

## 青皮挥发油 $\beta$ -环糊精包合工艺优选

汪文来<sup>1</sup>, 杨立新<sup>2</sup>, 赵红霞<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院基础理论研究所, 北京 100700; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 用正交设计法优选青皮挥发油  $\beta$ -环糊精包合工艺的最佳条件。方法: 用饱和水溶液超声法。结果: 最佳工艺条件是油与  $\beta$ -环糊精之比为 1:8 ( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 其次是乙醇体积分数为 90%, 超声时间 30 min, 超声时水温为 40 ~45  $^{\circ}\text{C}$ 。结论:  $\beta$ -环糊精不同用量是影响青皮挥发油包合效果的主要因素, 该工艺方法简单, 流程短, 适合工业化生产。

[关键词] 青皮; 挥发油;  $\beta$ -环糊精; 包合物; 正交设计法; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0036-03

## Study on Optimization for $\beta$ -cyclodextrin Including Technology of Volatile Oils from Pericarpium Citri Reticulatae Viride

WANG Wen-lai<sup>1</sup>, YANG Li-xin<sup>2</sup>, ZHAO Hong-xia<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Basic Theory, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

**[Abstract] Objective:** To optimize the best  $\beta$ -cyclodextrin including technology conditions of volatile oil from Pericarpium Citri Reticulatae Viride by orthogonal design. **Method:** The saturated aqueous solution-ultrasound method was used. **Result:** The optimum preparation conditions were established as follows: the proportion of volatile oil to  $\beta$ -cyclodextrin was 1:8 ( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ), The concentration of alcohol was 90%, The ultrasonic time was 30 min, The water temperature was at 40 ~45  $^{\circ}\text{C}$ . **Conclusion:** The different usage of  $\beta$ -cyclodextrin is the principal factor that influence the inclusion effect of volatile oil from Pericarpium Citri Reticulatae Viride, the method of this technology is simple, and the technological process is short, it is suitable for commercial process.

**[Key words]** Pericarpium Citri Reticulatae Viride; volatile oil;  $\beta$ -cyclodextrin; including compound; orthogonal design; GC-MS

青皮为常用中药, 其主要有效成分为挥发油<sup>[1]</sup>, 具有促进胃肠道消化液的分泌和排除肠内积气等多种作用<sup>[2]</sup>。但其挥发油易氧化、挥发、逸散, 且为液体不宜储藏运输。用  $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)包合, 能使该

产品抗氧化挥发, 成粉末状, 便于运输、保存和使用。为保证药品质量, 提高青皮油与  $\beta$ -CD 的包合效果, 本文在预实验中用饱和水溶液-高速搅拌法与饱和水溶液-超声法, 进行实验比较, 结果超声法均较高速搅拌法油利用率高。故采用超声法进行实验, 以挥发油利用率为指标, 用正交设计法优选最佳工艺条件, 并对挥发油包合前后的质量进行了研究。

### 1 材料

挥发油测定器; 98-1-A 普通型电热套(天津市泰斯特仪器有限公司); SCOUT 电子天平( SE2020 型, 上海奥豪斯国际贸易有限公司); 美国 Finnigan

[收稿日期] 2010-06-13

[基金项目] 中国中医科学院自主选题项目(ZZ2007003)

[第一作者] 汪文来, 副研究员, 研究方向: 中药化学、中药药理学, Tel: 010-64014411-2517, E-mail: wangwenlai666@163.com

[通讯作者] \* 赵红霞, 副研究员, 研究方向: 方剂学, Tel: 010-64014411-2516, E-mail: zhaohongxia7000@yahoo.com.cn

公司 TRACE GC-TRACE MS (气相色谱-质谱联用仪), DB-5 MS 色谱柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)。青皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥幼果, 产地四川, 购于北京市燕京医药公司, 并经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定; -CD 纯度 >95%, 由陕西志丹生化厂生产。

## 2 方法与结果

### 2.1 正交设计法优选工艺的研究

**2.1.1 青皮挥发油的提取** 按照《中国药典》(2010 年版)附录 63 D 挥发油测定法中甲法提取挥发油。

**2.1.2 正交设计优选工艺研究** 包合工艺中 -CD 的不同用量、不同乙醇浓度、不同超声时间、超声时水的温度是其主要因素, 故用  $L_9(3)^4$  正交实验以青皮挥发油的利用率为优选指标, 筛选最佳工艺条件 (试验方案见表 1)。

表 1 青皮油-环糊精包合工艺  $L_9(3)^4$  因素水平

水平	A 青皮油: -CD /mL·g <sup>-1</sup>	B 超声时间 /min	C 乙醇浓度 /%	D 温度 /
1	1.4	10	100	20~25
2	1.6	20	95	30~35
3	1.8	30	90	40~45

**2.1.3 包合物的制备** 用饱和水溶液-超声法, 按正交表顺序即将一定量的 -CD 制成饱和水溶液, 加入青皮油乙醇溶液, 超声, 静置, 冷藏 12 h 以上, 滤过, 低温干燥, 即得包合物, 每实验测 2 份。

### 2.1.4 包合物中油利用率测定

$$\text{油利用率} = \frac{\text{包合物中实际含油量}}{\text{投油量}} \times 100\%$$

包合物中实际含油量的测定: 称取上述投入相当青皮挥发油 1 mL 的包合物, 置烧瓶中, 加入 100 mL 蒸馏水, 按照《中国药典》2010 年版一部附录 63 D 挥发油测定法中甲法进行。(实验结果见表 2~3)。

上述方差结果表明,  $A > C > B > D$ , 影响包合工艺的最主要因素是油与 -CD 的比例, 而乙醇体积分数、超声时间, 超声温度几乎没影响。从表 2 直观分析,  $A_1, B_3, D_3, C_3$  是最佳工艺条件 ( $A_1 > B_3 > D_3 > C_3$ ), 即青皮挥发油与 -环糊精的比例为 1:8; 乙醇体积分数为 90%; 超声时间为 30 min; 超声时水温控制在 40~45。

按照上述最佳工艺条件进行 3 批青皮油 -CD

包合, 包合物中平均油利用率为 72%。

表 2 青皮 -CD 包合工艺正交试验计算

No.	A (比例)	B (时间)	C (溶媒)	D (温度)	油利用率 /%	
1	1	1	1	1	55.0	53.0
2	1	2	2	2	47.0	49.0
3	1	3	3	3	60.0	59.0
4	2	1	2	3	80.0	79.0
5	2	2	3	1	78.0	80.0
6	2	3	1	2	78.0	81.0
7	3	1	3	2	95.0	93.0
8	3	2	1	3	95.0	96.0
9	3	3	2	1	99.0	98.0
$I_1$	323	455	458	463	= 1 375	
$I_2$	476	445	452	443		
$I_3$	576	475	465	469		
R	253	30	13	26		

表 3 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
$S_A$	5 412.11	2	2 706.06	33.24	$P < 0.05$
$S_B$	77.78	2	38.89	2.42	
$S_C$	14.11	2	7.06	3.90	
$S_D$	61.78	2	30.89	0.94	
$S_e$	4.50	2	—	—	

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

## 3 包合物的质量研究

**3.1 青皮挥发油样品制备** 按方法 2.1.1 青皮挥发油的提取方法提取挥发油, 即包合前挥发油。

包合物中青皮挥发油: 按照方法 2.1.3 中青皮挥发油包合工艺正交优选的最佳包合工艺制备包合物, 再按照方法 2.1.1 提取挥发油, 即包合后挥发油。

**3.2 实验条件** 电离方式 EI, 离子源温度 200, 接口温度 250, 电子能量 70 eV, 发射电流 150 μA, 质量范围  $m/z$  5~455, 扫描周期 0.4 s, 数据处理系统 Xcalibur 1.2, 图谱库 NIST Version 1.7。程序升温: 起始温度 80, 然后以 5 · min<sup>-1</sup> 升至 250; 保持 10 min; 进样口温度 250, 进样 1 μL, 分流比 20:1, 对青皮挥发油确定主成分 (表 4)。

上述结果表明, 青皮挥发油包合前后成分组成一致, 主成分 [1-甲基-4-(1-异丙烯基)-, (R)-环己烯、O-伞花烃、对-薄荷-1-烯-8-醇、-芳樟醇] 含量基

本一致, 包合前后主成分含量基本无变化。

表 4 青皮挥发油包合前后主成分含量变化

No.	$t_R$ /min	青皮油主成分	主成分含量/%	
			包合前	包合后
1	4.12	7-甲基-3-次甲基-1,6-辛二烯	3.02	2.94
2	4.76	<i>O</i> -伞花烃	16.06	10.86
3	4.86	1-甲基-4-(1-异丙烯基)-, (R)-环己烯	64.80	65.09
4	5.31	-松油烯	2.84	9.19
5	6.03	-芳樟醇	3.28	3.25
6	7.87	对-薄荷-1-烯-4-醇	2.77	2.36
7	8.18	对-薄荷-1-烯-8-醇	5.23	5.04
8	12.83	2,4-二异烯基-1-甲基-1-乙炔基-, (1S, 2R, 4R)-(-)-环己烷	2.00	1.28

#### 4 小结与讨论

本文通过用正交设计法优选青皮挥发油  $\beta$ -CD 包合工艺的最佳条件, 采用饱和水溶液-超声法, 结果说明, 影响包合效果的主要因素是油与  $\beta$ -CD 的比例。油与  $\beta$ -CD 比例为 1:8 (即 1 mL 青皮油: 8 g  $\beta$ -CD) 时包合效果最好, 油利用率达 72% 左右。其次乙醇浓度为 90%, 超声时间为 30 min, 水温 40 ~ 45  $^{\circ}\text{C}$ , 工艺流程短, 适合工业化生产。

经气相色谱-质谱联用技术分析验证, 青皮挥发油包合前后成分组成一致, 主成分 [1-甲基-4-(1-异丙烯基)-, (R)-环己烯、*O*-伞花烃、对-薄荷-1-烯-8-醇、-芳樟醇] 含量基本一致, 包合前后主成分含量

基本无变化。证明包合物既能保持天然青皮挥发油的质量, 又能掩盖青皮挥发油的臭味, 减少刺激性, 增加其稳定性。

由于中药挥发油是由多种成分组成, 各单味中药挥发油的成分组成各不相同, 所用  $\beta$ -CD 的比例不同, 包合效果也不一样。如青皮与细辛挥发油<sup>[3]</sup> 其主要成分不同, 所用  $\beta$ -CD 的比例为 1:8 (即 1 mL 青皮油: 8 g  $\beta$ -CD), 而细辛油与  $\beta$ -CD 的比例为 1:4 (即 1 mL 细辛油: 4 g  $\beta$ -CD)。用最佳优选工艺中试 3 批, 油利用率青皮为 72%, 而细辛油为 79%, 说明青皮与细辛包合程度也不相同。

青皮油利用率为 72%, 损失了 28%, 这其中包含了挥发油含量测定方法本身损失了 8% (经青皮油回收率实验油利用率为 92%)。实际青皮油利用率要比 72% 高。

#### [参考文献]

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1666.
- [2] 颜正华. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 397.
- [3] 李树珍, 赵红霞, 白卫国. 正交设计法优选细辛挥发油-环糊精包合工艺的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(2): 63, 69.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 35 页)

#### [参考文献]

- [1] 中华本草编辑委员会. 中华本草[M]. Vol 16. 上海: 上海科技出版社, 1999: 159.
- [2] 张海燕. 连翘化学成分及药理活性的研究进展[J]. 中药材, 2000, 23(10): 657.
- [3] 张杲, 李发荣, 段飞. 不同采收期连翘叶中连翘苷、连翘酯苷和芦丁的含量测定[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(6): 790.
- [4] 侯莉, 王强, 任晋斌. RP-HPLC 法测定不同来源连翘药

材中连翘苷的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(1): 48.

- [5] 王栋, 周媛媛. 青连翘药材的质量标准研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2004, 20(6): 642.
- [6] 徐秀珍, 栗晓黎. 高效液相色谱法测定连翘中连翘苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(3): 203.
- [7] 周改莲, 辛宁, 张守平. 连翘不同部位及不同炮制方法的活性成分比较[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(增刊): 30.

[责任编辑 仝燕]