

# 中药挥发油 $\beta$ -环糊精包合物的稳定性影响因素考察

李海亮<sup>1</sup>, 郝晶晶<sup>2</sup>, 龚慕辛<sup>1\*</sup>

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 北京卫生学校, 北京 100053)

**[摘要]** **目的:**探索影响中药挥发油  $\beta$ -CD 包合物稳定性的因素, 比较 2 种制备方法所得包合物的稳定性差异。**方法:**以相对挥发油损失率为指标, 采用单因素试验法分别考察包合物在 60 °C, (4 500 ± 500) lx, 75% 条件下的稳定性。采用水蒸气蒸馏法提取包合物中挥发油; 采用 GC-MS 检测稳定性试验前后包合物的成分变化。**结果:**挥发油包合后, 对热、光和湿的稳定性显著提高, 3 种因素对包合物相对挥发油损失率影响顺序为高湿因素 > 高温因素 > 光照因素; 3 种因素对比重大和折光率高的挥发油包合物成分的影响程度较对比重小和折光率低的影响程度大。**结论:**胶体磨法较饱和水溶液法包合更有利于包合物中挥发油含量和成分的稳定。

**[关键词]** 挥发油; 包合物; 稳定性; 影响因素

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0013-04

## Investigation for Factors Influencing Stability of $\beta$ -CD Inclusion Compound of Volatile Oil from Traditional Chinese Medicine

Li Hai-liang<sup>1</sup>, HAO Jing-jing<sup>2</sup>, GONG Mu-xin<sup>1\*</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;  
2. Beijing Health School, Beijing 100053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study factors affecting stability of  $\beta$ -CD inclusion compound of volatile oil from traditional Chinese medicine, and compare stability difference from inclusion compounds which prepared by two methods. **Method:** With relative volatile oil loss rate as index, single factor test was used to explore stability under these conditions, such as temperature of 60 °C, light of (4 500 ± 500) lx and humidity of 75%. Volatile oil in inclusion compound was extracted by steam distillation method, composition change was detected by GC-MS between before and after stability test. **Result:** After inclusion of volatile oil, its stability to light, heat and humidity had significantly improved, 3 kinds of factors affecting relative volatile oil loss rate were in order of high humidity > high temperature > strong light; Three factors had greater effect on composition in volatile oil inclusion with heavy gravity and high refractive index than that of small gravity and low refractive index. **Conclusion:** Inclusion prepared by colloid mill method has better stability on volatile oil content and composition than saturated aqueous solution method.

**[Key words]** volatile oil; inclusion compound; stability; influencing factor

药物稳定性是保证临床疗效的关键<sup>[1]</sup>, 对于含挥发油的药物, 为保证其稳定性, 多采用  $\beta$ -CD 进行包合。目前有关包合物稳定性差异和规律的研究较

少; 大多集中在对稳定性试验前后包合物的含油量变化<sup>[2-4]</sup>方面, 对试验前后的成分变化的研究亦极少<sup>[5]</sup>。有文献报道采用 TLC 对挥发油包合前后其

**[收稿日期]** 20120718(013)

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003-06)

**[第一作者]** 李海亮, 硕士, 从事药剂学研究, Tel:13811362172, E-mail:lihaijiang.2015@163.com

**[通讯作者]** \* 龚慕辛, 博士, 教授, 从事中药药剂学研究, Tel:010-83911632, E-mail:gongmuxin@126.com

化学成分变化进行考察<sup>[6]</sup>,或仅对其中部分成分进行检测<sup>[7-8]</sup>,均不能全面地说明包合物成分的变化。本试验采用适于固体制剂稳定性考核方法,分别于高温、强光、高湿条件下考察包合物的稳定性<sup>[9]</sup>,在关注包合物含油量变化的同时,考察包合物成分的变化,为筛选包合物制备工艺、确定贮存条件及控制有关成分等提供试验依据。本课题组在前期研究中已对 2 种方法制备 4 种中药挥发油  $\beta$ -环糊精包合物的规律进行了探索<sup>[10-11]</sup>,本试验在此基础上,对其稳定性的影响因素及差异进行研究。

## 1 材料

D-8401W 型多功能电动搅拌机(天津市华兴科学仪器厂),中药挥发油预混研磨循环包合设备(自制,专利号 ZL201120201130.3),YP601N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),CP224C 型电子天平(奥豪斯仪器有限公司),DZF-6210 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),WD 型药物稳定性检查仪(天津市富兰斯电子科贸有限公司),98-1-B 型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司),KS6161001 型挥发油提取器(北京玻璃仪器厂),GCMS-QP2010 型气质联用分析仪(日本岛津公司)。

$\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD,淄博千汇精细化工有限公司),甘松挥发油、砂仁挥发油、干姜挥发油、当归挥发油(江西吉安市青原区振兴香料油提炼厂,批号分别为 20100410,20100420,20100310,20100320),无水乙醚(北京化工厂),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1  $\beta$ -环糊精包合物的制备<sup>[10-11]</sup>** 在前期试验基础上,采用饱和水溶液法和胶体磨法正交试验筛选出的最佳工艺分别制备甘松、砂仁、干姜和当归 4 种挥发油的  $\beta$ -CD 包合物。

**2.2 物理混合物的制备** 按包合时对应的物料比,将挥发油与  $\beta$ -CD 研磨混匀,即得黄色或棕黄色粉末状混合物。

**2.3 挥发油物理性质的测定<sup>[12]</sup>** 甘松、砂仁、干姜及当归 4 种挥发油的相对密度测定采用《中国药典》2010 年版附录 VII A 中的比重瓶法,结果分别为 0.900,0.993,0.922,0.955 g·mL<sup>-1</sup>;将 2~3 滴待测样品的挥发油均匀地置于阿贝折光仪磨砂面棱镜上,测定时调节温度至 20℃,采用《中国药典》2010 年版附录 VII E 旋光度测定法测得挥发油折光率分别为 1.468,1.495,1.488,1.495。

**2.4 稳定性试验** 分别称取 2 种方法制备的理论

含油量为 1 mL 的包合物和相同物料比的物理混合物各 3 份,置玻璃培养皿中,分别在 60℃ 高温(相对湿度约 30%,无光照),(4500±500) lx 光照(温度 18~20℃,湿度约 30%),相对湿度 75%(温度 18~20℃,无光照)的条件下,放置 10 d,于第 10 d 取样进行检测,进行包合物相对挥发油损失率的比较。结果见表 1~3。

表 1 2 种方法制备的包合物及其物理混合物挥发油损失率 %

影响因素	包合方法	样品	甘松	砂仁	干姜	当归	
高温	胶 <sup>1)</sup>	包合	9.00	13.99	9.71	4.80	
		混合	96.65	75.48	67.18	73.40	
	饱 <sup>2)</sup>	包合	9.54	3.65	18.33	19.36	
		混合	90.69	82.57	63.53	75.69	
	光照	胶 <sup>1)</sup>	包合	8.18	3.22	1.58	11.41
			混合	88.87	83.95	61.18	61.54
饱 <sup>2)</sup>		包合	12.97	5.94	20.46	8.85	
		混合	86.66	78.00	82.22	63.32	
高湿	胶 <sup>1)</sup>	包合	5.62	3.01	9.59	17.62	
		混合	88.89	76.05	68.86	63.33	
	饱 <sup>2)</sup>	包合	10.08	7.72	20.02	16.09	
		混合	93.33	72.89	67.21	49.92	

注:<sup>1)</sup>表示胶体磨法包合法,<sup>2)</sup>表示饱和水溶液包合法(表 2 同)。

表 2 2 种方法制备包合物的相对挥发油损失率 %

影响因素	包合方法	甘松	砂仁	干姜	当归
高温	胶 <sup>1)</sup>	9.31	18.53	14.45	6.54
	饱 <sup>2)</sup>	10.52	4.42	28.85	25.58
光照	胶 <sup>1)</sup>	9.20	3.84	2.58	18.54
	饱 <sup>2)</sup>	14.97	7.62	24.88	13.98
高湿	胶 <sup>1)</sup>	6.32	3.96	13.93	27.82
	饱 <sup>2)</sup>	10.80	10.59	29.79	32.23

表 3 2 种方法制备包合物的相对挥发油损失率范围 %

方法	高温	光照	高湿
胶体磨法	6~19	2~19	3~28
饱和水溶液法	4~30	7~25	10~33

稳定性试验表明,包合物的挥发油损失率明显小于其物理混合物的挥发油损失率(表 1),可见挥发油被  $\beta$ -CD 包合后,对热、光和湿的稳定性显著提高。在高湿环境中,包合物可吸收水分,在其表面形成一层液膜,液膜中的水使一部分包合物以溶液状态存在,挥发油进出环糊精结构的动态过程比在固体中容易发生,可能造成物理稳定性下降,挥发油逸散,因此湿度对包合物稳定性的影响不容忽视;当温度升高,容易使与环糊精结合不紧密的易挥发成分

逸散;当强光照射时,对包合物温度影响小,因此逸散少,对含量的影响小。

由表2,3可知,对包合物的相对挥发油损失率影响强弱影响顺序为高湿因素>高温因素>光照因素;大多数情况下胶体磨法制备的包合物较饱和水溶液法制备的包合物损失量少,可见胶体磨法制备比饱和水溶液法制备更利于包合物中挥发油含量的稳定性。

## 2.5 试验终止包合物评价

**2.5.1 挥发油空白回收率测定**<sup>[12]</sup> 精密吸取挥发油1.0 mL,按《中国药典》2010年版挥发油测定法甲法(附录X D)测定3次,计算平均值。空白回收率=实际收油量/加入挥发油量 $\times 100\%$ ,结果甘松、砂仁、干姜、当归挥发油的空白回收率分别为94.7%,86.7%,94.0%,90.7%。

**2.5.2 包合物含油量测定** 精密称定包合物,照上法测定,读取挥发油量。

**2.5.3 试验终止包合物评价指标** 由于每种挥发

油包合物制备时的物料比和实际含油量不同,为便于比较不同包合物的挥发油损失率,以相应物理混合物挥发油损失率为参比,计算各包合物的相对挥发油损失率。

包合物挥发油损失率=(原包合物含油量-试验终止包合物含油量)/原包合物含油量 $\times 100\%$ ;

物理混合物挥发油损失率=(物理混合物投油量-试验终止混合物含油量)/物理混合物投油量 $\times 100\%$ ;

相对挥发油损失率=包合物挥发油损失率/相应物理混合物挥发油损失率 $\times 100\%$ 。

**2.6 试验终止包合物成分分析** 取试验终止后包合物,采用水蒸汽蒸馏法提取其挥发油,采用气质联用分析方法,在优化的色谱条件下<sup>[11]</sup>,获得各挥发油总离子流图,并通过计算机质谱图库检索,分别鉴定出化合物;通过工作站数据处理系统,按峰面积归一化法进行计算求得鉴定出的各化学成分在挥发油中的相对含量。结果见表4~6。

表4 胶体磨法制备的包合物稳定性试验前后成分比较

包合油种类	甘松		砂仁		干姜		当归	
	成分数/个	相对含量/%	成分数/个	相对含量/%	成分数/个	相对含量/%	成分数/个	相对含量/%
B <sub>1</sub>	44	99.03	65	95.58	60	99.29	19	91.10
W <sub>1</sub>	38	90.71	56	90.53	56	97.51	47	80.81
G <sub>1</sub>	34	96.12	64	70.16	55	95.73	51	81.85
S <sub>1</sub>	45	97.68	58	74.07	67	96.03	51	84.92
B <sub>1</sub> W <sub>1</sub>	13	B <sub>1</sub> 79.35 W <sub>1</sub> 89.65	23	B <sub>1</sub> 48.60 W <sub>1</sub> 52.62	23	B <sub>1</sub> 79.30 W <sub>1</sub> 89.33	14	B <sub>1</sub> 76.06 W <sub>1</sub> 67.85
B <sub>1</sub> G <sub>1</sub>	12	B <sub>1</sub> 80.54 G <sub>1</sub> 90.34	25	B <sub>1</sub> 35.14 G <sub>1</sub> 37.07	23	B <sub>1</sub> 83.56 G <sub>1</sub> 86.72	13	B <sub>1</sub> 75.16 G <sub>1</sub> 67.49
B <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	16	B <sub>1</sub> 85.17 S <sub>1</sub> 89.56	25	B <sub>1</sub> 43.75 S <sub>1</sub> 42.08	27	B <sub>1</sub> 79.62 S <sub>1</sub> 87.14	15	B <sub>1</sub> 80.22 S <sub>1</sub> 71.79
B <sub>1</sub> W <sub>1</sub> G <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	9	B <sub>1</sub> 78.21 W <sub>1</sub> 89.16 G <sub>1</sub> 88.71 S <sub>1</sub> 84.71	18	B <sub>1</sub> 30.06 W <sub>1</sub> 32.55 G <sub>1</sub> 33.33 S <sub>1</sub> 31.18	16	B <sub>1</sub> 78.23 W <sub>1</sub> 83.49 G <sub>1</sub> 80.75 S <sub>1</sub> 79.92	13	B <sub>1</sub> 75.16 W <sub>1</sub> 67.62 G <sub>1</sub> 67.49 S <sub>1</sub> 70.28

注: B<sub>1</sub> 胶体磨法包合物包合油; W<sub>1</sub> 胶-高温试验包合油; G<sub>1</sub> 胶-光照试验包合油; S<sub>1</sub> 胶-高湿试验包合油, B<sub>1</sub>W<sub>1</sub> 为 B<sub>1</sub> 和 W<sub>1</sub> 两种油共存在的部分,其他类推(表5同)。

由表6可知,胶体磨法影响程度由强到弱分别是砂仁包合物、当归包合物、干姜包合物、甘松包合物;饱和水溶液法影响程度由强到弱分别是当归包合物、砂仁包合物、干姜包合物、甘松包合物。说明3种影响因素对比重大和折光率高的挥发油(如砂仁、当归挥发油)包合物成分的影响程度比比重大和折光率低的挥发油(如干姜、甘松挥发油)包合物的影响程度大,可见比重大和折光率高的挥发油包合物中的成分更容易不稳定。

## 3 讨论

水分的存在可加速降解反应,水分含量越高降解速度越快;空气中的二氧化碳和氧能溶解在水中,这些都可能影响包合物中挥发油成分的稳定性。挥发油中诸多小分子物质受热不稳定,如(1S)-( )- $\beta$ -蒎烯遇热极易异构化成 $\alpha$ -蒎烯,且这类不稳定小分子物质在挥发油中含量较高,因此高温对于包合物的影响同样很大。光照能够使药物分子活化而降解,能激发或加快氧化、水解、聚合等反应,特别是光

表 5 饱和水溶液法制备的包合物稳定性试验前后成分比较

包合油 种类	甘松		砂仁		干姜		当归	
	成分数 /个	相对含量 /%	成分数 /个	相对含量 /%	成分数 /个	相对含量 /%	成分数 /个	相对含量 /%
B <sub>2</sub>	48	96.46	74	96.01	47	99.39	29	74.87
W <sub>2</sub>	31	96.39	58	75.94	55	86.46	46	80.14
G <sub>2</sub>	32	98.35	24	86.67	63	88.42	41	86.21
S <sub>2</sub>	51	96.73	54	74.27	57	89.7	38	83.14
B <sub>2</sub> W <sub>2</sub>	16	B <sub>2</sub> 73.22 W <sub>2</sub> 93.12	27	B <sub>2</sub> 28.00 W <sub>2</sub> 31.22	20	B <sub>2</sub> 27.08 W <sub>2</sub> 70.65	8	B <sub>2</sub> 22.49 W <sub>2</sub> 24.20
B <sub>2</sub> G <sub>2</sub>	11	B <sub>2</sub> 67.96 G <sub>2</sub> 92.47	12	B <sub>2</sub> 35.44 G <sub>2</sub> 38.24	24	B <sub>2</sub> 27.63 G <sub>2</sub> 73.07	10	B <sub>2</sub> 26.30 G <sub>2</sub> 25.53
B <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	15	B <sub>2</sub> 72.58 S <sub>2</sub> 90.65	27	B <sub>2</sub> 28.71 S <sub>2</sub> 29.98	23	B <sub>2</sub> 27.24 S <sub>2</sub> 76.82	12	B <sub>2</sub> 25.50 S <sub>2</sub> 27.01
B <sub>2</sub> W <sub>2</sub> G <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	10	B <sub>2</sub> 67.74 W <sub>2</sub> 91.34 G <sub>2</sub> 92.37 S <sub>2</sub> 89.46	6	B <sub>2</sub> 15.35 W <sub>2</sub> 15.78 G <sub>2</sub> 14.35 S <sub>2</sub> 14.67	18	B <sub>2</sub> 26.89 W <sub>2</sub> 68.67 G <sub>2</sub> 68.04 S <sub>2</sub> 71.17	7	B <sub>2</sub> 19.07 W <sub>2</sub> 17.95 G <sub>2</sub> 14.91 S <sub>2</sub> 14.14

表 6 2 种方法制备包合物稳定性试验前后共同成分相对含量范围 %

共同成分	甘松	砂仁	干姜	当归
M <sub>1</sub>	89 ~ 91	37 ~ 52	86 ~ 90	67 ~ 72
N <sub>1</sub>	84 ~ 90	31 ~ 34	79 ~ 84	67 ~ 71
M <sub>2</sub>	90 ~ 94	29 ~ 39	70 ~ 77	24 ~ 27
N <sub>2</sub>	89 ~ 93	14 ~ 16	68 ~ 72	14 ~ 18

注: M<sub>1</sub> 代表 B<sub>1</sub>W<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>G<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>S<sub>1</sub> 共同存在的成分分别占 W<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, S<sub>1</sub> 的相对含量范围, N<sub>1</sub> 代表 B<sub>1</sub>W<sub>1</sub>G<sub>1</sub>S<sub>1</sub> 共同存在的成分分别占 W<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, S<sub>1</sub> 的相对含量范围; M<sub>2</sub> 代表 B<sub>2</sub>W<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>G<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>S<sub>2</sub> 共同存在的成分分别占 W<sub>2</sub>, G<sub>2</sub>, S<sub>2</sub> 的相对含量范围, N<sub>2</sub> 代表 B<sub>2</sub>W<sub>2</sub>G<sub>2</sub>S<sub>2</sub> 共同存在的成分分别占 W<sub>2</sub>, G<sub>2</sub>, S<sub>2</sub> 的相对含量范围。

线中能量高的紫外线能加速成分化学性质的改变, 结构中含有对紫外线敏感基团(如巯基、烯醇结构、多烯键等)的成分更易氧化而导致变质。

稳定性实验条件对挥发油成分稳定性的影响强弱, 与包合物中包合油的成分种类有关。大多数情况下, 经过稳定性试验后, 胶体磨法制备的包合物比饱和水溶液法制备的包合物所含的与原包合油相同的成分个数多, 且相同成分所占含量高(表 4, 5), 可见胶体磨法制备比饱和水溶液法制备更利于挥发油成分的稳定。通过对 2 种方法制备 4 种中药挥发油 β-环糊精包合物稳定性影响因素的试验研究, 以期挥发油包合物的制备与应用提供实验参考。

[参考文献]

[1] 成海平, 高建青, 霍秀敏. 影响因素试验在药物研发

中的作用及其关注点[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(2): 158.

[2] 王正宽, 王振中, 徐连明, 等. 胶体磨法包合大蒜油及包合物稳定性考察[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4): 50.

[3] 许杨彪, 宋宁宇. 连翘挥发油 β-环糊精包合物稳定性考察[J]. 中成药, 2008, 30(6): 936.

[4] 杨小催, 柯雪红, 陈锦富, 等. 石菖蒲挥发油包合工艺及包合物稳定性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(2): 202.

[5] 李丽华, 焦亿, 焦映祺. 艾连挥发油 β-环糊精包合物稳定性考察[J]. 中医药学报, 2011, 39(4): 76.

[6] 李茜, 范芳芳, 黎耀东. 百丹胶囊中异株百里香挥发油包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 43.

[7] 张生潭, 汪铁山, 林敬明. 春砂仁挥发油羟丙基-β-环糊精包合物的稳定性及增溶作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 53.

[8] 古锐, 张艺, 蒋桂华. 藏药赛朱复方中挥发油包合工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(2): 3.

[9] Daniel LIU. 药物稳定性实验方案设计研究的国际化规范[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(3): 284.

[10] 李海亮, 龚慕辛, 全燕. 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.

[11] 李海亮, 崔小丽, 龚慕辛, 等. 2 种方法制备 4 种中药挥发油 β-环糊精包合物的规律性研究探索[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 908.

[12] 中国药典. 一部[S]. 2010: 附录 41, 44, 63.

[责任编辑 全燕]