

均匀试验设计优选产妇康颗粒挥发油的包合工艺

贾永艳^{*}, 祝侠丽, 周红敏, 李九席, 魏超娟, 李翠萍, 田效志
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:优化产妇康颗粒中挥发油的 β -环糊精包合工艺。方法:采用饱和水溶液法包合,以挥发油包合率为指标,以 β -环糊精与挥发油的比例、包合温度、包合时间为考察因素,采用均匀试验优选包合工艺,并对包合物的物相进行验证。结果:最佳工艺为挥发油与 β -CD的比例1:8,包合温度40℃,包合时间140min。在该优选条件下,挥发油包合率达75%,验证结果显示包合物已形成。结论:该优选的包合工艺合理、稳定、可行。

[关键词] 产妇康颗粒;挥发油; β -环糊精包合;均匀试验设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0034-04

Optimization of Inclusion Technology for Volatile Oil from Chanfukang Granule by Uniform Design

JIA Yong-yan^{*}, ZHU Xia-li, ZHOU Hong-min, LI Jiu-xi, WEI Chao-juan, LI Cui-ping, TIAN Xiao-zhi
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize inclusion process of volatile oil from Chanfukang granule. **Method:** Inclusion process was carried out by saturated aqueous solution method, inclusion process was optimized by uniform design with inclusion ratio of volatile oil as index, taking ratio of volatile oil to β -CD, inclusion temperature and inclusion time as factors, and physical phase of inclusion complex was verified. **Result:** Optimum inclusion process was as follows: ratio of volatile oil to β -CD 1:8, inclusion temperature 40℃, inclusion time 140 min. Inclusion rate of volatile oil was as high as 75% under these optimized technology conditions. Validation result

[收稿日期] 20111226(011)

[基金项目] 郑州市科技攻关项目(064SGDS33221-3)

[通讯作者] ^{*}贾永艳,副教授,硕士研究生导师,从事药物制剂新技术与新剂型研究, Tel:13526862076, E-mail:hnzyjy@126.com

- [3] 申忠杰,解忠超.三冬二母汤治疗慢性支气管炎[J].浙江中西医结合杂志,2003,13(5):323.
- [4] 刘淑华,刘洪霞,孙立忠.二冬二母汤加减佐治小儿支原体肺炎36例疗效观察[J].儿科药学杂志,2011,17(5):61.
- [5] 徐爱娟,韩丽萍,蒋琳兰.知母的研究进展[J].中药材,2008,31(4):624.
- [6] 王颖异,郭宝林,张立军.知母化学成分的药理研究进展[J].科技导报,2010,28(12):110.
- [7] 吉星,冯毅凡.知母中皂苷类成分研究进展[J].中草药,2010,41(4):附12.
- [8] 中国药典.一部[S].2010:197.
- [9] 佟连琨,高慧,姜永粮,等.知母与盐知母对甲亢阴道大鼠红细胞膜 Na^+/K^+ -ATP酶影响的比较研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):184.
- [10] 李习平,杨梓懿,石继连,等.正交试验法优选知母水处理工艺[J].湖南中医药大学学报,2010,30(3):45.
- [11] 李丽,韦文俊.正交试验法优选知母水提取工艺[J].广西中医学院学报,2001,4(2):72.
- [12] 薛小娟,陈晓青,李珏.正交试验法优选超声提取知母皂苷的研究[J].天然产物研究与开发,2007,19(3):503.
- [13] 梁雷,边宝林,王宏洁.不同产地知母药材中芒果苷和知母皂苷BⅡ的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):49.

[责任编辑 仝燕]

showed that inclusion compound had been formed. **Conclusion:** This optimized inclusion process was reasonable, stable and feasible.

[**Key words**] Chanfukang granule; volatile oil; β -cyclodextrin inclusion; uniform test

晚期产后出血属临床多发疾病,且起病突然、来势凶猛,严重威胁产妇的生命^[1]。产妇康方剂是我院治疗晚期产后出血的临床验方,由黄芪、当归、川芎、赤芍、益母草、桃仁、莱菔子、炙甘草等多味药物组成,具有益气养血、理气化痰、健脾和胃的作用。原方以汤剂形式用于临床多年,疗效确切。但汤剂存在服用剂量大,使用携带不方便等缺点,结合本方日服剂量及临床用药要求,将其制成颗粒剂,应用超临界萃取,喷雾干燥,一步制粒等技术确保颗粒剂的安全有效。方中当归、川芎均含有较多挥发油,是主要活性成分,为减少挥发油损失,保证药效,本研究采用均匀试验设计,对产妇康颗粒的挥发油包合工艺进行优选。采用显微镜法,红外光谱法,薄层色谱法对包合物进行表征分析。

1 材料

BP-210S 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司),85-2 型恒温磁力搅拌器(金坛市杰瑞尔电器有限公司),ERESTECH BCD-206 型冰箱(河南新飞电器有限公司),UV-2201 型紫外分光光度仪(日本岛津公司),FITIR-8201PC 型傅立叶变换红外分光光度仪(日本岛津公司),PTHW 型电热套(巩义市英峪予华仪器厂),2F-6 型三用紫外线分析仪(上海嘉鹏科技有限公司),当归、川芎药材(购自河南中原正信药材有限责任公司,经河南中医学院陈随清教授鉴定符合 2010 年版《中国药典》要求), β -环糊精(北京双旋微生物培养基制品厂),硅胶 G(青岛海洋化工厂),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取 按处方比例称取当归 150 g,川芎 100 g,加 7 倍量水,浸泡 2 h,水蒸汽蒸馏 6 h,收集挥发油,备用。

2.2 挥发油 β -CD 包合工艺

2.2.1 包合物的制备 本试验采用饱和水溶液法制备当归、川芎挥发油 β -CD 包合物。将定量的 β -CD 按 1:12.5 制成饱和水溶液,吸取适量当归、川芎挥发油,加等量无水乙醇稀释,加入 β -CD 的饱和水溶液中,恒温搅拌至规定时间,放置冰箱中冷藏 24 h,滤过,滤饼先用适量蒸馏水洗涤,再用乙醚淋洗,60 °C 干燥,即得。

2.2.2 包合率的测定^[2-5]

2.2.2.1 空白回收率的测定 精密吸取挥发油 1 mL 至圆底烧瓶中,按《中国药典》2010 年版一部附录挥发油测定法项下,加水 500 mL 与玻璃珠数粒,振摇混合,连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。置电热套中缓缓加热至沸,并保持微沸约 5 h,至测定器中油量不再增加,停止加热,放置片刻,读取挥发油量,计算空白回收率。

2.2.2.2 含油量的测定 取干燥包合物 3 g,精密称定,按空白回收率方法测定,读取回收油量,计算包合物含油量。

挥发油包合率 = 包合物中挥发油量 / (挥发油投入量 \times 空白回收率) \times 100%

2.2.3 包合工艺优选^[6-7] 采用均匀试验设计法,以挥发油包合率为指标,考察挥发油- β -CD 比例,包合温度,包合时间等因素对包合效果的影响,优选包合工艺。样品量均为 1 mL,按照 $U_5(5^4)$ 因素水平表进行试验。因素水平表见表 1,结果见表 2。

表 1 产妇康颗粒中挥发油提取工艺均匀设计试验因素水平

水平	A 挥发油- β -CD	B 包合温度/°C	C 包合时间/min
1	1:3	25	60
2	1:4	30	80
3	1:5	35	100
4	1:6	40	120
5	1:8	45	140

表 2 产妇康颗粒中挥发油提取工艺均匀设计试验安排

水平	A	B	C	包合率/%
1	1	2	4	35.17
2	2	4	3	40.67
3	3	1	2	38.90
4	4	3	1	37.52
5	5	5	5	77.26

采用 SPLM 软件对试验结果进行二次多项式逐步回归,得回归方程 $Y = 0.928\ 40X_2X_3 - 0.588\ 80X_1 - 0.312\ 20X_2$ ($r = 0.998\ 3$),表明具有一定的统计学意义。采用网络法对试验结果进行优化,GLP 法优选结果(计算次数 10 007) $X_1 = 0.131\ 1$, $X_2 = 41.763\ 3$, $X_3 = 139.036\ 6$ 。初步确定最佳工艺为挥发油- β -CD 1:8,包合温度 40 °C,包合

时间 140 min。

2.2.4 挥发油包合工艺验证 精密吸取 3 份当归、川芎挥发油,加等量无水乙醇溶解分散,按挥发油- β -CD 1:8 的比例加入 β -CD 饱和溶液中,40 °C 温度下搅拌 140 min 进行包合。放置冰箱中冷藏 24 h,滤过,滤饼先用适量蒸馏水洗涤,再用乙醚淋洗,60 °C 干燥,得包合物,按上述方法测定并计算挥发油包合率,结果挥发油包合率为 75%,达到预期效果,证明该包合工艺稳定可行。

2.3 包合物的物相鉴别

2.3.1 显微镜法 取 β -CD、挥发油包合物分别做水装片在显微镜下观察,可见 β -CD 为中间透亮的 irregular 板块状细小结晶;而挥发油 β -CD 包合物没有明显的结晶,呈松散状。结果见图 1。

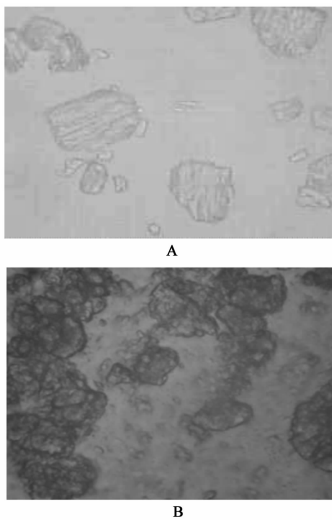
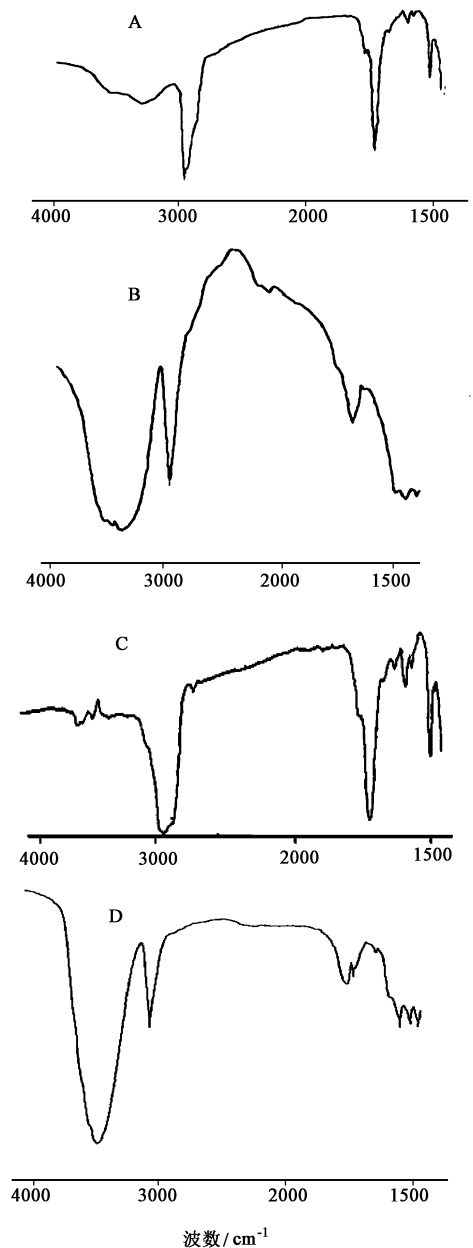


图 1 空白环糊精(A)及挥发油 β -CD 包合物(B)显微镜照(10 × 40)

2.3.2 红外分光光度法^[8] 分别取挥发油、 β -CD、挥发油包合物、挥发油与 β -CD 物理混合物适量压片进行红外光谱分析,全波长扫描。结果表明挥发油及其与 β -CD 的物理混合物在波数 1 731 cm^{-1} 附近存在强烈的羰基伸缩振动,而包合物中由于 β -CD 的包合作用,呈现羰基的微弱吸收。结果见图 2。

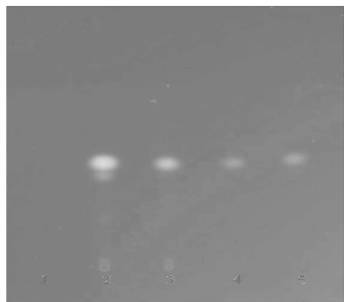
2.3.3 包合物的薄层色谱鉴定 取包合物 3 g,按《中国药典》2010 年版一部附录挥发油测定法项下,提取包合物中挥发油,所得挥发油加乙醚溶解,定容至 25 mL,作为包合物回收挥发油溶液。另取 3 g 包合物,加乙醚 25 mL,超声 20 min,滤液作为包合物乙醚溶液。取当归对照药材 1 g,加乙醚 40 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 2 mL 溶解,作为当归对照药材溶液。取川芎对照药材 1 g,加乙醚 20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣



A. 挥发油; B. 包合物; C. β -CD 与挥发油混合物;
D. 空白 β -CD

图 2 挥发油红外扫描

加乙醇 1 mL 溶解,作为川芎对照药材溶液。按《中国药典》2010 年版一部附录 VIB 薄层色谱法项下方法,分别吸取上述包合物乙醚溶液 10 μL ,当归对照药材溶液 5 μL ,川芎对照药材溶液 2 μL ,包合物回收挥发油溶液 10 μL ,点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(7:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。结果表明,供试品图谱中,在对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。说明当归、川芎挥发油与环糊精形成了稳定的化合物,且包合后性质未发生改变。结果见图 3。



1. 包合物乙醚溶液;2. 当归对照药材溶液;
3. 川芎对照药材溶液;4-5. 包合物回收挥发油溶液

图3 当归、川芎的薄层色谱

3 讨论

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。 β -CD包合物能提高药物的稳定性,液体药物固体化,提高药物的溶解度,掩盖药物的不良臭味、调节释药速率等。常用的包合方法有饱和水溶液法、研磨法、超声法、冷冻干燥法、喷雾干燥法、密封控温技术等。包合物验证方法包括差示扫描量热分析法、X射线衍射法、红外分光光度法、紫外分光光度法、薄层色谱法等。本试验采用饱和水溶液法进行包合,操作方便,设备要求不高,便于工业化生产。

[参考文献]

- [1] 丰有吉,沈铿. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:219.
- [2] 万宏,王洪军. 正交设计优化当归、防风挥发油 β -环糊精包合工艺[J]. 中成药,2006,28(6):905.
- [3] 秦剑,李卿,肖铭玉,等. 正交试验优选消郁安神胶囊中挥发油包合工艺[J]. 中国药房,2009,20(18):1386.
- [4] 汪文来,杨立新,赵红霞. 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.
- [5] 唐灿,王利国,张彦燕,等. 综合评价砂仁挥发油- β -环糊精包合物的质量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):5.
- [6] 张春华,严云良. 医药数理统计[M]. 北京:科学出版社,2001:215.
- [7] 李芳,苏保全,惠大永,等. 均匀试验优选超临界 CO_2 萃取桂枝茯苓方的工艺[J]. 中国药房,2008,19(21):1628.
- [8] 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 全燕]

欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于1995年10月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16开本,288页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012年每期定价25元,全年24期定价为600元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com。