

苍艾挥发油-羟丙基- β -环糊精包合物的制备及其表征*

黄秋艳, 熊 磊, 汪红梅, 马云淑[△], 陈柏君, 孔淑君

(云南中医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 制备苍艾混合挥发油的羟丙基- β -环糊精(β -CD)包合物并且对其进行鉴别。方法 以苍艾挥发油的包合率和包合物收得率作为综合评价指标,对饱和水溶液法,采用正交试验优选包合工艺条件;通过差示扫描量热分析法(DSC)、紫外扫描(UV)以及薄层色谱法(TLC)对包合物进行分析。结果 最佳包合工艺:挥发油与羟丙基- β -环糊精投料比为 1:15(mL:g),包合温度 40℃,搅拌时间 3 h,DSC 及 TLC 均显示挥发油与 β -CD 已形成包合物。结论 优选包合工艺可行,苍艾挥发油经包合后,溶解度及稳定性得到了改善;综合评价指标可作为工艺筛选指标和制剂质量的控制依据。

关键词: 苍艾挥发油; 羟丙基- β -环糊精; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)01-0027-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.01.007

苍艾挥发油^[1]是以预防上呼吸道感染的临床验方为基础,选用苍术、艾叶、丁香、藿香、花椒、佩兰及豆蔻 7 味含挥发油成分,气味清香,抗菌力强的中药而制备而成。临床及相关研究表明,上呼吸道感染^[2]主要是由细菌和病毒引起的,是儿科常见病,发病人数占儿科门诊患者的半数以上。小儿由于免疫功能低下,极易被细菌或病毒感染,进而引发支气管炎乃至肺炎等一系列较为严重的疾病。本研究旨在治疗小儿上呼吸道感染类疾病的基础上,对苍艾挥发油进行剂型研究,使其能更好的应用于临床。

前期采用气相-质谱色谱法^[3]对苍艾油的化学成分进行了分析,显示丁香酚与桉油精是其中含量较高的 2 种化学成分。目前主要是通过制备成香薰油鼻腔吸入剂使用,部分药理学实验已证实苍艾挥发油^[4]对金黄色葡萄球菌,乙型链球菌,白色念珠球菌均有体外抑菌作用。此外,fMRI 技术检测发现,苍艾挥发油通过鼻腔给药后,具有脑靶向性。

包合^[5-9]是指将一种分子包嵌于另一种分子的空穴结构内,形成包合物(Inclusion compound)的技术。药物作为客分子被包合后,可达到多种用药目

的。苍艾挥发油的不稳定性,低水溶性造成了生产和贮藏的不便,当被 HP- β -CD 包封后,不仅防止了其挥发、升华或氧化变质,提高制剂的稳定性,而且使得药物的溶解性、膜的通透性、蛋白结合性等发生改变,从而提高药物的生物利用度,增强药效,减轻不良反应。这为苍艾油的进一步应用提供了基础,具有现实意义。

1 材料

苍术、艾叶等 7 味药材(云南中医学院附属医院门诊部),丁香酚对照品(购自于中国食品药品检定研究院,批号 110725-201213),羟丙基- β -环糊精(上 TCI 化成工业发展有限公司 CAS 128446-35-5),纯净水(昆明娃哈哈启力饮料有限公司),其他试剂均为分析纯。

SK3300 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司),多头磁力加热搅拌器(国华 HJ-4B),DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),DZF-6020 型真空干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),BT25S 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),真空冷冻干燥机(EYELA FDU-2100),调温电热套(ZDHW),ATZ 家

* 基金项目: 国家自然科学基金(81160534)

收稿日期: 2015-12-06

作者简介: 黄秋艳(1989-),女,云南曲靖人,在读硕士研究生,研究方向:药物创新制剂研究与开发。

[△]通信作者: 马云淑, E-mail: yunshuma2@126.com

用 10 型弹簧度盘秤(永康市风华衡器有限公司),紫外扫描仪(UV-2045),UV-2000 型紫外可见分光光度计(尤尼柯仪器有限公司),SHZ-D 循环水真空泵(巩义市英峪予华仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取

水蒸气蒸馏法^[10-11]提取苍艾挥发油的方法:称取处方量的七味药材,投于 5 000 mL 的圆底烧瓶中,采用水蒸汽蒸馏法,选用挥发油提取器,按照 2010 版药典附录 XD 挥发油测定法-甲法进行实验,每次加入 8 倍量水,浸泡 10h 以上,提取到不再出油为止,记录出油量,得到的挥发油为金黄色,密度小于 1。

2.2 饱和水溶液磁力搅拌法制备包合物

准确称取 HP- β -CD 适量加入具塞锥形瓶中,加入一定量的去离子水置磁力搅拌器上搅拌至 HP- β -CD 完全溶解。所需温度下,缓缓滴加挥发油无水乙醇溶液,搅拌至规定时间后,将包合物溶液冷冻干燥(冷冻温度为 -80 ℃)12 h,后用石油醚少量多次洗涤(分 3 次进行,每次 10 mL)包合物粉末,再将其置于真空干燥箱中(干燥温度为 40 ℃),24 h 后取出研磨,备用。

2.3 包合工艺因素水平的确定

在预实验的基础上,以挥发油:HP- β -CD(A)、

包合温度(B)及包合时间(C)为因素,包合物收得率、含油率及包合率为评价指标,权重系数依次为 0.2、0.2、0.6,采用综合评分法,进行三因素三水平的正交试验,见表 1。

表 1 实验因素水平[L₉(3⁴)]表

水平	A/(mL/g)	B/℃	C/h
1	1 : 6	30	1
2	1 : 10	40	2
3	1 : 15	50	3

2.4 正交试验安排及结果(见表 2)

将制备好的包合物,精密称重。按《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录挥发油测定法加热提取挥发油,至油量不再增加,停止加热,读取体积,按下式计算:

包合物收得率=包合物实际重量/(HP- β -CD 加入量+投油量)×100%

包合物含油率=包合物中含油量/包合物总重量×100%

挥发油包合率=包合物中实际含油量/(投油量×挥发油空白回收率)×100%

对结果进行方差分析,结果见表 3。

对表 3 所得结果进行分析,通过极差 R 值得大小可知各因素对包合物包合率、含油率、收得率的

表 2 试验安排及结果表

实验号	A	B	C	D	收得率/%	含油率/(mg/g)	包合率/%	综合评分
1	1	1	1	1	91.02	40.12	26.24	71.57
2	1	2	2	2	85.19	41.64	25.49	70.14
3	1	3	3	3	92.94	40.81	27.85	74.36
4	2	1	2	3	86.51	36.95	39.73	86.44
5	2	2	3	1	95.64	38.85	42.02	92.17
6	2	3	1	2	96.15	36.51	39.57	88.00
7	3	1	3	2	96.62	29.13	46.34	93.25
8	3	2	1	3	97.58	29.08	46.72	93.91
9	3	3	2	1	97.87	28.1	45.28	91.65
K1	216.07	251.27	253.48	255.38				
K2	266.62	256.22	248.24	251.39				
K3	278.80	254.00	259.78	254.72				
k1	72.02	83.76	84.49	85.13				
k2	88.87	85.41	82.75	83.80				
k3	92.93	84.67	86.59	84.91				
R	20.91	1.66	3.85	1.33				

表 3 方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	P
A	737.61	2	368.80	242.22	<0.01
B	4.11	2	2.05	1.35	
C	22.24	2	11.12	7.30	
D	3.05	2	1.52	1	

影响程度为 $A > C > B$, 即影响最大的因素是挥发油与 HP- β -CD 的比例, 其次是包合时间。方差分析可知挥发油与 HP- β -CD 的比例均无显著性影响。综合正交实验结果及方差分析可知最佳包合工艺条件为 $A_3B_2C_3$, 即包合温度为 40°C , 包合时间为 3h, 挥发油与 HP- β -CD 的比例为 1:15。将结果与实际结合, 得到最优的包合条件。并按照最优工艺制备出 3 批包合物备用。

2.5 包合物最佳工艺的验证

按照正交工艺优选出的条件制备包合物, 平行操作 3 份, 计算包合物的收得率、含油率及包合率。结果见表 4。

表 4 验证试验

批次	收得率/%	含油率/(mg/g)	包合率/%
1	92.66	30.12	45.72
2	96.42	29.70	47.02
3	96.42	29.5	46.65
平均	95.17	29.75	46.46

2.6 包合物的表征

2.6.1 紫外光谱(UV)

取苍艾混合挥发油乙醇溶液、丁香酚乙醇溶液、包合物石油醚洗脱液、HP- β -CD 乙醇溶液、无水乙醇提取的包合物溶液及物理混合物乙醇溶液, 在 200~400nm 范围进行紫外扫描, 结果如图 1。

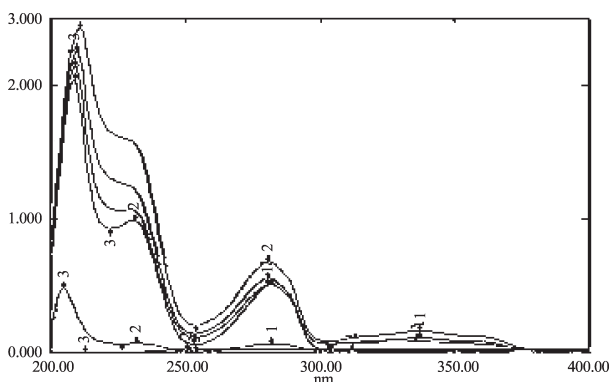
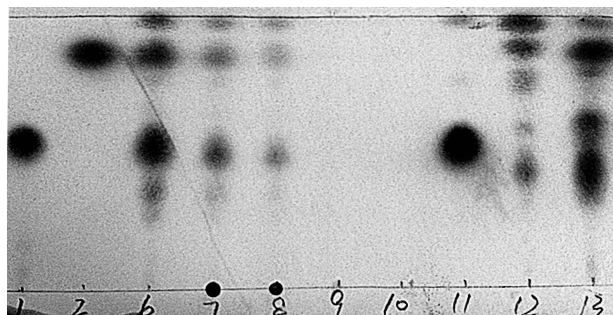


图 1 紫外扫描图谱

图谱中各物质由下至上依次为: HP- β -CD 乙醇溶液、包合物石油醚洗脱液、丁香酚乙醇溶液、物理混合物乙醇溶液、苍艾挥发油乙醇溶液、乙醇提取的包合物溶液。由图可得, HP- β -CD 乙醇溶液没有苍艾油的特征吸收, 表明 HP- β -CD 对测定无干扰; 丁香酚乙醇溶液、物理混合物以及经过乙醇提取的包合物溶液与苍艾油有相似的吸收图谱, 而包合物石油醚洗脱液则无明显吸收; 综上, 说明苍艾油 HP- β -CD 包合物已经形成。

2.6.2 薄层色谱法(TLC)

称取丁香酚, 桉油精对照品适量, 分别加适量无水乙醇溶解, 作为对照品溶液。称取提取所得苍艾挥发油, HP- β -CD 包合物 (经无水乙醇超声提取), HP- β -CD, 丁香油, 苍术油以及艾叶油适量, 分别加适量无水乙醇溶解, 超声 30 min, 作为供试品溶液。再分别称取挥发油与 HP- β -CD 水溶液的物理混合物, 包合物石油醚洗脱溶液适量, 用无水乙醇溶解, 不做超声处理, 作为供试品溶液。吸取上述溶液适量, 分别点于硅胶 G 薄层板上, 以石油醚:乙



1. 丁香酚; 2. 桉油精; 6. 苍艾挥发油; 7. 挥发油与 HP- β -CD 水溶液的物理混合物; 8. 无水乙醇提取的包合物; 9. HP- β -CD; 10. 包合物石油醚溶液; 11. 丁香油; 12. 苍术油; 13. 艾叶油。(丁香酚、桉油精是苍艾油中含量较高的 2 种成分)

图 2 薄层色谱图

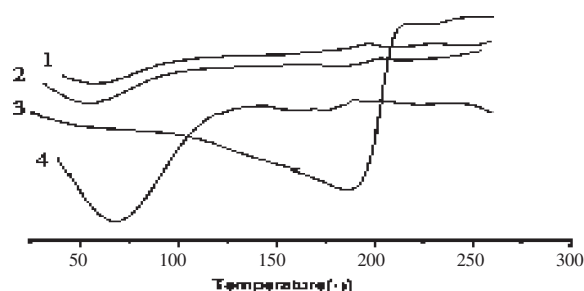
1. HP- β -CD; 2. 包合物; 3. 苍艾挥发油; 4. 物理混合物。

图 3 DSC 图谱

酸乙酯=9:1 为展开剂,展开,取出,晾干,以 5%香草醛浓硫酸溶液为显色剂,显色,观察结果,如图 2。

2.6.3 差示热分析法(DSC)

将 HP- β -CD、包合物、苍艾挥发油及其物理混合物进行差示量分析,升温速率为 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,升温范围为 $30\sim 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。扫描结果如图 3。

在 DSC 图谱中,包合物与 HP- β -CD 呈现出相同的吸收峰,而在温度范围内,未出现与苍艾油一致的吸热峰,故表明挥发油与 HP- β -CD 形成了新的物相。

3 讨论

本文以 HP- β -CD 为材料对苍艾挥发油进行包合,制成包合物。并采用正交优化试验法对工艺条件进行了考察,实验结果显示包合温度为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,包合时间为 1h,挥发油与 HP- β -CD 的比例为 1:15 时,包合物的包合率、含油率、收得率等各项指标最佳,为最佳包合工艺条件。最后,用薄层色谱、紫外扫描、差热分析等方法对包合物质量进行考察,结果显示包合物颗粒均匀、颜色均一,苍艾挥发油被较好地包合,且所得包合物具有良好的稳定性,制备方法简单,可行性和重复性较高,可作为本药物投入生产的参考依据。后续研究,欲将苍艾油-HP- β -CD 包合物进一步制备成为鼻用温敏凝胶^[12-16],增加其在鼻腔的滞留时间提高生物利用度。

目前,中药受到药学领域的广泛重视,研究力度也不断加强。苍艾油是由 7 味中药材提取得到的精华,其对肺气虚证的疗效,在前期的实验中已获得证实。本研究,采用羟丙基 β 环糊精对苍艾油进行了包合,不仅防止了其挥发,增加了稳定性,而且使其溶解度得到了改善,这为其在临床上的应用提供了研究基础。

参考文献:

- [1] 莫愁. 苍艾挥发油对肺气虚证大鼠免疫调节作用的研究[D]. 昆明:云南中医学院,2013.
- [2] 明溪. 苍艾香薰油对上呼吸道常见致病菌的部分药效学

研究[D]. 昆明:云南中医学院,2008.

- [3] 陈柏君,马云淑,熊磊. 苍艾香薰油的气相色谱—质谱分析[J]. 云南中医学院学报,2011,34(3):13-16.
- [4] 明溪,何晓山,陈柏君,等. 苍艾香薰油体外抑菌作用研究[J]. 云南中医学院学报,2011,34(1):10-13.
- [5] 冯瀚洲,胡春晖,朱春燕. 桉叶油羟丙基- β -环糊精包合物-原位凝胶复合系统的制备与评价[J]. 中国现代应用药学,2012,29(2):142-149.
- [6] 邓红,李欣蔚,林华庆,等. 薄荷、白术混合挥发油 β -环糊精包合物的制备和鉴别 [J]. 广东药学院学报,2011,27(4):340-344.
- [7] 汪付田,靳子明,郭敏,等. 薏苡仁油-羟丙基- β -环糊精包合物制备工艺研究 [J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(10):56-57.
- [8] 叶卯祥. β 环糊精包合技术在中药挥发油制剂中的应用研究[J]. 医学综述,2010,16(24):3793-3796.
- [9] 伊辛,刘彬丽,李木子,等. β -环糊精包合技术的研究进展及应用[C]//中华中医药学会中药制剂分会,世界中医药学会联合会中药药剂专业委员会. 2013 年“好医生杯”中药制剂创新与发展论坛论文集. 成都:2013:1062-1066.
- [10] 贾利蓉,赵志峰,雷绍荣,等. 汉源青花椒挥发油的成分分析[J]. 食品与机械,2008,24(3):105-108.
- [11] 孙恩轶. 挥发油的提取和包合工艺的研究[J]. 江西化工,2014(2):89-95.
- [12] 陈两绵,王锦玉,仝燕,等. 黏膜给药原位凝胶的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(8):76-80.
- [13] 李欣宇. 泊洛沙姆温度敏感型原位凝胶的研制 [D]. 重庆:重庆医科大学,2008.
- [14] 陈溪,杨洪斌,胡一桥,等. 温敏型姜黄素鼻用原位凝胶增强脑靶向性[J]. 药学与临床研究,2013,21(1):9-12.
- [15] 武瑞凌,赵春顺,谢静文,等. 口服布洛芬原位凝胶的制备及其在 Beagle 犬体内药代动力学研究[J]. 药科学报,2008,43(9):956-962.
- [16] 仇海镇,李娟. 原位凝胶的研究进展及其在药剂学中的应用[J]. 医学信息(上旬刊),2010,23(5):1524-1526.

(编辑:杨阳)

(英文摘要见第 42 页)

Preparation and Identification for HP- β -cyclo Dextrin Inclusion Compound of Cang Ai Volatile Oil

HUANG Qiuyan, XIONG Lei, WANG Hongmei, MA Yunshu, CHEN Bojun, KONG Shujun

(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To prepare and identify HP- β -cyclo dextrin (β -CD) inclusion compound of Cang Ai volatile oil. **Methods** With the inclusion rate of Cang Ai volatile oil- β -CD complex and the yield of volatile oil HP- β -CD complex as evaluating indicators, saturated water solution method was investigated. Orthogonal design was used to select the optimum formulation. The volatile oil HP- β -CD complex was identified by DSC, UV and TLC. **Results** The optimum inclusion conditions were as follows: volatile oil:HP- β -CD in proportion as 1:15 (mL:g), inclusion temperature of 40°C, mixing time of 3h, analysis results of DSC and TLC showed that stable inclusion compound has been formed from volatile oil and HP- β -CD. **Conclusion** The optimum condition for inclusion was feasible, solubility and stability which were improved after incusing by HP- β -CD. The comprehensive evaluating indicators may provide scientific basis for both screening the technological process and quality control.

KEY WORDS: Cang Ai volatile oil; HP- β -CD inclusion complex; orthogonal test