

基于抗炎解热药效的小儿温热口服液中心复合设计-效应面法提取工艺优化研究

余 姣¹, 陈 娇¹, 周文杰³, 杨荣平^{1,2*}

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137
2. 西南大学, 重庆 400715
3. 天圣制药集团股份有限公司, 重庆 400065

摘要: **目的** 确立小儿温热口服液(XWOL)的最优提取工艺。**方法** 通过镇痛、抗炎、解热药效学实验初选提取工艺路线,再以挥发油的提取量为指标,单因素考察浸泡时间、提取时间对鱼腥草等药材挥发油提取的影响;以连翘苷、黄芩苷的提取率及总评“归一值”为指标,通过中心复合设计-效应面法优选水提工艺。**结果** XWOL最佳提取工艺路线为鱼腥草等药材加入10倍量的水,水蒸气蒸馏6 h,收集挥发油及水煎液,药渣与黄芩等药材加入13倍量的水提取2次,每次80 min。**结论** 该提取工艺合理,稳定,可用于工业化大生产。

关键词: 小儿温热口服液; 解热; 抗炎; 镇痛; 连翘苷; 黄芩苷; 挥发油; 中心复合设计-效应面法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)20-3632-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.20.013

Optimization of extraction process of Xiaoer Wenre Oral Liquid based on analgesic and anti-inflammatory pharmacodynamics by central composite design-response surface method

YU Jiao¹, CHEN Jiao¹, ZHOU Wen-jie³, YANG Rong-ping^{1,2}

1. The Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine; Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province-Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and MOST, Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Southwest University, Chongqing 400715, China
3. Tiansheng Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chongqing 400065, China

Abstract: Objective To optimize the extraction process of Xiaoer Wenre Oral Liquid (XWOL). **Methods** Through the analgesic, anti-inflammatory and antipyretic pharmacological experiments, the best extraction process route was primarily optimized, then taking the volatile oil amount as index, single factor test was adopted to investigate the effects of the soaking time and extracting time on extraction process of volatile oil; With contents of phillyrin, baicalin, and overall desirability as comprehensive evaluation indexes, central composite design-response surface method was adopted to predict the water extraction process. **Results** Adding 10 times water, extracting for 6 h, collecting volatile oil and water extract, then the dregs and other medicines were extracted twice with 13 times water, for 80 min each time. **Conclusion** The optimized extraction process is reasonable and feasible, and it can be used in a large scale industrial production.

Key words: Xiaoer Wenre Oral Liquid; antipyretic; anti-inflammatory; analgesia; phillyrin; baicalin; volatile oil; central composite design-response surface method

小儿温热口服液(XWOL)是在继承古方桑菊饮^[1]的基础上发展而成,由桑叶、鱼腥草、连翘、菊花、苦杏仁、桔梗、薄荷、芦根、黄芩、板蓝根、知母、石膏、甘草13味中药组成,具有清瘟解毒、

收稿日期: 2016-05-08

基金项目: 重庆市“121”科技支撑示范工程(cstc2016fzktjcsf0009)

作者简介: 余 姣(1992—),女,在读硕士,从事中药制剂新剂型与新技术研究。Tel: 15123826173 E-mail: 1280117750@qq.com

*通信作者 杨荣平,博士,研究员,从事中药制剂新剂型、新技术及其分析研究。Tel: (023)89029056 E-mail: 550277369@qq.com

疏解风热、宣肺止咳的功效,用于治疗流行性感冒、风热感冒、热毒袭肺^[2-3]。目前临床上常用的服用方法为煎汤内服,然而据文献报道鱼腥草等药材^[4-6]含有丰富的挥发油类成分,具抗炎、抗菌、抗病毒等功效,单纯的采用水煎煮的方式进行提取,会造成此有效成分的损失,不利于最大程度发挥药效,因此为了保证 XWOL 的质量与临床疗效,本实验拟设计 2 条工艺路线,并通过醋酸致小鼠扭体法、二甲苯致小鼠耳肿胀法、干酵母致大鼠发热法的药效实验,选出较优工艺路线;再以挥发油提取量为指标,设计单因素试验优化挥发油的提取工艺;采用中心复合设计-效应面法对水提工艺的加水量和提取时间进行考察,以连翘苷、黄芩苷提取率及其总评“归一值”为综合评价指标,并用二项式拟合建立指标与因素间的数学模型,优选最佳的水提工艺。

1 材料与仪器

WH-2000 型超声波雾化器,粤华医疗器械厂有限公司; Shimadzu 高效液相色谱仪, LC-20AT 型四元泵, CTO-20A 型柱温箱, SPD-20A 型检测器, Labsolutions 色谱工作站, 日本岛津科技有限公司; CP225D 型电子分析天平, 德国赛多利斯公司; 挥发油提取器, 天津市德固特科技发展有限公司。

桑叶、鱼腥草、连翘、菊花、苦杏仁、桔梗、薄荷、芦根、黄芩、板蓝根、知母、甘草、石膏饮片均由重庆国中医药有限公司提供,经重庆市中药研究院秦松云研究员鉴定,分别为桑科桑属植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,三白草科蕺菜属植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的干燥地上部分(鱼腥草),木犀科连翘属植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实,菊科菊属植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,蔷薇科杏属植物杏 *Prunus armeniaca* L. 的干燥成熟果实,桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根,唇形科薄荷属植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分,禾本科芦苇属植物芦苇 *Phragmites communis* Trin. 的干燥根茎,唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根茎,十字花科菘蓝属植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根(板蓝根),百合科知母属植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎,豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎,硫酸盐类矿物硬石膏族石膏,主含含水硫酸钙

($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),均符合《中国药典》2015 年版一部相关项下要求。对照品连翘苷(批号 110821-201514,质量分数以 93.5%计)、黄芩苷(批号 110715-201318,质量分数以 93.3%计),中国食品药品检定研究院;阿司匹林片剂,批号 20151124,湖南制药有限公司;干酵母,批号 20160114,浙江省富阳市杭富生物制品厂。甲醇、乙醇、磷酸为色谱纯,纯化水,其他试剂均为分析纯。

SPF 级昆明种小鼠,18~22 g, Wistar 大鼠,160~180 g,雌雄各半,均由重庆市中药研究院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(渝)-2015-1219。

2 方法与结果

2.1 药效学实验

2.1.1 样品的制备^[7-11]

(1) 水提法:称取全方药材,加入 12 倍量的水提取 2 次,每次 90 min(苦杏仁、黄芩水沸后加入),煎液滤过,合并,浓缩,制成生药质量浓度为 1.0 g/mL 的样品溶液 1。

(2) 水蒸气蒸馏法+水提法:称取鱼腥草、薄荷、菊花 3 味药材,加入 10 倍量的水,水蒸气蒸馏 6 h,收集挥发油,水煎液另器收集,备用;药渣再与桑叶、桔梗、芦根等 10 味药材(苦杏仁、黄芩水沸后加入)加 12 倍量的水提取 2 次,每次 90 min,滤液与上述水煎液合并,浓缩至适量,加入挥发油,制成生药质量浓度为 1.0 g/mL 的样品溶液 2。

2.1.2 醋酸致小鼠扭体法^[12-20] 选取昆明种小鼠 40 只,雌雄各半,随机分为模型组、阳性药(阿司匹林)组、样品 1 组、样品 2 组,每组 10 只。根据等效剂量的直接折算法,模型组给予等体积的生理盐水,阳性药组给药 0.2 g/kg,样品组(给药剂量以生药量计)给药 10 g/kg,连续 ig 给药 3 d。末次给药前禁食,不禁水 12 h,给药 45 min 后,每只小鼠 ip 0.6%冰醋酸溶液 0.2 mL(醋酸溶液临用前配制)致痛,观察注射冰醋酸后 20 min 内各组小鼠扭体反应次数(以腹部收缩内凹、伸展后肢次数计算),并计算抑制率[抑制率=(模型组扭体反应次数-给药组扭体反应次数)/模型组扭体反应次数],结果见表 1。从表 1 中可知阳性药组与样品组均能减少醋酸所致小鼠的扭体次数,与模型组比较,均有显著性差异,通过数据比较可知,样品 2 组与样品 1 组差异不大,两者的镇痛作用相当。

2.1.3 二甲苯致小鼠耳肿胀实验^[14-21] 选取昆明种小鼠 40 只,雌雄各半,随机分为模型组、阳性药(阿

表1 不同提取工艺口服液的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Analgesic effects of oral liquids with different extraction technologies ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数	抑制率/%
模型	—	25.30±3.05	—
阳性	0.2	12.20±4.10**	51.8
样品1	10.0	14.70±3.11**	41.9
样品2	10.0	14.10±4.07**	44.3

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$, 下同* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group, same as below

司匹林)组、样品1组、样品2组,每组10只。每日ig给药1次,连续4d,给药剂量同“2.1.2”项。第4天给药1h后,每只小鼠的右耳两面均匀涂抹0.05 mL的二甲苯致炎,1h后脱颈处死,沿相同的部位剪下两耳,并在两耳同一部位,用直径为9 mm的打孔器打下圆形耳片,电子天平称定质量。以左右耳片的质量之差作为肿胀度,并计算各组小鼠的耳肿胀抑制率[耳肿胀抑制率=(模型组肿胀度-给药组肿胀度)/模型组肿胀度],结果见表2。从表2可知,与模型组相比,阳性组与样品组对二甲苯所致小鼠耳廓急性炎症水肿均有显著的抑制作用,能明显减少耳肿胀度。但样品2组与模型组比较有极显著性差异($P<0.01$),表明样品2组的抑制作用强于样品1组,具有较好的抗炎作用。

表3 不同提取工艺口服液的解热作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 Antipyretic effects of oral liquids with different extraction technologies ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	正常体温/℃	致热4h体温升高值/℃	给药后体温下降值/℃			
				1h	2h	3h	4h
模型	—	37.3±0.3	1.3±0.2	0.2±0.3	0.3±0.2	0.4±0.4	0.7±0.3
阳性	0.1	37.4±0.2	1.5±0.4	1.0±0.2**	1.1±0.6**	1.1±0.4**	1.2±0.6*
样品1	10.0	37.5±0.3	1.4±0.3	0.6±0.5*	0.7±0.2*	0.8±0.3*	0.9±0.8
样品2	10.0	37.4±0.2	1.5±0.3	0.9±0.4**	1.0±0.4**	1.1±0.5**	1.1±0.4*

通过2条工艺路线的药效学实验研究发现,样品2(水蒸气蒸馏+水提组)与样品1差异不大,镇痛作用相当,但样品2(水蒸气蒸馏+水提组)比样品1具有较好的抗炎、解热的作用,更有利于临床治疗。因此为了减少有效成分的损失,提高疗效,选择第2条工艺路线为XWOL的提取工艺路线,并进一步对该工艺路线进行优化。

2.2 单因素考察挥发油的提取工艺

2.2.1 浸泡时间和提取时间对挥发油提取的影响
通过预试验,发现加水量对挥发油的提取没有明显

表2 不同提取工艺口服液的抗炎作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Anti-inflammatory effects of oral liquids with different extraction technologies ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿胀度/mg	抑制率/%
模型	—	16.75±3.02	—
阳性	0.2	9.37±2.14**	44.10
样品1	10.0	13.36±3.10*	20.24
样品2	10.0	10.21±2.71**	39.04

2.1.4 干酵母致大鼠发热反应实验^[16-23] 选取Wistar大鼠60只,实验环境适应性饲养4d,选取体温变化不超过0.3℃,平均体温在37℃左右的合格大鼠,在每只大鼠背部sc 20%干酵母悬液15 mL/kg致热,4h后选择体温升高>1℃的大鼠40只,雌雄各半,随机分为模型组、阳性药(阿司匹林)组、样品1组、样品2组,每组10只,各组均ig给药,模型组给予等体积的生理盐水,阳性组给药0.1 g/kg,样品组(给药剂量以生药量计)给药10 g/kg,药后每小时测肛温1次,连续4次,计算体温下降值,观察解热作用。从表3可知阿司匹林、样品1、样品2对大鼠干酵母混悬液致热均有明显的解热作用,与模型组比较差异显著,但1~3h样品2组与模型组比较差异非常显著($P<0.01$),由此可知样品2组解热作用强于样品1组。

影响,在此单因素试验考察浸泡时间和提取时间对挥发油提取的影响。按处方比例称取鱼腥草、薄荷、菊花3味药材共108 g,置于挥发油提取装置中,加入10倍量的水,分别浸泡0、0.5、1.0、1.5 h,提取8 h,时时记录挥发油的体积,结果见图1。从图中趋势可知,浸泡后,提取前4 h出油量迅速升高,4 h后,四者的出油量接近一致,6 h后,四者所得挥发油总体积相等,且变化极微,表明浸泡时间对挥发油总的提取量,没有明显的影响,且6 h后挥发油已基本提尽,为了节约用时,提高生产效

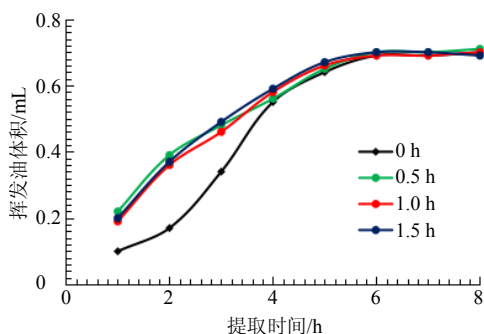


图 1 浸泡时间与提取时间对挥发油提取的影响

Fig. 1 Effects of soaking time and extraction time on extraction of volatile oil

率, 选择无浸泡、提取 6 h 作为挥发油的最佳提取工艺。

2.2.2 验证试验 称取鱼腥草、菊花、薄荷 3 味药材共 108 g, 置于挥发油提取装置中, 加入 10 倍量的水, 水蒸气蒸馏提取 6 h, 记录挥发油的体积, 结果为 0.70、0.71、0.71 mL, 证明所选的提取工艺稳定可行。

2.3 处方中黄芩等其他药材水提工艺考察

2.3.1 色谱条件

(1) 连翘苷: 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (25:75), 检测波长 277 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL。色谱图见图 2。

(3) 黄芩苷: 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%磷酸 (47:53); 检测波长 280 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL。色谱图见图 3。

2.3.2 对照品储备液的制备 精密称取连翘苷、黄芩苷对照品适量, 分别加入甲醇制成含连翘苷 1.610 mg/mL、黄芩苷 2.404 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取样品溶液 5 mL 置于蒸发皿上, 水浴挥干, 残渣加 70% 甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 70% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 0.22 μm 滤膜滤过, 即得。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下连翘苷、黄芩苷对照品溶液适量, 配成不同系列质量浓度的对照品溶液, 按“2.3.1”项下的色谱条件分析, 以对照品的进样质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 回归方程、相关系数及线性范围分别为连翘苷 $Y=6 \times 10^6 X - 7\ 625$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 0.161~0.644 mg/mL; 黄芩苷 $Y=4 \times 10^7 X + 162\ 532$, $r=0.999\ 9$, 线性范

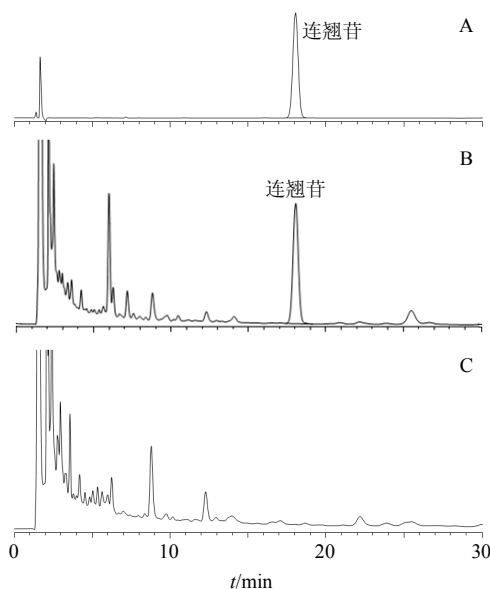


图 2 连翘苷对照品 (A)、样品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of phillyrin reference substance (A), sample (B), and negative control (C)

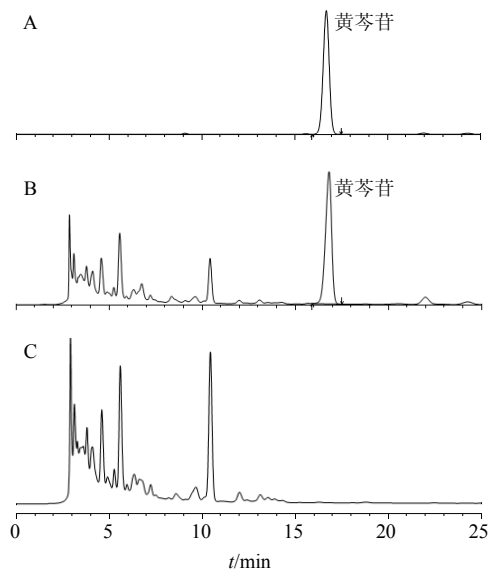


图 3 黄芩苷对照品 (A)、样品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of baicalin reference substance (A), sample (B), and negative control (C)

围 0.481~2.885 mg/mL。

2.3.5 精密度试验 按“2.3.1”项下的色谱条件, 精密吸取同一连翘苷、黄芩苷对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定相应的峰面积, 结果 RSD 值分别为 0.14%、0.16%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样分析, 测定

各成分的峰面积,结果连翘苷、黄芩苷峰面积的RSD分别为0.68%、0.59%,表明对照品溶液24 h内稳定。

2.4 试验设计及结果

在预试验的基础上,发现影响水提的因素主要有加水量、提取时间、提取次数,因提取次数为非连续变量,回归处理困难,结合工业生产的实际情况,暂定提取次数为2次。其余因素水平范围确定为加水量(A)10~14倍,提取时间(B)30~90 min,根据中心复合设计原理,每因素设5水平,用代码 $-\alpha$ 、 -1 、 0 、 1 、 α 来表示($\alpha=1.267$),因素水平、实验安排及结果见表4。

表4 XWOL水提工艺中心复合设计试验安排及结果
Table 4 Central composite design and results of extraction process of XWOL

试验号	A/倍	B/min	提取率/(mg·g ⁻¹)		OD值
			连翘苷	黄芩苷	
1	10.42 (-1)	83.68 (1)	5.65	158.60	0.793
2	10 (-1.267)	60 (0)	4.95	146.90	0.498
3	12 (0)	60 (0)	5.13	165.42	0.778
4	12 (0)	60 (0)	5.15	165.41	0.783
5	14 (1.267)	60 (0)	5.45	156.98	0.734
6	12 (0)	60 (0)	5.12	165.44	0.776
7	13.58 (1)	36.32 (-1)	3.87	137.52	0.175
8	13.58 (1)	83.68 (1)	5.95	167.24	0.968
9	10.42 (-1)	36.32 (-1)	3.54	132.86	0.050
10	12 (0)	30 (-1.267)	3.38	131.36	0.000
11	12 (0)	60 (0)	5.14	165.46	0.781
12	12 (0)	90 (1.267)	6.01	168.76	1.000
13	12 (0)	60 (0)	5.16	165.40	0.785

2.4.1 数据处理 分别测定连翘苷、黄芩苷2个指标的提取率,并利用Hansan方法将每个指标转化为0~1的“归一值”,公式: $d=(Y_i-Y_{\min})/(Y_{\max}-Y_{\min})$,以各指标“归一值”求平均数,得到总评“归一值”(OD)。OD=($d_1d_2d_3\cdots d_k$)^{1/k}(k 为指标数)。采用Design-Expert 8.0.6.1软件对表4的数据进行分析拟合,分别以连翘苷提取率(Y_1)、黄芩苷提取率(Y_2),总评归一值(Y_{OD})为因变量,进行二项式拟合,得二次多项式回归方程: $Y_1=5.15+0.18A+1.04B-7.500\times 10^{-3}AB-0.014A^2-0.33B^2$, $r=0.9978$ ($P<0.05$); $Y_2=165.31+3.62A+14.26B+0.99AB-7.85A^2-9.02B^2$, $r=0.9987$ ($P<0.05$); $Y_{OD}=$

$0.78+0.083A+0.39B+0.013AB-0.10A^2-0.18B^2$, $r=0.9996$ ($P<0.05$)。对OD值进行方差分析,结果见表5。可知A、B、 A^2 、 B^2 的 P 值均 <0.0001 ,达到极显著的水平,表明加水量与提取时间对OD值都有极显著性影响。OD值回归方程模型的 $P<0.0001$,表明该方程到达极其显著的水平,说明此方程对实验数据拟合度好, $r=0.9996$,表明回归方程能较好的反应A、B与OD值之间的关系。

表5 OD值方差分析表

Table 5 Variance analysis on overall desirability

方差来源	平方和	自由度	F值	P值	显著性
模型	1.36	5	2 090.03	<0.0001	***
A	0.050	1	382.81	<0.0001	***
B	1.09	1	8 382.12	<0.0001	***
AB	6.250×10^{-4}	1	4.81	0.0644	
A ²	0.057	1	436.20	<0.0001	***
B ²	0.16	1	1 244.23	<0.0001	***
残差	9.100×10^{-4}	7			
失拟项	8.568×10^{-4}	3	21.47	0.0630	
纯误差	5.320×10^{-5}	4			
总误差	1.36	12			

*** $P<0.001$: 差异极显著

*** $P<0.001$: difference is very significant

2.4.2 效应面及等高线图分析 根据二次多项式模型方程拟合结果,做出连翘苷、黄芩苷及OD值与加水量、提取时间的效应面三维图和二维等高线图,可直观反应加水量、提取时间与连翘苷、黄芩苷、OD值之间交互作用。等高线的形状可以反映出交互作用的强弱,越趋向椭圆表示交互作用越强,越趋向圆形则交互作用越弱。由图4-A可知,提取时间是主要影响连翘苷提取率的因素,随着提取时间的增大,连翘苷的提取率逐渐增大。从图4-B、C可知,加水量与提取时间均影响黄芩苷的提取率与OD值,随着提取时间的延长,加水量的增大,黄芩苷的提取率与OD值逐渐增大,但达到一定的时间与加水量后,继续增加加水量,延长提取时间,黄芩苷的提取率和OD值有所减小,说明在一定的范围内增大加水量与提取时间有助于黄芩苷及连翘苷的提取,OD值达到最大。

2.4.3 最优工艺的预测及验证试验 以OD值为考察指标,根据效应面预测,XWOL最佳的水提工艺条件范围为A 12~13倍,B 80~90 min。考虑到实

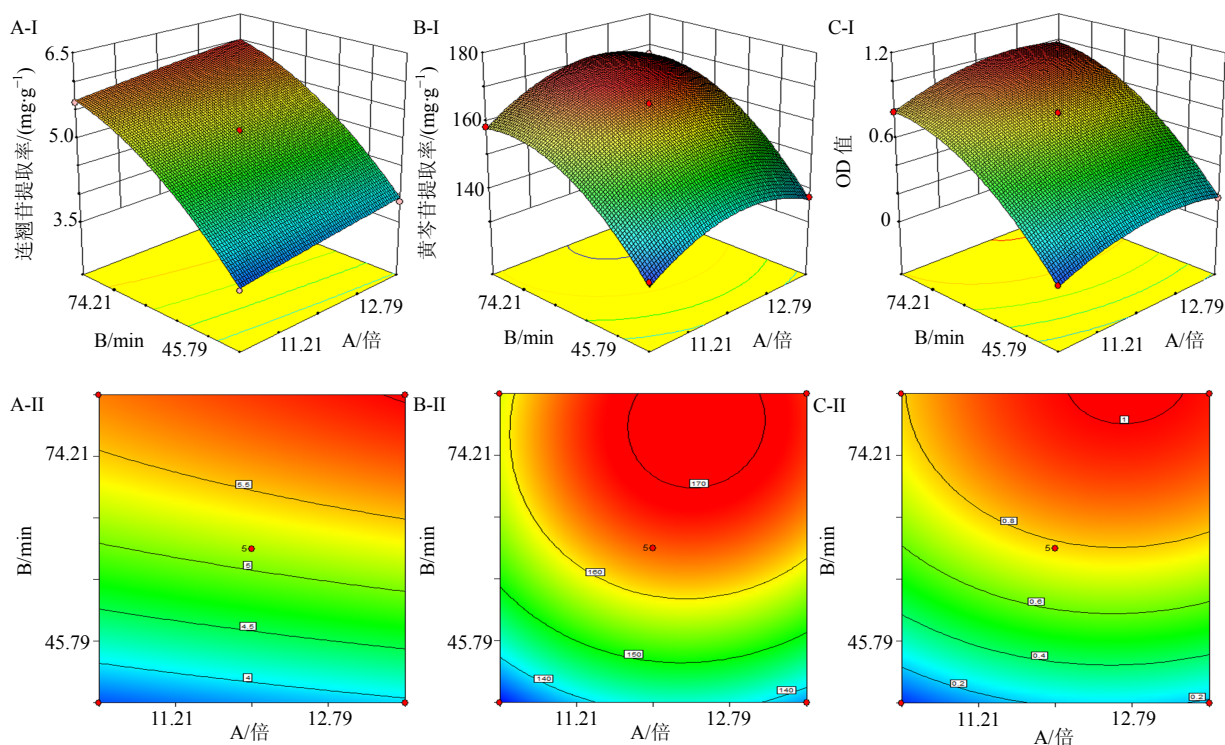


图4 加水量和提取时间对连翘苷提取率(A)、黄芩苷提取率(B)以及OD值(C)影响的三维图(I)和等高线图(II)
Fig. 4 3D Plot (I) and contour plot (II) of effects of water amount and extraction time on phillyrin (A), baicalin (B) extraction rate and OD value (C)

际情况, 将各因素条件进行微调, 最终确定最佳水提工艺为 13 倍量的水提取 2 次, 每次提取 80 min, 并进行验证试验。

按处方比例称取菊花、鱼腥草、薄荷 3 味药材, 共 3 份, 加入适量的水, 水蒸气蒸馏提取 6 h, 滤过, 水煎液另器收集, 药渣与其余 10 味药材按最佳工艺提取。连翘苷的提取率分别为 5.91、5.93、5.89 mg/g, 平均提取率 5.91 mg/g, 与预测值 5.94 mg/g 接近; 黄芩苷提取率为 170.95、169.89、171.01 mg/g, 平均提取率为 170.61 mg/g, 与预测值 171.04 mg/g 基本吻合, 说明建立的数学模型预测性良好, 且该工艺稳定, 重复性好。计算验证试验中连翘苷与黄芩苷的转移率, 分别为 78.8%、75.8%, 为确定最佳提取次数, 将药材按最佳工艺提取 3 次, 计算连翘苷与黄芩苷的转移率, 分别为 79.6%、77.9%, 由此可知提取 3 次, 转移率并未显著增大, 综合实际生产, 为节约用时, 提高生产效率, 选择提取 2 次为最佳提取次数。

3 讨论

温热病, 由外感温热病邪引起, 以热象偏重为主要特征并具有季节性和不同程度传染性的一类疾病, 在现代西医理论中, 类同于上呼吸道感染, 即

上呼吸道(鼻、咽、喉)的病毒性感染。我国每年至少有 1.75 亿儿童因呼吸道感染入院就诊, 发病率约占儿科门诊疾病总量的 60%。对儿童医院随机抽样调查发现, 中成药在临床治疗儿童上呼吸道感染上, 处方量达 87.23%, 临床效果显著。但目前儿童专用药种类较少, 临床多用成人药物治疗, 用法用量不规范, 随意性较大, 而儿童脏腑娇嫩, 对药物的耐受性差, 敏感性强, 易引发各种药物的不良反应。为保障儿童用药安全, 充分发挥中医药在治疗儿童上呼吸感染的特色和长处, 本课题甄选临床效果显著的经验方, 小儿温热为研究对象, 着力打造儿童用药的一线产品。小儿温热上市剂型为口服液, 口服液不仅能最大程度地保证中药组方的精髓, 而且在服用和携带上较其他剂型更为方便。

药材水提时, 由于苦杏仁与黄芩 2 种药材未经炮制, 药材中黄芩与黄芩苷酶, 苦杏仁与苦杏仁酶并存, 提取时若未经炮制除去酶, 在加热慢慢升温的提取过程中, 黄芩苷与苦杏仁苷易被这 2 种酶分解, 从而损失有效成分, 在此可以利用高温环境, 酶失去活性的方法除去药材中的酶。药材共煎时, 待药液完全沸腾后加入黄芩与苦杏仁, 通过高温降低酶的活性, 保证有效成分不被分解。

制备供试品溶液时,将药液挥干后,分别用100%、70%、50%甲醇溶解制样,结果发现50%甲醇溶解完全,但峰形不纯,分离度达不到要求,而用甲醇与70%甲醇溶解制备的样品峰形较好,分离度等各项评价因子合格,但70%甲醇溶解制备的样品沉淀较少,峰面积大,因此选择70%甲醇作为制备供试品溶液的溶媒。

通常采用正交与均匀设计来筛选最优工艺条件,方法简单,试验操作次数少,但没有连续性,不能直观分析各因素之间的相互作用,且精密度较差。本实验通过采用中心复合设计-效应面法^[24]设计试验,不仅充分考虑各因素间相互作用,并通过中心点重复实验提高实验的精密度,同时采用非线性数学模型拟合,预测最佳提取工艺,复相关系数较高,表明可行度较好,预测值与真实值更接近。在多指标的工艺筛选试验中,各指标之间可能相互影响,对某一项指标有利的条件可能不利于另一项指标,因此,需要通过综合评价指标来确定最佳工艺条件。本实验以连翘苷、黄芩苷提取率为基础,参考相关文献换算成OD值,并建立数学模型对其优化与数学分析,直观、全面地反映加水量,提取时间对XWOL中连翘苷、黄芩苷提取的影响,并准确地预测最佳加水量与提取时间,保证有效成分的提取率,减少损失。

本实验虽然结合药效学试验,确定提取工艺路线,并通过单因素考察及中心复合设计-效应面法对其提取工艺进一步优化,再与实际生产相结合,使其趋于合理、科学、稳定,但有效成分的提取率与药效结果是否有相关性,某些化学成分能否代表整个复方药效值,还需更进一步的研究与探讨。

参考文献

- [1] 潘梓烨,常念伟,周梦鸽,等.桑菊饮抗炎活性成分筛选与单体验证[J].中草药,2016,47(8):1289-1296.
- [2] 苏扬.桑菊饮加减治疗支气管炎临床效果评价[J].亚太传统医药,2015,11(11):138-139.
- [3] 莫柳芬,蒋文伟.桑菊饮治疗感染后咳嗽(风热犯肺证)的疗效观察[J].中医药导报,2014,20(7):135-136.
- [4] 杜向群,陈敏燕,许颖.鱼腥草成分、药理的研究进展[J].江西中医药,2012,43(2):66-68.
- [5] 谢占芳,张倩倩,朱凌佳,等.菊花化学成分及药理活性研究进展[J].河南大学学报:医学版,2015,34(4):296-306.
- [6] 沈梅芳,李小萌,单琪媛.薄荷化学成分与药理作用研究新进展[J].中华中医药学刊,2012,7(30):1486.
- [7] 牛玉乐,李焱,孙艳,等.复方鱼腥草口服液提取工艺的研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):76-77.
- [8] 郭若燕,李国庆.正交试验法优选桑菊感冒颗粒剂提取工艺[J].内蒙古中医药,2008,27(2):3.
- [9] 彭凯丽,李新民,李元林,等.正交试验优选复方桑菊口服液中药材的提取工艺[J].中国药房,2014,25(3):243-245.
- [10] 姚静,张超.桑菊感冒合剂提取工艺的研究[J].中国医药指南,2014,12(25):96.
- [11] 丘志春,张诚光,张建军,等.大桑菊合剂提取工艺的研究[J].现代生物医学进展,2011,17(11):3360.
- [12] 徐叔云,卞如镰,陈修.药理实验方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1991.
- [13] 匡淼,杨巧丽,王林林,等.蒿蓝感冒颗粒抗炎、镇痛、镇咳及解热作用的研究[J].中药药理与临床,2013,29(6):145.
- [14] 黄兆胜,施旭光,朱伟,等.黄芪桂枝五物汤及其配伍抗炎镇痛的比较研究[J].中药新药与临床药理,2005,16(2):94-96.
- [15] 刘陶世,赵新慧,段金殿,等.芍药甘草汤总苷抗炎镇痛作用的配伍研究[J].中药新药与临床药理,2007,18(6):428-430.
- [16] 付萍,陈颖丽,杨铭,等.抗病毒滴丸抗炎解热镇痛作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(7):59-61.
- [17] 林棉,高玉桥,林慧,等.羌银解热合剂剂抗炎镇痛解热作用研究[J].中华中医药学刊,2008,26(1):91-93.
- [18] 李翠兵,刘思源,李勇军,等.菊黄上清片的抗炎解热镇痛作用[J].中国医院药学杂志,2010,30(13):1092-1094.
- [19] 陈敬然,孙红梅,尹晓飞,等.牛黄解毒滴丸解热镇痛和抗炎作用实验[J].中国药师,2010,13(9):1258.
- [20] 黄真,毛庆秋,魏佳平.三青叶提取物抗炎镇痛及解热作用的实验研究[J].中国新药杂志,2005,14(7):862-863.
- [21] 陈奇.中药药理研究方法学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2011.
- [22] 时艳,沈映君,许惠琴,等.小儿金宁口服液的解热、镇痛及抗炎作用的研究[J].中药药理与临床,2013,29(1):150-151.
- [23] 陈良儿,谢振家.健华感冒液解热镇痛作用的药效学试验[J].齐齐哈尔医学院学报,2001,22(9):973-974.
- [24] 张传辉,贾成友,李微,等.三七接骨凝胶膏剂的制备及体外透皮特性研究[J].中草药,2015,46(5):654-664.