

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: K07045013

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

芒果止咳合剂的制备工艺研究

Study on the preparation of mango cough mixture

谢黎崖

指导教师姓名: 张其清教授/博导

侯振清 博士

专 业 名 称: 生物医学工程

论文提交日期: 2009 年 9 月

论文答辩时间: 2009 年 月

学位授予日期: 2009 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
第一章 绪论.....	1
1.1 前言	1
1.2 芒果苷和芒果叶的研究现状	1
1.2.1 芒果苷的理化性质.....	1
1.2.2 芒果苷的来源及提取分离技术的研究.....	2
1.2.3 芒果苷的药效学研究.....	3
1.2.4 芒果叶的化学成分及提取工艺研究.....	7
1.3 微波提取技术	8
1.3.1 微波提取原理.....	8
1.3.2 微波提取技术在中药有效成分提取中的应用.....	9
1.4 课题的提出和研究内容	13
第二章 芒果苷的微波提取工艺研究.....	14
2.1 引言	14
2.2 实验部分	15
2.2.1 材料及仪器.....	15
2.2.2 样品的预处理.....	15
2.2.3 芒果苷的提取分离.....	16
2.2.4 正交设计影响芒果苷提取的因素	16
2.2.4 芒果苷的鉴定	16
2.2.5 芒果苷的含量测定	17
2.3 结果与讨论	19
2.3.1 样品含量测定结果与分析.....	19
2.3.2 工艺验证试验.....	21
2.3.3 各实验因素对芒果苷提取的影响分析.....	22
2.3.4 实验过程分析.....	24
2.3.5 微波提取和传统回流提取的比较.....	24
2.3.6 微波提取和超声波提取的比较.....	25
2.4 本章小结	25
第三章 芒果止咳合剂的处方工艺研究.....	27

3.1 引言	27
3.2 实验部分	27
3.2.1 材料及仪器.....	27
3.2.2 基本处方及工艺.....	28
3.2.3 处方依据.....	29
3.2.4 配比优选动物实验.....	30
3.3 结果与讨论	33
3.3.1 配制结果与方法分析.....	33
3.3.2 动物实验结果分析.....	34
3.4 与传统止咳药复方甘草合剂的对比研究	34
3.5 本章小结	36
第四章 芒果止咳合剂的质量控制和稳定性研究	37
4.1 引言	37
4.2 实验部分	37
4.2.1 材料及仪器.....	37
4.2.2 质量控制.....	38
4.2.3 稳定性研究.....	40
4.3 讨论	44
4.4 本章小结	44
第五章 全文总结与展望.....	45
参考文献.....	47
硕士期间论文发表情况.....	52
致 谢.....	53

Table of contents

Chinese Abstract	I
English Abstract	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Study condition of mangigerin and mango leaves.....	1
1.2.1 Physicochemical property of mangigerin	1
1.2.2 Source of mangigerin and the study of isolation technics	2
1.2.3 Study of pharmacodynamics of mangigerin	3
1.2.4 Ingredient of mango leaves and its extraction process	7
1.3 Extractive technique of microwave	8
1.3.1 Principle of microwave	8
1.3.2 Use of extracting effective ingredient in drug with extractive technique of microwave	9
1.4 Contents of thesis	13
Chapter 2 Study on the optimal microwave extraction process of Mangigerin.....	14
2.1 Introduction.....	14
2.2 Experiment section.....	15
2.2.1 Materials and instruments	15
2.2.2 Pretreatment of sample	15
2.2.3 Extraction and separation of mangigerin	17
2.2.4 orthogonal experiment influence extractive factor of mangigerin.....	16
2.2.4 Assay of mangigerin	16
2.2.5 Determination of content of mangigerin.....	17
2.3 Results and disscussion.....	19
2.3.1 Results of determination of content and analysis	19
2.3.2 Test and verify of technics	21
2.3.3 Analysis of the influencing factor of extracting mangigerin	22
2.3.4 Analysis of test process	24
2.3.5 Compare microwave extraction with traditional method.....	24
2.3.6 Compare microwave extraction with ultrasonic extraction	25
2.4 Summary.....	25
Chapter 3 Study on technics of Mango Cough Mixture.....	27

3.1 Introduction.....	27
3.2 Experiment section.....	27
3.2.1 Materials and instruments	27
3.2.2 Basic prescription and technology.....	28
3.2.3 Basis of prescription.....	29
3.2.4 Experiment for the best prescription by animal test.....	30
3.3 Results and disscussion.....	33
3.3.1 Results of preparation and method's analysis	33
3.3.2 Analysis of results of animal test	34
3.4 Compare with Compound Liquorice Mixture.....	34
3.5 Summary.....	36
Chapter 4 Quality Control and stability study of Mango Cough	
Mixture.....	37
4.1 Introduction.....	37
4.2 Experiment section.....	37
4.2.1 Materials and instruments	37
4.2.2 Quality control	38
4.2.3 Stability study	40
4.3 Disscussion	44
4.4 Summary.....	44
Chapter 5 Conclusion	45
References	47
Appendix publication list	52
Acknowledgements	53

摘 要

近些年来的药理和临床研究证明,由芒果枝叶提取出的主要成分芒果苷不仅具有平喘、止咳、祛痰作用,还具有抗病毒、抗菌、抗炎、抗脂质过氧化、抗肿瘤、免疫、镇痛、保肝利胆以及中枢神经系统兴奋等作用。芒果苷广泛的药理活性在很大程度上能满足标本兼顾治疗咳嗽的要求。然而,国内外对芒果苷制剂的研究甚少。本文在前人的研究基础上从芒果叶中提取出芒果苷制备新型的止咳口服溶液-芒果止咳合剂,对其制备工艺进行系统的研究,其摘要如下:

1、利用微波提取法优化制备芒果叶中的芒果苷。采用正交设计的方法,设定乙醇的浓度(A)、微波功率(B)、微波时间(C)和乙醇(D)用量四个因素,在三个水平上,以芒果苷含量为指标设计L₉(3⁴)正交实验得出芒果苷的最优微波提取方法。结果表明,以10g的芒果叶粗粉中微波提取得到的芒果苷含量为考察指标,得出影响微波提取工艺因素次序为:C>D>A>B;最佳提取方案是:A1B2C1D2,即75%乙醇十倍用量,在640w微波下提取10分钟,且微波提取芒果苷相对与传统的回流提取方法和较为先进的超声波提取方法,在提取效果和效率上有明显的优势。

2、优选芒果止咳合剂的处方工艺。选择甘油作为主要溶剂,吐温80作为乳化剂,橙皮甙作为矫味剂,羟苯乙酯作为防腐剂,按一定的方法制备成不同配比的芒果止咳合剂分为A、B、C组,各组含芒果叶流浸膏的量分别为10mL·100 mL⁻¹、20mL·100 mL⁻¹、30mL·100 mL⁻¹,甘油和吐温80的浓度分别为10%和2%。以生理盐水为阴性对照组,采用小鼠镇咳试验法及小鼠耳廓肿胀法,以咳嗽潜伏期、每分钟咳嗽次数和耳廓肿胀度为考察指标考察各组镇咳抗炎的效果。结果表明,与阴性组相比,A、B和C组对小鼠咳嗽潜伏期有显著延长作用(P<0.05或0.01),对小鼠每分钟咳嗽次数有显著减少作用(P<0.01)。A、B和C组对小鼠耳廓肿胀有显著的抑制作用(P<0.05或0.01)。三种配比芒果止咳合剂均有镇咳和抗炎作用,其中C组的镇咳作用最强(P<0.01);B组和C组的抗炎作用最强(P<0.01),故C组配比可作为芒果止咳合剂的最优配比。与传统的止咳药复方甘草合剂相比,芒果止咳合剂对小鼠的咳嗽潜伏期和每分钟咳嗽次数的影响有显著的优势(P<0.05)。

3、建立芒果止咳合剂的质量控制方法。以化学法和薄层色谱(TLC)法鉴别芒果苷；以高效液相色谱(HPLC)法测定芒果苷的含量。结果表明，化学法和 TLC 能清晰地鉴别芒果苷，专属性强；HPLC 法简便、准确，可用于芒果止咳合剂的质量控制。

4、芒果止咳合剂的稳定性研究。通过恒温加速试验和长期试验，考察其稳定性情况。根据恒温加速试验结果可预测芒果止咳合剂 4℃、20℃、25℃下的有效期分别为 282d、164d、141d，因此，可初步暂定有效期为半年。

关键词 芒果苷 芒果止咳合剂 微波 镇咳 质量控制

Abstract

In recent years, the pharmacology and clinical research proved that mangigerin which extracted from mango leaves has an effect of relieving asthma and cough, eliminating phlegm, antiviral, antibacterial, anti-inflammatory, anti-lipid, veroxidation, antitumor, immunity, analgesic, protect liver and cholagogue, and central nervous system can be excited. The extensive pharmacological activity can be complacent the needs of cough treatment in temporary symptoms and permanent cure. However, the researches of preparation are little in domestic and foreign countries. On the basis of the former works, in the present thesis, a new cough mixture, Mango Cough Mixture be prepared with mangigerin from mango leaves.

The process of Mango Cough Mixture was extensively investigated. The major steps involved in the process can be summarized as follow:

1. Using the optimal microwave extraction to gain the best preparation of Mangigerin from mango leaves. Using orthogonal experiment, set the concentration of alcohol (A), the microwave power (B), microwave time (C) and the amount of ethanol (D) as the four influential factors and the content of Mangigerin of the extraction as indexes.

Optimal extraction conditions were studied with the orthogonal experiments of $L_9(3^4)$.

In three levels, results indicated the influencing effects of factor were followed as: C >

D > A > B. The optimal conditions of the microwave extraction were A1B2C1D2.

Comparing with the traditional method and ultrasonic extracting method, the microwave extraction process is much more effective.

2. To gain the best prescription of the mango cough mixture. Use glycerol as solvent, TWEEN-80 for the emulsifier, orange tincture for corrigent, Ethylparaben for preservatives to prepare Mango Cough Mixture (MCM) by the certain preparation method. To prepare the different prescription of MCM, signed as A, B and C group. Their respective ingredient of mango leave's fluid extract is $10\text{mL}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, $20\text{mL}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, and $30\text{mL}\cdot 100\text{mL}^{-1}$; the consistency of glycerol and TWEEN-80

is 10% and 2%.Set normal saline as a negative control group.Used the cough-relieving test of mice and mice ear edema modes.The latency of cough,the cough times with 1 minute and mice ear edema were setted as indexes. Compared with negative control group, results indicated that three proportions of MCM had significantly prolonged the latency of cough ($P<0.05$ or 0.01), reduced the cough times with 1 minute ($P<0.01$)and had inhibitory effect on mice ear edema ($P<0.05$ or 0.01). Three proportions of MCM all had antitussive and anti-inflammatory effects. The antitussive action of group C was the strongest in the three groups. The anti-inflammatory effect of group B and C were more stronger. So the optimal proportion of MCM was group C. Compared with Compound Liquorice Mixture, MCM had significantly prolonged the latency of cough and reduced the cough times with 1 minute ($P<0.05$).

3. To establish MCM quality standard. Chemistry and TLC were used to identify Mangigerin, and HPLC was used to determine the content of Mangigerin. Results indicated that Mangigerin was clearly identified with chemistry and TCL. The methods are highly exclusive. The HPLC method is simple,accurate,and can be used for the quality control of MCM.

4. To study the stability of MCM. By accelerated testing and long-term testing,we observed the condition of stability. From the result of accelerated testing,we can predicted the respective period of validity is 282d,164d and 141d in the temperatures with 4°C , 20°C and 25°C . Preliminarily,we design the period of validity is half year.

KEY WORDS: Mangigerin; Mango Cough Mixture; Microwave; Relieving Cough; Quality Control;

第一章 绪论

1.1 前言

咳嗽是呼吸系统疾病的常见症状之一，可见于多种疾病。据统计，我国每年有近 3 亿人感染呼吸系统疾病，其中咳嗽患者多达 5000 多万人，城乡居民咳嗽患病率为 15.36%，且治疗费用巨大。咳嗽的治疗原则是首先明确诊断，对因治疗，当对因治疗不能即刻见效时，需要对症治疗，控制咳嗽症状^[1]。临床上一般使用复方止咳药治疗咳嗽以达到标本兼顾的目的，而复方止咳药一般都含有可待因、伪麻黄碱等成瘾性化合物，如医院制剂中治疗咳嗽疗效确切的甘安合剂，主要含有阿片类化合物，易致成瘾，故其应用受到一定的限制。所以，如何研制一种标本兼治的新型止咳药水，是摆在药学工作者面前一个重要的课题。

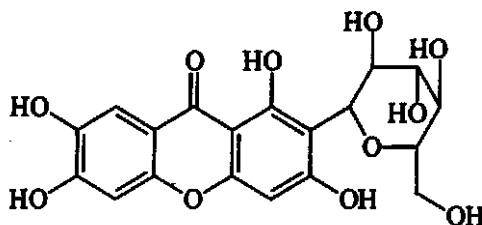
1.2 芒果苷和芒果叶的研究现状

近些年来的药理和临床研究证明，芒果苷具有多方面的生理活性和药理作用，国内外学者对其药理活性的研究已近四十年，大量的研究结果表明，芒果苷不仅具有平喘、止咳、祛痰作用，还具有抗病毒、抗菌、抗炎、抗脂质过氧化、抗肿瘤、免疫、镇痛、保肝利胆以及中枢神经系统兴奋等作用。芒果叶为漆树科植物芒果 *Mangifera indica* L. 的叶，性味酸、甘、凉、平，亦具有平喘止咳祛痰，免疫、抗炎、镇痛，保肝利胆，抗脂质过氧化，抗病毒，抗肿瘤，抗菌等作用，对中枢神经系统和心血管系统等疾病也都有明显疗效。还具有行气疏滞、祛痧积的功能，用于热滞腹痛、气胀、痞积、消渴等症^[2]。

1.2.1 芒果苷的理化性质

芒果苷(mangiferin)，又名芒果素、知母宁，是芒果叶中的主要活性成分，其为天然多酚类化合物，是一种四羟基吡酮的碳糖苷，属双苯吡酮类黄酮类化合物。分子式： $C_{19}H_{18}O_{11}$ ；分子量：422；为淡黄色到黄绿色粉末，淡灰黄色针状结晶（50%乙醇）；熔点267~272℃（分解）；旋光度+43.3°（ $c=0.9$ ，吡啶），32°（乙

醇); 略溶于甲醇、乙醇、脂类、水, 可溶于热稀甲醇、热稀乙醇, 不溶于非极性溶剂。其化学结构如下:



芒果苷化学结构图
Structure of mangiferin

该成分在其他科属植物中相继被发现, 可从百合科植物知母、扁桃树的叶、果实、树皮; 龙胆科植物东北龙胆、川西獐芽菜; 水龙骨科植物光石韦等中提取得到。

1.2.2 芒果苷的来源及提取分离技术的研究

国外从 20 世纪 60~70 年代开始, 研究了芒果苷的各种来源, 其中日本的 Aritomi 等^[3]研究了从百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 中提取芒果苷和其同分异构体; Finnegan 等^[4]研究了 *Hiptage madablota* Geartn 中芒果苷的发生; Bhatia 等^[5]研究了芒果苷的合成; 德国的 Bhattacharya 等^[6]将芒果苷从 *Canscora decussata* 中分离出来。20 世纪 90 年代, 日本的 Saito 等^[7]从百合科知母的根茎中取得新甾族类皂苷类和芒果苷; Wada 等^[8]从新西兰羊齿植物 *Trichomanes reniforme* 的叶中分离出芒果苷和另五种新的糖苷。南斯拉夫的 Menkovic 等^[9]报道了从 *Swertia punctata* 生活在空气中的部份中鉴别出芒果苷和其他四种酮。瑞士的 Ferrari 等^[10]从 *Gnidia involucrata* (瑞香科树木) 的地上部份用甲醇萃取液中分离出 6 个化合物, 其中之一为芒果苷。而德国的 Jurgen-liemk 等^[11]在对来自干燥的生药材料贯中连翘 *St. John's wort* (*Hype-ricum perforatum* L.) 的酚化合物进行研究时, 用高性能液体色谱 (HPLC) 方法探测出来 22 个酚化合物, 也包括了芒果苷。

德国的 Schieber 等^[12]藉助高性能液体色谱——电子喷雾电离质谱 (HPLC-EIMS) 分析辨认来自芒果 (*Mangifera indica* L. Cv. “Tommy Atkins”) 树皮的黄酮醇和酮糖苷。在被分析的化合物中发现了 7 个黄酮素 O-糖苷, 1 个山奈酚 O-

糖苷和 4 个酮 C-糖苷。后者被确认为芒果苷、异构芒果苷和他们的各自的酰衍化物。古巴的 Nunez Selles 等^[13]研究了芒果树皮萃取液的植物化学性质，他们分离出 7 个多酚成份发现，芒果苷是其中一种突出的成份。日本的 Yoshikawa 等^[14]对芒果苷作了数量分析。他们从暴马丁香 *Salacia reticulata* (SRE) 的根中分离出芒果苷，并调查了拮抗一些碳水化合物代谢酶的活性发现，芒果苷可抑制鼠的蔗糖酶、异麦芽糖酶和醛糖还原酶。芒果苷的抑制活性对蔗糖酶和异麦芽糖酶是竞争的。另外，也采用 HPLC 测定暴马丁香根水萃取液中芒果苷的量，它在其中的量测定出来是在 0.9%~2.3% 这个范围内波动。

1.2.3 芒果苷的药效学研究

(1) 对呼吸系统的作用

邓家刚等^[15]的研究表明，芒果苷对豚鼠组胺、乙酰胆碱混合引喘有明显延长引喘潜伏期作用；对小鼠浓氨水引咳可明显延长引咳潜伏期，并明显减少小鼠咳嗽次数；对小鼠醋酸所致腹腔毛细血管通透性增高有明显抑制作用；对小鼠气管酚红排泌有明显促进作用。芒果苷具有肾上腺糖皮质激素样抗炎作用，可降低毛细血管通透性，其抗炎反应率达 38%。由于芒果苷的抗炎作用，对支气管哮喘有一定的作用，表现为：①可使诱喘时间较哮喘组明显延长；②使哮喘程度减轻，抽搐发生率明显低于哮喘组；③使肺气肿明显减轻，肺内炎性细胞浸润明显少于哮喘组，肺/体重量比明显低于哮喘组，与地塞米松组接近。同时，芒果苷能降低血清 NO 及肺泡灌洗液中内皮素-1 (ET-1) 水平，对哮喘发作起一定预防作用。芒果苷与地塞米松合用可以提高疗效^[16]。

(2) 对中枢神经系统的作用

Bhattacharya 等^[6]在对芒果苷的系统研究中发现，芒果苷具有明显的中枢神经系统兴奋作用。50~100 mg/kg 剂量的芒果苷腹腔注射 (i.p)，可使所有受试动物出现动作震颤、竖毛、强迫性撕打和自主活动增加等症状。这些行为改变的高峰是在给药后 30 min，并维持至 60 min、120 min 逐渐下降。若实验动物预先给予氯丙嗪 5 ml/kg，i.p，则可阻断芒果苷这些作用说明，芒果苷可能是中脑边缘系统 D2 受体的激动剂。实验动物在给戊巴比妥 30 mg/kg i.p 之前 30 min，若先给予芒果苷 50 mg/kg，i.p，可明显延长戊巴比妥睡眠时间。先给予芒果苷的大鼠睡眠时

间为 (56.2 ± 7.8) min, 而空白对照组为 (36.2 ± 5.3) min。50 mg/kg剂量的芒果苷能明显加强轻度麻醉剂量的乙醚的麻醉作用。在该剂量范围里, 60%的小鼠失去正常的神经反射, 而空白对照组则无此现象。黄华艺等^[17]的研究认为, 芒果苷具有清除脑组织中过氧化脂质的作用, 减轻过氧化脂质对神经元的损伤, 从而保护神经元的正常功能。

(3) 对心血管系统的作用

1~2 mg剂量的芒果苷对正常或功能低下的离体Ringer' s液灌注蛙心均有短暂、确切的增强心肌收缩力的作用, 且该作用不被普萘洛尔所阻断。因此, 它可能是一种心脏直接刺激剂。在心肌缺血再灌注损伤中, 芒果苷能清除心肌缺血再灌注产生的NO和活性氧, 降低缺血再灌注心脏冠状动脉流出物中乳酸脱氢酶和肌酸激酶的活力, 保护心肌缺血再灌注损伤, 0.1mmol/L芒果苷的保护作用与 1 500 U/ml SOD和过氧化氢酶相同^[18]。

(4) 抗病毒作用

Zheng等^[19]使用组织培养技术研究了芒果苷在单纯疱疹病毒中的抗病毒效应表明, 芒果苷具有体外抗I型单纯疱疹病毒(HSV-I)作用, 空斑减少率为 56.8%, 其抗病毒作用归因于它抑制细胞内病毒复制的能力。朱雪梅等^[20]采用空斑减数试验与产量减数试验对芒果苷体外抗II型单纯疱疹病毒(HSV-II)作用的研究表明, 芒果苷抑制 50%空斑形成的有效浓度(EC50)为 111.7 μ g/ml, 使病毒产量减少 90%和 99%的有效浓度(EC90 和EC99)分别为 33 和 80 μ g/ml, 治疗指数(IC50/EC50)为 8.1, 药物加入和去除试验结果提示, 芒果苷抗HSV-II作用的机制可能是抑制病毒在细胞内复制的晚期阶段。Yoosook等^[21]的研究也显示了芒果苷的抗单纯疱疹病毒(HSV)作用。蒋杰等^[22]用人流感病毒A型(H1N1)滴鼻感染小鼠, 对芒果苷抗病毒活性进行评价。结果表明, 芒果苷可改善感染小鼠的临床症状, 减少 14 d内动物的死亡数, 并能延长其平均存活时间。组织病理学检查表明, 25、50 及 75mg/kg的知母宁对小鼠肺部感染均有一定的疗效, 且随剂量的降低疗效减弱。

(5) 抗脂质过氧化作用

日本的Sato^[23]在研究芒果苷抗脂质过氧化作用机理中发现, 芒果苷能快速彻底地清除 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 并抑制大鼠肝脏微粒体中由烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸, 酯还原酶(NADPH)或非酶类因子抗坏血酸、Fenton' s

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库