

## 环糊精包合中药复方中挥发性成分研究

易延遼, 陈志良(南方医科大学南方医院药剂科, 广东 广州 510515)

**摘要:**目的 研究环糊精包合中药复方中挥发性成分的影响条件和包合物的稳定性。方法 以更年期复方为例,以包合物利用率为指标,考查包合工艺条件的影响因素;采用正交试验优选有关工艺参数;测定不同湿度条件下的平衡吸湿率;采用 Q10 法预测  $\beta$ -环糊精包合物的有效期。结果 包合的方法、包合物用量、包合温度、包合时间、干燥方法等均能明显影响包合工艺。正交试验结果表明更年期复方挥发油  $\beta$ -环糊精包合最佳工艺为挥发油加 8 倍量  $\beta$ -环糊精,室温下搅拌 3 h;稳定性试验表明湿度对包合物影响不大,包合物有效期可达 1.26 年。结论 全面系统地考查了包合的影响因素及包合物的稳定性,为包合技术的应用和研究提供了实验依据。

**关键词:**环糊精;中药复方;挥发性成分;包合技术

中图分类号:R284.3 文献标识码:A 文章编号:1673-4254(2006)09-1337-04

## Evaluation of cyclodextrin inclusion of the volatile components in compound traditional Chinese medicine

YI Yan-kui, CHEN Zhi-liang

Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract:** **Objective** To study the factors affecting cyclodextrin (CD) inclusion of the volatile components in compound traditional Chinese medicines and evaluate the stability of the inclusion compound. **Methods** This study took *Gengnian* compound as an example to examine the factors affecting the inclusion process according to the inclusion compound utilization ratio. Orthogonal design method was employed to optimize the parameters in the inclusion process. The moisture absorption rate of the  $\beta$ -CD inclusion compound was determined in different humidity and Q10 was used to predict its. **Results** The inclusion method, inclusion compound dosage, temperature, inclusion time, and the drying method could all obviously influence the inclusion process. The results of orthogonal design study showed that the optimal  $\beta$ -CD inclusion of *Gengnian* compound volatile components could be achieved by adding 8-fold volume of  $\beta$ -CD and stirring for 3 h at room temperature. Stability experiment showed that the humidity did not significantly influence the inclusion compound, which can be stable for 1.26 years. **Conclusion** This study comprehensively examines the factors affecting the inclusion process and the stability of the inclusion compound, and provides experimental basis for application and study of the inclusion technology.

**Key words:** cyclodextrin; volatile components; compound, traditional Chinese medicine; inclusion technology

近年来,环糊精(CD)包合技术在药品与食品工业中应用愈来愈广泛,CD系由一类细菌生产出环糊精聚糖转位酶而作用于淀粉后经水解环合而成的环状低聚糖化合物。CD可增加亲油性物质的溶解度;增加物质的稳定性,使液体药物粉末化,便于加工;减少刺激性,降低毒副作用;掩盖不良气味;调节物质在介质中释放速度,因而有研究将其应用于控释制剂、靶向制剂。其中以  $\beta$ -CD 在水中溶解度最小,最易从水中析出结晶,故最为常用<sup>[1-3]</sup>。中国市场上  $\beta$ -CD 大量供应,价格经济,但  $\alpha$ -CD、 $\gamma$ -CD 等供应较少,价格昂贵,不适合应用于现代化大生产中。本研究以  $\beta$ -CD 为例,研究包合中药复方中挥发性成分的影响条件。中药复方以更年期复方为例进行研究。更年期复方中含有白术、香附、当归、砂仁等药材,我们从中提取

了挥发油成分。为提高其稳定性,可以考虑采用  $\beta$ -CD 进行包合。为此,进行了  $\beta$ -CD 包合更年期复方中挥发性成分的工艺条件、影响因素的研究,并优选了有关工艺参数,同时,进一步进行了稳定性研究。

### 1 材料和仪器

#### 1.1 仪器与试剂

挥发油测定器(广东竞力化玻仪器有限公司), $\beta$ -CD(广东省郁南县永光味精实业有限公司),分析天平由湖南湘仪天平仪器厂生产,石油醚(30~60℃)为分析纯。

#### 1.2 更年期复方挥发性成分的提取

按处方称取白术、香附、当归、砂仁适量,经预处理后,加 5 倍量水蒸馏提取 5 h,收集挥发油。

## 2 影响 $\beta$ -CD 包合更年期复方挥发性成分因素的考查

### 2.1 包合方法的影响

收稿日期:2005-12-26

作者简介:易延遼(1975-),男,博士,主要研究方向为药物新剂型、新技术,电话:020-61648263,13202506911,E-mail:dareyyk@sina.com

方法:精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,共 3 份,备用。饱和水溶液法:称取  $\beta$ -CD 8 g,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。用滴管将挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,恒温搅拌 3 h。研磨法:称取  $\beta$ -CD 8 g,置乳钵中,加入适量蒸馏水,研磨,用滴管将挥发油稀释液注入,充分研磨成糊状。超声法:称取  $\beta$ -CD 8 g,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入适量蒸馏水,用滴管将挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,超声 1 h。分别置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣,用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,置干燥器中 12 h,即得粉末。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(2005 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法下甲法)测定包合物中实际挥发油量;同时进行空白回收率测定,即将 1 ml 挥发油置 500 ml 圆底烧瓶中,按挥发油测定法测定,计算空白回收率。在测定包合物含量及空白回收率基础上,按下式计算挥发油利用率:

$$\text{包合物利用率(\%)} = \frac{\text{包合物中实际含挥发油量(g)}}{\text{挥发油加入量} \times \text{空白回收率}} \times 100\%$$

结果 3 种方法的包合物利用率分别为  $87.5 \pm 4.42$ 、 $82.5 \pm 5.23$  和  $70.0 \pm 6.85$ 。可见,包含方法对  $\beta$ -CD 包含更年复方挥发性成分影响明显,以饱和水溶液法为优,研磨法次之,超声波法较差。

## 2.2 CD 用量对挥发油包合物利用率的影响

方法:精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,共 5 份,备用。采用饱和水溶液法进行包含,分别称取  $\beta$ -CD 4、8、12、16、20 g,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。用滴管将挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,恒温搅拌 3 h。置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣,用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,置干燥器中 12 h,即得粉末。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(同 2.1),结果见图 1。由图 1 可见,当  $\beta$ -CD 用量达 16 g 时,即挥发油: $\beta$ -CD 达 1:8 时,利用率基本达到极限。

## 2.3 包含时温度对挥发油包合物利用率的影响

方法:精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,共 5 份,备用。采用饱和水溶液法进行包含,分别称取  $\beta$ -CD 8 g,置 150 ml 具塞三角瓶中。加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。用滴管将

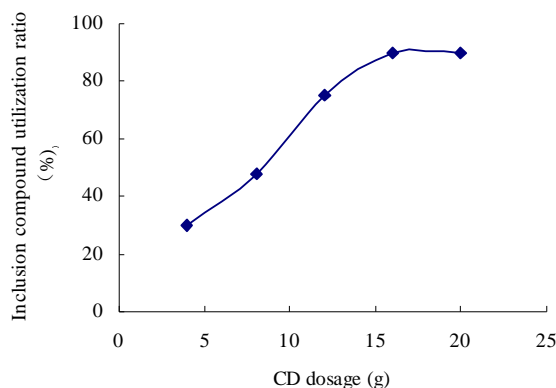


图 1 不同用量 CD 对挥发油包合物利用率的影响

Fig.1 Influence of CD dosage on inclusion compound utilization ratio of the volatile components

挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,恒温搅拌 3 h。置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣。用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,置干燥器中 12 h,即得粉末。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(同 2.1)。包含时温度不宜过高,60℃以后包合物利用率明显下降,因而包含温度宜控制在 60℃以下。

## 2.4 包含时间对挥发油包合物利用率的影响

方法:精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,共 5 份,备用。采用饱和水溶液法进行包含,分别称取  $\beta$ -CD 8 g,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。用滴管将挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,分别恒温搅拌 1、2、3、4、5 h。置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣,用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,置干燥器中 12 h,即得粉末。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(同 2.1),结果见图 2。由图 2 可见,包含时间达 3 h 后,包含已达平衡。

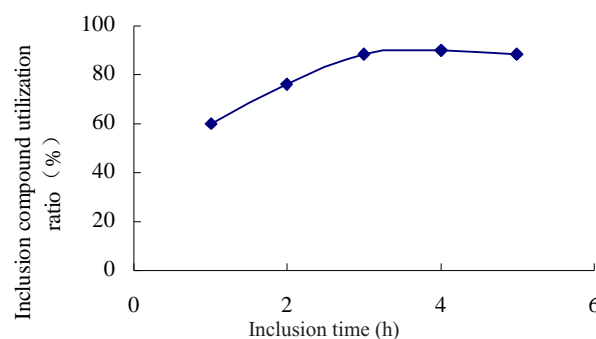


图 2 不同包含时间对挥发油包合物利用率的影响

Fig.2 Influence of inclusion time on inclusion compound utilization ratio of volatile components

2.5 干燥方法的影响

方法:精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,共 3 份,备用。采用饱和水溶液法进行包合,分别称取 β-CD 8 g,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。用滴管将挥发油稀释液注入 CD 溶液中,加塞,分别恒温搅拌 3 h。置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣,用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,按下列方法分别进行干燥。冷冻干燥法:滤渣置真空冷冻器内,于-40℃使冷冻成固体,在低压条件下使水升华除去,即得干燥品。真空干燥法:干燥温度为 50℃,真空度为 -0.08 Mpa 进行干燥。烘干法:干燥温度为 50℃下进行干燥。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(同 2.1),结果三种干燥方法的包合物利用率分别为 91.25±3.42、82.5±5.23 和 71.25±8.39。可见,干燥方法对 β-CD 包合更年复方挥发性成分影响明显,以冷冻干燥法为优,烘干法次之,真空干燥法较差。

2.6 正交试验优选 β-CD 包合工艺条件

考虑 β-CD 用量、包合温度、搅拌时间是三种最重要的影响因素,因而采用正交试验优选了 β-CD 用量、包合温度、搅拌时间等三种条件。

2.6.1 因素水平表 见表 1。

表 1 因素水平表

**Tab.1 Factors and levels of the inclusion process**

Factor level	β-CD:oil (A)	Inclusion temperature (°C) (B)	Stirring time (h) (C)
1	6:1	25	2
2	8:1	45	3
3	10:1	65	4

2.6.2 试验方法及数据 依表 2,用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表安排试验,称取 β-CD,置 150 ml 具塞三角瓶中,加入 100 ml 蒸馏水,沸水浴中加热使溶解,降至规定温度,于磁力加热搅拌器上恒温搅拌 30 min。精密取挥发油 1 ml,按 1:4 比例用无水乙醇稀释,用滴管将挥发油稀释液注入 β-CD 溶液中,加塞,恒温搅拌至规定时间。置冰箱中冷藏 24 h,抽滤,少量水洗,抽干,收集滤渣,用石油醚 30 ml 洗涤 3 次,置干燥器中 12 h,即得粉末。将制得的包合物置 500 ml 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 200 ml,按挥发油测定法(同 2.1),结果见表 2。

2.6.3 方差分析 将正交试验结果进行方差分析,结果见表 3。以挥发油利用率为考查指标,由表 2 的 R 值看,各因素作用主次为 A>C>B,方差分析结果表明:A 因素的影响具有显著性意义 (P<0.05),以

表 2 正交试验表及结果

**Tab.2 Orthogonal design table and the results**

Number	A	B	C	D	Inclusion compound utilization ratio (%)	
1	1	1	1	1	50	
2	1	2	2	2	75.0	
3	1	3	3	3	62.5	
4	2	1	2	3	87.5	
5	2	2	3	1	87.5	
6	2	3	1	2	75	
7	3	1	3	2	87.5	
8	3	2	1	3	75	
9	3	3	2	1	87.5	
K1	187.5	225	200	225	G=687.5	CT=G <sub>2</sub> /9
K2	250	237.5	250	237.5	SS <sub>T</sub> =868.06	SS <sub>2</sub> =34.72
K3	250	225	237.5	225	SS <sub>3</sub> =451.39	SS <sub>4</sub> =34.72
R	0.35	0.05	0.2	0.05		

A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 为佳。但 B 因素即温度,影响无显著性差异,而从数值看,B<sub>1</sub> 与 B<sub>2</sub> 十分接近,再从经济角度考虑,因而其挥发油包合工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>,即挥发油加 8 倍量 β-CD,室温下搅拌 3 h。优选的工艺即正交表 4 号试验结果。

表 3 挥发油利用率方差分析表

**Tab.3 Analysis of variance of inclusion compound utilization ratio**

Variance origin	SS	r	MS	F	P*
A	868.06	2	434.03	25.0	<0.05
B	34.72	2	17.36	1.0	>0.05
C	451.39	2	225.695	13.0	>0.05
D	34.72	2	17.36		

\*F<sub>0.05</sub>(2,2)=19.00; F<sub>0.01</sub>(2,2)=99.00

3 β-CD 包合物稳定性考察

3.1 β-CD 包合物吸湿性考察

平衡吸湿率与临界相对湿度的测定:将底部盛有各种溶液的玻璃干燥器放入 25℃的恒温培养箱内恒温 24 h,此时干燥器内的相对湿度达到相应的湿度。分别在已恒重的称量瓶底部放入 β-CD 包合物,准确称重后置于各玻璃干燥器内(称量瓶盖打开),于 25℃恒温培养箱保存 24 h,取出称量,按下式计算吸湿百分率。图 3 表明,β-CD 包合物临界相对湿度约为 68%,因而 β-CD 包合物宜贮存于相对湿度低于 65%的环境中,这与一般的中药制剂相似。

$$\text{吸湿率}(\%) = \frac{\text{吸湿后包合物重量} - \text{吸湿前包合物重量}}{\text{吸湿前包合物重量}} \times 100\%$$

3.2 化学动力学法——温度系数法 (Q10 法) 预测 β-CD 包合物的有效期<sup>[4]</sup>

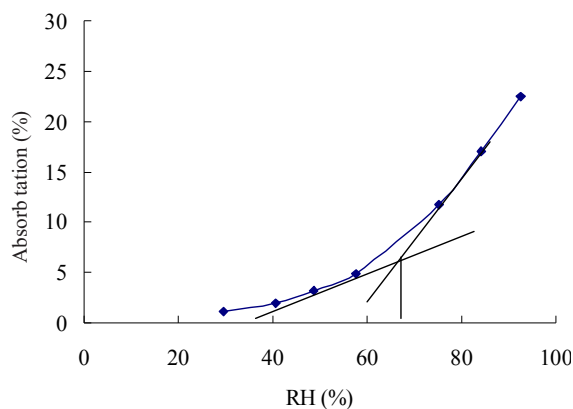


图 3 吸湿曲线

Fig.3 Moisture absorption curve

取  $\beta$ -CD 包合物适量,置于电热恒温干燥箱中,分别在 60  $^{\circ}\text{C}$ 、48 h 和 80  $^{\circ}\text{C}$ 、12 h 进行加速试验。按挥发油测定法(2005 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法下甲法)分别测定加速前后  $\beta$ -CD 包合物中挥发油含量,计算出相当加速前的百分量。结果按温度系数法有关公式<sup>[4]</sup>计算,有效期约为 1.26 年。

#### 4 讨论

包合方法是影响挥发油包合物利用率的因素,为提高挥发油包合物利用率,考查了不同包合方法对挥发油包合物利用率的影响。现一般常用的包合方法主要有饱和水溶液法、研磨法、超声波法,因此以包合物利用率为指标,考查了不同方法包合挥发油的包合物利用率。包合方法研究结果,原因可能是  $\beta$ -CD 成饱和溶液状态时,分子分散度较为合理,同时增加了主题分子与客体分子的接触机会,从而利于客体分子进入  $\beta$ -CD 分子空洞内部;包合时温度宜控制在 60  $^{\circ}\text{C}$  以下,原因可能是一方面温度过高分子运动过于激烈,不利于已形成包合物的稳定,另一方面温度过高挥发性成分易于损失;干燥方法考查中发现真空干燥法较差,原因可能是  $\beta$ -CD 包合物在温度较高时,分子运动加剧,同时抽真空容易使挥发性分子脱离

$\beta$ -CD 空洞。正交试验结果体现了因素间的相互影响,尤其是包合温度、搅拌时间。一般因包合温度高,分子运动快,需要的时间就短,但当温度过高时又出现了不利包合物稳定的情况。按温度系数法预测到包合物有效期约为 1.26 年,说明更年复方中挥发性成分通过  $\beta$ -CD 包合基本稳定,能够达到药用要求。

$\beta$ -CD 用量影响的研究结果中, $\beta$ -CD 相对分子量为 1135,而挥发油分子量一般为 100~200<sup>[5]</sup>,考虑  $\beta$ -CD 分子不可能被 100% 利用,同时包合时有部分损失,即包合率不可能达 100%。因而可以推断一般是一分子  $\beta$ -CD 包合一分子挥发油。正交试验研究结果表明中药挥发性成分一般的  $\beta$ -CD 用量是 8 倍,这与有关报道一致<sup>[6]</sup>。

包合物是一种分子的空间结构中全部或部分包入另一种分子而成,故包合物又称为分子胶囊。CD 的应用研究随着工业化生产发展,尤其在药剂上的应用令人瞩目,因此研究应用包合技术,对于开发研制药物新剂型、新品种有着良好的前景。本研究通过对包合的方法、包合物用量、包合温度、包合时间、干燥方法等因素对包合的影响,全面系统地考查了包合的影响因素,从而为包合技术的研究提供了实验依据。

#### 参考文献:

- [1] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 24-51.
- [2] Wang Z, Hirayama F, Uekama K. Design and *in vitro* evaluations of a modified-release oral dosage form of nifedipine by hybridization of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrins and hydroxypropyl cellulose [J]. J Pharm Pharmacol, 1993, 45: 942-6.
- [3] Fatouros DG, Hatzidimitriou K, Antimisariis SG. Liposomes encapsulating prednisolone and prednisolone-cyclodextrin complexes: comparison of membrane integrity and drug release[J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 13: 287-96.
- [4] 范碧亭. 中药药剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 522-8.
- [5] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 494-506.
- [6] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 489.