

· 综述 ·

挥发油环糊精包合技术的研究进展 及存在问题分析

郝晶晶¹, 李海亮^{1,2}, 龚慕辛^{2*}

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

[摘要] 查阅近10年挥发油环糊精包合技术研究进展及存在问题的相关文献,进行总结分析。环糊精包合技术在挥发油包合方面的应用研究日益广泛,包括挥发油环糊精包合中挥发油、环糊精及其衍生物、环糊精包合原理简介;挥发油环糊精包合物的制备、包合时对未被包合挥发油的处理及包合物干燥方法;挥发油环糊精包合物薄层色谱、显微镜法和电镜扫描、热分析、紫外可见分光光度、X-射线衍射、红外分光光度、核磁共振、荧光光谱、圆二色谱法的验证;挥发油环糊精包合物的应用等。但在包合工艺研究、包合规律及质量检验标准等方面存在着诸多问题;挥发油包合技术研究有待进一步深入。

[关键词] 挥发油; 环糊精; 包合技术; 包合物; 应用

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0352-05

Review on Volatile Oil-cyclodextrin Inclusion Technology

HAO Jing-jing¹, LI Hai-liang^{1,2}, GONG Mu-xin^{2*}

(1. Beijing Health Vocational School, Beijing 100053, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] To explore the research development and the problems of the inclusion technology. Access to the last decade literature, then analyze and summarize. The cyclodextrin inclusion technology in volatile oil cyclodextrin has been used widely, but there are many problems in the research of inclusion technique, the laws of inclusion and quality inspection standards. Volatile oil inclusion technology needs further research.

[Key words] volatile oil; cyclodextrin; inclusion technology; inclusion complex; application

挥发油在医药领域的应用十分普遍,众多研究者在挥发油环糊精包合技术研究与应用方面进行了大量探索,取得了较多成就。本文对此进行回顾与总结,并分析存在的问题以供同道参考。

1 挥发油环糊精包合简介

1.1 挥发油 挥发油也称精油,是存在于植物体内的一类具有香气、挥发性、可随水蒸气蒸馏出来的油状液体的总称^[1]。挥发油是中药中的一类重要的活性成分,广泛分布于中药材中,其成分复杂,对空气、日光及温度敏感,易氧化变质。

1.2 环糊精及其衍生物 常见的环糊精是淀粉经酶解环合后得到的由6,7,8个葡萄糖分子通过1,4-苷键连接而成的环状低聚糖化合物^[2],分别称作 α 、 β 和 γ -环糊精。其立体结构类似空心圆台,内部以氧原子为主,具有疏水性,外部以羟基为主,具有亲水性。其中 β -环糊精空洞大小适中,水中溶解度小,口服后在肠道中参与机体代谢,无蓄积作用,使用安全无毒,不会引起免疫反应,生产成本低,日本和美国已批准将 β -环糊精作为包合材料应用于医药和食品工业^[3-4],是一个理想的药物载体。

为了克服 β -环糊精溶解度低及非胃肠道给药有肾毒性的缺点,有研究者对其进行了结构改造和化学修饰,获得了一些性能优良的环糊精衍生物。常用的有羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)、甲基- β -环糊精(Me- β -CD)、羟乙基- β -环糊精(HD- β -CD)等。

[收稿日期] 20120802(013)

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

[通讯作者] * 龚慕辛, Tel: 010-83911632, E-mail: gongmuxin@126.com

1.3 环糊精包合原理 挥发油环糊精包合技术是指挥发油被包藏在环糊精的空穴结构内形成包合物的技术。环糊精与药物间存在弱相互作用如范德华力、偶极-偶极相互作用、电荷转移作用、氢键、疏水作用等协同作用^[5],形成超微囊状包合物。

2 挥发油环糊精包合物的制备

2.1 包合物的制备方法

2.1.1 溶液法 此法亦称为重结晶法或共沉淀法。先将环糊精与水加热制成溶液,再加入一定比例挥发油或挥发油的乙醇溶液,在一定温度下搅拌后,冷藏、抽滤、干燥得到环糊精包合物。对于溶解度较小的环糊精,可以制成饱和溶液;对于溶解度较大的环糊精,可制成不饱和溶液。该法是实验室制备环糊精包合物最常用的方法。

在溶液法包合过程中,主要影响因素有油与环糊精投料比、温度、包合时间、搅拌速度和方式等,一般认为投料比和温度最为重要^[6]。

2.1.2 研磨法 将环糊精与2~5倍量水研匀,加入挥发油经研磨混合成糊状物,低温干燥后用适当溶媒洗净,再干燥,即得包合物。手工研磨费力费时,仅适于小量进行。采用机械研磨法如胶体磨或碾磨机研磨进行制备环糊精包合物,快速、简便,比较适合工业化生产,挥发油利用率也较高。影响研磨法制备包合物的油利用率的因素有研磨时间、油与环糊精投料比以及溶媒的种类^[7-8]。

2.1.3 超声法 将挥发油加入到环糊精水溶液中,混合后用超声波破碎仪或超声波清洗机,选择合适功率和适当时间,代替搅拌力进行包合。冷藏后,将析出的沉淀过滤、洗涤、干燥即得包合物。此法具有操作简便快捷、包合率高且便于工业化生产等特点。影响超声法制备包合物的因素有超声时间、温度、物料比等^[9]。

2.1.4 直接混合法 将挥发油直接加入到环糊精粉末中,然后搅拌混合来实现包合。该法在室温下进行,但通常需要较长的包合时间,有的甚至达到数月之久;在制备过程中常发生结块现象,导致混合不均匀、不充分,从而使包合不彻底^[10]。

2.1.5 气-液法^[11]和液-液法 将含挥发油的蒸气或冷凝液直接通入环糊精的溶液中,进行包合,经过滤、干燥即得包合物。此法可以将挥发油的提取工艺与包合工艺连续成一体,省时又高效,较适合实际生产的需要,为包合物的制备提供了新的思路。

2.1.6 冷冻干燥法 将环糊精制成饱和水溶液,加入挥发油搅拌混合,使药物被包合,通过冷冻干燥除

去溶剂,得粉末状包合物。在加热时易挥发、分解、变色的挥发油,可用此法制备包合物^[12]。

2.1.7 喷雾干燥法 遇热性质较稳定的挥发油,可用喷雾干燥法制备包合物,干燥温度高,受热时间短,产率高。目前利用此法制备固态乳的研究较多,应用于油性成分包合的潜力较大,特别是对于一些高沸点中药种籽油脂性药物尤为适用^[13]。

2.1.8 微波辐射法 使用微波辐射法进行挥发油环糊精包合物的制备,具有操作简单、收率高、后处理方便、产品细腻均匀、质量容易控制等特点,为包合物的制备提供了新方法^[14]。

2.1.9 密封控温法 密封控温技术是一种新型制备包合物的方法,其原理是将药物和环糊精密封于容器内,通过控制加热温度(一般为100℃左右)和时间等因素,使药物分子在一定温度下挥发或升华成为气体分子进入环糊精空穴中与其相互结合形成包合物。该技术具有不需任何溶剂、包合速度快、包合率高、后处理方便、制备工艺简便等优势^[15]。

2.2 包合时对未被包合挥发油的处理方法 由于包合是一种动态平衡过程,受多种因素的影响,包合完成后,尚有少量未被包合的挥发油残留在包合物表面,为了更准确的测定包合率,要对其进行洗涤除去。采用的洗涤溶媒主要有石油醚、乙醚、无水乙醇、乙酸乙酯等。

2.3 包合物干燥方法 包合物的干燥方法有真空干燥^[16]、喷雾干燥^[17]、冷冻干燥、自然干燥等^[18]。

3 挥发油环糊精包合物的验证

对包合物的形成提供规范可靠的证据,同时对控制包合物的质量也有着重要的意义。

3.1 薄层色谱法 薄层色谱法(TLC)常用于表征包合物的形成,以有无薄层斑点,斑点数和Rf值与原油是否相同来验证包合物是否形成。

3.2 显微镜法和电镜扫描法 由于挥发油包合物与其物理混合物的晶格排列发生变化,故在显微镜和扫描电镜下两者的形状不同,可通过分析形态、晶形变化做出判断。李海亮等^[19]对甘松挥发油与 β -CD的物理混合物和包合物在扫描电镜下放大观察并成像的结果说明甘松挥发油包合物形成。

3.3 热分析法 包括差示热分析法(DTA)和差示扫描量热法(DSC),该法是检验中药与环糊精是否形成包合物的常用方法。通过对比包合物与药物、环糊精以及两者物理混合物热分析图谱在峰温、峰形上的明显不同,来表征包合物的形成^[20-21],该方法简便、快速。

3.4 紫外可见分光光度法 通过比较挥发油包合前后的紫外-可见吸收曲线,根据吸收峰的位置和高度来判断包合是否形成^[22]。

3.5 X-射线衍射法 由于不同物质具有各异的衍射图,利用包合物显示出不同的衍射峰和衍射图形来验证包合物是否形成。如包合物的 X-衍射图明显不同于 β -环糊精及 β -环糊精和油物理混合物的 X-衍射图谱,说明当归精油包合后晶形发生改变,包合物已构成一种新物相^[23]。

3.6 红外分光光度法 混合物的光谱具有加和性,二元混合物的光谱应为各组分光谱的叠加。包合物不属混合物,一般不显示光谱叠加^[24]。通过比较挥发油包合前后红外区特征峰的变化,如吸收峰位移变化或吸收峰消失来判断包合是否形成^[25]。如在 $1\ 000 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 处,混合物与薄荷油- β -环糊精包合物的图谱有明显差异,说明在包合物中已形成。

3.7 核磁共振法 核磁共振法是研究包合物一个有力工具,从核磁共振谱上氢原子、碳原子的化学位移大小,推断包合物是否形成。一般对含芳香环的药物,可采用 H-NMR 技术,而对于不含有芳香环的药物可采用 C-NMR 技术。

3.8 荧光光谱法 与其他光谱法相比,荧光光谱有很高灵敏度,荧光强度增减和最大激发、发射波长大小与荧光基团周围环境有关。通过比较挥发油与包合物的荧光光谱,从曲线与吸收峰的位置和高度来判断包合物是否形成。

3.9 圆二色谱法 圆二色谱是研究具有光学活化性化合物结构的有效方法。由于包含发色团的分子的不对称性而引起的左右两圆偏振光具有不同的光吸收的现象称圆二色性,将它们吸收系数之差对波长作图可得圆二色谱,用于测定分子的立体结构,判断是否形成包合物。如维 A 酸 β -环糊精包合物,维 A 酸溶于二甲亚砜后有明显的圆二色谱,由于 β -环糊精为对称性分子无圆二色性,包合物虽有圆二色性,但与维 A 酸比较有显著差异^[26]。

4 挥发油环糊精包合物的应用

挥发油包合后,可以改变挥发油的理化性质,提高其稳定性,掩盖不良气味,降低刺激性;包合物可以增加挥发油溶解度,提高制剂的生物利用度,减少服药剂量,改善药物在体内的吸收,减轻毒副作用;挥发油包合后粉末化,可制成散剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂等,不仅便于生产,而且利于质量控制、保存和携带等;此外,挥发油被嵌入环糊精分子中,可调节所形成包合物的释药速度,达到缓释、靶向的目的。

5 挥发油环糊精包合工艺研究存在的问题

影响其包合工艺的因素较多,许多因素对包合工艺的影响程度尚不明确。因此,在考察各因素对工艺的影响方面还需做进一步的研究。

5.1 包合物制备方法和评价指标不统一 不同工作者对同种包合方法的理解不同,导致制备操作存在较大的差异,结果难以重复。如在使用饱和和水溶液法时,许多工作者实际使用的是不饱和和环糊精溶液,影响包合效果。目前,包合物的评价指标有包合物收率、油利用率和含油率等,使用的评价指标不同,会给包合工艺的优选带来一定差异。

5.2 包合时挥发油分散剂对包合工艺的影响 挥发油直接包合效果不好,需用一些有机溶剂来稀释。文献报道,用来稀释挥发油的分散剂一般选用乙醇,油、乙醇之比为 $1:1 \sim 1:5$ ^[27-28]。综合各文献,大部分实验中都用了分散剂,但加入的种类和量不相同,分散剂对包合工艺有无影响以及影响程度如何尚未见报道。

5.3 洗脱溶媒对包合物的影响 包合过程完成后,为了消除尚未包合挥发油对包合物回收率、含油率等的影响,多以有机溶媒进行洗脱。目前选用的洗涤溶媒的种类和方法较多,各不相同。洗涤溶媒的种类、方法以及用量的有无影响及程度如何也未见报道。

5.4 干燥方法对包合物的影响 包合物的干燥方法较多,不同的干燥方法对包合物的收率及含油率影响程度不同。黄裕等^[17]将喷雾干燥和减压干燥进行了比较,发现喷雾干燥条件下未包合的药物大部分损失,使包合物的收得率及含油率数值低,而减压干燥因温度较低,未包合药物基本没有损失而数值偏“虚高”。

5.5 采用《中国药典》规定方法^[29]提取包合物中挥发油存在的问题

5.5.1 消耗大量样品,一般为几克~几十克。

5.5.2 提取时间较长 一般来讲,每次实验约消耗 5~6 h。如选择三因素三水平的正交试验表进行实验,9 次实验耗费较长时间。

5.5.3 实验误差大 水蒸气蒸馏提取挥发油的原理是将不溶或难溶于水但有一定挥发性的有机物质,使其在低于 $100\ ^\circ\text{C}$ 的温度下,随着水蒸气一起蒸馏出来,因此有些成分可能未被蒸出。包合物在挥发油提取器中,当达到体系动态平衡时,解吸附的逆向反应将不再进行;同时有些解吸附的成分也会因溶解在沸水中,造成实际上包合物中挥发油提取不

完全。另外,挥发油在提取过程中会有一部分黏在挥发油提取器的内壁上,给实验造成较大误差。

5.5.4 很少以确定的具体成分评价包合效果 利用水蒸气蒸馏法提取挥发油,从挥发油提取器上只能读出挥发油的总体积,而不能对其主要有效成分的含量进行测定。因此评价得出的工艺与有效成分或疗效的相关性不强。这一方面与挥发油成分复杂有关,另一方面与含量测定使用的方法成本高,仪器难以普及使用有关。

6 挥发油包合物稳定性及溶出度研究现状及存在问题

6.1 挥发油包合物的稳定性 近年来用 β -环糊精包合中药挥发油增强稳定性已在中成药制剂中得到了广泛的研究和应用^[30-32]。包合物的稳定性与其应用价值具有直接的关系。考察包合物的稳定性,包括两个方面的内容,一是考察包合物含油率的变化,二是考察包合物中所含的成分稳定性。一般稳定性考察可通过温、湿度加速试验、光照加速试验、室温留样观察等方法完成。

目前对稳定性试验前后包合物的含油量变化研究较多,但对成分变化研究报道极少。包合物成分的稳定性直接影响着挥发油制备成包合物后的药效,因此包合物对成分稳定性的影响有待进一步研究,不同方法制备的包合物的稳定性规律也有待进一步研究和探索。

6.2 挥发油包合物的溶出度 目前对挥发油包合物的溶出度的研究较少,主要原因有:挥发油为多成分混合物,对检测条件要求高;挥发油不稳定、易挥发,给溶出度测定带来较大实验误差。有研究者对成分较单一的冰片按《中国药典》溶出度第三法,进行了体外溶出研究,结果发现冰片 60 min 内完全释放,冰片的 β -环糊精包合物的不能完全释放,60 min 内释放度接近 80%,说明包合降低了冰片的释放度^[33]。

7 挥发油环糊精包合规律研究现状及存在问题

中药挥发油成分的复杂性是影响挥发油包合参数的根本因素之一,不同种类的挥发油,不同提取方式的同种挥发油,甚至不同批次药材提取的同种挥发油,都将对包合工艺参数有着不同程度的影响。目前,对于挥发油包合技术的规律研究尚处于探索阶段,挥发油包合效果与挥发油所含成分之间的关系仍不十分清楚。挥发油的黏度、密度以及折光率等物理性质与其组成成分有直接关系,挥发油的物理参数是否与包合参数之间存在一定的关系,规律

如何仍有待进一步研究和探索。另外,不同方法制备时对挥发油成分选择性包合的规律有待进一步研究和探索^[34]。

8 挥发油环糊精包合技术的应用现状及存在问题

环糊精包合技术在挥发油领域有着普遍的应用,但目前大多数停留在研究阶段,实际应用和相关产品较少,其产业化进展较为缓慢。主要与以下因素有关:首先,目前挥发油环糊精包合工艺研究多限于实验室制备,包合材料单一,不适宜工业大生产。其次,药品生产企业对挥发油环糊精包合物在制剂中的作用及意义认识不够,没有引起足够重视。再次,使用挥发油环糊精包合物的制剂若不改变剂型则不算是新药,得不到政策上的支持;目前大生产常用的双提工艺很难得到挥发油,多数得到的是芳香水;挥发油本身为混合物,受多种因素影响质量不稳定,导致包合物质量难于控制……这些都影响了企业开发挥发油环糊精包合物制剂的积极性。因此,研究者应加强与企业生产相联系,药品生产企业应重视此项技术,提高产品质量和科技含量;同时需要不断改进相关制药机械;新药审批机构应根据实际需要不断改进相关的规定。

9 展望

目前国内挥发油包合材料主要是 β -环糊精,其次是羟丙基- β -环糊精,环糊精的衍生物及其他包合材料应用有待进一步研究,对挥发油成分包合规律和包合前后溶出度的变化也有待深入研究。

虽然挥发油包合技术依然存在着诸多不足,但随着包合物研究与开发力度的加强,挥发油环糊精包合技术的提高和普及,会在越来越多的新型中药制剂中应用,从而提高中药制剂的质量和科技含量,增强中药在医药市场上的竞争力,同时也必将带来巨大的经济效益和社会效益。

[参考文献]

- [1] 王万,原红果,陈博,等. 中药挥发油研究现状探讨[J]. 时珍国医国药,2006,17(5):848.
- [2] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:24.
- [3] Szejtli J. Past, present, and future of cyclodextrin research[J]. P Applied Chem,2004, 76(10):1825.
- [4] E M Martin Del Valle. Cyclodextrins and their uses: a review[J]. Process Biochem,2004, 39:1033.
- [5] 殷亚星,解菊,刁国旺. 环糊精及其衍生物包合作用的理论研究进展[J]. 化学通报,2009,(4):320.
- [6] 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.
- [7] 颜红, 夏新华, 陈镇. β -环糊精包合佛手、香附、木香混合挥发油的制备工艺研究[J]. 医药导报, 2005, 11(3): 59.
- [8] 熊耀坤, 张国松, 魏惠珍, 等. 胶体磨制备冰片- β 环糊精包合物工艺研究[J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(1): 30.
- [9] 汪文来, 杨立新, 赵红霞, 等. 青皮挥发油 β -环糊精包合工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 36.
- [10] 熊晓莉, 李宁, 陈锦锦. 环糊精包合技术研究进展[J]. 中国药房, 2008, 19(25): 1988.
- [11] 李树珍, 白卫国, 赵红霞. 药环糊精包合物工艺及质量的研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(4): 57.
- [12] 王志远, 郭涛, 宋洪涛, 等. 大蒜油羟丙基- β -环糊精包合物的稳定性考察[J]. 中国药房, 2006, 17(9): 656.
- [13] 游剑, 崔福德, 李青坡, 等. 固体粉末化技术在液态油性中药中的研究与应用[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 7.
- [14] 廖志新, 张燕玲, 马学毅, 等. 乙酰基二茂铁咪喃甲酰胺与 β -环糊精包结物的结构特性[J]. 高等学校化学学报, 2001, 22(5): 776.
- [15] 肖若蕾, 秦炜. 密封控温技术制备薄荷油 β -环糊精包合物[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 904.
- [16] 刘梅, 王拥军, 施杞, 等. 复方芪麝片中川芎挥发油提取及包合工艺研究[J]. 上海中医药大学学报, 2006, 20(1): 66.
- [17] 黄裕, 黄海, 钱星文, 等. 石菖蒲油 β -环糊精包合物制备的包合率测定及喷雾干燥研究[C]. 大连: 第九届全国中药和天然药物学术研讨会大会, 2007.
- [18] 孙艳, 宋明玉. 青蒿挥发油- β -CD 包合物的制备[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(4): 165.
- [19] 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.
- [20] 冯磊, 陶文沂, 敖宗华, 等. β -环糊精包结莪术挥发油的技术条件[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(2): 67.
- [21] 张蓓, 林东海, 肖楠, 等. 人参皂苷 Rh2-HP- β -CD 包合物的鉴定和热力学参数考察[J]. 中草药, 2007, 11(38): 1635.
- [22] 胡淑平, 吕圭源, 于晓敏, 等. 羟丙基- β -环糊精包合莪术油的制备工艺研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(5): 615.
- [23] 周长新, 邹建凯, 赵昱, 等. β -环糊精包合技术在当归精油新剂型研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(11): 832.
- [24] 王齐效, 吴福楷, 张勇, 等. 密封控温技术制备 β -环糊精包合物及影响工艺的因素[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22: 331.
- [25] 宋凤兰, 杨秩群, 梁开艳, 等. 薄荷油 β -环糊精包合物的制备[J]. 中南药学, 2009, 7(3): 193.
- [26] 崔福德. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 355.
- [27] 袁小红, 胡学军, 刘茂才. 脑脉 I 号胶囊挥发油的包合工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(8): 451.
- [28] 张水寒, 杨永华, 刘春海, 等. 葆妇欣颗粒中总挥发油 β -环糊精的包合研究[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(2): 110.
- [29] 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: 附录 63.
- [30] Ding L, Li Y, Jna D, et al. β -Cyclodextrin-based oil-absorbents: Preparation, high oil absorbency and reusability[J]. Carbohydr Polym, 2011, 83(4): 1990.
- [31] Cevallos P A P, Buera M P, Elizalde B E. Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and dthymol) in β -cyclodextrin: Effect of interactions with water on complex stability[J]. J Food Eng, 2010, 99(1): 70.
- [32] 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.
- [33] 杜松, 黄海, 刘美凤, 等. β -环糊精提高了冰片的溶解度和溶出度[C]. 广州: 第六届中国药学会学术年会论文集, 2006.
- [34] 李海亮, 崔小丽, 仝燕, 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探索[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 908.

[责任编辑 邹晓翠]