

藏药赛朱复方中挥发油包合工艺研究

古 锐, 张 艺, 蒋桂华
(成都中医药大学, 成都 610075)

摘要: 用正交试验法以藏药复方挥发油中桂皮醛为指标成分, 挥发油包结的收得率, 桂皮醛包合率, 挥发油总合率为指标考察赛朱复方中挥发油的 β -环糊精包合工艺。结论: 实验研究以 β -CD 与水的比例为 1: 10, 挥发油 β -CD 的比例为 1ml: 10g, 在 35 °C 下包结 1h 为最佳工艺条件。经 GC-MS 分析, 证明包结前后挥发油主要成分基本一致, β -环糊精能有效的保存挥发油的有效成分。经红外光谱分析, 挥发油包合物明显比不包合的挥发油稳定, 整个包合物主要呈现 β -CD 的红外光谱图谱。

关键词: β -环糊精; 桂皮醛; 正交试验; 气质联用

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)0-0003-03

Volatile Oil of Saizhu Prescription Parceled with β -Cyclodextrin

GU Rui, ZHANG Yi, JIANG Gui-hua

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: Objective: To optimize techniques of volatile oil Saizhu prescription, a Tibet drug, parceled with β -cyclodextrin(β -CD). Methods: The processes of cinnamic aldehyde and total volatile oil parceled with β -CD were optimized by the enwrapped ratio as markers with orthogonal design method. Results and Conclusion: The best technical conditions were: β -CD: water= 1: 10, volatile oil: β -CD= 1ml: 10g, stirred for 1 hour at 35 °C. The main components of volatile oil between unparceled and parceled with β -CD were unchanged by GC-MS analysis. The stability of volatile oil parceled β -CD was better than that of unparceled by IR spectra.

Key words: β -Cyclodextrin; cinnamic aldehyde; Orthogonal design method; GC-MS analysis

赛朱复方是藏药赛朱当乃^[1]剂型改进的新制剂,方中肉桂等药物中均含有挥发油成分,具有行气健脾,理气宽中的作用^[2],通过 HPLC 预试,证明复方挥发油中桂皮醛约占总量的 40%。原方中直接将药材打粉后作成散剂。为减少挥发油的损失,提高药品质量,保证疗效,采用了 β -环糊精包结赛朱复方中的挥发油,并以桂皮醛包结作为考察指标^[3]探讨其包结正交优化试验工艺,用薄层色谱法、GC-MS 分析法和红外光谱法进一步评价了挥发油 β -环糊精包结物质量,以及包结前后的稳定性。

1 材料与仪器

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪 LC Data Station 2000 色谱工作站;德国 Statorius BP211D 型,德国赛多利斯;D60-2F 型电动搅拌机,杭州仪表厂;美国 NICOLET 200SXVFT-IR 红外光谱仪;美国惠普 GC-MS: 6890-5973 气质联用。肉桂等(购自成都市药材公司);桂皮醛对照品(中国药品生物制品检定所,批号:710-200011),经高效液相色谱仪归一法分析,其纯度为 98.65%; β -环糊精(北京奥博星生物技术责任有限公司,纯度 > 98%,批号:991223);乙腈、甲醇、磷酸等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 取肉桂等挥发性药材一定量,过 10 目筛,置装有挥发油提取器的烧瓶中,加 8 倍量的水浸泡 4h 后,加热煮沸提取 4h,将挥发油加无水硫酸钠脱水即得,备用。

2.2 桂皮醛含量的测定方法

2.2.1 色谱条件 分析注:Hi-Tech CLC-ODS C_{18} (5 μ m, 250mm \times 4.6mm i. d.) 工作站 LC Data Station 2000;流动相:甲醇-乙腈-0.1 磷酸(50:25:75);流速:0.8ml/min;柱温:50 $^{\circ}$ C;检测波长:280nm。

2.2.2 线性关系的考察 精密称取桂皮醛 9.8mg,置 50ml 容量瓶中,用乙醇定容至刻度,作为对照品溶液;精密吸取对照品溶液 0.2, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5ml 至 10ml 容量瓶中,乙醇定容到 1ml,进样测定标准曲线图,结果证明:桂皮醛在 3.92~29.4 μ g/ml 范围内线性关系良好,其回归方程是: $Y = 250506.6X - 478662$ $r = 0.99808$

2.3 包结物的制备工艺方法 采用饱和水溶液法包结:称取适量 β -环糊精, $m(\beta\text{-环糊精})$ 和 $V(H_2O)$ 一定比例加热溶解于水中制成饱和溶液,保持恒温。

在一定搅拌速度 800 转/分下,用移液管量取赛朱复方挥发油 1ml,在搅拌下缓慢滴加入一定量的 β -环糊精中,用搅拌器搅拌包结一定时间,取出置冰箱中冷藏 24h,滤过,包结物用 20ml, 10ml, 10ml 乙醚洗涤三次,冷风吹干,于干燥器中放置一日,即得挥发油 β -环糊精包结物。

2.4 正交实验指标的计算

2.4.1 挥发油回收率的测定 用移液管量取赛朱复方挥发油 1ml,测定挥发油的密度为 $\rho = 0.9581\text{mg/ml}$ 。另取 1ml 置 500ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 300ml,按挥发油测定甲法测定挥发油的含量。计算空白回收率为 70%。

2.4.2 包合后挥发油回收量的测定 取 1ml 挥发油的 β -环糊精包结物置 500ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 300ml,按挥发油测定甲法测定挥发油的含量。并测定挥发油的密度。

2.4.3 收得率和包结率计算

收得率 = 包结物质量 / (β -环糊精加入量 + 挥发油加入量 \times 挥发油的密度) $\times 100\%$

挥发油包结率 = 包结物中挥发油回收量 / (挥发油加入量 \times 空白回收率) $\times 100\%$

2.4.4 包合物中桂皮醛含量的测定 精密吸取一定量回收的挥发油,定容于 10ml 容量瓶中,从中精密吸取 1ml 转溶于 10ml 容量瓶,进样测定,用外标两点法计算桂皮醛含量,从而计算桂皮醛的包合率。

桂皮醛包合率 = 包合物中桂皮醛含量 / (挥发油中桂皮醛的含量测定 \times 空白回收率) $\times 100\%$

2.5 包结物工艺条件的考察 采用正交试验法,选择挥发油与 β -环糊精的比例 V (V 挥发油: $m\beta$ -环糊精)、包结时间 t 、包结温度 T 和 β -环糊精饱和水溶液的比例 $m\beta$ -环糊精: VH_2O 为考察因素,取三水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,如下表 1。以包结物的收得率,挥发油包结率和桂皮醛包合率为考察指标,评分标准按主次指标,规定桂皮醛包合率占权重系数的 0.6,包结物的收得率占权重系数的 0.2,挥发油包结率占权重系数的 0.2,计算综合评分,筛选最佳工艺条件。如下表 2。

实验结果:最优组合为 $A_3B_1C_1D_2$,即最佳工艺条件为饱和水溶液中 $m\beta$ -环糊精: VH_2O 为 1:10 与挥发油与 β -环糊精比例为 1:10, 35 $^{\circ}$ C 下包结 1h 效果最佳。

2.6 包结前后挥发性性质研究

表 1 正交因素水平表

水平	因素			
	A	B	C	D
V 挥发油: mβ-环糊精		包结时间 (h)	包结温度 (°C)	mβ-环糊精: VH20
1	1: 6	1	35	1: 5
2	1: 8	1.5	45	1: 10
3	1: 10	2	55	1: 15

表 2 正交设计试验数据及方差检验

试验号	A	B	C	D	收得率 (%)	挥发油包结率 (%)	桂皮醛包合率 (%)	综合评分
1	1	1	1	1	85.8	42.9	46.8	0.622
2	1	2	2	2	88.8	60	62.2	0.778
3	1	3	3	3	80.8	54.3	20.5	0.460
4	2	1	2	3	82.9	50	47.4	0.638
5	2	2	3	1	83.1	75.7	46.8	0.698
6	2	3	1	2	83.7	74.3	87.2	0.975
7	3	1	3	2	68.6	71.4	80.8	0.889
8	3	2	1	3	75.68	50	57.1	0.672
9	3	3	2	1	75.9	80	60.9	0.789
K1	1.860	2.194	2.269	2.109				
K2	2.311	2.148	2.205	2.642				
K3	2.350	2.224	2.047	1.770				
S	14.323	14.178	14.201	14.561				

表 3 方差结果

方差来源	f	方差	F 值	F 值界值	显著性
A	2	0.02472	39.03	$F_{0.05(2,2)} = 19.0$	*
B	2	0.00063		$F_{0.01(2,2)} = 99.0$	
C	2	0.00435	6.87		
D	2	0.06441	101.68		**

2.6.1 薄层色谱法 分别吸取 0.01g 包合前和包合后的挥发油, 用乙醇溶于 10ml 容量瓶中, 照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取上述溶液各 6μl, 分别点于同一 CMC-Na 硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90°C)-醋酸乙酯(17:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以二硝苯胍乙醇溶液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 显相同红棕色的斑点。

2.6.2 采用气质联用色谱法, 分析挥发油包结前后

的组分。挥发油包结前后其总离子质谱图表明, 包结后的成分包结前都含有, 说明赛朱复方的挥发油经 β-环糊精包结后组分没有明显变化。初步鉴定出包合前后挥发性主要成分, 如下表:

表 4 主要成分鉴定结果

编号	名称	相对含量(%)	
		(包合前)	(包合后)
1	Eucalyptol	4.97	4.75
2	2-Propenal, 3-phenyl-Cinnamaldehyde	21.90	36.53
3	Copaene	3.86	2.30
4	Caryophyllene	3.29	1.93
5	Naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-hexahyd	3.75	2.46
6	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl	3.75	2.35
7	Naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydr	1.64	2.10
8	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	4.49	4.76

2.7 包合前后稳定性的考察

2.7.1 红外光谱法^[4] 采用红外光谱法对 β-环糊精、赛朱挥发油包合物、赛朱挥发油进行红外光谱的测定。通过比较包合前后红外线取特征吸收峰的变化, 挥发油包合物, 整个包合主要呈现 β-CD 的红外光谱图形, 其在 1700nm 处芳香骨架的特征红外峰几乎消失。

3 结果与讨论

本实验首次对藏药复方进行挥发油 β-环糊精包合, 以提高其的稳定性。经薄层色谱法、GC-MS 分析, 包结前后挥发油的成分基本相同, 其主要成分相对含量变化不大, 说明 β-环糊精不会改变赛朱复方中挥发油的性质。经红外光谱法证明包合物表现出 β-环糊精的红外光谱图, 包合后能提高挥发油在复方中的稳定性, 提高成品的质量。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 藏药(第一册)[S]. 广州: 广东科技出版社, 1995. 100.
- [2] 阴健. 中药现代研究与临床应用 II[J]. 中国古籍出版社, 1995. 152.
- [3] 宋洪涛, 郭涛, 颜秀涛, 等. 肉桂油 β-环糊精包合物的制备工艺研究[J]. 中草药, 2000, 31(11): 18-20.
- [4] 谢崇义, 李旺生, 凌艳, 等. β-环糊精在中药制剂中的应用及研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2001; 8(3): 36-38.