。从节省能量的角度考虑, 加水量选取第一水平(9 倍水)。虽然蒸馏 6h 比蒸馏 4h 量稍多, 但经过 4h 蒸馏挥发油已基本提取完。从经济的角度考虑选取 4h。粗粉与细粉差异不大, 由于细粉在工厂化生产中操作不便, 所以选择粗粉。故最佳提取工艺条件应为 $A_1B_2C_2D_1$, 即选用药材粗粉, 加 9 倍量的水浸泡 1h, 加热蒸馏 4h, 收取挥发油。经验证, 测得其挥发油的提取率为 2.0% (mL/g 药材), 证明其最佳工艺确实可行。

参考文献:

[1] 毕殿洲. 药剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 328.
 [2] 张善玉, 李凤龙. 滴丸在中药制剂中的应用[J]. 延边医学院学报, 1996, 19(1): 59-60.
 [3] 田晓丽. 滴丸剂的发展概况[J]. 新疆医科大学学报, 2002, 25(1): 110.
 [4] 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, 2000. 附录 64.
 [5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册, 上海: 上海人民出版社, 1977. 1158.