

饱和溶液法制备木香挥发油/ β -环糊精包合物

★ 赵国巍 廖正根 梁新丽 张晓辉 (江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:目的:建立木香挥发油/ β -CD 包合物的制备工艺。方法:以收得率和包合率为指标,采用正交试验优选 β -CD 包合木香挥发油的条件,并考查了分散溶剂用量和洗涤溶剂种类对包合的影响。结果:挥发油:无水乙醇(mL:mL) = 1:12,洗涤溶剂为乙酸乙酯;最佳包合工艺为挥发油: β -CD/(g:g) = 1:8,包合时间 = 1 h,包合温度 = 40 ℃;收得率和包合率分别为 89.32% 和 69.54%。结论:该工艺收得率与包合率高,设备要求不高,适用于工业化生产。

关键词:木香挥发油; β -环糊精;包合物

中图分类号:TQ 460.6⁺9 文献标识码:B

1 仪器与试剂

1.1 仪器

QYC-200 型恒温空气摇床(上海福玛实验设备有限公司),Agilent 1200 型高效液相色谱(美国 Agilent 公司),DSC 分析仪(美国 PE 公司),SIGMA3-18K 型高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司)等。

1.2 试剂

木香(购于南昌市黄庆仁栈华氏大药房,经鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne 的干燥根); β -环糊精(一鸣精细化工有限公司,纯度 > 98%);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 木香挥发油的提取

将 500 g 木香药材粉碎放入挥发油提取器中,加入 8 倍量的蒸馏水,连续提取 10 小时,至油量不再增加为止,将馏出液用乙醚萃取,无水硫酸钠干燥过滤,滤液温热蒸去乙醚,得淡黄色挥发油,本品挥发油含量为 0.57%。

2.2 木香挥发油 β -CD 包合工艺研究

采用饱和溶液法制备木香挥发油/ β -CD 包合物,即 β -CD 加蒸馏水适量配成饱和溶液,在一定温度下加入一定量木香挥发油无水乙醇溶液,置于恒温空气摇床中振荡,包合,置冰箱内冷藏 24 小时沉淀,滤过,适当溶剂洗涤,固形物 40 ℃ 热风烘干,即得。

2.2.1 分散溶剂量对包合的影响 木香挥发油与 β -CD 按 1:8 (g:g) 的比例,称取木香挥发油适量,分别按 1:8、1:10、1:12、1:14 的体积比用无水乙醇分散,加入到 40 ℃ 饱和 β -CD 水溶液中,包合 1 小

时,置冰箱内冷藏 24 小时析晶,滤过,并用少量纯化水洗涤后,再用适量乙酸乙酯洗涤 3 次,40 ℃ 热风烘干,得白色疏松状包合物粉末,测定各项指标,结果见表 1。包合物收得率 = 包合物质量/(β -CD 加入量 + 加入油量) × 100%,挥发油包合率 = 包合物含油量/加入油量 × 100%,包合物含油率 = 包合物含油量/包合物质量 × 100%。

表 1 分散溶剂量对包合的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

木香挥发油:乙醇 (mL:mL)	包合物收得率 (%)	挥发油包合率 (%)	包合物含油率 (%)
1:8	82.65 ± 2.78	63.86 ± 2.03	9.31 ± 0.36
1:10	85.86 ± 2.35	66.26 ± 2.11	9.98 ± 0.27
1:12	89.32 ± 2.02	69.54 ± 1.96	10.79 ± 0.24
1:14	87.81 ± 2.77	67.12 ± 2.30	10.34 ± 0.21

所得数据经 Excel 单因素方差分析表明,4 个水平总体平均数的差别具有统计学意义。由表 1 可以看出乙醇用量为木香挥发油的 12 倍量时,最利于木香挥发油的包合,过高或过低都对包合有不良影响,故确定木香挥发油与无水乙醇的质量体积比为 1:12。

2.2.2 洗涤溶剂种类对包合的影响 按 2.2.1 条件制备木香挥发油/ β -CD 包合物,置冰箱内冷藏 24 小时析晶,滤过,用定量冰纯化水洗涤后,再用分别用等量无水乙醇、石油醚、乙酸乙酯洗涤后,40 ℃ 热风烘干,得白色疏松状包合物粉末,测定各项指标。结果见表 2。

表 2 洗涤溶剂种类对包合的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$) (%)

洗涤溶剂	包合物收得率	挥发油包合率	包合物含油率
无水乙醇	70.38 ± 2.46	55.04 ± 1.66	8.18 ± 0.18
石油醚	88.61 ± 2.79	67.85 ± 1.07	10.50 ± 0.29
乙酸乙酯	89.32 ± 2.02	69.54 ± 1.96	10.79 ± 0.24

所得数据经 Excel 单因素方差分析表明,与无

水乙醇组比较,石油醚组和乙酸乙酯组的各指标均具有显著性差异,而石油醚组和乙酸乙酯组比较无显著性差异。由表2可以看出,采用石油醚和乙酸乙酯作为洗涤溶剂时,包合产物的各项指标相近,且均高于无水乙醇。

2.2.3 正交试验法考察木香挥发油包合物的制备工艺 包合工艺的正交优选:参考文献,选择木香挥发油: β -CD(g:g)、包合时间、包合温度3个因素为考察对象,每一因素各取3个水平,见表3。

表3 因素水平表

水平	因素		
	A 木香挥发油: β -CD/(g:g)	B 包合时间/h	C 包合温度/℃
1	1:6	1	30
2	1:8	2	40
3	1:10	3	50

选用 $L_9(3^4)$ 正交设计安排试验,以包合物收得率和挥发油包合率为考察指标,确定最佳制备工艺。为在统一标准下加权评分^[1],两项指标最佳的分别

表4 正交试验设计结果

序号	A	B	C	D (空白)	包合物 收得率(%)	挥发油 包合率(%)	收得率 评分	包合率 评分	综合 评分
1	1	1	1	1	82.58	56.47	23.43	47.64	71.07
2	1	2	2	2	88.51	62.22	29.89	61.62	91.51
3	1	3	3	3	81.36	36.86	22.10	0	22.10
4	2	1	2	3	88.61	65.67	30	70	100
5	2	2	3	1	86.23	51.50	27.40	35.57	62.97
6	2	3	1	2	79.93	60.11	20.54	56.49	77.03
7	3	1	3	2	69.08	52.51	8.71	38.02	46.73
8	3	2	1	3	69.77	63.68	9.46	65.16	74.62
9	3	3	2	1	61.10	60.47	0	57.85	57.85
收得率评分									
k ₁	25.140	20.713	17.810	16.943					
k ₂	25.980	22.250	19.963	19.713					
k ₃	6.057	14.213	19.403	20.520					
R	19.923	8.037	2.153	3.577					
包合率评分									
k ₁	36.420	51.887	56.730	47.020					
kV2	54.020	54.177	63.157	52.043					
kV3	53.677	38.113	24.530	45.053					
R	17.600	16.004	38.627	6.990					
综合评分									
k ₁	61.560	72.600	74.240	63.963					
kV2	80.000	76.367	83.120	71.757					
k ₃	59.733	52.327	43.933	65.573					
R	20.267	24.040	39.187	7.794					

2.3 薄层色谱分析

薄层色谱法检验洗涤溶剂的影响:(1)称取2份包合物,每份100 mg,置具塞离心管中,分别加乙酸乙酯和石油醚10 mL,超声处理15 min,2 000 r/min离心10 min,倾出上清液,为乙酸乙酯和石油醚提取液。残渣分别加无水乙醇10 mL,超声处理15 min,2 000 r/min离心10 min,倾出上清液,为无水乙醇提取液A和无水乙醇提取液B。(2)取10 mg

定为30分和70分,最差的定为0分,规定包合物收得率最好的4号试验88.61%为30分,最差的9号试验61.10%为0分,每降低1%则减去 $30/(88.61 - 61.10) = 1.09$ 分;同法推出包合率每降低1%则减去2.43分,故总评分为 $[30 - 1.09 \times (88.61 - Y_1)] + [70 - 2.43 \times (65.67 - Y_2)]$ 。最后将两个指标分值之和作为该试验的分值,并进行方差分析,结果见表4、5。木香挥发油与 β -CD的投料比对包合物收得率有显著性影响,包合温度对挥发油包合率和以收得率、包合率为基础的综合考察指标均有显著影响。综合3个指标分析结果,确定最佳工艺条件为结果为 $A_2B_1C_2$,即最优化条件为木香挥发油: β -CD/(g:g) = 1:8,包合时间=1小时,包合温度=40℃。为验证上述正交实验结果的可靠性,按最佳包合条件制备三批样品。测定结果:平均包合物收得率为89.32%,平均挥发油包合率69.54%。说明包合工艺基本可行。

木香挥发油,加无水乙醇10 mL溶解,作为对照品溶液。(3)分别取以上5种溶液各10 μ L,分别点于同一块硅胶G薄板上,以石油醚-乙酸乙酯(85:15)为展开剂展开,取出,晾干,喷以10%香草醛硫酸液显色,烘干。

在无水乙醇提取液A和无水乙醇提取液B的薄层色谱中,与对照品色谱相应的位置上显示相同颜色的斑点,包合前后的挥发油薄层色谱斑点一致,

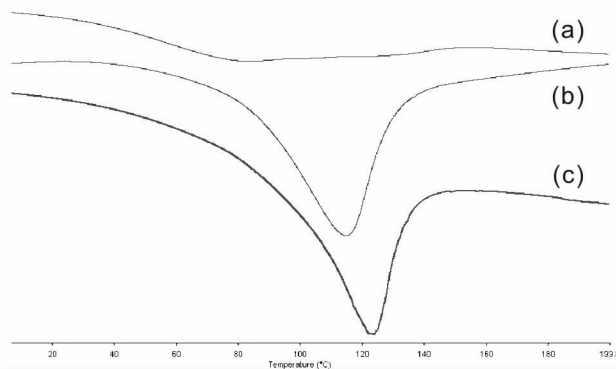
并且包含前后木香挥发油没有发生化学结构上变化,反应只是生成了一个新的物相。乙酸乙酯提取液和石油醚提取液的薄层色谱中则没有以上斑点,表明木香挥发油已与 β -CD 形成稳定的包合物,而非混合物。

表 5 方差分析表

因素		偏差平方和	自由度	F 值	显著性
包合物收得率	A	761.818	2	36.078	$P < 0.05$
	B	109.199	2	5.171	
	C	7.489	2	0.355	
	误差	21.12	2		
挥发油包含率	A	607.670	2	7.794	$P < 0.05$
	B	450.784	2	5.782	
	C	2554.877	2	32.771	
	误差	77.96	2		
综合评分	A	754.18	2	7.425	$P < 0.05$
	B	1003.12	2	9.877	
	C	2532.943	2	24.940	
	误差	101.56	2		

$$F_{0.05(2,2)} = 19.0。$$

2.4 差示扫描量热(DSC)分析



(a) 木香挥发油/ β -CD 包合物;
(b) β -CD; (c) 木香挥发油 β -CD 混合物

图 1 DSC 图谱

以空铝坩为参比,另一铝坩放入样品,升温速度 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,扫描范围 $-20\sim 200^{\circ}\text{C}$ 。图 1(b)为 β -CD 的 DSC 图谱, β -CD 在 114.8°C 处有一个特征吸收峰,为环糊精的脱水峰;图 1(c)为木香挥发油 β -CD 物理混合物,由于挥发油的存在,使 β -CD 的特征峰由 114.8°C 迁移至 123.9°C ;图 1(a)为木香挥发油/ β -CD 包合物的 DSC 曲线, β -CD 的特征峰消失,热焓值明显减小,表明木香挥发油与 β -CD 之间不是简单地吸附,而是发生了分子间作用,有新的物相生成,形成了包合物。

3 讨论

有研究者^[2,3]采用无水乙醇作为分散溶剂,对木香挥发油进行包合。但文献报道^[2,5],由于乙醇具有较强的极性,对包合物具有破坏作用。本实验中也发现:随着分散木香挥发油的乙醇量的增大,包含率也增大,当分散木香挥发油的乙醇量增大到 14 倍量木香挥发油的量时(此时乙醇在水中的浓度约为 7%),包含率出现下降。

文献报道^[1,4]乙醇对包合物具有破坏作用,而又有研究者^[5,6]采用无水乙醇对 β -CD 包合物进行洗涤,因此本文考察了极性和非极性洗涤溶剂对包合的影响。结果发现,采用非极性溶剂(如石油醚、乙酸乙酯)洗涤木香挥发油/ β -CD 包合物,其包合物收得率、挥发油包含率和包合物含油率均高于极性溶剂(如无水乙醇),这可能是由于乙醇对包合物具有破坏作用的缘故。

木香挥发油易溶于石油醚和乙酸乙酯,其包合物不溶于石油醚和乙酸乙酯^[7],因此在采用薄层色谱法进行包合物验证实验中,先分别用石油醚和乙酸乙酯溶解游离的木香挥发油,再用乙醇破坏包合物提取木香挥发油,结果在石油醚提取液和乙酸乙酯提取液中未见木香挥发油的斑点,而乙醇提取液中有木香挥发油的斑点,从而确证包合物已经形成。

在中药挥发油的制剂中,一般是采用将挥发油喷洒到颗粒上的方法,挥发油在制剂和放置的过程中不断挥发损失,含量降低。而采用包合技术,使挥发油包裹到 β -CD 形成的空腔结构中,避免了挥发油在制剂和贮藏时挥发。

参考文献

- [1] 廖正根,平其能,邹红,等. 丹皮酚 B-环糊精包合物的制备工艺研究[J]. 中草药,2005,36(6):842-846.
- [2] 匡菊香,田应彪,黄怡,等. 木香挥发油 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中南药学,2003,1(4):220-221.
- [3] 周彦彬,徐康平,姚瑶,等. 木香挥发油 β -环糊精包合物研究[J]. 湖南中医学院学报,2003,23(1):23-24.
- [4] Pitha J, Hoshino J. Effect of ethanol formation of inclusion complexes of hydroxypropyl cyclodextrins with testosterone or with methylorange [J]. Int J Pharm, 1992, 80:43-251.
- [5] 毛春芹,陆兔林. 木香挥发油 β -环糊精包合物的制备研究[J]. 中药材,2002,25(8):580-582.
- [6] 赵开军,濮存海,关志宇. 小儿感冒舒颗粒中荆芥挥发油 β -环糊精包合的工艺研究[J]. 中药材,2006,29(2):181-184.
- [7] Li P, Tabibil SE, Samuel H, et al. Combined effect of complexation and pH on solubilization [J]. J Pharm Sci, 1998, 87(12):1535-1537.

(收稿日期:2008-05-06 责任编辑:查青林)