

均匀设计优选维药行气那尼花颗粒挥发油的 β -环糊精包合工艺

南京¹, 刘承¹, 叶晓川^{1,2*}, 刘焱文^{1,2*}

(1. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065;

2. 湖北省中药资源与中药化学重点实验室, 武汉 430065)

[摘要] 目的: 优化行气那尼花颗粒中挥发油的 β -环糊精(β -CD)包合工艺。方法: 采用饱和水溶液法制备行气那尼花颗粒挥发油 β -CD 包合物。以挥发油包合率和包合物收得率为综合评价指标, 采用均匀试验考察挥发油与 β -CD 的比例、包合温度、包合时间对包合工艺的影响。应用 XRD, DSC, IR, UV 及 TLC 对制备的包合物进行表征。结果: 最佳包合工艺为挥发油与 β -CD 比例 1:11, 包合温度 60 °C, 包合时间 1 h, 挥发油包合率达 96.84%。表征试验证实, 挥发油 β -CD 包合物已经形成。结论: 行气那尼花挥发油 β -CD 包合物制备工艺稳定可行, 可推广于产业化应用。

[关键词] 行气那尼花颗粒; 挥发油; β -环糊精包合物; 均匀设计试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0053-04

[doi] 10.11653/syjf2013130053

Optimization of Inclusion Technology for Volatile Oil from Xingqi Na'nihua Granules by Uniform Design

NAN Jing¹, LIU Cheng¹, YE Xiao-chuan^{1,2*}, LIU Yan-wen^{1,2*}

(1. Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Hubei Province Key Laboratory of Resources Science and Chemistry

[收稿日期] 20130130(010)

[第一作者] 南京, 本科, 从事中药资源开发研究, Tel:18986192352, E-mail:1211189781@qq.com

[通讯作者] * 叶晓川, 博士, 研究员, 硕导, 从事中药药效物质基础及质量评价, Tel:027-88920834, E-mail:yxxcc1965@163.com;

* 刘焱文, 教授, 博导, 从事中药药效物质基础及质量评价, Tel:027-88920834, E-mail:ywliu2008@163.com

- [3] 程东庆, 潘佩蕾, 周芳美, 等. 红曲霉菌对姜黄素的微生物转化及产物自由基清除和抗脂质氧化作用的研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(7):517.
- [4] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983:89.
- [5] 姚汝华, 周世水主编. 微生物工程工艺原理[M]. 9版. 广州: 华南理工大学出版社, 2005:76.
- [6] 彭清忠, 陈玲, 易浪波, 等. 内生真菌对姜黄素的微生物转化[J]. 生物技术通讯, 2010, 21(2):196.
- [7] 刘焕云. 姜黄色素稳定性的研究[J]. 食品工业, 2000(3):22.
- [8] 林维宣主编. 试验设计方法[M]. 大连: 大连海事大学出版社, 1995:36.
- [9] 胡正芳, 李除夕, 贾树田, 等. 正交试验法优选红曲中洛伐他汀的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24):53.
- [10] 叶伟兵, 赵琦, 陈健媚, 等. 正交试验法优选板翘解毒颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15):47.
- [11] Loughlin W A. Biotransformation in organic synthesis[J]. Biore-source Technol, 2000, 74(1):49.
- [12] Kumari G N K, Masilamani S, Ganesh M R. Microbial transformation of zaluzanin[J]. Phytochem, 2003, 62(5):1101.
- [13] 李元波, 殷辉安, 周燕霞, 等. 纤维素酶预处理法提取郁金中姜黄素的研究[J]. 广州化学, 2004, 29(3):18.

[责任编辑 全燕]

in Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] Objective: To optimize β -cyclodextrin (β -CD) inclusion process of volatile oil from Xingqi Na'nihua granules. **Method:** β -CD inclusion complex was prepared by saturated aqueous solution method, inclusion process was optimized by uniform design with inclusion ratio of volatile oil and inclusion yield as indexes, taking ratio of volatile oil to β -CD, inclusion temperature and inclusion time as factors, and phase of this prepared inclusion complex was testified by XRD, DSC, IR, UV and TLC. **Result:** Optimum inclusion process was as follows: ratio of volatile oil to β -CD 1:11, inclusion temperature at 60 °C and inclusion time 1 h. Inclusion ratio of volatile oil was as high as 96.84% under these optimized technology conditions. Validation result showed that inclusion compound had been formed. **Conclusion:** This optimized inclusion process was simple, stable and applicable to industrial production.

[Key words] Xingqi Na'nihua granules; volatile oil; β -cyclodextrin inclusion complex; uniform design test

行气那尼花颗粒是《卫生部药品标准》维吾尔药分册收载品种^[1],具有保肝、开胃、行气、镇痛、温化子宫等功效,临床上用于治疗胃肠道疾病、肝炎、胆囊炎、妇女不孕等症。该制剂由神香草、黑种草子、小茴香等 13 味药组成,其中神香草、小茴香、薄荷、孜然、广藿香均含有较多挥发油活性成分,其传统制剂工艺是将该 5 味药提取挥发油后喷入颗粒。为减少挥发油损失,保证药效,本实验采用均匀设计法优选行气那尼花颗粒中挥发油的包合工艺,并通过 X 射线粉末衍射(XRD)、红外光谱(IR)、示差扫描热分析(DSC)等现代技术对包合物进行表征分析,为该制剂的工艺改进提供参考。

1 材料

88-1 型大功率数显磁力搅拌器(常州国华电器有限公司),Vertex 70 型红外光谱仪(德国布鲁克公司),AXS D8-Focus 型 X 射线衍射仪(德国布鲁克公司),UV-2401 PC 型紫外分光光度计(日本岛津公司),STA 409 PC 型综合热分析仪(德国耐驰公司)。

广藿香、小茴香、薄荷购自武汉九州通医药集团,神香草购自新疆参茸中药饮片有限公司,经湖北中医药大学叶晓川研究员鉴定,广藿香为唇形科植物广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 的干燥地上部分,小茴香为伞形科植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill. 的干燥成熟果实,薄荷为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分,神香草为唇形科植物硬尖神香草 *Hyssopus cuspidatus* Boriss. 的干燥地上部分^[1-2]。 β -环糊精(β -CD,苏州味精厂),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 按处方比例称取神香草、孜

然、广藿香、小茴香、薄荷 5 味药,按 2010 年版《中国药典》一部附录挥发油测定法(甲法)提取,收集挥发油,装于棕色瓶中,于 4 °C 条件下保存备用。

2.2 挥发油包合物的制备^[3] 采用饱和水溶液法制备挥发油包合物。吸取挥发油适量,加等量无水乙醇稀释,加入 β -CD 的饱和水溶液中,恒温搅至规定时间,放置冰箱中冷藏,滤过,滤饼先用适量水洗涤,再用乙醚淋洗,干燥,即得。

2.3 空白回收率的测定^[4] 精密吸取挥发油 1.0, 1.5, 2.0 mL,分别置于 500 mL 圆底烧瓶中,按 2010 年版《中国药典》挥发油测定法(甲法)提取挥发油,计算空白回收率分别为 94.0% ,94.0% ,93.7% 。

2.4 包合工艺优选^[5-8] 采用均匀试验设计法,以挥发油包合率和包合物收得率为综合评价指标(权重系数分别为 0.7,0.3),选取挥发油与 β -CD 比例、包合温度、包合时间为考察因素,按 $U_6(6^3)$ 设计表进行试验,每次试验挥发油样品量均为 1 mL,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

$$\text{包合物收率} = \frac{\text{包合物质量}}{\text{挥发油质量} + \beta\text{-CD 质量}} \times 100\%$$

$$\text{挥发油包合率} = \frac{\text{包合物中挥发油量}}{\text{挥发油投入量} \times \text{空白回收率}} \times 100\%$$

表 1 行气那尼花颗粒中挥发油包合工艺均匀试验设计因素水平

水平	A β -CD 用量/g	B 包合温度/°C	C 包合时间/h
1	6	40	2.0
2	7	50	3.5
3	8	60	1.5
4	9	35	3.0
5	10	45	1.0
6	11	55	2.5

表2 行气那尼花颗粒中挥发油包合工艺均匀设计试验安排

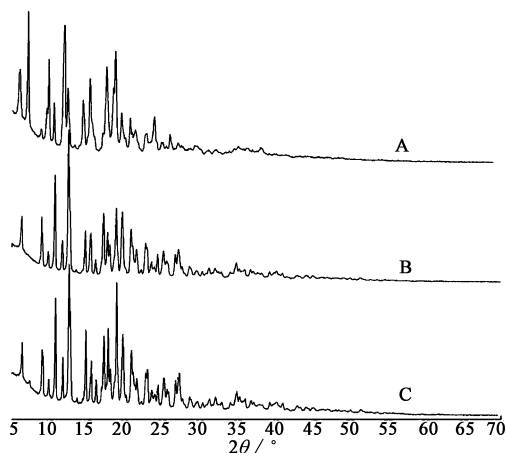
No.	A	B	C	收得率 /%	挥发油 包合率/%	综合权重 /%
1	6	40	2.0	82.86	69.02	73.17
2	7	50	3.5	83.68	81.52	82.17
3	8	60	1.5	76.77	81.53	80.10
4	9	35	3.0	81.01	86.41	84.79
5	10	45	1.0	74.29	86.42	82.78
6	11	55	2.5	72.46	95.11	88.32

利用均匀设计程序,通过计算机计算,得回归方程 $Y = 0.642 + 0.001A^2 + 3.577 \times 10^{-5} B^2 + 0.018C^2 - 0.001BC$ 。采用网络法对试验结果进行优化,结果 $A = 11, B = 60, C = 1$ 。初步确定最佳包合工艺为 β -CD用量 11 g,包合温度 60 °C,包合时间 1 h。

2.5 验证试验 按优选的包合工艺进行验证试验,制备 3 批挥发油包合物,结果平均收得率和挥发油包合率分别为 83.32%,96.84%,说明优选的包合工艺稳定可行。

2.6 挥发油 β -CD包合物的性质考察

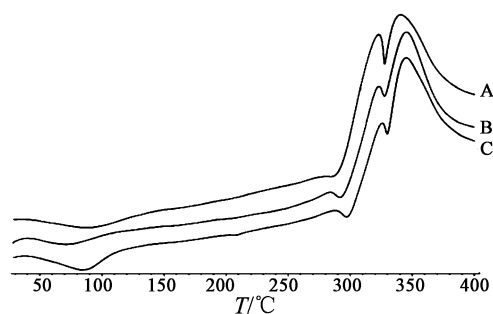
2.6.1 XRD 分析^[9] 对挥发油 β -CD包合物、 β -CD、挥发油和 β -CD的物理混合物进行XRD分析,分析条件为室温,Cu靶($K\alpha$ 射线,波长 0.154 059 8 nm),扫描电压 40 kV,管电流 40 mA,扫描速率 $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$,采样间隔 0.02° ,扫描范围 $5 \sim 70^\circ$ 。以扫描角度为横坐标,衍射强度为纵坐标,结果见图 1。

图1 包合物(A)、 β -CD(B)和物理混合物(C)的XRD

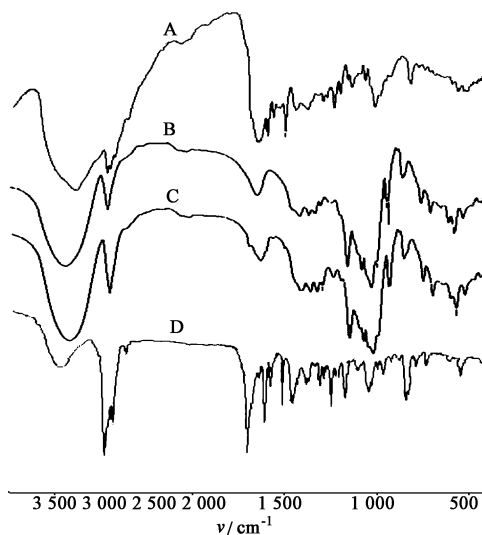
由图 1 可知, β -CD 较混合物的衍射峰,衍射强度有些不同,这主要是受物理混合物中挥发油的影响,但峰形基本相同。挥发油 β -CD包合物的衍射峰则与前两者峰形有明显不同,在 2θ 约为 7, 10,

15, 19, 24 °的峰发生了合并或出现了新峰; β -CD 和物理混合物在 16, 17, 35 °等处有吸收峰,而在包合物中则消失或减弱,表明挥发油包合进入 β -CD分子空穴内,形成了一个新物象,包合物已形成。

2.6.2 DSC 分析 坩埚为铝坩埚,参比物 Al_2O_3 ,气氛 33% $\text{O}_2 + 67\% \text{N}_2$,升温速率 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$,升温范围 $40 \sim 400^\circ\text{C}$,见图 2。结果发现 β -CD 在 85°C 出现了热吸收峰,说明 β -CD 含有少量水。在 $290 \sim 300^\circ\text{C}$ 处,物理混合物和 β -CD 均出现热吸收峰,而包合物则无热吸收峰;在 $320 \sim 330^\circ\text{C}$ 处,三者均出现热吸收峰,包合物的峰型比物理混合物和 β -CD 尖锐许多,说明包合物已形成。

图2 包合物(A)、挥发油和 β -CD物理混合物(B)及 β -CD(C)的DSC曲线

2.6.3 IR 分析^[10] 采用 KBr 压片法测定。扫描范围 $4000 \sim 400 \text{cm}^{-1}$,结果见图 3。

图3 挥发油和 β -CD的物理混合物(A)、包合物(B)、 β -CD(C)和挥发油(D)的IR

由图 3 可知,包合物与 β -CD 的扫描图谱总体相似,且峰形相同,但两者的吸收并不完全相同,如 β -CD 在 $1704, 1510 \text{cm}^{-1}$ 处均有吸收,但包合物则无吸收,说明包合物与 β -CD 是不同物象。包合物与挥发油吸收图谱相比,在包合物吸收图谱中,挥发

油的一些特征吸收峰发生了改变,如 1 075,1 607,2 959 cm^{-1} 处的峰消失,而在物理混合物的吸收图谱中则仍然存在,说明 β -CD 与挥发油的包合物已经形成。

2.6.4 UV 分析 分别取挥发油、挥发油与 β -CD 的物理混合物、挥发油 β -CD 包合物及 β -CD,加正己烷 10 mL,振摇,滤过,得供试液。取上述供试液分别于 200 ~ 400 nm 进行紫外光谱扫描,以正己烷为空白对照,结果见图 4。

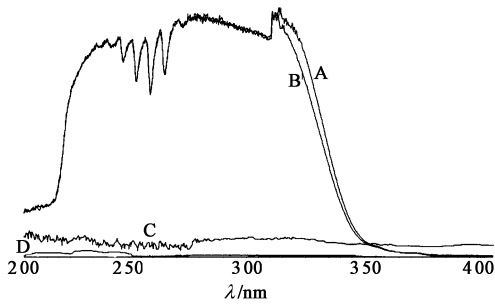


图 4 挥发油(A)、挥发油和 β -CD 的物理混合物(B)、包合物(C)与 β -CD(D)的 UV

由图 4 可知,包合物和 β -CD 在 200 ~ 400 nm 均无吸收峰,而挥发油和物理混合物则有明显吸收,且二者紫外吸收图谱相似,表明挥发油已包含于 β -CD 内部,形成了与物理混合物物象不同的稳定包合物。

2.6.5 TLC 鉴别 称取挥发油 β -CD 包合物 1.1 g,加正己烷 10 mL,充分振摇,滤过,得样品 1;称取挥发油 β -CD 包合物 1.1 g,加乙醇 10 mL,超声 15 min,滤过,得样品 2;取挥发油 0.1 mL,加正己烷 10 mL 溶解,得样品 3。分别取上述样品 1,2,3 各 5 μL ,点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(85:15)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸乙醇溶液,于 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘至斑点清晰,取出。结果发现,挥发油与破坏包合物提取液在同一位置上具有相同颜色的斑点;而包合物提取液则无相应的斑点,表明挥发油已包含于 β -CD 内部,包合物表面基本无挥发油附着,且包合前后挥发油成分未发生变化,包合过程对挥发油化学成分无影响。

3 讨论

行气那尼花颗粒中挥发油为该制剂的有效成分之一,因此需保证其稳定性。挥发油直接加入到颗粒剂中,随贮存时间的延长,易挥发损失。通过前期

对该颗粒中挥发性成分的研究发现,制备的颗粒放置 1 月后,大多数挥发性成分在 GC-MS 图谱中峰高明显降低,有些成分甚至检测不到,表明挥发性成分损失严重,必然影响其临床疗效。

包合技术是一种分子被包嵌于另一种分子的空穴结构中,形成包合物的技术。在制药工业上常用环糊精与药物分子形成包合物以提高药物溶解度和稳定性。本实验采用 β -CD 包合行气那尼花颗粒中挥发油成分,以达到防止其挥发的目的。包合工艺参数优选常采用正交设计或均匀设计试验,后者试验次数较前者明显减少,特别适合于多因素多水平试验,优选的工艺包合率高、收率稳定,有望过渡至产业化应用。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品质量标准. 维吾尔药分册[S]. 北京: 国家药典委员会, 1999:78,127.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:42,44,354.
- [3] 魏小亮,胡久梅,毛霞. 正交设计法优选川芎挥发油的 β -环糊精包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(5):46.
- [4] 贾永艳,祝侠丽,周红敏,等. 均匀试验设计优选产妇康颗粒挥发油的包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(12):34.
- [5] 郑青山,孙卫民. 均匀设计法分析多药物联用效果[J]. 中国临床药理学与治疗学杂志, 1997, 2(3):201.
- [6] 宋凤兰,金海杰,潘育方,等. 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -环糊精包合物的制备[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(23):9.
- [7] 李海亮,龚慕辛,仝燕. 甘松挥发油 β -环糊精包合物的制备[J]. 中国中药杂志, 2011,36(6):676.
- [8] 聂其霞,赵小妹,臧琛,等. 辛夷挥发油 β -环糊精包合物的制备工艺[J]. 中国中药杂志, 2003,28(6):507.
- [9] 郭涛,宋洪涛,颜秀涛,等. 肉桂油 β -环糊精包合物的稳定性考察[J]. 中国中药杂志, 2000,25(7):411.
- [10] 陈娟,陈文豪,王瑞,等. 中药复方愈溃胶囊中挥发油的 β -环糊精包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(14):19.

[责任编辑 仝燕]