

皮炎净颗粒剂中挥发油的提取及包合工艺研究

曹毅¹, 张春椿², 熊耀康² (1. 浙江省中医院, 杭州 310006; 2. 浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要:目的 探讨皮炎净颗粒剂中挥发油的混合提取及包合最佳工艺路线。方法 采用正交设计实验, 以挥发油总重量为评价提取工艺指标; 以包合物收率、挥发油包合率为评价包合工艺指标。结果 挥发油的最佳提取工艺条件是: 药材混合加 8 倍量水、浸泡 1 h、加热至沸腾回流 8 h; 挥发油的最佳包合工艺: 挥发油与 β -环糊精按 1:6 投料、包合温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 、磁力搅拌 3 h。结论 按上述工艺条件提取、包合本制剂中的挥发油最为合理。

基金项目: 浙江省科技厅重大项目 (2004C34g1360001)

作者简介: 曹毅, 男, 硕士, 教授 Tel: (0571) 87019299 E-mail: Caoyi1965@163.com

Optimization of Volatile Oils Extraction and β -cyclodextrin Inclusion from Piyanjing Granules

CAO Yi¹, ZHANG Chunchun², XIONG Yaokang² (1. Zhejiang Traditional Chinese Medical Hospital, Hangzhou 310006, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To specify optimize condition of process for mixture extraction of volatile oils and preparation of β -CD inclusion compound of Piyanjing granules. **METHODS** Taking weight of volatile oils to evaluate the extraction process and percentage recovery of inclusion compound, transfer rate of oils to evaluate the inclusion process. Orthogonal design was applied. **RESULTS** The optimum extraction condition was to add eight times amount of water into the mixture of crude drugs, to soak for 1 h, to heat up to boiling and reflux 8 h. The optimum inclusion condition was volatile oils: β -CD in proportion as 1:6 was mixed, the inclusion temperature was at 40 °C and inclusion time was 3 h. **CONCLUSION** Above condition of process was the most rational in extraction and inclusion of Piyanjing granules.

KEY WORDS: Piyanjing granules; volatile oils; extraction; inclusion

皮炎净颗粒剂是在我院制剂皮炎消净饮(浙药制 2006Z200645)的基础上经剂改而成的,全方由当归、苍术、黄芩等五味药组成,具有健脾养血、清热化湿、祛风止痒之功效,经临床证明治疗异位性皮炎(AD)疗效确切^[1-2]。当归、苍术均为方中君药,当归具有补血养血、健脾祛风之功效,苍术具有燥湿健脾、祛风散寒之功效。两者挥发油含量极高,是其重要的药理活性成分。为了充分发挥两者挥发油的效用,增加挥发油在制剂中的稳定性,减少不良气味,实验中将两者挥发油共同提取,进行 β -环糊精包合,并对影响提取及包合的工艺条件进行了研究,得出了最佳工艺。

1 仪器与试药

1.1 仪器

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂);DHS20-1 分析电子天平(上海天平仪器厂);CD-100L 超导热风干燥箱(杭州华迪机械有限公司);KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器公司);HH-2 型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);挥发油测定器(上海玻璃仪器厂)。

1.2 试药

当归(浙江中医药大学中药饮片厂,批号:070116;产地:甘肃);苍术(浙江中医药大学中药饮片厂,批号:061202;产地:辽宁); β -环糊精(上海伯奥生物科技有限公司,批号:060123);无水乙醇、乙醚均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取、分离^[3]

按处方比例取当归、苍术二味药材粉碎,过 2 号筛,加水浸泡,用挥发油提取器连续回流提取数小时,提取液冷却后,用乙醚萃取 3 次,合并乙醚液,40 °C 以下回收乙醚至小体积,加无水硫酸钠脱水,过滤,转移至称量瓶中。水浴挥干乙醚得纯挥发油,称重,密闭保存。

2.2 提取工艺正交设计实验方案及结果分析

根据初步试验结果及文献报道^[4],对上述挥发油混合提取工艺中影响较大的 3 种因素:浸泡时间、加水量、回流时间进行考察研究,每个因素取 3 个水平,见表 1。用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验表安排试验,以挥发油总重量为考察指标,结果见表 2。将上述实验结果进行方差分析见表 3。

表 1 挥发油提取因素水平表

Tab 1 Factor and level table for extracting process of volatile oils

水平	因 素			
	A	B	C	D
	加水量/倍	浸泡时间/h	回流时间/h	空白
1	6	1.0	4	1
2	8	1.5	6	2
3	10	2.0	8	3

方差分析结果表明:C 因素有显著性差异,A、B 因素无显著性差异。主次顺序为 C > B > A。C 因素中,C₃ > C₂ > C₁,选择 C₃,结合直观分析,A、B 因素无显著性差异,A 取 A₂,B 取 B₁,故结合生产实际确定最优提取工艺条件为:药材浸泡 1 h,加 8 倍量水,加热回流提取 8 h。

表2 挥发油提取工艺正交实验结果

Tab 2 Optimal experimental design and test results analysis table on the extracting process of volatile oils

实验号	A	B	C	D	挥发油 总重量/g
1	1	1	1	1	0.87
2	1	2	2	2	0.95
3	1	3	3	3	1.20
4	2	1	2	3	1.23
5	2	2	3	1	1.38
6	2	3	1	2	0.93
7	3	1	3	2	1.45
8	3	2	1	3	0.83
9	3	3	2	1	0.87
k ₁	1.007	1.183	0.877	1.040	
k ₂	1.182	1.053	1.017	1.110	
k ₃	1.050	1.000	1.343	1.087	
R		0.173	0.183	0.466	0.070
SS ₁	A ₂	B ₁	C ₃	D ₂	

表3 挥发油提取方差分析表

Tab 3 Analysis of variance table on the extracting process of volatile oils

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F(0.05) 值	显著性
A	0.04	2	6.13	19.0	
B	0.05	2	6.63	19.0	
C	0.34	2	43.0	19.0	<0.05
D(误差)/%	0.10				

2.3 验证试验

按最佳提取工艺 A₂B₁C₃ 验证试验,重复 5 次,所得数据结果见表 4。

表4 验证试验结果(n=5)

Tab 4 Validate test result on the extracting process of volatile oils(n=5)

结果	1	2	3	4	5
挥发油总重量/g	1.46	1.49	1.48	1.47	1.48
平均值/g			1.48		
RSD/%			1.02		

2.4 β-环糊精包合物制备研究^[5-6]

2.4.1 包合方法的选择 根据初步试验结果,本挥发油包合采用饱和水溶液法。具体操作步骤如下:称取一定量的 β-环糊精,置具塞锥形瓶中,加入蒸馏水 100 mL,加热使之完全溶解,降至规定温度下,用恒温磁力搅拌器搅拌。精密移取挥发油 1 mL 于试管中,用无水乙醇稀释,使挥发油:无水乙醇为

1:1。将挥发油的醇溶液缓慢滴入锥形瓶中,边滴加边搅拌,搅拌至规定时间,冷藏 24 h,取出,用乙醚洗至淡黄色,滤过,干燥 6 h(50 ℃ 以下),得粉状包合物,称重,即得包合物实际量。

2.4.2 包合物收得率、包合率、综合评分的测定

包合物收得率 = 包合物实际重量/[β-环糊精量(g) + 挥发油加入量(g)] × 100%

挥发油包合率 = [包合物中实际挥发油量(g)/挥发油加入量(g)] × 100%

包合物收得率评分 = 包合物收得率 × 30

挥发油包合率评分 = 挥发油包合率评分 × 70

综合评分 = 包合物收得率评分 + 挥发油包合率评分

挥发油包合率权重系数定为 0.7,包合物收得率作为次要筛选指标,权重系数定为 0.3。按上述公式计算综合评分。

测定包合物中含挥发油重量按挥发油提取方法及条件提取包合物内的挥发油至挥发油提取完全,同法分离,称重。

2.4.3 正交设计试验优选 β-环糊精包合物的制备工艺 结合预实验及文献报道^[7],对影响环糊精包合较明显的工艺条件:挥发油(mL)与 β-环糊精(g)的投料配比、包合温度、包合时间三方面因素进行考察,每个因素取 3 水平,见表 5。采用 L₉(3⁴) 正交试验表安排试验,以包合物收率、挥发油包合率为评价包合工艺指标。结果见表 6。将上述实验结果进行方差分析见表 7。

表5 挥发油包合因素水平表

Tab 5 Factor and level table for extracting process of volatile oils

水平	因素			
	A	B	C	D
	挥发油:β-环糊精 投料配比/mL·g ⁻¹	包合温度 /℃	包合时间 /h	空白
1	1:6	30	1	1
2	1:8	40	2	2
3	1:10	50	3	3

通过方差分析结果可知,方差分析结果表明:包合时间、包合温度有显著性差异,β-环糊精与油的配比无显著性差异。主次顺序为 B > C > A。B 因素中,B₂ > B₃ > B₁,选择 B₃;C 因素中,C₃ > C₂ > C₁,选择 C₃。结合直观分析,A 因素无显著性差异,A 选择 A₁。故结合生产实际确定最优提取工艺条件为:A₁B₂C₃即挥发油与 β-环糊精配比为 1:6,包合温度为 40 ℃,磁力搅拌时间为 3 h。

表6 正交试验方案与结果

Tab 6 Optimal experimental design and test results

试验号	因素				包合率 /%	包合物 收得率/%	综合 评分
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	67.0	80.73	71.12
2	1	2	2	2	88.0	91.43	82.03
3	1	3	3	3	73.0	94.50	79.45
4	2	1	2	3	72.0	81.57	74.87
5	2	2	3	1	80.0	82.23	80.67
6	2	3	1	2	76.0	73.53	75.26
7	3	1	3	2	74.0	74.43	74.13
8	3	2	1	3	75.0	75.27	75.08
9	3	3	2	1	75.0	80.00	76.50
K1	77.53	73.37	73.82	76.09			
K2	76.93	79.26	77.80	77.14			
K3	75.24	77.07	78.08	76.47			
R	2.296	5.887	4.263	1.043			
SS ₁	A ₁	B ₂	C ₃				

表7 挥发油包合方差分析表

Tab 7 Analysis of variance table on the inclusion process of volatile oils

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F(0.05) 值	显著性
A	8.51	2	5.07	19	<0.10
B	53.11	2	31.63	19	<0.05
C	34.10	2	20.31	19	<0.05
D(误差)/%	1.68				

2.4.4 验证试验 按最佳提取工艺 A₁B₂C₃ 验证试验,重复 5 次,所得数据结果见表 8。

表8 验证试验结果(n=5)

Tab 8 Validate test result on the inclusion process of volatile oils(n=5)

结果	1	2	3	4	5
综合评分/g	83.35	83.38	83.34	83.36	83.37
平均值/g			83.36		
RSD/%			1.41		

3 小结与讨论

3.1 本实验采用正交试验法对皮炎净颗粒中挥发油的提取及 β-环糊精包合工艺进行了研究,并分别按最佳工艺进行了 5 批验证试验,结果与正交试验结果一致,说明该工艺稳定可行^[8]。包合物制备时,考察了冷藏时间对 β-环糊精包合效果的影响。结果表明,冷藏 24 h 包合率及包合物收得率均较冷藏 12 h 明显增加,而 24h 以后趋于稳定。

3.2 在含挥发油的中药制剂中,过去将挥发油喷洒到颗粒上,在长期放置后,表面的挥发油不断挥发含量降低。而采用包合技术,使挥发油包裹到 β-环糊

精形成的空腔结构中,避免了挥发油在贮藏时挥发^[9-10]。

3.3 本试验中,包合最佳工艺为 A₁B₂C₃。在包合过程中,挥发油包合率、包合物收得率是衡量包合效果的主要指标。挥发油包合率越高,其包合效果越好,可作为工艺主要筛选指标,,但收得率在大生产中也有很重要的意义,在 β-环糊精量和挥发油投入量一定的情况下,得率可作为次要筛选指标。在本实验中同时考虑了 β-环糊精量和挥发油投料量,得出该最佳工艺条件适合于大生产。

REFERENCES

[1] XU R,XU S Y,ZHANG Q G. Effects of stellate ganglion block on atopic dermatitis[J]. Clin Med J (临床医学),2001,21(6): 23-34.

[2] ZHENG M, MROWIETZ U, CHRISTOPHERS E. Phenotypic characteristics of human blood monocyte subpopulations in psoriasis and atopic dermatitis;evidence for differential expression of surface molecules[J]. Chin Med J,1995,18(3):42-43.

[3] WANG A W,WU L M,TIAN J K, et al. Optimization of volatile oils extraction and β-cyclodextrin inclusion from Sanniao Granules[J]. J Chin Med Mater(中药材),2005,28(1):55-57.

[4] ZHENG C Z,YAO B S,LI M. Studies on the extraction process of volatile oil form Anglica Sinensis[J]. Tianjin Univ Light Ind J (天津轻工业学院学报), 2001,36(1):32-34.

[5] GUO X L,ZHANG J. Studies on the extraction process of volatile oil form Paojiang[J]. China Chin Mater Med(中国中药杂志),2003, 28(1):87-88.

[6] HE Q,WANG J J,ZHONG YAN, et al. Extraction of three kinds of volatile oil and preparation of β-CD inclusion compound of Yuxianling Granules[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2002, 24(9):660-662.

[7] GUO T,SONG M T,ZHAO M H, et al. Studies on the extraction process of volatile oil form Chanchu[J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志),2002,27(11):835-837.

[8] GONG L Y. Chinese native medicin innovation study and High-tech application(中药创新研究与高新技术应用)[M]. Beijin: Chinese Medicine Science and Technology Publishing House, 2004:715.

[9] Choi H G, KIM D D, JUN H W, et al. Improvement of dissolution and bioavailability of nitrendipine by inclusion in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2003,29(10):1085-1094.

[10] SCHNEIDER H J, HACKER F, RIGER V, et al. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes [J]. Chem Rev, 1998,98(6):1755-1785.

收稿日期:2008-05-23