

本文引用:邹龙,陈叶童,张依人,张可人,蒋龙波,孔思圻,彭买姣. 疡必愈止痛片中木香挥发油的提取及包合工艺优化[J]. 湖南中医药大学学报, 2017,37(4):378-381.

疡必愈止痛片中木香挥发油的提取及包合工艺优化

邹龙,陈叶童,张依人,张可人,蒋龙波,孔思圻,彭买姣*
(湖南中医药大学,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 优选疡必愈止痛片中木香挥发油的提取工艺及 β -环糊精(β -CD)包合物的制备工艺。方法 以木香提油量为指标,用正交设计方法优选出木香挥发油的提取工艺;以挥发油包合率、包合物收得率、油转移率为指标,比较饱和水溶液法与研磨法;采用Box-Behnken设计-响应面法对研磨法包合工艺条件进行优化。结果 木香挥发油的最佳提取工艺为粉碎过60目筛,加4倍量水,提取6h;研磨法优于饱和水溶液法,最佳包合工艺条件为 β -CD(g)与挥发油(1 mL)投料比为10:1,加水量3.6倍,研磨时间1h。结论 优选的提取和包合工艺操作方便、合理稳定,具有可行性。

〔关键词〕木香挥发油;疡必愈止痛片;正交设计;Box-Behnken设计; β -环糊精包合物

〔中图分类号〕R283 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.04.008

The Extraction and β -Cyclodextrin Inclusion Process Optimization of Essential Oil from Radix Aucklandiae in Yangbiyu-Zhitong Tablets

ZOU Long, CHEN Yetong, ZHANG Yiren, ZHANG Keren, JIANG Longbo, KONG Siqu, PENG Maijiao*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To optimize the extraction process and β -cyclodextrin inclusion process of essential oil from of Radix Aucklandiae in Yangbiyu-Zhitong Tablets. **Methods** The Radix Aucklandiae oil extraction quantity as an index, the extraction process was optimized by using orthogonal design method. The saturated water solution method and grinding method were compared with volatile oil inclusion rate, the yield of inclusion and oil transfer rate as indexes. The inclusion process conditions of grinding method were optimized by Box-Behnken design-response surface method. **Results** The best extraction technology of Radix Aucklandiae is screened through mesh size of 60, with 4 times of water, extracting for 6 h. The grinding method is better than that of saturated water solution method, the best closure process conditions is β -CD (g) and the essential oil weight ratio of 10:1, 3.6 times of water, grinding time 1 h. **Conclusion** The optimized extraction and inclusion process is easy to operate, stable and feasible.

〔Keywords〕 essential oil of Radix Aucklandiae; Yangbiyu-Zhitong tablets; orthogonal design; Box-Behnken design; β -cyclodextrin inclusion

疡必愈止痛片由黄连、木香、焦栀子等五味药组成,具有理气和胃,解痉止痛,促进溃疡愈合的功能。临床用于胃、十二指肠溃疡,慢性胃炎及胃肠平滑肌痉挛性疼痛。该制剂在湖南中医药大学第一附属医院临床使用多年,取得了良好的社会效益与经济效益,并深受患者好评。近年来,该院对住院患者用药的不良反应情况采取随时报告制度,经医务科统计,未发现不良反应。

木香为本制剂处方中君药,是菊科植物木香 *Aucklandiae lappa* Decne 的干燥根^[1],多用于治疗胃炎、胃溃疡、食管炎等消化道疾病。木香其性辛、苦、温,归脾、胃、大肠经,在临床被广泛应用^[2],主要治疗胃部胀满、消化不良、呕吐、腹痛和腹泻等症^[3-4];相关研究证实木香能明显拮抗大鼠急性胃黏膜损伤,溃疡抑制率达100%^[5]。木香其有效成分主要为萜类,还有生物碱、蒽醌、黄酮等^[6];其中萜类有效成

〔收稿日期〕2016-09-02

〔基金项目〕校院“产学研”合作项目(20150029);湖南中医药大学2015中药技能大学生创新实验(201503)。

〔作者简介〕邹龙,男,教授,研究方向:中药药剂学新药的研究与开发。

〔通讯作者〕*彭买姣,女,实验师,E-mail:187267400@qq.com。

分种类繁多且量丰富,主要具有抗炎、抗肿瘤和抗溃疡的作用,例如木香烯内酯、二氢木香内酯、去氢木香内酯等;另外木香醇提取物有很强的抗幽门螺杆菌作用,对消化道功能性疾病(如胃炎胃癌、消化不良等)有缓解作用^[7]等。

本处方中木香含有大量挥发油,其有效成分容易挥发,为避免疗效降低,给生产和储存带来不便,本实验采用正交设计方法^[8-9]与 Box-Behnken 设计-响应面法^[10],对制剂中木香挥发油的提取以及包合工艺技术进行优化,达到增加木香挥发油在该制剂中的稳定性,保证制剂质量的目的。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AR124CN 型分析天平(奥豪斯仪器有限公司);DZF-6020AB 型真空干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司);98-1-B 型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);RHP-100 型高速多功能粉碎机(浙江永康市荣浩工贸有限公司)。

1.2 试剂

木香中药饮片(湖南金实堂中药饮片有限公司,批号:20151221); β -环糊精(国药集团化学试剂有限公司,批号:20150716,规格:干燥失重 $\leq 14.0\%$,灼烧残渣 $\leq 0.5\%$,重金属 $\leq 0.005\%$,Fe $\leq 0.01\%$,还原糖 $\leq 2.0\%$);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取

2.1.1 单因素分析浸泡时间 根据挥发油测定法^[11],称取木香各 200 g,粉碎过 20 目筛,分别置圆底烧瓶中,加 8 倍量水,分别浸泡 0、1、2 h,连接挥发油提取器,加热至沸,提取 6 h,至油量不再增加,记录不同浸泡时间的挥发油得量。结果显示提取挥发油提取量相差不大,结合经济和环保因素考虑,最终工艺确定为不浸泡。

2.1.2 正交实验设计 根据预试验,选择对挥发油提取工艺有影响的主要因素(A 药材粉碎度、B 加水量和 C 提油时间),按三因素三水平表进行 $L_9(3^4)$ 正交试验。各因素水平见表 1。

表 1 正交设计因素水平表

水平	A/目	B/倍	C/h
1	不粉碎	4	4
2	20	6	6
3	60	8	8

2.1.3 正交实验结果 采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,得出该实验模型具有统计学意义($P < 0.05$)。

分析结果显示 A 具有显著性意义($P < 0.05$),是影响挥发油得率的主要因素;B、C 无统计学意义,可取任意水平,一般取生产成本最低水平。根据正交试验的观点,选择具有显著性意义因素的最优水平,确定最佳方案,而对于不具有显著性意义的因素,可以依据实际条件处理。根据经验得出最佳提取工艺为 $A_3B_1C_2$,即木香粉碎过 60 目,加 4 倍量水,提取 6 h。正交试验结果与分析见表 2 和表 3。

表 2 正交设计方案与试验结果

序列	A	B	C	挥发油得量/mL
1	1	1	1	0.26
2	1	2	2	0.34
3	1	3	3	0.38
4	2	1	3	0.78
5	2	2	1	0.62
6	2	3	2	0.47
7	3	1	2	1.15
8	3	2	3	1.03
9	3	3	1	0.82

表 3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
校正模型	1.354a	6	0.226	9.133	0.001
截距	9.739	1	9.739	394.024	0.000
A	1.271	2	0.635	25.705	0.000
B	0.032	2	0.016	0.651	0.541
C	0.052	2	0.026	1.042	0.385
误差	0.272	11	0.025		
总计	11.365	18			
校正的总计	1.626	17			

2.1.4 验证试验 称取木香 200 g,粉碎后过 60 目筛,置圆底烧瓶中,加 4 倍量水,不浸泡,用水蒸气蒸馏法提取木香挥发油 6 h,得出木香挥发油提取量分别为 1.12、1.15、1.13 mL。结果表明,验证实验结果与正交实验结果一致,表明优选的木香挥发油提取工艺稳定可行。收集提取的木香挥发油,加入适量的无水硫酸钠脱水,即得木香挥发油。

2.2 挥发油包合方法的比较

2.2.1 饱和水溶液法 精密称取 β -环糊精 8 g,置锥形瓶中,加水 150 mL,水浴加热溶解,冷却;精密移取木香挥发油 1 mL,将其与无水乙醇 1:1 混合溶解,缓缓加入以上锥形瓶中,置磁力搅拌器上恒温 40 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 3 h,冷却后置冰箱冷藏 24 h,抽滤,包合物用少量蒸馏水洗涤,再用石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)冲洗 3 次(10 mL/次),40 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 5 h,称重,备用。

2.2.2 研磨法 精密称取 β -环糊精 8 g,置研钵中,加 3 倍量水,研磨均匀;精密移取木香挥发油 1 mL,将其与无水乙醇 1:1 混合溶解,缓缓加入以上研钵

中,连续研磨3 h,抽滤,包合物用少量蒸馏水洗涤,再用石油醚(30~60 ℃)冲洗3次(10 mL/次),40 ℃真空干燥5 h,称重,备用。

计算两种方法的挥发油包合率、油转移率及包合物得率(公式如下),包合物各平行3份。结果饱和水溶液法和研磨法的挥发油包合率分别为55.19%±1.56%、74.07%±1.49%;油转移率分别为49.67%±1.33%、66.53%±1.47%;包合物得率分别为51.67%±0.65%、86.41%±0.28%,故采用研磨法包合木香挥发油。

包合物得率=包合物质量/(β-CD加入量+挥发油量)×100%

油转移率=包合物中实际含油量/投油量×100%

空白回收率=回收挥发油体积/加入挥发油体积×100%

挥发油包合率=包合物中回收挥发油体积/(挥发油投入量×空白回收率)×100%

表4 Box-Behnken 设计因素水平表

水平	因素		
	A/倍*	B/倍**	C/h
-1	8	2	1
0	10	3	2
1	12	4	3

*β-CD用量系指挥发油投入量的倍数;**加水量系指β-CD用量的倍数

2.3 Box-Behnken 设计-响应面分析法优选包合工艺条件

2.3.1 Box-Behnken 设计方案与实验结果 选取考察的三因素 A β-CD 用量、B 加水量、C 研磨时间,每因素设为3个水平(低水平编码-1,中水平编码0,高水平编码1,见表4),以挥发油包合率 Y_1 、油转移率 Y_2 、包合物收得率 Y_3 为响应值,采用 Design-Expert 8.05 软件生成 Box-Behnken 设计方案,参照“2.2.2”项下的方法制备各方案的包合物,并测定其挥发油包合率、油转移率、包合物收得率,结果见表5。

2.3.2 模型拟合与显著性检验 采用 Design-Expert 8.05 软件对上述实验数据进行分析,多元回归拟合得到挥发油包合率(Y_1)、油转移率(Y_2)对 β-CD 用量(A)、加水量(B)、研磨时间(C)的二次回归模型:

$Y_1=86.30-1.80A-3.05B-0.69C+2.50AB+1.94BC-6.76A^2-7.04B^2-0.094C^2$, $Y_2=77.67-1.62A-2.75B-0.63C+2.25AB+1.75BC-6.08A^2-6.33B^2-0.083C^2$, 决定系数 $R^2=0.9460$ 。

对回归模型及其系数进行方差分析,得知 Y_3 模型无统计学意义($P>0.05$)。 Y_1 、 Y_2 模型有统计学意义($P<0.05$),表明该模型实验误差小,模型拟合良好。其模型中因素 B 的二项系数 P 值小于 0.05,说明因素 B 对模型响应值(挥发油包合率 Y_1 、油转移率 Y_2)

表5 Box-Behnken 设计方案与试验结果

实验编码	编码值			挥发油包合率 $Y_1/\%$	油转移率 $Y_2/\%$	包合物收得率 $Y_3/\%$
	A	B	C			
1	1	-1	0	82.22	74	93.44
2	1	-1	0	72.22	65	93.68
3	-1	1	0	67.78	61	84.07
4	1	1	0	67.78	61	92.56
5	-1	0	-1	81.11	73	99.60
6	1	0	-1	78.89	71	97.80
7	-1	0	1	80.00	72	90.53
8	1	0	1	77.78	70	89.12
9	0	-1	-1	83.33	75	91.23
10	0	1	-1	76.67	69	84.10
11	0	-1	1	77.78	70	91.41
12	0	1	1	78.89	71	88.70
13	0	0	0	85.56	77	88.18
14	0	0	0	86.67	78	89.51
15	0	0	0	86.67	78	85.70

有影响,为主要影响因素;因素 A、C 的二项系数 P 值均大于 0.05,表明因素 A、C 对模型响应值影响较小,为次要影响因素,结果见表6~7。

表6 二次回归模型方差分析 (Y_1)

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	474.20	9	52.69	9.74	0.0110
A-β-CD 用量	26.06	1	26.06	4.82	0.0796
B-加水量	74.60	1	74.60	13.79	0.0138
C-研磨时间	3.85	1	3.85	0.71	0.4374
AB	25	1	25	4.62	0.0843
AC	0	1	0	0	1.0000
BC	15.09	1	15.09	2.79	0.1557
A ²	168.79	1	168.79	31.20	0.0025
B ²	182.93	1	182.93	33.81	0.0021
C ²	0.032	1	0.032	5.998E-003	0.9413
残差	27.05	5	5.41		
模型失拟误差	26.23	3	8.74	21.29	0.0452
纯差	0.82	2	0.41		
总离差	501.25	14			

2.3.3 响应面分析与优化 根据上述模型方程,采用 Design-Expert 8.05 软件作三维图(见图1~2)。由图可得加水量对挥发油包合率的影响最显著,β-CD 用量的影响次之,研磨时间则影响不大。当挥发油包合率接近最大值时,β-CD 用量约为挥发油加入量的10倍、加水量约为3.6倍量、研磨时间约为1 h。通过 Design-Expert 8.05 软件分析得最优包合工艺方案为:β-CD 用量为挥发油加入量的9.59倍,加3.61倍量的水,研磨1 h。

表7 二次回归模型方差分析 (Y_2)

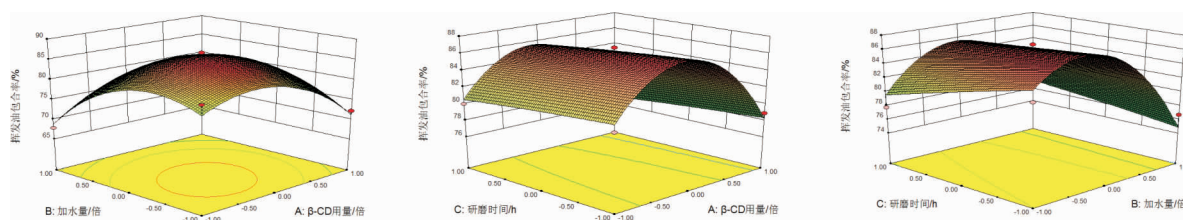
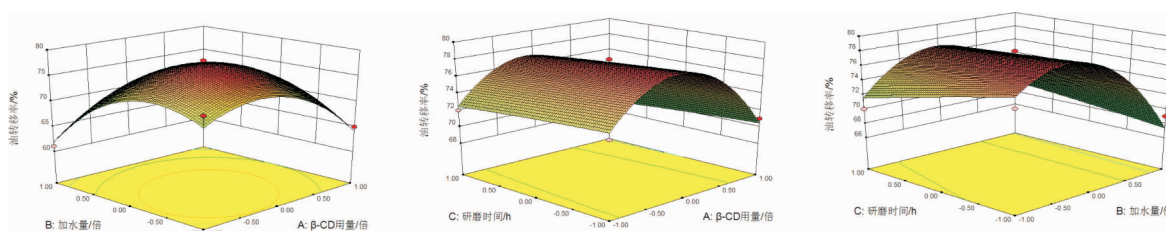
方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	384.08	9	42.68	9.74	0.0110
A- β -CD用量	21.13	1	21.13	4.82	0.0796
B-加水量	60.50	1	60.50	13.80	0.0138
C-研磨时间	3.12	1	3.13	0.71	0.4370
AB	20.25	1	20.25	4.62	0.0843
AC	0.00	1	0.000	0.000	1.0000
BC	12.25	1	12.25	2.79	0.1554
A ²	136.64	1	136.64	31.17	0.0025
B ²	148.10	1	148.10	33.79	0.0021
C ²	0.026	1	0.026	5.850E-003	0.9420
残差	21.92	5	4.38		
模型失拟误差	21.25	3	7.08	21.25	0.0453
纯差	0.67	2	0.33		
总离差	406.00	14			

2.3.4 模型预测 考虑到实际操作更方便,以便于大批量生产,将上述最优包合工艺方案设为: β -CD用量为挥发油加入量的10倍,加3.6倍量的水,研磨1h。在上述条件下,挥发油包合率的理论值为87.78%,油转移率理论值为79.00%。

2.3.5 验证试验 按上述预测模型最优包合工艺条件进行验证试验,实际测得挥发油包合率为86.28% \pm 1.5%,RSD=1.63%;油转移率为77.67% \pm 1.33%,RSD=1.61%。因变量与理论预测值较接近,RSD都小于2%,说明该模型拟合度高,可作为木香挥发油包合工艺的评价指标。

3 小结与讨论

3.1 通过优选 β -环糊精包合木香挥发油的工艺技术,能更有效地控制该制剂的稳定性,以确保其质量

图1 加水量、 β -CD用量和研磨时间相互作用对 Y_1 挥发油包合率影响的响应面图图2 加水量、 β -CD用量和研磨时间相互作用对 Y_2 油转移率影响的响应面图

与疗效。正交设计虽然操作方便,数据处理简单,但偏差较大,只能得出最佳的因素水平组合,响应面设计法不仅能得出整体水平中各因素的最优组合和最优响应值,而且可采用多元二次方程拟合因素和响应值之间的函数关系,对回归方程的分析得出最佳工艺参数。

3.2 本实验应用响应面法优选木香挥发油的 β -CD包合工艺,通过多个响应值综合评估,误差小、精确度更高,试验所得真实值与预测值非常接近,说明本研究方案可行。

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:中国医药科技出版社,2015:62-63.
[2] 潘阳,王小静,潘娟,等.木香炔内酯的药理作用及构效关系研究进展[J].中南药学,2013,11(2):108-112.

[3] 谭小燕.云木香挥发油提取工艺优化研究[J].亚太传统医药,2014,10(12):39-41.
[4] 魏文丽,杨丽花,王佩龙,等.川木香化学成分及质量控制研究进展[J].中药材,2011,34(5):815-819.
[5] 包玉敏,张力,马莹莹,等.木香挥发油化学成分分析[J].光谱实验室,2011,28(1):121-123.
[6] 周广涛,高鹏,戴兵,等.木香中去氢木香内酯和木香炔内酯提取工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(2):40-42.
[7] 魏华,彭勇,马国需,等.木香有效成分及药理作用研究进展[J].中草药,2012,43(3):613-620.
[8] 曹春英,孟宪杰.正交设计法优化木香挥发油的提取工艺[J].现代中西医结合杂志,2012,21(10):1099-1100.
[9] 毛婷,刘佳,包保全,等.正交试验法优选木香挥发油的提取工艺[J].中国民族民间医药,2015,24(16):24-25.
[10] 吴桂花,张艳红,袁慧慧,等.艾叶挥发油和多糖联合提取工艺的响应面法优化[J].时珍国医国药,2011,22(8):1910-1912.
[11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].四部.北京:中国医药科技出版社,2015:203-204.

(本文编辑 苏维)