

蛇床子挥发油羟丙基- β -环糊精包合工艺优选

朱纓*, 俞迪佳

(苏州卫生职业技术学院, 江苏 苏州 215009)

[摘要] 目的: 优选蛇床子挥发油羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合物的制备工艺。方法: 以挥发油利用率和包合物得率为考察指标, 采用正交试验法对蛇床子挥发油 HP- β -CD 包合物的工艺进行优化。采用 UV 技术、显微鉴定、GC-MS 技术对包合物进行质量控制研究。结果: 最佳包合工艺条件为蛇床子挥发油与 HP- β -CD 的体积质量比 1:8, 包合时间 2.0 h, 包合温度 40 °C。采用紫外光谱法验证包合前后紫外吸收图谱基本一致, 显微鉴定表明油已被包合, GC-MS 验证了包合前后挥发油中各成分基本未发生变化。结论: 该提取、包合工艺合理可行, 为临床制剂的合理使用和包合物开发提供实验依据。

[关键词] 蛇床子挥发油; 羟丙基- β -环糊精; 包合物

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0028-04

Technology Optimization of Inclusion Compound for Volatile Oil from *Cnidium monnieri* with Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

ZHU Ying*, YU Di-jia

(Suzhou Health College, Suzhou 215009, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of inclusion compound of volatile oil from *Cnidium monnieri* with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD). **Method:** With utilization rate of volatile oil and yield of inclusion compound as indexes, inclusion compound of volatile oil from *C. monnieri* with HP- β -CD was optimized by orthogonal design. Quality control of inclusion compound was studied by UV technology, microscopic identification and GC-MS analysis. **Result:** Optimum inclusion technology was: volatile oil to HP- β -CD 1:8 (mL·g⁻¹), inclusion time 2.0 h, inclusion temperature 40 °C. It verified that UV absorption spectrum was the same before and after inclusion, volatile oil had been inclusion by microscopic identification, GC-MS verified that composition in volatile oil was essentially unchanged before and after inclusion. **Conclusion:** Both of extraction and inclusion technology were reasonable and feasible, it could provide experimental basis for rational use of clinical formulation and development of inclusion.

[Key words] volatile oil from *Cnidium monnieri*; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion compound

蛇床子味辛、苦、温, 归肾经, 具有温肾壮阳、燥湿、祛风、杀虫等功效, 主要用于阳痿、寒湿带下、外阴湿疹等症^[1], 主要化学成分为挥发油和内酯类等, 包括柠檬烯、 α -松萜、茨烯、乙酸冰片酯、L-龙脑(1-borneol)等^[2], 具有抗滴虫、抗肿瘤、抗心率失常等作用^[3-5]。

中药挥发油易挥发、氧化、不稳定、不利于制剂, 将其制成包合物可克服其缺点, 本实验应用新型辅料羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合蛇床子中挥发油, 以挥发油利用率、包合物得率为考察指标, 采用正交试验优选包合工艺, 旨在制备稳定的蛇床子 HP- β -CD 包合物, 增加蛇床子挥发油的溶解度, 提高生物利用度和稳定性, 便于运输和保存使用; 同时采用 UV 技术、显微鉴定、GC-MS 技术对包合物进行质量控制研究。

1 材料

CX31 型奥林巴斯显微镜(日本奥林巴斯株式

[收稿日期] 20120507(019)

[通讯作者] * 朱纓, 学士, 副教授, 从事中药化学, 中药药剂及中药开发与研究, Tel: 0512-62690389, E-mail: tyr200008@126.com

会社),CP225D型电子天平(Sartorius),HJ-2A型数显恒温双头磁力搅拌器(金坛市金祥龙电子有限公司),6890GC-5973MS型气相质谱仪(美国惠普),ZF-6型三用紫外线分析仪(上海楚定分析仪器有限公司)。

蛇床子挥发油自制(药材产地河北,经本院药理学教研室褚祎玮副教授鉴定为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri*(L.)Cussi. 的干燥成熟果实),羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD,东京工业仁成株式会社),乙醚、甲醇、乙醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 蛇床子挥发油的制备 将蛇床子粉碎成40目粉,加6倍水浸泡2h,用挥发油提取器按常规水蒸气蒸馏法提取,结果挥发油收率1.19%,挥发油为淡黄色透明油状物,具有特殊浓郁香味,用无水硫酸钠干燥,备用。

2.2 正交试验设计 在预试验基础上,确定HP-β-CD用量、包合时间、包合温度等主要影响因素,以挥发油利用率、包合物得率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法对3个影响因素进行考察,因素水平见表1。

表1 蛇床子挥发油HP-β-CD包合物制备工艺优选正交试验因素水平

水平	A	B	C
	HP-β-CD用量/倍	包合时间/h	包合温度/℃
1	6	2.0	30
2	8	2.5	40
3	10	3.0	50

2.3 包合工艺^[6-7] 取相应倍数HP-β-CD放入100mL烧杯中,加相应倍数水溶解,置恒温磁力搅拌器上,以1000 r·min⁻¹速度搅拌,缓慢加入蛇床子挥发油1mL,边加边搅拌至规定时间,用G5垂熔漏斗滤过,装入容器中,冷冻干燥,即得白色粉末状挥发油-HP-β-CD包合物。

2.4 挥发油空白回收试验 取蛇床子挥发油的无水乙醇液(挥发油-乙醇2:1)3mL置250mL蒸馏瓶中,加200mL水加热提取挥发油至油不再增加为止。结果平均得油量1.97mL($n=3$),计算空白回收率98.5%($1.97/2.0 \times 100\%$)。

2.5 挥发油利用率及包合物得率的测定 将得到的干燥包合物精密称定质量,置装有沸石的圆底烧瓶中,加水300mL,按2.1项下方法连接挥发油测定器,煮沸并保持4.5h,至油量不再增加时停止加

热,放置0.5h,至挥发油呈淡黄色时读数,即得挥发油体积。计算挥发油利用率和包合物得率,结果见表2,方差分析见表3。为便于结果的分析,对挥发油利用率和包合物得率进行综合评分。

$$\text{综合评分} = (\text{挥发油利用率} + \text{包合物得率}) \times 50\%$$

$$\text{挥发油利用率} = \frac{\text{包合物中挥发油量}}{\text{投油量}} \times \text{空白回收率} \times 100\%$$

$$\text{包合物得率} = \frac{\text{包合物的质量}}{(\text{HP-}\beta\text{-CD} + \text{投油量})} \times 100\%$$

表2 蛇床子挥发油HP-β-CD包合物制备工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	挥发油利用率/%	包合物得率/%	综合评分
1	1	1	1	1	72.11	78.33	75.22
2	1	2	2	2	74.03	80.15	77.09
3	1	3	3	3	65.57	71.88	68.73
4	2	1	2	3	88.89	96.69	92.79
5	2	2	3	1	85.21	93.24	89.23
6	2	3	1	2	83.93	88.82	88.38
7	3	1	3	2	74.67	82.92	78.80
8	3	2	1	3	75.06	83.25	79.16
9	3	3	2	1	76.13	85.68	80.91
K_1	221.04	246.81	242.76	245.36			
K_2	270.40	245.48	250.79	244.27			
K_3	238.87	238.02	236.76	240.68			
R	16.45	2.93	4.68	1.56			

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	416.50	2	208.25	104.19	<0.01
B	14.96	2	7.48	3.74	
C	33.04	2	16.52	8.26	
D(误差)	4.00	2	2.00	1.00	

注: $F_{0.01}(2,2) = 99.00$, $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由表2结果可知,各因素对综合评分的影响为 $A > C > B$;方差分析结果表明,HP-β-CD用量对包合物具有极显著影响,故确定最佳工艺条件 $A_2B_1C_2$,即HP-β-CD用量为挥发油的8倍量,包合时间2.0h,包合温度40℃。

2.6 验证试验 按最佳工艺条件进行6次验证试验,结果挥发油利用率分别为87.27%,86.34%,85.79%,87.13%,87.24%,86.86%;包合物得率分别为96.97%,95.41%,95.18%,96.73%,96.89%,

95.81%,表明所选工艺条件稳定可行。

2.7 包合物的质量研究

2.7.1 挥发油包合前后紫外光谱吸收比较 取少量蛇床子挥发油及包合后提取的挥发油分别溶解于甲醇中,置于紫外分光光度计于 190~400 nm 扫描,以甲醇为空白,测定吸光度^[8]。结果发现,2 种溶液的紫外吸收图谱基本一致,说明 HP- β -CD 包合蛇床子挥发油未改变蛇床子挥发油的理化性质。

2.7.2 包合前后显微鉴定比较 取少量 HP- β -CD 溶液和蛇床子挥发油 HP- β -CD 包合物溶液,用 CX31 奥林巴斯显微镜分别进行观察,进行显微摄影(放大倍数 40×10,曝光时间 0.3~0.5 s),见图 1。由图 1 可知,挥发油已被包合进入 HP- β -CD 微囊中。

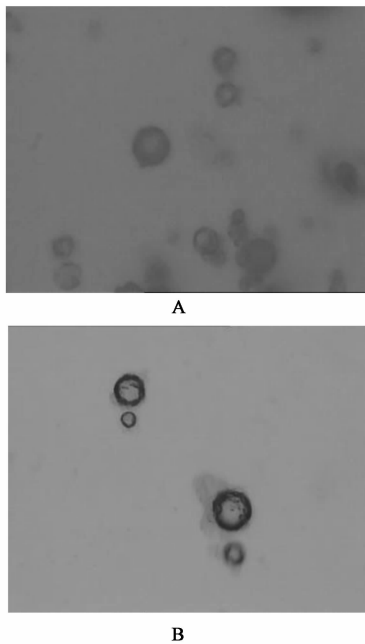


图 1 HP- β -CD 及蛇床子油混合物(A)与 HP- β -CD 包合物(B)显微照片

2.7.3 包合物前后蛇床子挥发油 GC-MS 气相色谱图比较

2.7.3.1 样品制备 按 2.1 项下方法提取挥发油,即得包合前挥发油;按正交优选的包合工艺制备包合物,再按 2.1 项下方法提取挥发油,即得包合后的挥发油。

2.7.3.2 色谱条件 HP-5MS 毛细管柱(0.25 mm×30 m,0.25 μ m),EI 离子源(70 eV), m/z 50~550,离子源温度 240 $^{\circ}$ C,四极杆温度 280 $^{\circ}$ C,接口温度 240 $^{\circ}$ C,灯丝电压 1 689 V,质谱延迟时间 2 min,进样口温度 250 $^{\circ}$ C,柱温[40 $^{\circ}$ C(保持 2

min),150 $^{\circ}$ C(保持 2 min),10 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹;250 $^{\circ}$ C(保持 5 min),15 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹]。进样量 1 μ L,分流比 10:1,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,样品无水乙醚溶解。

用峰面积归一法计算主成分色谱峰的相对质量分数^[9],见表 4,说明主成分相对含量基本一致,说明包合前后,蛇床子挥发油色谱峰的组成未发生变化,即 HP- β -CD 对蛇床子挥发油的包合不会引起挥发油性质的改变。

表 4 蛇床子挥发油包合前后主成分相对含量变化

No.	挥发油 t_R /min		主成分化合物	挥发油相对质量分数/%	
	包合前	包合后		包合前	包合后
1	8.641	8.641	α -松萜(alpha-pinene)	12.39	15.19
2	9.024	8.934	莰烯(camphene)	5.86	6.81
3	10.714	10.70	柠檬油烯(limonene)	13.99	14.88
4	9.571	9.521	β -松萜(beta-pinene)	3.43	3.19
5	13.086	13.051	L-龙脑(1-borneol)	1.22	0.82
6	14.938	14.907	醋酸冰片酯(bornyl acetate)	9.69	11.05
7	23.48	23.39	丁子香烯(caryophyllene oxide)	6.03	5.78
8	27.452	27.40	喔斯脑(osthol)	5.35	5.21

3 讨论

HP- β -CD 是 β -CD 的衍生物,具有更好的水溶性和稳定性。本文通过正交设计法优选蛇床子挥发油-HP- β -CD 包合工艺的最佳条件,油与 HP- β -CD 的比例为 1:8 (mL \cdot g⁻¹),包合时间 2.0 h,包合温度 40 $^{\circ}$ C,效果最好。工艺流程短,包合操作方便,适合工业化生产。

包合物形成质量与数量是包合技术的关键,我们采用紫外光谱法验证了包合前后紫外吸收图谱基本一致,显微鉴定看到油已被包合,GC-MS 法验证了包合前后挥发油中各成分基本未发生变化,说明本工艺适合蛇床子挥发油包合物制备,可以更好地保证以后制剂的疗效,具有良好的临床应用前景。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:239.
- [2] 朱纓,顾瑶华,朱磊.GC-MS 法分析两产地蛇床子中挥发油成分[J].中国药房,2008,19(33):2603.
- [3] 中国药科大学.中药辞海.3卷[M].北京:中国医药科技出版社,1997:345.

指纹图谱技术优选甘草炙吴茱萸的炮制工艺

陈华国^{1,2}, 马青青^{1,2}, 周欣^{1,2*}, 杨世林^{1,2}

(1. 贵州师范大学天然药物质量控制研究中心, 贵阳 550001;
2. 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 优选甘草炙吴茱萸的炮制工艺。方法: 采用吴茱萸脂溶性及水溶性成分指纹图谱技术, 单因素试验考察甘草用量、闷润时间、炒制温度、炒制时间 4 个因素对制吴茱萸炮制工艺的影响。结果: 炒制温度和炒制时间对吴茱萸指纹图谱具有显著影响, 最佳炮制工艺为药材-甘草 100:6, 闷润 3 h, 180 °C 炒制 10 min。结论: 该优选工艺稳定可行, 可为规范甘草炙吴茱萸炮制工艺提供试验依据。

[关键词] 指纹图谱; 炙吴茱萸; 炮制工艺; 甘草

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0031-05

Optimization of Processing Technology for *Glycyrrhiza Uralensis*-Processed *Evodia rutaecarpa* by HPLC Fingerprint Technique

CHEN Hua-guo^{1,2}, MA Qing-qing^{1,2}, ZHOU Xin^{1,2*}, YANG Shi-lin^{1,2}

(1. Research Center for Quality Control of Natural Medicine, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2. Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of *Glycyrrhiza uralensis*-processed *Evodia rutaecarpa*. **Method:** Fingerprint technique of hydrophilic and lipophilic components in *E. rutaecarpa* was used, single factor test was employed to investigate effect of four factors including the amount of *G. uralensis*, moistening time, frying temperature and time on processing technology of *E. rutaecarpa*. **Result:** Frying temperature and time had significant effect on fingerprint of *E. Rutaecarpa*, optimum processing technology was as follows: ratio of *G.*

[收稿日期] 20120421(006)

[基金项目] 贵阳市科技计划项目[(2010)筑科农合同字第 1-中-16 号]; 贵州省科技创新人才团队建设项目[黔科合人才团队(2011)4008]

[第一作者] 陈华国, 硕士, 副研究员, 从事中药质量控制、新药研究, Tel:0851-6700414, E-mail:chenhuaguo1981@163.com

[通讯作者] *周欣, 博士, 教授, 从事中药、民族药质量控制, 中药指纹图谱及中药新药研究, Tel:0851-6702167, E-mail:alice9800@sina.com

[4] 陈艳, 张国刚, 余中平. 蛇床子的化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(4):256.

[5] 周然, 彭涛, 冯玛莉, 等. 蛇床子挥发油止痒作用相关机制研究 [J]. 中国药物与临床, 2003, 3(1):9.

[6] 王靖, 董诚明, 张铁军, 等. 降香挥发油羟丙基-β-环糊精包合物制备工艺的研究 [J]. 中成药, 2007, 29(2):212.

[7] 张海英, 陈良, 薛洁. 肠胃散片挥发油提取及 β-环糊精包合工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17

(17):36.

[8] 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):16.

[9] 郭丽蓉, 周莉玲. 冰片 β-环糊精、羟丙基-β-环糊精包合物的制备及稳定性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8):7.

[责任编辑 仝燕]