doi:10.3969 / j.issn.1006 – 4931.2022.04.012

清利塞鼻洗液处方药材中有效成分提取工艺研究*

蓝　伟,胡玉良,曾聪彦

(广州中医药大学附属中山中医院,广东 中山 528400)

摘要:目的　优选清利塞鼻洗液处方药材中有效成分的提取工艺。**方法**　以加水量、浸泡时间、提取时间为考察因素,以挥发油提取量为评价指标,采用 $L_9(3^4)$正交试验优选鱼腥草、薄荷和广藿香药材的挥发油提取工艺;以加水量、浸泡时间、提取时间、提取次数为考察因素,以木兰脂素、欧前胡素、总固体的含量为评价指标,采用 $L_9(3^4)$正交试验优选辛夷、白芷等 6 味药材的水提取工艺。**结果**　挥发油提取的最佳工艺为,加 10 倍量水,浸泡 60 min,蒸馏 3.0 h;水提取的最佳工艺为,加 10 倍量水,浸泡 30 min,提取 3 次,每次 1.0 h。**结论**　优选的提取工艺操作简单、重复性好,可用于清利塞鼻洗液处方药材中有效成分的提取。

关键词:清利塞鼻洗液;挥发油提取;水提取;工艺优化;正交试验

中图分类号:R932;TQ460.6　　**文献标志码:A**　　**文章编号:1006 – 4931(2022)04 – 0049 – 04**

Extraction Process of Active Ingredients from Medicinal Materials in Qinglisaibi Nasal Lotion

LAN Wei, HU Yuliang, ZENG Congyan

(Zhongshan Hospital of TCM Affiliated to Guangzhou University of TCM, Zhongshan, Guangdong, China 528400)

Abstract: Objective　To optimize the extraction process of active ingredients from medicinal materials in Qinglisaibi Nasal Lotion. **Methods**　The extraction process of volatile oil from Houttuyniae Herba, Menthae Haplocalycis Herba and Pogostemonis Herba was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with the water addition amount, soaking time, extraction time as the investigation factors and the extraction amount of volatile oil as the evaluation indexes. The water extraction process of six herbs such as Magnoliae Flos, Angelicae Dahuricae Radix was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with the water addition amount, soaking time, extraction time and extraction times as the investigation factors and the contents of magnolia, ammidin and total solids as the evaluation indexes. **Results**　The optimal extraction process of volatile oil was as follows: adding 10 times the amount of water, soaking for 60 min and distillation for 3.0 h. The optimal water extraction process was as follows: adding 10 times the amount of water, soaking for 30 min, extracting three times, 1.0 h each time. **Conclusion**　The optimal extraction process has the advantages of simple operation and good repeatability, which can be used for the extraction of active ingredients from medicinal materials in Qinglisai Nasal Lotion.

Key words: Qinglisaibi Nasal Lotion; extraction of volatile oil; water extraction; process optimization; orthogonal test

清利塞鼻洗液源于中山市中医院经验方,由辛夷、白芷、广藿香、鱼腥草等9味中药材组方,可用于鼻内镜术后的鼻腔冲洗,能促进鼻腔、鼻窦黏膜形态和功能的恢复。目前,清利塞鼻洗液的提取工艺为水煎煮提取,而鱼腥草、广藿香和薄荷药材的挥发油含量高,有效成分易损失,故有必要对其现有提取工艺进行改良。辛夷和白芷具有祛风散寒、宣肺通窍之功效,其提取物木兰脂素和欧前胡素的含量将直接影响制剂的质量和疗效。本研究中采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,药渣再与其余药味进行水提取[1],并对主要工艺参数进行正交优选,筛选出最佳提取工艺。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(安捷伦科技 < 中国 > 有限公司);BS224S 型电子天平(赛多利斯斯泰迪 < 北京 > 有限公司,精度为 0.1 mg);HWS – 12 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);东方 A 型电热恒温干燥箱、挥发油提取装置(广州东方电热干燥设备有限公司);HX64268446 型薄层普通调温电热套层析硅胶板(上海默克化工技术有限公司,规格为 10 cm × 20 cm);YH 型调温电热套(江苏建湖县近湖镇教学仪器厂)。

1.2　试药

木兰脂素对照品(批号为110882 – 201909,含量≥95%),欧前胡素对照品(批号为 110826 – 201918,含量≥98%),广藿香对照药材(批号为 121135 – 200503),鱼腥草对照药材(批号为 121046 – 200904),薄荷对照药材(批号为 120916 – 201109),均购自中国食品药品检定研究院;其余试剂均为分析纯,水为超纯水;辛夷、白芷、薄荷等9味药材均购自广州致信药业股份有限公司,药材信息见表1。

2　方法与结果

2.1　木兰脂素和欧前胡素含量测定

2.1.1　色谱条件

色谱柱:Simpsil C_8 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);

*基金项目:广东省中山市医学科研项目[2019A020435]。

第一作者:蓝伟,男,大学本科,主管药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)243612118@qq.com。

表1 药材信息

Tab. 1 Information of medicinal materials

药材	批号	药材	批号	药材	批号
辛夷	20200319	广藿香	20191201	菊花	20200104
白芷	20200228	鱼腥草	20200430	川芎	20191130
薄荷	20200426	细辛	20191211	黄芩	20200324

流动相：乙腈（A）－水（B），梯度洗脱（0～30 min时36%A，45 min时75%A，50 min时80%A）；流速：1.0 mL/min；检测波长：230 nm；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

2.1.2 溶液制备

取木兰脂素对照品0.024 12 g，精密称定，加甲醇溶解并定容至25 mL；取欧前胡素对照品0.003 5 g，精密称定，加甲醇溶解并定容至100 mL；精密吸取上述溶液各5 mL置10 mL容量瓶中，摇匀，制成木兰脂素、欧前胡素质量浓度分别为482.4，17.5 μg/mL的混合对照品贮备液；精密量取5 mL，加甲醇定容至20 mL，即得木兰脂素、欧前胡素质量浓度分别为120.6 μg/mL和4.375 μg/mL的混合对照品溶液。取样品20 mL，加乙酸乙酯，提取2次，每次15 mL，合并提取液，蒸干，残渣加甲醇使溶解，定容至5 mL，充分混匀，经0.45 μm微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。取除辛夷、白芷以外的药材样品，按清利塞鼻洗液制备工艺制成阴性样品，再按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验：取2.1.2项下3种溶液各10 μL，按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果供试品溶液色谱中，在与对照品溶液色谱相同位置处有相应吸收峰，且阴性对照无干扰，详见图1。

线性关系考察：取2.1.2项下混合对照品贮备液适量，用甲醇稀释成木兰脂素质量浓度为30.15，60.30，120.60，241.20，482.40 μg/mL，欧前胡素质量浓度为1.093 75，2.187 5，4.375，8.75，17.5 μg/mL的系列混合对照品溶液；精密量取10 μL，按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以各成分的质量浓度为横坐标（X，μg/mL）、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，得回归方程，木兰脂素为$Y_1 = 23.753\ 76X_1 - 134.55$（$R^2 = 0.999\ 8$，$n = 5$），欧前胡素为$Y_2 = 53.062\ 73X_2 - 4.791\ 67$（$R^2 = 0.999\ 8$，$n = 6$）。结果表明，木兰脂素和欧前胡素质量浓度分别在30.15～482.4 μg/mL和1.093 75～17.5 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：精密量取2.1.2项下混合对照品溶液10 μL，按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。结果木兰脂素和欧前胡素峰面积的*RSD*分别为0.95%和0.97%（$n = 6$），表明仪器精密度良好。

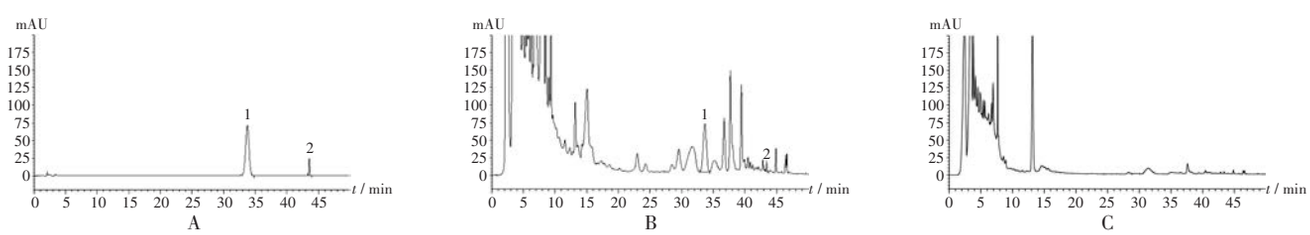
稳定性试验：取2.1.2项下供试品溶液适量，室温下分别于0，5，10，15，24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果木兰脂素和欧前胡素峰面积的*RSD*分别为0.38%和1.49%（$n = 5$），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

重复性试验：取同一批样品，共6份，各20 mL，按2.1.2项下方法制备供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果木兰脂素和欧前胡素平均含量的*RSD*分别为1.01%和0.69%（$n = 6$），表明方法重复性良好。

加样回收试验：取同一批样品，共6份，各10 mL，分别精密加入已知含量的混合对照品溶液1 mL，按2.1.2项下方法制备供试品溶液，再按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算回收率。结果见表2。

2.2 挥发油提取工艺优化

正交试验：挥发油提取以加水量（因素A）、浸泡时间（因素B）、提取时间（因素C）为考察因素，以挥发油量为评价指标进行$L_9(3^4)$正交试验[2-7]。结果见表3至表5。由表4可见，提取时间是出油量的主要影响因素，最佳工艺可初步确定为$A_2B_3C_2$或$A_3B_3C_2$。由表5可见，三因素对提取结果均无显著影响，故根据挥发油量采取加10倍量水、浸泡60 min、提取3 h的方案，此时的出油量较高，加水量对出油量影响不大，故挥发油最佳提取方案为$A_2B_3C_2$。



1. 木兰脂素 2. 欧前胡素

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Magnolia 2. Ammidin

A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatogram

表 2 加样回收试验结果（$n=6$）

Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(μg)		加入量(μg)		测得量(μg)		回收率(%)		$\bar{X}$(%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
299.4	6.4	241.2	8.75	547.86	15.40	103.01	102.86	103.69	100.98	1.25	1.39
299.4	6.4	241.2	8.75	546.48	15.12	102.44	99.66				
299.4	6.4	241.2	8.75	546.48	15.27	102.44	101.37				
299.4	6.4	241.2	8.75	549.68	15.09	103.76	99.31				
299.4	6.4	241.2	8.75	553.31	15.30	105.27	101.71				
299.4	6.4	241.2	8.75	553.17	15.34	105.21	102.17				

注：A 为木兰脂素，B 为欧前胡素。

Note: A is magnolia, and B is ammidin.

表 3 挥发油提取工艺优化因素水平

Tab. 3 Factors and levels of extraction process of volatile oil

水平	因素 A(倍)	因素 B(min)	因素 C(h)
1	8	0	2
2	10	30	3
3	12	60	4

表 4 挥发油提取工艺优化正交试验设计与结果（$n=9$）

Tab. 4 Design and results of orthogonal test for the extraction process of volatile oil ($n=9$)

序号	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D(空白)	挥发油(mL)
1	1	1	1	1	0.30
2	1	2	2	2	0.35
3	1	3	3	3	0.39
4	2	1	2	3	0.40
5	2	2	3	1	0.33
6	2	3	1	2	0.38
7	3	1	3	2	0.40
8	3	2	1	3	0.28
9	3	3	2	1	0.42
K_1	0.35	0.37	0.32	0.35	
K_2	0.37	0.32	0.39	0.38	
K_3	0.37	0.40	0.37	0.36	
R	0.02	0.08	0.07	0.03	

表 5 挥发油提取工艺优化方差分析结果

Tab. 5 ANOVA results of the extraction process of volatile oil

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	0.001	2	0.000 5	1.000	0.547
B	0.009	2	0.004 5	9.000	0.114
C	0.008	2	0.004 0	8.000	0.126
D(误差)	0.001	6	0.000 5		

注：$F_{0.05}(2,2) = 19.00$。

Note: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$.

验证试验：取药材样品（鱼腥草 40 g、薄荷 20 g、广藿香 20 g），置圆底烧瓶中，并安装冷凝管和挥发油测定器，持续加热，按最佳工艺回流提取，收集挥发油[8-9]，平行操作 3 次，结果挥发油量分别为 0.40，0.40，0.41 mL，平均 0.403 mL，*RSD* 为 1.43%。

2.3 水提取工艺优化

正交试验：以加水量（因素 A）、浸泡时间（因素 B）、提取次数（因素 C）和提取时间（因素 D）为考察因素，以木兰脂素、欧前胡素和总固体含量为评价指标进行 $L_9(3^4)$ 正交试验[10-13]。结果见表 6 至表 8。由表 7 和表 8 可见，因素 C 和因素 D 是主要影响因素，其中因素 C 对总固体含量有显著影响，因素 D 对欧前胡素含量有显著影响。综合各方面因素进行分析，最终确定水提取工艺为 $A_2B_2C_3D_1$。

验证试验：取除鱼腥草、薄荷、广藿香以外的药材样品，加入挥发油提取后剩余的药渣，收集煎煮液，滤过，浓缩至清膏，加入羟苯乙酯和苯甲酸钠适量，混匀，按最佳水提工艺，加水至规定量，即得水提样品，并进行含量检测，平行操作 3 次。结果见表 9。

表 6 水提取工艺优化因素水平

Tab. 6 Factors and levels of water extraction process

水平	因素 A(倍)	因素 B(min)	因素 C(次)	因素 D(h)
1	8	0	1	1.0
2	10	30	2	1.5
3	12	60	3	2.0

表 7 水提取工艺正交试验设计与结果（$n=9$）

Tab. 7 Design and results of orthogonal test for the water extraction process ($n=9$)

序号	因素				木兰脂素	欧前胡素	总固体
	A	B	C	D	(μg/mL)	(μg/mL)	(mg/mL)
1	1	1	1	1	11.23	1.07	60.52
2	1	2	2	2	49.96	0.70	122.88
3	1	3	3	3	27.56	0.38	117.66
4	2	1	2	3	30.78	0.52	119.05
5	2	2	3	1	62.35	1.07	138.05
6	2	3	1	2	6.89	0.52	75.97
7	3	1	3	2	35.67	0.86	129.37
8	3	2	1	3	6.67	0.31	62.51
9	3	3	2	1	13.02	0.97	106.55
K_1	29.58	25.90	8.26	28.87			
K_2	33.34	39.66	31.25	30.84			
K_3	18.45	15.82	41.86	21.67			
R	14.89	23.84	33.60	9.17			
K'_1	0.72	0.82	0.63	1.04			
K'_2	0.70	0.69	0.51	0.69			
K'_3	0.71	0.62	0.80	0.40			
R'	0.02	0.20	0.29	0.64			
K''_1	100.26	102.89	66.24	101.79			
K''_2	111.19	107.98	116.16	109.41			
K''_3	99.48	100.06	128.53	99.74			
R''	11.71	7.92	62.94	9.67			

表8 水提取工艺优化方差分析结果

Tab. 8 ANOVA results of the water extraction process

方差来源	木兰脂素					欧前胡素					总固体				
	Ⅲ型平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	Ⅲ型平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	Ⅲ型平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值
A	359.60	2	179.80	0.390	0.693	0.000	2	0.000	0.001	0.999	0.000	2	0.000	0.114	0.894
B	859.11	2	429.56	1.136	0.382	0.057	2	0.029	0.272	0.770	0.000	2	0.000	0.042	0.959
C	1 769.78	2	884.89	3.908	0.082	0.030	2	0.015	0.134	0.877	0.007	2	0.004	38.422	0.000
D	139.78	2	68.89	0.140	0.872	0.603	2	0.302	20.701	0.002	0.000	2	0.000	0.068	0.935
R	9 750.43	9	1083.38			5.424	9	0.603			0.104	9	0.797		

注：$F_{0.05}(2,2) = 19.00$。

Note: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$.

表9 水提取工艺优化验证试验结果

Tab. 9 Results of the validation test for the water extraction process

评价指标	样品			$\overline{X}$	*RSD* (%)
	1	2	3		
木兰脂素含量(μg/mL)	57.40	60.53	55.67	57.87	4.26
欧前胡素含量(μg/mL)	0.93	0.92	0.96	0.94	3.02
总固体含量(mg/mL)	142.78	145.77	145.91	144.82	1.22

3 讨论

3.1 提取工艺路线设计

本研究中清利塞鼻洗液的制备是在考虑实验室设备条件、工业生产安全可行性等因素的基础上，设计合理的提取工艺路线。由于方中鱼腥草、广藿香和薄荷均含挥发油成分，故应综合考虑挥发油和提取油后药渣的水溶性成分，采用水蒸气蒸馏提取法。辛夷、白芷等药材的有效成分在水中溶解度高，故采用水提取法。

3.2 评价指标选择

中药方剂主要依靠其所含多种化学成分和活性分子发挥综合、协同的治疗作用。对提取工艺条件参数的选择，不仅要考虑主要药味所含指标成分的有效提取量，而且要兼顾其他药材的有效成分，仅单个定量指标不易将各味中药材的有效成分均充分表达，故本研究中的水提取工艺选择了木兰脂素、欧前胡素和总固体的含量作为评价指标。木兰脂素是辛夷的主要有效成分，欧前胡素是白芷的主要有效成分，两者均为方中主要的水溶性成分，与总固体含量结合评价，就能筛选出较合理的水提取工艺参数。

3.3 正交试验分析

采用正交试验优化中药类洗剂提取工艺时，多以有效成分、总固体的含量检测优选工艺参数，本试验中分别筛选出挥发油提取和水提取的最佳条件，经优选工艺提取的洗液质量得到了保证[14-15]。验证试验结果表明，水提液中木兰脂素含量波动较大，可能与药材质量及取样不均有关，日后将扩大样品量进行研究，以期得到更准确的数据。

3.4 薄层色谱分析

为了验证本课题所设计的提取工艺流程是否合理可行，对产品质量是否有提高作用，对采用新旧工艺所得样品进行薄层色谱对照。结果表明，采用新工艺所得样品，保留了更多挥发油成分，大幅提高了产品质量。

参考文献

[1] 王淑英，郑 杰，纪 睿. 4种药材挥发油提取工艺研究[J]. 首都食品与医药，2016，23(2)：54-56.
[2] 刘 丽，王维维，张 瑞. 广藿香挥发油提取工艺的优化选择[J]. 光谱实验室，2013，30(6)：3079-3081.
[3] 黄兴雨，杨黎燕，尤 静. 薄荷挥发油研究进展[J]. 化工科技，2019，27(3)：70-74.
[4] 张壮丽，赵 宁，赵志鸿，等. 鱼腥草挥发油提取工艺优化[J]. 中国医药科学，2015，5(1)：82-85.
[5] 孟祥平，王治平，王一飞，等. 鼻渊滴丸挥发油提取工艺的研究[J]. 中药材，2004，27(11)：869-871.
[6] 夏 泉，谢永忠，黄赵刚，等. 正交设计优化黄精多糖的水提醇沉工艺[J]. 中国药师，2006，9(10)：905-906.
[7] 张周菊，张 悦，彭翠香，等. 药效学结合正交试验优选蛇归止痒方的提取工艺[J]. 中国药房，2018，29(19)：2662-2666.
[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：4.
[9] 陈 敏. SPSS在正交设计中的应用[J]. 科技风，2020(26)：27-28.
[10] BRERETON RG. Determining the significance of individual factors for orthogonal designs[J]. Journal of Chemometrics，2019，33(6)：e3124.
[11] 郭 澄，张 纯，林厚文，等. 正交试验在中药制剂研究中应用[J]. 时珍国医国药，2000，11(4)：360-362.
[12] 张 岳，宋洪涛，林 兵，等. 正交试验法优化复方苍夷胶囊提取工艺研究[J]. 海峡药学，2017，29(5)：25-28.
[13] 胡玉良，杨素红，邓健安. 正交试验优选双花抗病毒口服液提取工艺[J]. 中国执业药师，2014，11(10)：15-18.
[14] 宋国红，李 卿，尹小玲. 正交试验法优选益阴消渴滴丸提取工艺[J]. 中国药业，2019，28(3)：22-24.
[15] 金伟华，于波涛，张 明，等. 复方连翘滴鼻液制备工艺优化及质量控制[J]. 中国药业，2021，30(6)：32-35.

(收稿日期：2021-06-12)