

### 3 讨论

络通胶囊是一复方中药制剂, 所含成分复杂, 本研究曾选用不同溶剂系统, 如乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1% 磷酸水、乙腈-0.5% 磷酸水作为流动相进行试验。首先进行的是等度洗脱, 但所需检测的几个峰的分离度不理想, 故改用梯度洗脱。经多次试验, 反复调整洗脱程序, 最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品, 所检测的 6 个峰均能达到基线分离。

通过分别对本研究中的 6 个对照品溶液的紫外波长扫描, 发现绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷的最大吸收波长分别为 327、320、276、276、271、278 nm, 因此本研究采用双波长检测, 于 276 nm 波长处检测甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷; 于 327 nm 波长处检测绿原酸和阿魏酸。在此条件下, 所需检测的各峰分离度及峰形均佳, 灵

敏度也较高。

为了尽可能全面反映药材的化学信息, 实验对供试品溶液的制备方法进行考察。选择甲醇 75% 甲醇 50% 甲醇 25% 甲醇 水进行提取, 结果 50% 甲醇提取的样品信息量较多, 峰面积较大; 选择回流、超声提取方法进行了比较, 结果超声法所得峰面积为回流法的 95% 以上, 考虑到操作的方便性, 确定选择超声法; 选择不同超声提取次数, 结果 1 次超声 30 min 即能提取完全。

#### 参考文献:

- [1] 韩景献, 韩力. 通塞脉片治疗缺血性中风恢复期气虚血瘀证临床疗效观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(7): 591-592.
- [2] 李伟东, 徐斌, 狄留庆, 等. RP-HPLC 法测定通塞脉片不同拆方浸膏中绿原酸的含量 [J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(1): 32-33.
- [3] 张莉, 狄留庆, 赵晓莉, 等. 高效液相色谱法测定通塞脉片中黄芪甲苷的含量 [J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(2): 94-95.

## 正交试验法研究柴胡挥发油的提取工艺

李秀琴, 孙秀燕, 陈晓辉, 王玺, 毕开顺\*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** 目的 优化柴胡挥发油提取工艺。方法 采用正交设计对柴胡挥发油的提取方法进行优化, 以不同工艺所挥发油的吸光度以及其中己醛、庚醛和 2, 4-癸二烯醛的量为监测指标。结果 最佳工艺为用 pH 1, 0.1 g/mL NaCl 水溶液浸泡 10 h, 提取时间为 6 h。结论 该方法可用于确定柴胡挥发油的提取条件。

**关键词:** 柴胡; 挥发油; 己醛; 庚醛; 2, 4-癸二烯醛; 正交试验

**中图分类号:** R 284. 2; R 286. 02

**文献标识码:** B

**文章编号:** 0253- 2670(2008)02- 0215- 04

柴胡具有疏肝解郁、和解表里、升举阳气之功效。其主要有效成分为挥发油、皂苷以及多糖。以水蒸气蒸馏法制成挥发油注射液, 临床用于感冒、流行性感及疟疾等症疗效甚好。多年来柴胡挥发油的提取工艺都是仅以其蒸馏液的紫外吸光度值为监测指标对其工艺进行优化<sup>[1]</sup>, 而忽略了对其内在有效成分的监控。本课题组通过 GC-MS 法分析柴胡挥发油, 发现其含有大量脂肪族的醛类物质如己醛、庚醛、辛醛、壬烯醛、2, 4-癸二烯醛等。挥发油中低分子醛酮为解热的有效成分<sup>[2]</sup>, 故本研究采用正交试验法, 以挥发油吸光度值和己醛、庚醛、2, 4-癸二烯醛的量为指标, 考察了不同浸泡时间、水的 pH 值、NaCl 浓度及不同提取时间对柴胡挥发油质量的影

响, 更加科学的对柴胡挥发油的提取工艺进行优化。

### 1 仪器与药品

岛津 GC2010 毛细管气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器 (FD), 岛津 UV 265FW 紫外分光光度仪; 己醛、庚醛对照品 (质量浓度 99.0%) 购于天津光复精细化工研究所, 2, 4-癸二烯醛对照品 (反式, 质量浓度 99.0%) 购于北京百灵威化学技术有限公司; 柴胡药材由沈阳药科大学江泽荣教授进行形态学鉴定, 为辽宁产北柴胡 *Bup leu rum chinense* DC.。

### 2 方法与结果

2.1 因素水平的确定: 对浸泡时间 (A)、浸泡用水的酸度 (B) 和 NaCl 浓度 (C)、提取时间 (D) 4 个因素进行考察, 选用  $L_9(3^4)$  正交试验表进行重复试验

收稿日期: 2007-05-15

作者简介: 李秀琴 (1979—), 女, 山西人, 博士, 主要研究方向为中药质量控制方法。

\* 通讯作者 毕开顺 Tel: (024) 23843711-3380 E-mail: bikaishun@yahoo.com

( $n=2$ ), 因素与水平安排见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A/h	B (pH 值)	C/(g·mL <sup>-1</sup> )	D/h
1	20	1	0.3	4
2	15	2	0.2	6
3	10	4	0.1	8

2.2 指标的确定: 根据文献紫外吸光度值可以反映柴胡挥发性成分量的高低<sup>[3]</sup>, 所以本实验用吸光度值来间接考察得油率。为了优化提取条件, 选用己醛、庚醛和 2, 4-癸二烯醛的量以及吸光度值为综合指标。

2.3 吸光度值的测定: 提取液置于干燥的 5 mL 量瓶中, 加正己烷至刻度, 再精密量取 40  $\mu$ L 溶液, 置于 10 mL 量瓶中, 加正己烷至刻度, 在 266 nm 处测定紫外吸光度值。

2.4 己醛、庚醛和 2, 4-癸二烯醛的测定<sup>[4]</sup>

2.4.1 色谱条件: DB-1 石英毛细管色谱柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m); 进样口温度 250 , 检测器温度 250 ; 载气为氮气, 体积流量为 1.0 mL /m in; 程序升温: 50 保持 4 m in, 以 5 /m in 升温至 180

, 再以 8 /m in 升温至 230 , 保持 5 m in; 柱前压为 77.6 kPa, 分流比为 10 : 1, 进样量为 0.5  $\mu$ L。

2.4.2 内标溶液的制备: 精密称取壬烷 108.8 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 正己烷定容, 即得, 备用。

2.4.3 对照品溶液的制备: 精密称取正己醛对照品 386.3 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 备用。精密称取正庚醛对照品 53.9 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 备用。精密称取 2, 4-癸二烯醛对照品 70.6 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 备用。精密量取正己醛、正庚醛、2, 4-癸二烯醛对照品液各 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 1 mL 内标溶液, 加正己烷稀释, 并加至刻度, 摇匀, 即得, 作为混合对照品溶液。

2.4.4 供试品溶液的制备: 精密称取提取液适量, 置 5 mL 量瓶中, 精密加入 0.5 mL 内标溶液, 用正己烷稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4.5 测定: 用内标对比法测定, 计算。

2.5 正交试验设计与结果: 精密称取北柴胡约 20 g, 按照 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验, 结果见表 2。

表 2 正交试验安排及结果

Table 2 Arrangement and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	己醛/(mg·g <sup>-1</sup> )	庚醛/(mg·g <sup>-1</sup> )	2, 4-癸二烯醛/(mg·g <sup>-1</sup> )	吸光度 A				
1	1	1	1	1	0.261 0	0.289 0	0.026 4	0.028 8	0.023 7	0.024 9	0.379	0.397
2	1	2	2	2	0.277 0	0.279 0	0.029 1	0.033 3	0.050 6	0.051 2	0.372	0.410
3	1	3	3	3	0.247 0	0.256 0	0.029 3	0.027 9	0.062 6	0.052 0	0.552	0.555
4	2	1	2	3	0.313 0	0.277 0	0.033 5	0.029 1	0.035 7	0.033 5	0.669	0.651
5	2	2	3	1	0.246 0	0.269 0	0.023 9	0.025 2	0.049 3	0.052 8	0.312	0.373
6	2	3	1	2	0.173 0	0.128 0	0.025 8	0.020 9	0.028 6	0.028 7	0.281	0.292
7	3	1	3	2	0.325 0	0.320 0	0.032 0	0.030 5	0.052 0	0.041 1	0.529	0.553
8	3	2	1	3	0.259 0	0.266 0	0.032 0	0.031 7	0.032 5	0.029 6	0.303	0.297
9	3	3	2	1	0.238 0	0.232 0	0.026 4	0.027 2	0.036 6	0.036 3	0.292	0.282
己醛	I	1.609 0	1.785 0	1.376 0	1.535 0							
	II	1.406 0	1.596 0	1.616 0	1.502 0							
	III	1.640 0	1.274 0	1.663 0	1.618 0							
	R	0.234 0	0.511 0	0.287 0	0.116 0							
庚醛	I	0.174 8	0.180 3	0.165 6	0.157 9							
	II	0.158 4	0.175 2	0.178 6	0.171 6							
	III	0.179 8	0.157 5	0.168 8	0.183 5							
	R	0.021 4	0.022 8	0.013 0	0.025 6							
2, 4-癸二烯醛	I	0.265 0	0.210 9	0.168 0	0.223 6							
	II	0.228 6	0.266 0	0.243 9	0.252 2							
	III	0.228 1	0.244 8	0.309 8	0.245 9							
	R	0.036 9	0.055 1	0.141 8	0.028 6							
吸光度值	I	2.665	3.178	1.949	2.035							
	II	2.578	2.067	2.676	2.437							
	III	2.256	2.254	2.874	3.027							
	R	0.409	1.111	0.925	0.992							

可见各因素对吸光度值的影响结果为  $B > D > C > A$ , 最佳水平组合为  $A_1 B_1 C_3 D_3$ ; 对己醛的影响结果为  $B > C > A > D$ , 最佳水平组合为  $A_3 B_1 C_3 D_3$ ; 对庚醛的影响结果为  $D > B > A > C$ , 最佳水平组合为  $A_3 B_1 C_2 B_3$ ; 对 2, 4-癸二烯醛的影响结果为  $C > B > A > D$ , 最佳水平组合为  $A_1 B_2 C_3 D_2$ 。

进行重复试验的方差分析, 结果见表 3。可见 A、B 因素对庚醛和 2, 4-癸二烯醛的影响有显著意义, 对其他指标的影响均有非常显著意义。C 因素对所有指标的影响均有非常显著意义。D 因素对己醛、2, 4-癸二烯醛的影响均无显著意义, 对庚醛的影响有显著意义, 对吸光度值的影响有非常显著意义。

表 3 方差分析

Table 3 Variance of analysis

指标	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
2, 4-癸二烯醛	A	0.015 60	2	$7.8 \times 10^{-3}$	23.6	$P < 0.01$
	B	0.118 00	2	0.059 0	178.2	$P < 0.01$
	C	0.079 20	2	0.039 6	119.6	$P < 0.01$
	D	0.083 20	2	0.041 6	125.7	$P < 0.01$
	误差	0.002 98	9	$3.31 \times 10^{-4}$		
己醛	A	$5.22 \times 10^{-3}$	2	$2.61 \times 10^{-3}$	8.0	$P < 0.01$
	B	0.0221	2	$1.10 \times 10^{-2}$	34.0	$P < 0.01$
	C	$7.73 \times 10^{-3}$	2	$3.65 \times 10^{-3}$	11.3	$P < 0.01$
	D	$1.03 \times 10^{-3}$	2	$5.15 \times 10^{-4}$	1.6	
	误差	$2.92 \times 10^{-3}$	9	$3.24 \times 10^{-4}$		
庚醛	A	$4.23 \times 10^{-5}$	2	$2.11 \times 10^{-5}$	5.4	$P < 0.01$
	B	$4.82 \times 10^{-5}$	2	$2.41 \times 10^{-5}$	6.16	$P < 0.01$
	C	$1.58 \times 10^{-5}$	2	$7.91 \times 10^{-5}$	20.2	$P < 0.01$
	D	$5.52 \times 10^{-5}$	2	$2.76 \times 10^{-5}$	7.05	$P < 0.01$
	误差	$3.52 \times 10^{-5}$	9	$3.91 \times 10^{-6}$		
吸光度值	A	$1.45 \times 10^{-4}$	2	$7.25 \times 10^{-5}$	4.34	$P < 0.01$
	B	$2.54 \times 10^{-4}$	2	$1.27 \times 10^{-4}$	7.60	$P < 0.01$
	C	$1.67 \times 10^{-3}$	2	$8.35 \times 10^{-4}$	50	$P < 0.01$
	D	$7.14 \times 10^{-5}$	2	$3.57 \times 10^{-5}$	2.14	
	误差	$1.50 \times 10^{-4}$	9	$1.67 \times 10^{-5}$		

$F_{0.05}(2, 9) = 4.26$   $F_{0.01}(2, 9) = 8.02$

综合考虑各因素对指标的影响, 认为  $A_1$  能提高吸光度值, 同时也能提高 2, 4-癸二烯的量, 但  $A_3$  能提高己醛和庚醛的量, 由极差分析可知 A 因素对 4 个指标的影响都不是最主要的, 所以从节省时间、提高效率的角度考虑, 选择  $A_3$ ;  $B_1$  对吸光度值、己醛、庚醛的量均有提高, 而  $B_2$  能提高 2, 4-癸二烯醛的量, 但是从极差分析看,  $B_1$ 、 $B_2$  之间的差别并不是很大, 故选择  $B_1$ ;  $C_3$  除了对庚醛的量外, 能提高所有的指标, 并且对 2, 4-癸二烯醛的量的影响是最主要的。  $C_2$  虽然也能提高庚醛的量, 但由直观分析可知, C 因素对庚醛的量的影响是最小的, 故选择  $C_3$ ; 由方差分析知, D 因素对己醛和 2, 4-癸二烯醛的量都没有显著影响, 由极差分析可以看出  $D_2$  和  $D_3$  之间的差别并不是很大, 但是  $D_2$  却比  $D_3$  更节省提取时间从而提高了提取效率, 所以选择  $D_2$ 。 因此最佳提取工艺为  $A_3 B_1 C_3 D_2$ , 即用 pH 1, 0.1 mg/mL NaCl 的水溶液浸泡 10 h, 提取时间为 6 h。

2.6 验证试验: 重复最佳条件  $A_3 B_1 C_3 D_2$  即用 pH 1, 0.1 g/mL NaCl 的水溶液浸泡 10 h, 提取 6 h 进

行试验。 结果紫外吸光度为 0.598 (稀释 250 倍)、己醛的量 0.304 0 mg/g、庚醛的量 0.027 1 mg/g 和 2, 4-癸二烯醛的量 0.040 4 mg/g。 此结果与正交表中的最好的试验结果基本一致, 故本研究确定的工艺较为合理。

### 3 讨论

由于柴胡的挥发性成分的量较低, 约占根的 0.15%, 笔者也曾考察过其得油率, 结果表明只有 0.05%, 所以如果用实际的得油率来考察工艺的话, 需要大量的药材, 不太现实。 紫外吸光度值可以反映柴胡挥发性成分量的高低<sup>[3]</sup>, 所以实验用吸光度值来间接考察得油率。 在研究过程中发现柴胡挥发油中含有一定量的糠醛, 而它的紫外最大吸收波长在水中是 275 nm, 在正己烷中为 266 nm。 糠醛的来源推测可能是柴胡多糖水解所得, 通过文献发现其并不具有药效作用。 如果仅以紫外吸光度值为监测指标, 糠醛的存在会影响结果, 所以有必要再选择其他指标进行监测。 本研究以柴胡挥发油的药效成分己醛、庚醛、2, 4-癸二烯醛为监测指标, 对其提取工艺

进行优化更为合理科学。

柴胡挥发油的紫外最大吸收波长一般为 275 nm, 实验经过紫外扫描发现柴胡挥发油蒸馏液的  $\lambda_{\max} = 275 \text{ nm}$ , 但是把挥发油萃取出来溶于有机溶剂(乙醚、氯仿、正己烷等)后,  $\lambda_{\max} = 266 \text{ nm}$ , 推测可能是某些物质发生蓝移所致。故在 266 nm 处测定吸光度值。

#### 参考文献:

- [1] 束梅英, 张 晓, 薛玉梅. 柴胡注射液质量标准探讨 [J]. 甘肃药学, 1997, 12(1): 18-20.
- [2] 湖北省医药工业研究所. 北柴胡挥发油解热抗炎化学成分的研究 [J]. 药学通报, 1982, 17(4): 10-13.
- [3] 王伯俭. 柴胡注射液提取工艺的研究 [J]. 中成药研究, 1984(8): 6-7.
- [4] 李秀琴, 孙秀燕, 陈晓辉, 等. 柴胡挥发油质量的 GC 指纹图谱分析方法 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1165-1167.

## 水凝胶型荆芥油泡沫气雾剂的制备及性质研究

刘 森, 郝保华\*, 李伟泽, 岳奇峰, 张 寒

(西北大学生命科学学院 中药系, 陕西 西安 710069)

**摘 要:** 目的 研制用于治疗阴道炎的水凝胶型荆芥油泡沫气雾剂。方法 以泡沫消除率为考察指标, 选用  $L_9(3^4)$  正交试验选择工艺处方。考察了制剂的抑菌抗炎效果, 并按照《中国药典》2005 年版有关规定进行检查。结果 最佳工艺参数为: 采用 2% 的表面活性剂、混合凝胶基质、8% 的抛射剂, 操作温度 30℃, 所得水凝胶型荆芥油泡沫气雾剂的泡沫洁白、均匀、细腻且持续时间长(约 65 min), 抑杀致病菌效果良好, 符合《中国药典》2005 年版的相关规定。

**结论** 本实验的水凝胶型荆芥油泡沫气雾剂处方设计与制备工艺合理, 为荆芥油的应用提供一种新的制剂类型。

**关键词:** 荆芥油; 泡沫气雾剂; 正交试验; 抑菌抗炎

中图分类号: R284.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2008)02-0218-03

荆芥油在临床上可以抑杀细菌和病毒<sup>[1,2]</sup>, 其中主要活性成分薄荷酮和胡薄荷酮具有解热、镇痛、抗炎作用。胡薄荷酮被认为是荆芥油抗炎的主要有效成分之一, 但易挥发和氧化。荆芥油制备的洗液、栓剂、一般制剂用于细菌性阴道炎和念珠菌阴道炎治疗时不能与腔道黏膜的皱褶处充分接触, 滞留时间也短, 影响药效的发挥。因此本实验将荆芥油研制成水凝胶型泡沫气雾剂以便于患者的使用。

### 1 材料与仪器

昆明种小鼠(第四军医大学实验动物中心)、大肠杆菌(陕西省微生物研究所)、金黄色葡萄球菌(西北大学微生物教研室)、白色念珠菌(西京医院细菌检验室)。

HPMC、MC(西安惠安公司); PS-2(自制); MAP、TX-10、Tweens-80、SDS(南风化工集团); Carbopol-934(上海诺誉公司); 营养培养基(自制), 抛射剂丙烷和异丁烷以及其他试剂均为分析级。荆芥油为淡黄色透明液体, 含胡薄荷酮 1.6%, 为本实验室自制。

JB—2 型自动气雾剂生产机(西安森林气雾剂厂); 79—1 型恒控磁力搅拌器(江苏金坛医疗仪器厂); 罗氏 Ross Miles 泡沫仪。

### 2 方法与结果

2.1 表面活性剂的选择: 分别取常用的表面活性剂 MAP、TX-10、Tweens-80、SDS、PS-2 均按 2% 的量加入, 然后在泡沫仪上测定罗氏法所起泡沫的初始总高度( $h_1$ )和 5 min 后的泡沫高度( $h_2$ ), 泡沫持续时间以泡沫消除率  $[RD = (h_1 - h_2) / h_1]$  表示, 重复 6 次, 计算均值, 结果见表 1。结果 PS-2 和 MAP 的稳定泡沫的能力相当。PS-2 是一种从植物中提取的相对分子质量大的网状结构的非离子型表面活性剂, 抗酸碱能力强, 对人安全无毒。因此综合分析后选用 PS-2 作为稳泡剂。

表 1 表面活性剂的结果

Table 1 Selection of surfactants

表面活性剂	$h_1/\text{mm}$	$h_2/\text{mm}$	RD
MAP	38	37	0.026
TX-10	26	17	0.346
Tweens-80	16	5	0.687
SDS	15	7	0.533
PS-2	39	38	0.025

2.2 因素和水平的确定: 预试验发现影响制备工艺的主要因素为表面活性剂用量(A)、水凝胶基质种类(B)、抛射剂丙烷和异丁烷用量(C)和操作温度