

丹郁消癖颗粒挥发油提取及 β -环糊精包合工艺研究蒙麦侠¹ 陈志永¹ 赵志国² 杨智峰¹ 催小敏¹

(1.陕西省中医药研究院中药研究所,陕西西安710003; 2.西安市碑林区中医医院药剂科,陕西西安710002)

摘要 目的:优选丹郁消癖颗粒中当归、醋莪术和醋香附等6味药材的挥发油提取及 β -环糊精包合工艺参数。方法:采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法,以所提挥发油体积和重量为指标,考察浸泡时间、加水量及提取时间对挥发油提取量的影响,优选最佳提取工艺。采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法和饱和水溶液包合法,以包合率和收得率为考察指标,考察挥发油与 β -环糊精的用量比,包合温度和包合时间对包合效果的影响,优选最佳包合工艺。结果:最佳提取工艺为原药材加10倍量水,不浸泡,提取8h;最佳包合工艺为挥发油与 β -环糊精的用量比1:6,包合温度为40℃,包合60min。结论:优选的挥发油提取和包合工艺稳定可行,适用于丹郁消癖颗粒大生产挥发油的提取和包合。

关键词 丹郁消癖颗粒 挥发油 提取工艺 包合工艺 β -环糊精 正交试验

中图分类号 R289.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2017)11-0068-03

丹郁消癖颗粒来源于临床经验方,由柴胡、丹参、醋郁金、醋莪术、当归等药味组成,具有疏肝理气、活血化瘀、软坚散结之功,对痰瘀互结型乳腺增生有很好的临床疗效。其中醋郁金、醋莪术、当归、橘叶等6味药含有丰富的挥发油,这些挥发油具有显著的活血化瘀及抗肿瘤等作用^[1-2]。该药以往都直接水煎提取利用,为了避免生产中直接水煎提取或浓缩过程中挥发油的流失,本研究采用水蒸气蒸馏法,将醋郁金、醋莪术、橘叶等6味药共同提取挥发油,并对水提液及药渣进一步利用;因挥发油稳定性差,对光敏感,易挥发,故在提取的基础上,用 β -环糊精饱和水溶液对挥发油进行包合,将其固化,提高制剂稳定性,保证临床疗效。

1 材料

1.1 仪器 BS210S分析天平(Max210g, d=0.1mg),北京赛多利斯天平有限公司;85-2型磁力搅拌器,常州普天仪器制造有限公司;温控式电热套(1000mL, 2000mL),巩义市英峪予华仪器厂。

1.2 试药 β -环糊精,天津市科密欧化学试剂有限公司。醋青皮、醋香附、醋郁金、当归、醋莪术均购自陕西兴盛德药业有限公司,橘叶购自陕西康誉药业有限公司。醋青皮产地广东,醋香附产地山东,醋郁金产地广西(桂郁金),当归产地甘肃,橘叶产地浙江,醋莪术产地四川(广西莪术)。上述六味药材经陕西省中医药研究院生药室杨智峰教授鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺考察

2.1.1 吸水率考察 按处方量称取醋青皮、醋郁金、醋香附、橘叶、当归、醋莪术共计120g,加6倍量(720mL)水浸泡至透心,滤出药液,计算药材吸水率。药材吸水率=(加水量-滤液量)/药材重 $\times 100\%$ 。经试验,本研究药材吸水率为120.8%。

2.1.2 提取工艺条件考察 试验设计中选取浸泡时间、提取时间、加水量为考察因素,以挥发油得量(体积和重量)为评价指标,采用正交表 $L_9(3^4)$ 安排正交试验^[3-4],见表1。按照处方量称取醋青皮、醋香附、醋郁金、橘叶、当归、醋莪术9份,置圆底烧瓶中,参照2015版《中国药典》四部挥发油测定法甲法,按照表2中1~9号试验安排加相应倍数水浸泡和回流提取规定时间,结果见表2~表4。

以挥发油体积和重量为考察指标,从表2、3、4可知,试验结果一致。从直观分析得出:浸泡时间(A)、加水量(B)和提取时间(C)对挥发油提取率的影响程度不同,以体积计影响程度依次为A<B<C,以重量计影响程度依次为B<A<C,且均以 $A_3B_3C_3$ 提取效率最高。从方差分析得出:提取时间对试验结果具有显著性影响,浸泡时间和加水量对试验结果的影响不显著,故提取时间不可调整,其余两个因素可以适当调整。综合直观和方差分析结果,从节约资源、生产时效及水煎提取工艺考察结果考虑,确定丹

基金项目:陕西省科技厅项目(2016SF-392)

郁消癖颗粒中醋青皮、醋香附、醋郁金等6味药的挥发油提取工艺为A₁B₃C₃,即加10倍量水,直接加热回流8h。

表1 因素水平

水平	A 浸泡时间(h)	B 加水量(倍)	C 提取时间(h)
1	0	6	4
2	1	8	6
3	2	10	8

表2 正交试验结果

试验号	列号				挥发油体积 (mL)	挥发油得量 (g)
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	0.30	0.1846
2	1	2	2	2	0.40	0.2483
3	1	3	3	3	0.55	0.4354
4	2	1	2	3	0.38	0.2568
5	2	2	3	1	0.50	0.3896
6	2	3	1	2	0.30	0.1964
7	3	1	3	2	0.48	0.3993
8	3	2	1	3	0.30	0.2632
9	3	3	2	1	0.50	0.3693
K ₁ (mL)	0.417	0.387	0.300	0.433		
K ₂ (mL)	0.393	0.400	0.427	0.393		
K ₃ (mL)	0.427	0.450	0.510	0.410		
R(mL)	0.034	0.063	0.210	0.040		
K ₁ (g)	0.289	0.280	0.215	0.313		
K ₂ (g)	0.281	0.300	0.291	0.281		
K ₃ (g)	0.344	0.334	0.408	0.318		
R(g)	0.063	0.054	0.193	0.037		

表3 方差分析结果(以体积计)

来源	偏差平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
A	0.002	2	1.000	19.000	
B	0.007	2	3.500	19.000	
C	0.067	2	33.500	19.000	*
误差(D)	0.00	2			

注: $F(0.05)=19$, *示 $P<0.05$ 。

表4 方差分析结果(以重量计)

来源	偏差平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
A	0.007	2	3.500	19.000	
B	0.004	2	2.000	19.000	
C	0.057	2	28.500	19.000	*
误差(D)	0.00	2			

注: $F(0.05)=19$, *示 $P<0.05$ 。

2.1.3 验证试验 按照正交试验药材量取样,以A₁B₃C₃提取工艺提取,即加10倍量水,直接加热回流8h,结果表明挥发油优选工艺稳定可行,见表5。

表5 验证试验结果

试验次数	挥发油得量(mL)	RSD(%)	挥发油得量(g)	RSD(%)
1	0.49		0.3945	
2	0.50	2.04	0.4097	2.03
3	0.48		0.4073	
均值	0.49		0.4038	

2.2 挥发油包合工艺考察

2.2.1 包合物评价指标测定 挥发油空白回收率试验:用移液枪精密量取醋青皮、醋莪术、醋郁金等6味药的挥发油1.0mL,置圆底烧瓶中,加蒸馏水200mL,提取5h,平行试验3次,结果空白回收率平均值为80%。

挥发油包合率、包合物收得率测定方法:取干燥包合物精密称重,按上述方法测定其中挥发油含量,按下式分别计算挥发油包合率、包合物收得率:

$$\text{包合率}(\%) = \frac{\text{包合物中挥发油量}}{(\text{投油量} \times \text{挥发油空白回收率})} \times 100\%$$

$$\text{收得率}(\%) = \frac{\text{包合物重量}}{(\beta\text{-CD加入量} + \text{挥发油加入量})} \times 100\%$$

2.2.2 正交试验 精密称取相应剂量 β -CD,据包合温度下的溶解度制备成 β -CD饱和溶液^[3],将其置于恒温磁力搅拌器上恒温搅拌,缓慢滴加精密吸取的挥发油无水乙醇溶液(体积分数为50%),在规定的试验温度下搅拌相应时间,放至室温,置4℃冰箱中冷藏24h,抽滤,沉淀水洗后,再用石油醚(30℃~60℃)洗涤3次,每次10mL,至无挥发油味后室温放置,自然挥干,即得白色粉末状包合物^[5-6]。

由预试验及文献资料可知, β -CD与油的配比、包合温度、包合时间为影响包合的主要因素,对每个因素,各取3个水平,进行正交试验,因素水平设计见表6。

包合工艺研究中,包合率为衡量包合效果的重要指标,包合率越高,包合效果越好,作为主要考察指标,权重系数定为0.7,但收得率在生产中也有意义,收得率越高,包合效果越好,因此,作为次要考察指标,权重系数定为0.3。

$$\text{综合评分} = 70 \times (\text{包合率}/\text{包合率最大值}) + 30 \times (\text{收得率}/\text{收得率最大值})$$

正交试验及结果:根据表7进行L₉(3⁴)正交试验,计算包合率及收得率,并进行综合评分,结果见表7、表8。由直观分析得出:影响挥发油包合率和收得率的因素顺序为包合温度> β -CD与油配比>包合时间,包合温度影响最大。由方差分析得出:包合温度和 β -CD与油对比对挥发油包合效果有显著性影响,包合时间无显著影响。但因 β -CD与油配比为6:1、8:1和包合温度为40℃、60℃时直观分析结果非常接近,两个水平包合效果差异很小,故从生产成本及挥发油的稳定

性考虑,最终确定最佳包合工艺为: A₂B₂C₁,即β-CD与油配比为6:1,包合温度为40℃,包合时间为60min。

表6 因素水平

水平	A	B	C
	β-CD(g):油(mL)	包合温度(℃)	包合时间(h)
1	4:1	20	60
2	6:1	40	90
3	8:1	60	120

表7 正交试验结果

试验号	A	B	C	D(空白)	评价指标		综合评分
					包合率(%)	收得率(%)	
1	1	1	1	1	50.00	57.87	64.05
2	1	2	2	2	50.00	92.68	74.50
3	1	3	3	3	50.00	99.61	76.58
4	2	1	2	3	62.50	53.81	74.49
5	2	2	3	1	67.50	99.89	93.00
6	2	3	1	2	68.75	93.95	92.38
7	3	1	3	2	62.50	62.53	77.11
8	3	2	1	3	68.75	85.72	89.91
9	3	3	2	1	75.00	82.51	94.78
K1	71.71	71.88	82.11	83.94			
K2	86.62	85.80	81.26	81.33			
K3	87.27	87.91	82.23	80.33			
R	15.56	16.03	0.97	3.62			

表8 方差分析

方差来源	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	464.83	2	22.22	19	*
B	455.18	2	21.76	19	*
C	1.69	2	0.08	19	
误差	20.92	2			

注: F(0.05)=19, *示P<0.05。

2.2.3 验证试验 按优选的最佳工艺验证3批,测得平均包合率为68.47%,收得率为94.40%,与正交试验优选的包合工艺条件所得结果基本一致,说明该包合工艺条件稳定可行,结果见表9。

表9 包合工艺验证试验结果

试验次数	包合率(%)	RSD(%)	收得率(%)	RSD(%)
1	68.56		94.35	
2	69.60	1.72	95.60	1.25
3	67.25		93.25	
均值	68.47		94.40	

3 讨论

丹郁消癖颗粒一直以水煎汤剂的形式用于临床,煎煮和浓缩过程中易造成挥发油随水蒸气的蒸发而流失,挥发性指标成分检测不到。若将上述几味药单独提取挥发油或在全方药材水煎过程中收集,收集后将直接用乙醇稀释喷洒在已干燥的颗

粒中,则贮存过程中会因挥发油对光敏感、易聚合等稳定性差的特点,不能保证制剂稳定,从而影响成品质量,降低疗效。生产中挥发油经过收集和包合,避免了挥发油在传统煎煮中的流失,包合后,将油固化,有利于制剂稳定性,从而确保临床疗效。

挥发油提取工艺考察结果显示,药材浸泡时间和加水量对挥发油提取结果无显著性影响,提取时间对提取结果有显著性影响,但考虑到挥发油提取后的水煎药液要与其他药材水煎液合并利用,结合水煎工艺考察结果,确定最终的挥发油提取工艺为取处方量药材,加10倍量水,回流提取8h,经工艺验证后该条件稳定可行。

挥发油包合工艺考察中,挥发油利用率为最重要的考察指标,但对于大生产,包合物收得率亦很重要,故工艺考察中采用综合评分法,挥发油利用率占权重的70%,测得挥发油空白回收率为80%,一部分色泽较重的油在回收率测定时无法回流进入挥发油提取器里,但将此部分油水混合溶液用石油醚萃取,颜色较深的油体会溶解在石油醚层,故包合物提取挥发油时会有损失,因此测得值应比实际挥发油利用率偏低。本研究中包合物经石油醚多次洗涤,可将包合物表面附着的挥发油除去,保证结果的稳定性,在实际生产中,可直接用于制剂,提高挥发油利用率。正交试验结果显示,包合时间对包合结果无显著性影响,β-CD与油配比和包合温度对包合结果有显著性影响,但从直观分析得出β-CD与油配比为6:1和8:1,包合温度为40℃和60℃时包合效果相当,为了降低辅料消耗和节约能源,最终确定最佳包合工艺为β-CD与油配比为6:1,包合温度为40℃,包合时间为60min。

参考文献

- [1] 王颖,郭兰萍,黄璐琦,等.姜黄、莪术、郁金的化学成分与药理作用研究进展[J].中国药房,2013,24(35):3338.
- [2] 黄凯玲,肖刚,黄建红,等.香附化学成分及药理作用研究进展[J].右江民族医学院学报,2014,36(3):491.
- [3] 王玉蓉,王再谟,严冬.中药新制剂开发与应用[M].2版.北京:人民卫生出版社,2003:199.
- [4] 中国药典委员会.中华人民共和国药典:四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:附录2204.
- [5] 李元波,殷辉安,周琳,等.当归挥发油的提取与β-环糊精包合工艺研究[J].天然产物研究与开发,2006,18(5):836.
- [6] 鲁继红,刘勇,熊阳.莪术挥发油的提取及β-环糊精包合物的研究[J].浙江中医药大学学报,2006,30(5):469.

第一作者:蒙麦侠(1976—),女,硕士,副研究员,从事中药制剂分析研究。mengmaixia@163.com

收稿日期:2017-07-05

编辑:吴宁