

文章编号: 1004-4353(2023)03-0262-06

东北贯众提取物泡腾片的制备及其对 宠物驱虫效果的初步研究

童青青, 徐铭优, 金春梅
(延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以东北贯众提取物为主药, 采用酸碱分开制粒后压片工艺制备了一种具有驱虫效果的东北贯众提取物泡腾片. 正交实验显示, 该泡腾片的最佳配方(质量分数)为: 东北贯众提取物 4.0%, 复合维生素 0.2%, 柠檬酸 29.5%, 碳酸氢钠 15.5%, 糖粉 15.0%, 滑石粉 0.15%, β -环糊精 35.65%. 经测定显示, 该泡腾片对小鼠腹腔内的弓形虫的抑制率与螺旋霉素相当, 且其重量差异、崩解时限、硬度、pH、发泡量均符合 2020 版《中华人民共和国药典》中的相关标准, 因此该东北贯众提取物泡腾片可作为一种潜在的宠物驱虫药物进行进一步研究.

关键词: 东北贯众提取物; 泡腾片; 正交实验法; 驱虫效果; 弓形虫

中图分类号: R944.4

文献标志码: A

The preparation of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract effervescent tablets and its preliminary study for the effect of pet deworming

TONG Qingqing, XU Mingyou, JIN Chunmei
(College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: A pet deworming effervescent tablet was prepared using *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract as the main ingredient and employing a process of granulation of acid and alkali separation. Orthogonal experiments results showed that the optimal formula (mass fraction) for the effervescent tablet was as follows: 4.0% of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract, 0.2% of multivitamin, 29.5% of citric acid, 15.5% of sodium bicarbonate, 15.0% of powdered sugar, 0.15% of talcum powder and 35.65% of β -cyclodextrin. The results showed that the *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract effervescent tablet has a similar inhibitory rate against *Toxoplasma gondii* in the abdominal cavity of mice as spiramycin, and its weight difference, disintegration time, hardness, pH, and foaming capacity met the standards of the 2020 edition of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Therefore, the *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract effervescent tablet can be further studied as a potential pet deworming medicine.

Keywords: *Dryopteris crassirhizoma* Nakai extract; effervescent tablet; orthogonal method; effect of deworming; *Toxoplasma gondii*

收稿日期: 2023-06-19

基金项目: 吉林省大学生创新创业训练计划(S202210184031)

第一作者: 童青青(2002—), 女, 本科生, 研究方向为天然药物抗感染.

通信作者: 金春梅(1973—), 女, 博士, 教授, 研究方向为天然药物抗感染.

0 引言

近年来随着人们生活水平的提高,越来越多的人喜欢饲养宠物,但在饲养的过程中若不重视宠物的驱虫问题,则很容易会引发多种人畜共患病,如弓形虫病、利什曼原虫病、血吸虫病等,进而对人畜造成严重的健康危害。目前,市场上销售的宠物驱虫药物大多为化学药物,如甲氧苄胺嘧啶、磺胺嘧啶、吡喹酮、氨丙啉等,但这些药物均存在一定的毒副作用,长期使用会使宠物受到不可逆的损伤^[1-3]。

东北贯众为粗茎鳞毛蕨(*Dryopteris crassirhizoma* Nakai)的干燥根茎,主要分布在我国的黑龙江、吉林、辽宁、河北等地。东北贯众中主要包含贯众素、绵马酸、黄绵马酸、绵马素、异槲苷、紫云英苷、冷蕨苷等成分^[4-5],研究显示这些成分具有抗流感病毒、抗菌^[6]、抗锥虫、抗疟原虫^[7]、抗胰蛋白酶^[8]、抗 HIV-1 蛋白酶^[9]、抗脂肪酸合成酶^[10]等活性,但目前为止对其驱虫效果的研究鲜有报道。泡腾片是片剂的一种,具有体积小、崩解速度快、依从性高等优点^[11],目前被广泛应用于医药、食品等行业中。但在制备中药泡腾剂时,由于中药粉体或浸膏存在吸湿性强、流动性差等特性,因此将其制备成泡腾片存在一定的难度。基于上述研究,本文制备了一种宠物驱虫用东北贯众提取物泡腾片,并通过实验验证了该泡腾片可作为一种潜在的宠物驱虫药物进行进一步研究。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

东北贯众,北京仟草中药饮片有限公司生产;实验动物为 6~8 周龄的雌性昆明小鼠(体质量为 18~22 g),延边大学实验动物中心提供;弓形虫 RH 株,延边大学药学院提供;石油醚、柠檬酸、碳酸氢钠、 β -环糊精、无水乙醇、螺旋霉素均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司生产;去离子水,广州亚飞水处理设备有限公司生产;复合维生素,江苏省惠氏制药有限公司生产;糖粉(分析纯),沈阳化学试剂厂生产;滑石粉(分析纯),天津市致远化学试剂有限公司生产。

1.2 实验仪器

AL-104 电子天平,上海梅特勒-托利多仪器

有限公司生产;78X-2 型片剂四用测定仪,上海黄海药检仪器厂生产;标准检验筛,浙江上虞市纱筛厂生产;PHS-3E 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司生产;N-1300 型旋转蒸发器、NVP-1000 型隔膜真空泵,东京理化器械株式会社生产;DZ-2BC 型真空干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司生产;CF16RX II 低温高速离心机,日立工机株式会社生产;HW-15T 型红外压片机,天津市津维电子仪表有限公司生产。

1.3 主药的制备

将粉碎后的东北贯众(粒径为 1.18 mm)过筛后置于体积分数为 70% 的乙醇中,浸泡 5 h 后在 80 °C 下回流提取 2 h;过滤,旋转蒸发滤液后得东北贯众浸膏,再用石油醚对浸膏进行萃取即得东北贯众提取物。将所得提取物放置在 60 °C 真空干燥箱中干燥 24 h,取出粉碎(粒径为 106 μ m)后置于干燥器中保存备用。

1.4 泡腾片辅料的选择

1.4.1 崩解剂

由于宠物食品的适口性会直接影响宠物进食的积极性,因此本文选择口感好、易获得的柠檬酸和碳酸氢钠分别作为泡腾片的酸源和碱源^[12]。

1.4.2 甜味剂

为了增加泡腾片的适口性,本文选用糖粉作为泡腾片的甜味剂和赋形剂^[13]。实验时,糖粉添加量的选取分别以其占泡腾片总质量的 10.0%、12.5%、15.0%、17.5%、20.0% 进行测定,每个添加量平行测试 3 次。

1.4.3 填充剂

为了增加泡腾片的稳定性,防止药物氧化和分解以及掩盖药物的异味^[14],本文选用 β -环糊精作为泡腾片的填充剂。

1.4.4 润滑剂

参照文献^[15]的研究,本文选用滑石粉作为泡腾片的润滑剂,其添加量为泡腾片总质量的 0.15%。

1.4.5 复合维生素

为提高宠物的免疫力,本文依据参考文献^[16]的研究结果,在泡腾片中加入了一定量的复合维生素(占泡腾片总质量的 0.2%)。

1.5 泡腾片的制备

本文采用酸碱分开制粒后压片的方法制备泡

腾片. 制备过程为: ①称取一定质量的东北贯众提取物后分别与酸源和碱源均匀混合. ②分别加入糖粉、 β -环糊精、复合维生素后, 再加入体积分数为 75% 的乙醇, 由此得可塑性的酸性和碱性软材. ③将制好的软材在 60 °C 真空干燥箱中干燥 3 h. ④将烘干后的软材过筛(0.25~1.40 mm), 再加入滑石粉进行压片即得泡腾片.

1.6 泡腾片驱虫作用的测定

驱虫实验设置为 3 组, 分别为弓形虫组、泡腾

片组和螺旋霉素组, 每组测试小鼠均为 6 只. 实验时采用本实验室建立的急性感染模型来观察虫体数目的变化, 并计算泡腾片对弓形虫的抑制率^[17].

1.7 泡腾片参数的测定

为了确定东北贯众提取物(主药)的添加量, 分别称取 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g 的主药溶解于 100 mL 水中, 并以汤色、口感和香气(各 5 分)为评价标准^[18]对提取液进行感官评价, 以此筛选出最佳的主药添加量. 感官评分标准见表 1.

表 1 提取液的感官评分标准

指标	评价标准	分数
汤色	具有贯众固有的淡黄色, 液体澄清无沉淀	4.6~5.0
	具有贯众固有的淡黄色, 液体中有少量沉淀	4.1~4.5
	具有贯众固有的淡黄色, 液体中有大量沉淀	3.1~4.0
	非淡黄色液体(颜色较淡或较深), 液体浑浊, 并有大量沉淀	2.1~3.0
	液体几乎无色, 有大量沉淀	0~2.0
口感和香气	酸甜适口, 有轻微的贯众香气	4.6~5.0
	酸甜适口, 有较浓郁的贯众香气	4.1~4.5
	偏甜或偏酸, 有较浓郁的贯众香气	3.1~4.0
	过甜或者过酸, 有十分浓郁的贯众香气	2.1~3.0
	酸涩, 几乎无贯众香气	0~2.0

为选取最佳的酸碱配比和酸碱添加量, 本文按照酸碱比例(质量比)为 1.3 : 1、1.5 : 1、1.7 : 1、1.9 : 1、2.0 : 1 和崩解剂添加量为 30.0%、35.0%、40.0%、45.0%、50.0%(质量分数)分别进行压片和测试, 以崩解时限、CO₂ 释放量和泡腾片溶液的 pH 值为指标确定最佳的酸碱比例.

CO₂ 释放量的计算方法为: 称量一定质量的泡腾片和 100 mL 去离子水(二者的质量为 m_1), 然后将片剂溶于 100 mL 的去离子水中; 待崩解完全后称量溶液的质量(m_2), 将 m_1 减去 m_2 所得的值即为 CO₂ 释放量.

2 结果与分析

2.1 主药添加量的确定

不同主药添加量对泡腾片感官的影响见表 2. 由表 2 可知, 随着主药添加量的增加, 泡腾片的汤色、口感和香气的评分出现先上升后下降的趋势, 其中当主药的添加量大于 4.0% 时, 感官得分开始下降. 其原因可能是: 东北贯众气味较浓, 味道苦涩, 添加量增多会降低宠物的适口性. 因此,

本文选取质量分数为 3.0%、4.0%、5.0% 的 3 个水平进行后续的正交优化实验.

表 2 主药添加量对泡腾片感官评分的影响

组别	添加量(质量分数)/%	汤色的得分结果	口感和香气的得分结果
1	2.0	4.5±0.1	4.4±0.2
2	3.0	4.7±0.1	4.5±0.1
3	4.0	4.8±0.1	4.8±0.1
4	5.0	4.5±0.1	4.5±0.1
5	6.0	4.2±0.1	4.4±0.1

2.2 崩解剂添加量的确定

图 1 为泡腾片酸碱比例对崩解时间、CO₂ 释放量和 pH 值的影响. 由图 1 可以看出: 增大酸碱比例可降低泡腾片的崩解时间和增加 CO₂ 的释放量, 但当酸碱质量比超过 1.9 : 1 时, pH 值出现大幅下降. 因此, 本文选取比例为 1.5 : 1、1.7 : 1 和 1.9 : 1 的 3 个水平进行后续的正交优化实验.

图 2 为崩解剂添加量对崩解时间、CO₂ 释放量和 pH 值的影响. 根据图 2 中的崩解时间、CO₂

释放量和 pH 结果以及 2020 版《中华人民共和国药典》的崩解时限检查法(通则 0921),本文选取

质量分数为 40.0%、45.0%、50.0% 的 3 个水平进行正交优化实验.

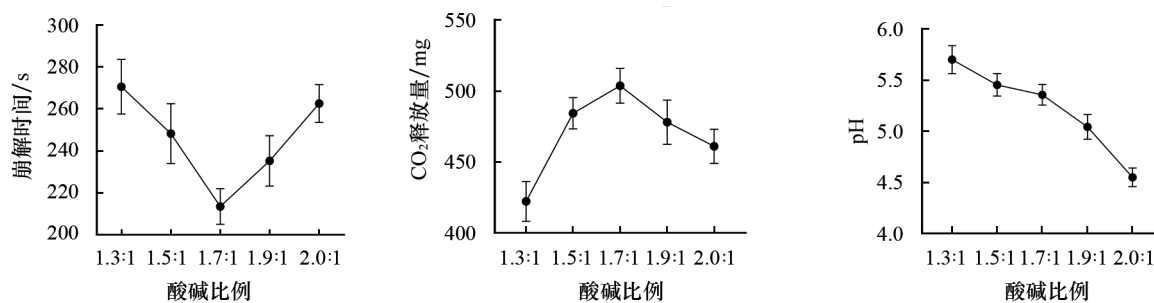


图1 泡腾片酸碱比例对崩解时间、CO₂ 释放量和 pH 值的影响

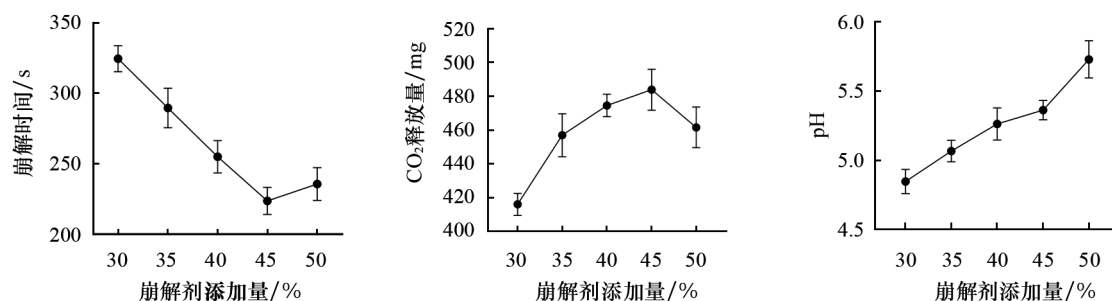


图2 崩解剂添加量对崩解时间、CO₂ 释放量和 pH 值的影响

2.3 甜味剂添加量的确定

图3为甜味剂添加量对味道的影响(评分标准按表1所示).由图3可以看出,当甜味剂的添加量为15.0%时,感官得分最高.因此,本文选择质量分数为12.5%、15.0%和17.5%的3个水平进行后续的正交优化实验.

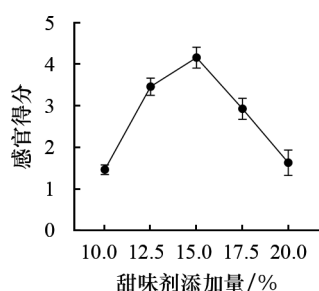


图3 甜味剂添加量对味道的影响

2.4 材料配比对泡腾片的影响

根据表3中的正交实验水平、因素进行崩解时间、口感评分、硬度及 pH 值的测定,结果如表4所示.表5是使用 SPSS 22.0 对表4中的数据进行极差分析后的结果.由表5可以看出:在所考察的4个因素中,对崩解时间的影响(R)顺序是

$B > D > C > A$,即泡腾片的酸碱比例对泡腾片崩解速率的影响最大,其水平优劣程度为 $B_3 > B_2 > B_1$;甜味剂的添加量次之,其水平优劣程度为 $D_3 > D_2 > D_1$.对口感评分的影响(R')顺序为 $D > C > A > B$,即甜味剂的添加量对泡腾片溶液口感的影响最大,其水平优劣程度为 $D_2 > D_3 > D_1$;崩解剂的添加量次之,其水平优劣程度为 $C_2 > C_1 > C_3$.对泡腾片硬度的影响(R^*)顺序为 $C > D > B > A$,即崩解剂的添加量对泡腾片硬度的影响最大,其水平优劣程度为 $C_2 > C_1 > C_3$;甜味剂的添加量次之,其水平优劣程度为 $D_3 > D_2 > D_1$.对 pH 值的影响(R^{\wedge})顺序为 $A > B > C > D$,即提取物的添加量对 pH 值的影响最大,其水平优劣程度为 $A_2 > A_1 > A_3$;泡腾片的酸碱比例次之,其水平优劣程度为 $B_1 > B_2 > B_3$.

综合上述各因素对泡腾片的影响可得,本文的最佳泡腾片材料配比水平为 $A_2B_3C_2D_2$,即本泡腾片的材料组成为:4.0%的东北贯众提取物,45.0%的崩解剂,15.0%的甜味剂,0.15%的润滑剂,0.2%的复合维生素,35.65%的填充剂,其中崩解剂的酸碱比例为 1.9 : 1.

表 3 正交实验水平与因素

水平	因素			
	主药(A)/%	酸碱的质量比(B)	崩解剂(C)/%	甜味剂(D)/%
1	3.0	1.5 : 1	40.0	12.5
2	4.0	1.7 : 1	45.0	15.0
3	5.0	1.9 : 1	50.0	17.5

表 4 配方优化正交实验结果 $L_9(3^4)$

编号	水平				评价指标			
	A	B	C	D	崩解时间/s	口感评分	硬度/($\text{kg} \cdot \text{cm}^{-2}$)	pH
1	1	1	1	1	265.71	2.6	4.36	5.75
2	1	2	3	2	273.64	4.2	4.57	5.24
3	1	3	2	3	289.35	4.6	4.92	5.33
4	2	1	3	3	284.72	3.8	4.85	5.57
5	2	2	2	1	271.95	4.9	4.97	5.67
6	2	3	1	2	299.34	4.9	4.63	5.32
7	3	1	2	2	264.92	4.7	5.22	5.33
8	3	2	1	3	284.53	4.5	4.37	4.95
9	3	3	3	1	277.74	1.8	3.56	4.83

注: A、B、C、D 的含义同表 3.

表 5 对配方优化正交实验结果进行极差和方差分析的结果

极差与方差	A	B	C	D
K_1	828.70	815.35	849.58	815.40
K_2	856.01	830.12	826.22	837.90
K_3	827.19	866.43	836.10	858.60
R	9.61	17.03	7.79	14.40
K'_1	11.40	11.10	12.00	9.30
K'_2	13.60	13.60	14.20	13.80
K'_3	11.00	11.30	9.80	12.90
R'	0.87	0.83	1.47	1.50
K^*_1	13.85	14.43	13.36	12.89
K^*_2	14.45	13.91	15.11	14.42
K^*_3	13.15	13.11	12.98	14.14
R^*	0.43	0.44	0.71	0.51
K^A_1	16.32	16.65	16.02	16.25
K^A_2	16.56	15.86	16.33	15.89
K^A_3	15.11	15.48	15.64	15.85
R^A	0.48	0.39	0.23	0.13

注: R 表示各因素对崩解时间的影响, R' 表示各因素对口感评分的影响, R^A 表示各因素对 pH 值的影响, A、B、C、D 的含义同表 3.

2.5 最佳配方的验证

根据泡腾片的最佳配比, 本文制作了 3 批东北贯众泡腾片(100 片/批), 并根据 2020 版《中华

人民共和国药典》中的泡腾片剂的标准对其进行了测定, 结果如表 6 所示. 由表 6 可知, 泡腾片剂的配方合理, 所制得的泡腾片的崩解时间、口感评分、硬度、pH 值、发泡量均符合 2020 版《中华人民共和国药典》中的相关标准.

表 6 泡腾片的工艺验证实验结果

编号	崩解时间/s	口感评分	硬度/($\text{kg} \cdot \text{cm}^{-2}$)	pH	发泡量/mg
1	213	4.9	5.13	5.64	475 \pm 22
2	209	4.8	5.22	5.69	469 \pm 17
3	211	4.8	5.09	5.57	473 \pm 20

2.6 泡腾片的驱虫效果评价

图 4 为泡腾片的驱虫效果图. 由图 4 可以看出: 泡腾片组小鼠腹腔内的弓形虫数((2.75 ± 0.36) $\times 10^6$ 个)明显低于($p < 0.05$)弓形虫组((4.31 ± 0.27) $\times 10^6$ 个), 且泡腾片组对小鼠腹腔内的弓形虫数抑制率(36.1%)略高于螺旋霉素组(35.4%). 程雪娇等^[21]的研究结果也显示, 贯众浓度在 25.0、50.0、100.0、200.0、400.0 mg/mL 时, 其可显著抑制弓形虫速殖子的生长和繁殖. 因此, 本文制备的泡腾片可作为一种潜在的宠物驱虫药物进行研究.

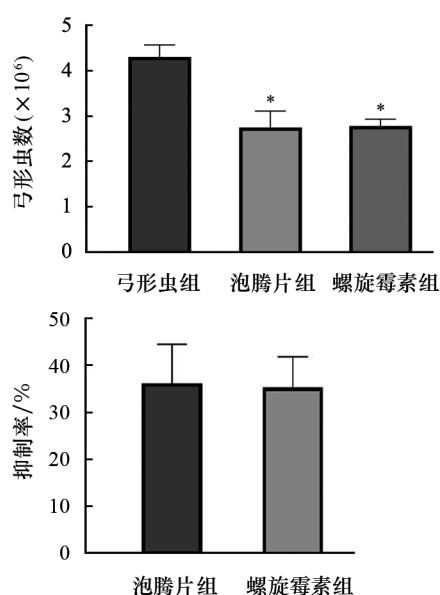


图4 泡腾片的驱虫效果

3 结论

研究表明:本文提出的制备东北贯众提取物泡腾片的方法工艺稳定,利用该方法所制备的泡腾片其重量差异、崩解时间、口感评分、硬度、pH值、发泡量等均符合2020版《中华人民共和国药典》中的相关标准。该泡腾片对弓形虫的抑制率(36.1%)略高于螺旋霉素对弓形虫的抑制率(35.4%),因此该泡腾片可作为一种潜在的宠物驱虫药物进行研究。在今后的研究中,我们将对该泡腾片进行药代动力学等方面的探讨,以进一步考察该泡腾片作为宠物驱虫药物的可行性。

参考文献:

- [1] 田文静,宋敏杰,朱玲霞,等.宠物犬弓形虫病诊疗措施[J].畜牧兽医科学,2021,88(4):110-111.
- [2] 李艳艳,安勤,刘佳佳,等.犬猫常见寄生虫病及其防治药物研究进展[J].湖南畜牧兽医,2018(6):32-34.
- [3] 李扬.浅谈宠物犬常见寄生虫病及防治药物[J].湖南畜牧兽医,2021(3):37-40.

- [4] 高增平,李世文,陆蕴如,等.中药绵马贯众的化学成分研究[J].中国药学杂志,2003,38(4):260-261.
- [5] 杨美兰,李静.中药贯众的药理作用研究现状[J].当代畜牧,2021,477(11):53-56.
- [6] 周荣华.东北贯众中抗菌活性成分的研究[D].哈尔滨:黑龙江大学,2010.
- [7] FUENTES R G, PEARCE K C, DU Y L, et al. Phloroglucinols from the roots of *Garcinia dauphinensis* and their antiproliferative and antiplasmodial activities [J]. *Journal of Natural Products*, 2019,82(3):431-439.
- [8] KABRAN F A, OKPEKON T A, ROBLLOT F, et al. Bioactive phloroglucinols from *Mallotus oppositifolius* [J]. *Fitoterapia*, 2015,107:100-104.
- [9] WANG S, MILNE G W, YAN X, et al. Discovery of novel, non-peptide HIV-1 protease inhibitors by pharmacophore searching [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1996,39(10):2047-2054.
- [10] 陈红云,刘光明,石武祥,等.中药贯众的研究进展[J].大理学院学报,2006,5(6):75-77.
- [11] 张宏康,李德荣,徐乐冰,等.泡腾片固体饮料加工技术现状及发展趋势[J].食品研究与开发,2016,37(12):187-192.
- [12] 樊桂灵,周翔宇,钱叶迁,等.蝇虫草提取物泡腾片的制备工艺优化及其质量分析[J].食品研究与开发,2020,41(15):100-106.
- [13] 崔榕,杜亚军,陈滨,等.食品中甜味剂性能及应用[J].山西食品工业,2001(1):43-44.
- [14] 王博豪. β -环糊精在饮料工业上的研究应用[J].广东化工,2021,48(16):141-142.
- [15] 孙永子.片剂润滑剂硬脂酸镁与滑石粉的比较[J].中国药学杂志,1954(7):288.
- [16] 刘公言,刘策,白莉雅,等.饲料添加剂对宠物被毛健康影响的研究进展[J].饲料研究,2021,44(10):146-149.
- [17] 张晓川.苦参生物碱类成分抗弓形虫作用的研究[D].延吉:延边大学,2016.
- [18] 王文心,李静,周文凯,等.蓝莓泡腾片的研制[J].食品研究与开发,2018,39(1):60-64.
- [19] 程雪娇,鞠玉琳,吴雨龙,黄芩,甘草等十种中药体外抗弓形虫效果的比较[J].黑龙江畜牧兽医,2007,304(5):86-87.