

· 工艺与制剂 ·

白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -环糊精包合物的制备

宋凤兰¹, 金海杰¹, 潘育方¹, 杨轶群², 杨帆^{1*}

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2. 广州白云山天心制药股份有限公司, 广州 510300)

[摘要] **目的:** 优选白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -环糊精(β -CD)包合物的制备工艺。**方法:** 以挥发油包合率、包合物收得率及包合物含油率为指标, 从饱和水溶液法、超声法、研磨法中挑选最佳制备方法; 以挥发油包合率和包合物收得率为综合评价指标, 选取挥发油与 β -CD 投料比、包合温度、包合时间、 β -CD 与水的比例为影响因素, 采用正交试验优选挥发油包合工艺; 应用 TLC, UV 及显微成像对制备的包合物进行物相鉴别。**结果:** 最佳的包合方法为饱和水溶液法, 其最佳包合工艺为挥发油- β -CD 1:8, 包合温度 55 °C, 搅拌时间 3 h, β -CD-水 1:10; TLC, UV 及显微成像分析结果均显示挥发油与 β -CD 已形成包合物。**结论:** 优选的包合工艺简单、稳定可行, 适合工业化大生产。

[关键词] 白纸扇感冒颗粒; 挥发油; β -环糊精包合物; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0009-04

Preparation of β -cyclodextrin Inclusion Compound of Volatile Oil from Baizhishan Cold Granule

SONG Feng-lan¹, JIN Hai-jie¹, PAN Yu-fang¹, YANG Yi-qun², YANG Fan^{1*}

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Guangzhou Baiyunshan Tianxin Pharmaceutical Co. Ltd, Guangzhou 510300, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of β -cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from Baizhishan cold granule. **Method:** With inclusion rate of volatile oil, yield and oil ratio of inclusion complex as indexes, optimum technology was selected from saturated aqueous solution method, ultrasonic method and trituration method; With inclusion rate of volatile oil and yield of inclusion complex as comprehensive evaluation indexes, orthogonal design was used to optimize inclusion technology of volatile oil with ratio of volatile oil- β -CD, inclusion temperature, inclusion time and proportion of water- β -CD as factors; Phase of this prepared inclusion complex was testified by analyses of TLC, UV and microscopic imaging. **Result:** The best method of inclusion was saturated aqueous solution method, and optimum inclusion technology conditions were as follows: ratio of volatile oil- β -CD 1:8, inclusion temperature of 55 °C, mixing time of 3 h, β -CD-water ratio of 1:10. Analysis results of TLC, UV and microscopic imaging showed that stable inclusion compound has been formed from volatile oil and β -CD. **Conclusion:** This optimized technology was simple, stable and feasible, it could be suitable for large-scale production.

[Key words] Baizhishan cold granule; volatile oil; β -cyclodextrin inclusion complex; orthogonal test

白纸扇感冒颗粒收载于《国家药品标准》, 由白 纸扇、桔梗、鸭脚木皮、桉叶油、薄荷素油等组成, 具

[收稿日期] 20120629(004)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2010B030700019)

[第一作者] 宋凤兰, 硕士, 实验师, 从事药物新剂型与新技术的研究, Tel:0760-88207977, E-mail:fenglansong@126.com

[通讯作者] * 杨帆, 博士, 教授, 从事药物新剂型与新技术的研究, Tel:020-39352125, E-mail:gyzangfan@hotmail.com

有清热解毒、疏风止咳的功效,常用于治疗感冒发热、头痛咳嗽等症^[1]。处方中桉叶油、薄荷素油具有疏风解表、清热解毒、化痰理气的功效,是处方中的主要药效成分的来源,但极易挥发。传统制备工艺是将白纸扇、桔梗等药材干法制粒,喷加桉叶油和薄荷素油,混匀制得,但在生产、贮存和使用的过程中,挥发油类成分极易损失,影响其疗效。为增加制剂的稳定性,提高其疗效,本试验将薄荷素油和桉叶油按处方比例混合,将此混合挥发油制成 β -环糊精(CD)包合物,通过正交试验优选包合物的制备工艺,并对制得的包合物进行物相鉴别。

1 材料

CL-2 型恒温磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司),BK5000 型生物显微镜(重庆奥特光仪器有限公司),UV1102 型紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司), β -CD(上海博奥生物科技有限公司),薄荷素油(广州致信药业有限公司,批号 091201),桉叶油(佛山市南海中南药化厂,批号 20110912),硅胶 G(青岛海洋化工有限公司),试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 挥发油 β -CD 包合物的制备

2.1.1 包合物制备方法选择 挥发油 β -CD 包合物的常用制备方法有饱和水溶液法、超声法、研磨法等^[2-5]。本试验分别采用这 3 种方法进行对比研究,以挥发油包合率、包合物收得率等为指标,以优选制备方法。

2.1.1.1 饱和水溶液法 称取 β -CD 6 g,加水 60 mL,加热溶解,于磁力搅拌器上 55 $^{\circ}$ C 恒温搅拌,缓慢滴加挥发油 1 mL,继续搅拌 1 h,取出,冷却,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱冷藏 24 h,取出,抽滤,加无水乙醇 5 mL 洗涤沉淀,置真空干燥箱中干燥 24 h,即得挥发油 β -CD 包合物,依法平行 3 份。

2.1.1.2 超声法 称取 β -CD 6 g,加水 60 mL,加热溶解,冷却至 55 $^{\circ}$ C,置超声波清洗仪中,边超声边缓慢滴加挥发油 1 mL,继续超声 1 h,取出,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱冷藏 24 h,取出,抽滤,加无水乙醇 5 mL 洗涤沉淀,置真空干燥箱中干燥 24 h,即得挥发油 β -CD 包合物,依法平行 3 份。

2.1.1.3 研磨法 称取 β -CD 6 g,加水 18 mL,研磨均匀,边研磨边滴加挥发油 1 mL,继续研磨 1 h,抽滤,加无水乙醇 5 mL 洗涤沉淀,置真空干燥箱中干燥 24 h,即得挥发油 β -CD 包合物,依法平行 3 份。

2.1.2 包合物质量评价指标 将挥发油 β -CD 包合物置圆底烧瓶中,加水 300 mL,连接挥发油提取器,按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法项下甲法,煮沸 2 h 以上,至油量不再增加,读取挥发油回收量。同时精密量取挥发油 1 mL,置于圆底烧瓶中,加水 300 mL,连接挥发油提取器,同法操作,计算空白回收率。

$$\text{空白回收率} = \frac{\text{回收油体积}}{\text{加入挥发油体积}} \times 100\%$$

$$\text{挥发油包合率} = \frac{\text{包合物中挥发油体积}}{\text{投油体积} \times \text{空白回收率}} \times 100\%$$

$$\text{包合物收得率} = \frac{\text{包合物质量}}{(\beta\text{-CD} + \text{挥发油}) \text{质量}} \times 100\%$$

$$\text{包合物含油率} = \frac{\text{包合物中挥发油体积}}{\text{包合物质量}} \times 100\%$$

$$\text{综合评分} = \frac{\text{挥发油包合率}}{\text{包合率最高值}} \times 80 + \frac{\text{包合物收得率}}{\text{收得率最高值}} \times 20$$

测得饱和水溶液法、超声法及研磨法制得的挥发油 β -CD 包合物的挥发油包合率分别为(80.45 \pm 1.52)%,(72.05 \pm 1.20)%,(65.58 \pm 3.12)%;包合物收得率分别为(93.73 \pm 0.46)%,(97.17 \pm 0.43)%,(88.43 \pm 0.49)%;包合物平均含油率依次为(11.44 \pm 0.19)%,(9.89 \pm 0.19)%,(9.89 \pm 0.51)%。采用最小显著差数法(LSD)对 3 种方法的数据平均值两两比较,结果见表 1。

表 1 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD 包合物制备方法分析

方法 (I)	方法 (J)	包合率		收得率		含油率	
		平均差 (II - JI)	P	平均差	P	平均差	P
饱和水溶液	超声	8.40	0.002 8	3.44	9.75×10^{-5}	1.56	0.001 2
饱和水溶液	研磨	14.87	0.000 1	5.31	7.99×10^{-6}	1.56	0.001 2
超声	研磨	6.47	0.009 6	8.74	4.19×10^{-7}	0	1

结果表明,饱和水溶液法中包合率、含油率最高,虽然挥发油收得率不是最高,但也接近最高水平。超声法中挥发油收得率较高,但包合率偏低。

研磨法中挥发油的包合率和收得率均较低。表 1 结果说明 3 种制备方法各评价指标两两间均有极显著性差异。综合考察,确定采用饱和水溶液法制备。

2.1.3 正交试验优选包合工艺 在确定饱和水溶液法为制备方法基础上,对影响包合工艺的因素,如挥发油与 β -CD投料比、包合温度、包合时间、 β -CD与水的比例进行考察,以挥发油包合率和包合物收得率的综合评分为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选包合工艺。因素水平见表2,试验安排及结果见表3,方差分析见表4。

表2 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD包合物的包合工艺优选正交试验因素水平

水平	A 挥发油- β -CD	B 包合温度 / °C	C 包合时间 /h	D β -CD-水
1	1:4	40	1	1:10
2	1:6	55	2	1:15
3	1:8	70	3	1:20

表3 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD包合物的包合工艺优选正交试验安排 %

No.	A	B	C	D	挥发油 包合率	包合物 收得率	综合 评分
1	1	1	1	1	44.74	79.98	63.57
2	1	2	2	2	52.26	82.7	71.74
3	1	3	3	3	52.39	80.44	71.33
4	2	1	2	3	56.62	69.41	72.97
5	2	2	3	1	71.38	85.01	91.41
6	2	3	1	2	56.03	73.41	73.32
7	3	1	3	2	79.97	69.55	96.36
8	3	2	1	3	67.95	59.07	81.87
9	3	3	2	1	77.61	65.61	93.07
K_1	206.64	232.90	218.76	248.05			
K_2	237.70	245.02	237.78	241.42			
K_3	271.30	237.72	259.10	226.17			
R	64.66	12.12	40.34	21.88			

表4 综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	f	F	P
A	57 601.69	697.18	2	28.08	<0.05
C	57 176.03	271.51	2	10.94	
D	56 988.43	83.92	2	3.38	
B(误差)	56 929.34	24.82	2		

注: $F_{0.05}(2,2)=19, F_{0.1}(2,2)=9$ 。

由直观分析可知,各因素对试验结果影响的主要顺序为 $A > C > D > B$ 。以极值最小的B因素为误差项进行方差分析,结果因素A各水平间有显著性

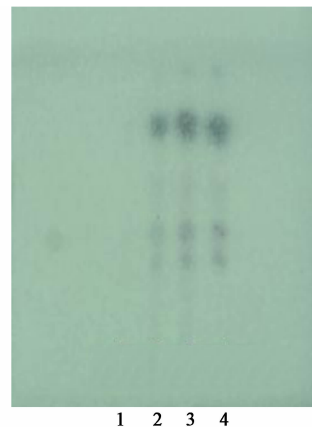
差异,因素C,D各水平间无显著性差异。确定最佳包合工艺为 $A_3B_2C_3D_1$,即挥发油- β -CD 1:8,包合温度55 °C,搅拌时间3 h, β -CD-水 1:10。

2.1.4 验证试验 按优选的最佳工艺 $A_3B_2C_3D_1$ 进行验证试验,制备3批挥发油包合物。结果3批包合物的平均挥发油包合率92.06%;包合物平均收得率89.41%。说明优选的包合工艺可行。

2.2 挥发油 β -CD包合物的物相鉴别

2.2.1 薄层色谱法 称取挥发油 β -CD包合物0.1 g,加乙酸乙酯10 mL,超声15 min,过滤,滤液于60 °C水浴中浓缩,加乙酸乙酯定容到2 mL,得样品1;取挥发油20 mg,加无水乙醇10 mL溶解,得样品2;称取从挥发油包合物中回收的挥发油20 mg,加无水乙醇10 mL溶解,得样品3;称取挥发油与 β -CD混合物0.1 g,加乙酸乙酯10 mL,超声15 min,过滤,滤液于60 °C水浴中浓缩,加乙酸乙酯定容到2 mL,得样品4。分别取上述样品1,2,3,4各5 μ L,点于同一硅胶G薄层板上。以环己烷-乙酸乙酯(86:14)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,于105 °C烘箱中烘至斑点清晰,取出。

包合物中回收的挥发油、挥发油及挥发油与 β -CD物理混合物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,表明挥发油已包合于 β -CD内部,形成了稳定的与混合物物相不同的包合物,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。见图1。



1. 挥发油包合物;2. 挥发油样品液;
3. 包合物包合的挥发油;4. 混合物样品液

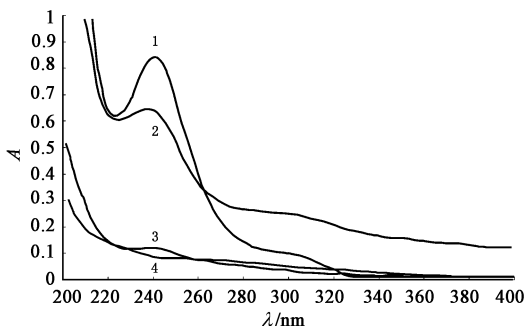
图1 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD包合物 TLC

2.2.2 紫外分光光度法 精密量取挥发油0.5 mL,加水40 mL,振摇,静置分层,取下层水液,即得挥发油饱和水溶液(样品1);取制得的挥发油饱和

水溶液 20 mL,按包合物的投料比加入 β -CD 2 g,振摇,过滤,为样品 2;按样品 2 比例,取包合物 2.2 g,加水 20 mL,振摇,过滤,为样品 3;称取 β -CD 2 g,加水 20 mL,振摇,过滤,为样品 4。对以上样品分别进行紫外波长扫描,以水为空白对照,扫描范围 200 ~ 400 nm,见图 2。

由图 2 可知,挥发油 β -CD 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在 239 nm 处有一明显的吸收峰,表明 β -CD 对测定无干扰,挥发油已包合于 β -CD 内部,形成了稳定的与物理混合物物相不同的包合物。

2.2.3 显微成像鉴别 分别取适量 β -CD、挥发油



1. 挥发油;2. 混合物;3. 包合物;4. β -CDL

图 2 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD 包合物 UV β -CD 包合物、挥发油 β -CD 物理混合物,加少量水分散,在 100 倍显微镜视野下观察,见图 3。

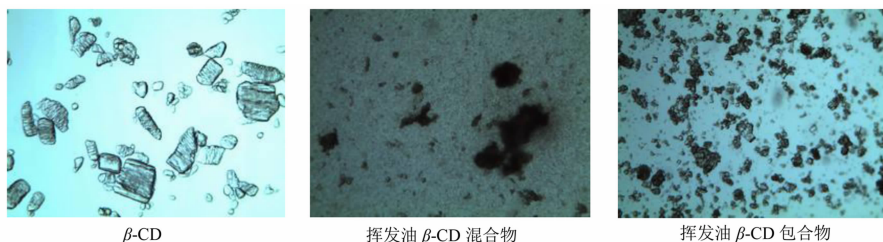


图 3 白纸扇感冒颗粒中挥发油 β -CD 包合物显微成像(10 \times 10)

由图 3 可知,未包药物的 β -CD 为半透明柱状晶体,形状较大;挥发油 β -CD 混合物显微照片可知,混合油吸附于 β -CD,使 β -CD 粘结在一起成团状;挥发油 β -CD 包合物中 β -CD 已包含药物,呈不透明团状,形状较小。在形成的包合物中,原有的 β -CD 半透明柱状晶体显微性状消失。且包合物表面基本无团块状的油滴附着,由此判断包合物已形成。比较三者的显微结构,可判断挥发油已进入 β -CD 空腔,从而被包合成与物理混合物物相不同的稳定的包合物。

3 讨论

采用饱和水溶液法制备包合物时,包合温度不宜过高,过高挥发油容易挥发损失,影响包合率;包合温度也不宜过低,过低导致 β -CD 溶解度降低,分子热运动减弱,降低挥发油与 β -CD 的接触,从而影响包合率。本试验优选的包合温度为 55 $^{\circ}$ C,与文献 [6] 报道一致。

对制得的挥发油 β -CD 包合物进行物相鉴别,结果显示挥发油在包合前后薄层色谱一致,而包合物薄层色谱中无相应的斑点;紫外光谱中挥发油和物理混合物有相同的吸收峰,包合物和 β -CD 均无

吸收峰;包合物、物理混合物、 β -CD 显微特征明显不同。以上结果均说明挥发油已进入 β -CD 空腔,形成了与物理混合物不同的物相。

[参考文献]

- [1] 薛漓. 高效液相色谱法测定白纸扇感冒颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 广西中医学院学报, 2003, 6(4): 50.
- [2] 李海亮, 崔小丽, 全燕, 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.
- [3] 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.
- [4] 张卫东, 邢建国. 维感颗粒中挥发油 β -环糊精包合物制备及稳定性研究[J]. 中成药, 2005, 27(5): 515.
- [5] 徐男, 蔡梅超, 胡言光, 等. 白金妇安颗粒中挥发油 β -环糊精包合物制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 36.
- [6] 江华, 郁巍岳. β -环糊精包结乳结消散片中降香挥发油工艺研究[J]. 中南药学, 2008, 6(1): 37.

[责任编辑 全燕]