

荷泽颗粒中苍术、枳实挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺研究[△]

马娟^{1,2*}, 陈树和^{1#}, 朱田密¹, 曾心怡^{1,2}, 向希雄¹(1.湖北省中医院药事部, 武汉 430061; 2.湖北中医药大学中药资源与中药化学省级重点实验室, 武汉 430061)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1839-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.32

摘要 目的:优化荷泽颗粒中苍术、枳实挥发油的提取及 β -环糊精(β -CD)包合工艺。方法:采用水蒸气蒸馏法提取荷泽颗粒挥发油,采用水溶液法制备挥发油 β -CD包合物;以包合物收率和挥发油得率为综合评价指标,采用均匀设计试验法考察挥发油与 β -CD的比例、水与 β -CD的比例、包合温度、搅拌时间对包合工艺的影响,筛选最优工艺;采用显微镜、红外光谱及紫外光谱对所制包合物进行表征。结果:最优包合工艺为挥发油与 β -CD比例1:10(ml/g)、水与 β -CD比例10:1(ml/g)、包合温度30℃、搅拌时间3.5h。包合物收率为73.06%,挥发油得率达96.24%(RSD \leq 5.43%, $n=3$);3项表征试验均证实挥发油已包含于 β -CD内。结论:优选的荷泽颗粒中苍术、枳实挥发油的提取工艺及 β -CD包合物制备工艺稳定、可行。

关键词 荷泽颗粒;挥发油; β -环糊精;包合物;均匀设计试验;工艺优化

Study on the Extraction of Volatile Oil from *Atractylodes lancea* and *Citrus aurantium* and Inclusion Technology of β -cyclodextrin in Heze Granules

MA Juan^{1,2}, CHEN Shuhe¹, ZHU Tianmi¹, ZENG Xinyi^{1,2}, XIANG Xixiong¹(1.Dept. of Pharmaceutical Affairs, Hubei Provincial Hospital of TCM, Wuhan 430061, China; 2.Provincial Key Lab of TCM Source and TCM Chemistry, Hubei University of TCM, Wuhan 430061, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction of volatile oil from *Atractylodes lancea* and *Citrus aurantium* and inclusion technology of β -cyclodextrin (β -CD) in Heze granules. METHODS: The steam distillation method was adopted to extract volatile oil from Heze granules, and β -CD inclusion complex was prepared by aqueous solution method. The effects of the ratio of volatile oil to β -CD, the ratio of water volume to β -CD, inclusion temperature and mixing time on inclusion temperature were investigated by uniform design test to screen optimal technology, using the yield of inclusion complex and the yield of volatile oil as index. The inclusion complex was characterized with microscope, IR spectrum and UV spectrum. RESULTS: Optimum inclusion process was as follows as ratio of volatile oil to β -CD 1:10 (ml/g), ratio of water to β -CD 10:1 (ml/g), inclusion temperature 30℃, mixing time 3.5 h; the yield of inclusion complex was 73.06% and the yield of volatile oil was 96.24% (RSD \leq 5.43%, $n=3$). 3 characterization tests indicated that volatile oil had been included in β -CD. CONCLUSIONS: The extraction technology of volatile oil from *A. lancea* and *C. aurantium* and inclusion technology of β -CD in Heze granules are stable and feasible.

KEYWORDS Heze granule; Volatile oil; β -cyclodextrin; Inclusion complex; Uniform design test; Process optimization

荷泽颗粒为湖北省中医院院内制剂(批准文号:鄂药制字Z20150017),主要由荷叶、苍术、泽泻、枳实、知母等中药组成,具有健脾利湿、理气消食之功效。方中苍术为君药,宜选用麸炒苍术,以增强燥湿健脾^[1]之功。苍术药材来源包括茅苍术和北苍术,其主要活性成分为挥发油。茅苍术根茎含挥发油约5%~9%,主要成分为苍术醇,苍术醇为 β -桉叶醇、茅术醇的混合物;另外含苍术酮、苍术素等。北苍术根茎含挥发油1.5%,主要含有 β -桉叶醇、苍术酮等。现代药理研究表明,苍术中的挥发油成分具有祛风健脾、促进胃肠运动的作用^[2-3],而枳实中的挥发油主要组分 β -月桂烯具有抗溃疡活性^[4]。两药挥发油均为荷泽颗粒的药理活性成分,但挥发油稳定性差,遇光、热易氧化分解,从而影响药物的治疗效果。荷泽颗粒传统的制法是将挥发油直接喷洒在制剂表面,但存在挥发油易挥发及变质的缺陷。为了提高荷泽颗粒的稳定性与疗效,本课题组先

[△]基金项目:湖北省卫生计生委中医药、中西医结合科研重点项目(No.2013Z-Z02)

* 硕士研究生。研究方向:中药及其制剂物质基础。E-mail: 272184104@qq.com

通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:中药及其制剂物质基础。电话:027-88929176。E-mail: chenshuhe606@163.com

采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,再利用 β -环糊精(CD)包合技术^[5],采用水溶液法将苍术、枳实中提取的挥发油制成包合物,均匀设计法优化包合工艺条件,最后采用显微镜法、红外光谱法、紫外光谱法对包合物进行表征分析。

1 材料

1.1 仪器

PH100-DB310U-PL型生物显微镜(江西凤凰光学集团有限公司);UV-1800型紫外分光光度仪(日本岛津公司);Spectrum Two型傅里叶红外光谱仪(法国Perkin Elmer公司);88-1型大功率数显磁力搅拌器(常州国华电器有限公司);DZF-200型真空干燥箱(上海浦东跃欣科学仪器厂);E12140型万分之一分析天平(瑞士Ohaus公司)。

1.2 药材与试剂

麸炒苍术、麸炒枳实(购自湖北天济中药饮片有限公司,批号分别为20150101、20141101,经湖北省中医院陈树和主任药师鉴定符合2010年版《中国药典》的有关规定); β -CD(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20060314);试验所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苍术、枳实挥发油的提取工艺优选

2.1.1 提取方法的选择 苍术、枳实挥发油比重小于1,采用2010年版《中国药典》(一部)附录XD挥发油测定法(甲法)提取挥发油^[1],并计算挥发油提取率[挥发油体积(ml)/药材质量(g)×100%]。

2.1.2 提取时间的考察 按处方中比例称取苍术粗粉120 g、枳实粗粉40 g,共2份,分别加10倍量水浸泡1 h后开始蒸馏,分别记录2、4、6、8、10、12 h的挥发油量,计算挥发油平均累积提取率,结果分别为1.26%、1.30%、1.35%、1.39%、1.42%、1.42%。

由此可见,加10倍量水、蒸馏提取10 h时,挥发油累积提取率达到最大;蒸馏2 h内出油最快、出油率较高,可认为挥发油已基本提取完全;继续蒸馏,挥发油量增加缓慢,且蒸馏时间太长可致水溶性杂质提出量也增多。故综合考虑,确定挥发油提取时间为6 h。

2.1.3 挥发油提取工艺的验证试验 取苍术粗粉120 g、枳实粗粉40 g,共3份,按上述“2.1.2”项下方法及条件进行提取,结果挥发油提取率分别为1.34%、1.31%、1.31%(RSD<2%,n=3),表明该提取条件合理可行。

2.2 苍术、枳实挥发油的β-CD包合工艺优选^[6-8]

2.2.1 挥发油的制备 按处方比例称取苍术、枳实2味药材,按上述工艺提取挥发油,装于棕色瓶中,于4℃条件下保存,备用。

2.2.2 挥发油包合物的制备 采用水溶液法制备挥发油β-CD包合物。吸取挥发油适量,加等量无水乙醇稀释,加至β-CD水溶液中,在规定温度下搅拌(280 r/min)至规定时间,置于4℃冰箱中冷藏24 h,抽滤,滤饼先用适量水洗涤,再用石油醚(30~60℃)淋洗,50℃干燥4 h,即得包合物成品。计算包合物收率=包合物实际质量(g)/[β-CD质量(g)+挥发油加入量(g)]×100%。

2.2.3 空白回收率的测定 精密吸取挥发油1.0 ml,置于500 ml圆底烧瓶中,加蒸馏水300 ml,提取挥发油^[1]。计算空白回收率[收集挥发油量(ml)/加入挥发油量(ml)×100%],结果为88.90%。

2.2.4 包合物中挥发油得率的测定 称取一定量包合物,置于500 ml圆底烧瓶中,加蒸馏水300 ml,提取挥发油^[1]。计算挥发油得率=包合物中挥发油测得量(ml)/[挥发油加入量(ml)×空白回收率]×100%。

2.2.5 包合工艺优选 查阅文献[9-10],在预试验的基础上采用均匀试验设计法,以包合物收率和挥发油得率为综合评价指标(权重系数分别为0.5、0.5),选取挥发油量(ml)与β-CD质量(g)比例(X_1)、β-CD水溶液中加水量(ml)与β-CD质量(g)比例(X_2)、包合温度(X_3 ,℃)、搅拌时间(X_4 ,h)为考察因素,采用 $U_7(7^6)$ 设计表进行试验,每次试验挥发油样品量均为1 ml,按“2.2.2”项下方法,每组设计平行操作3次,测定包合物收率(Y_1)和挥发油得率(Y_2),并计算综合评分 $Y=0.5 \times Y_1 + 0.5 \times Y_2$ 。均匀设计因素与水平见表1,试验结果表2,方差分析结果见表3。

表1 均匀设计因素与水平

Tab 1 Factors and levels of uniform design

试验号	X_1 , ml/g	X_2 , ml/g	X_3 , °C	X_4 , h
1	1:5	10:1	20	1.0
2	1:6	15:1	25	1.5
3	1:7	20:1	30	2.0
4	1:8	25:1	35	2.5
5	1:9	30:1	40	3.0
6	1:10	35:1	45	3.5
7	1:11	40:1	50	4.0

表2 均匀设计试验结果

Tab 2 Results of uniform design test

试验号	X_1 , ml/g	X_2 , ml/g	X_3 , °C	X_4 , h	Y_1	Y_2	Y
1	1:5	15:1	30	3.5	82.81	54.74	68.775
2	1:6	25:1	45	3.0	62.76	50.41	56.585
3	1:7	35:1	25	2.5	41.68	44.58	43.130
4	1:8	10:1	40	2.0	70.59	82.49	76.540
5	1:9	20:1	20	1.5	65.06	60.82	62.940
6	1:10	30:1	35	1.0	30.68	42.91	36.795
7	1:11	40:1	50	4.0	34.65	60.41	47.530

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

变异来源	离均差平方和	自由度	均方差	F	P
回归	2 447.173	1	2 447.173	25.982	0.000
残差	1 789.527	19	9.186		
总计	4 236.699	20			

注: $F_{0.05}(1, 19)=4.38$; $F_{0.01}(1, 19)=8.18$

Note: $F_{0.05}(1, 19)=4.38$; $F_{0.01}(1, 19)=8.18$

应用SPSS19.0软件经逐步线性回归处理得优化方程: $Y_1=91.580-1.721X_2+9.557X_4-0.486X_3$ (因素 X_1 在方程式中剔除), $Y_2=35.275-1.413X_2+5.014X_1+6.628X_4$ (因素 X_3 在方程式中剔除), $Y=82.078-1.080X_2$ (调整 $R^2=0.555$,因素 X_1 、 X_3 、 X_4 在方程式中剔除)。

表3为综合评分 Y 方差分析结果,回归模型的方差分析结果达到极显著性水平,即 F 值的显著性水平达到 $P<0.01$,表明方程 Y 有效, X_2 与 Y 之间存在极显著的线性关系。 X_2 与 Y 呈负相关,优选 $X_2=10:1$; Y_1 与 X_1 呈正相关,与 X_3 呈负相关; Y_2 与 X_1 呈负相关,与 X_4 呈正相关。即 X_1 、 X_3 宜取较小值, X_4 宜取较大值。从节约时间、经济方面综合考虑确定最优包合工艺为 $X_1=1:10$ 、 $X_2=10:1$ 、 $X_3=30$ ℃、 $X_4=3.5$ h,即挥发油与β-CD的比例为1:10(ml/g),水与β-CD的比例为10:1(ml/g),30℃下包合3.5 h。

2.2.6 验证试验 按照优化的包合工艺,制备苍术、枳实挥发油β-CD包合物3批,测得: $Y_1=73.06\%$ (RSD=5.43%,n=3), $Y_2=96.24\%$ (RSD=2.83%,n=3), $Y=84.65\%$ (RSD=3.49%,n=3),表明该包合工艺稳定、可行。

2.3 挥发油β-CD包合物的性质考察^[10-11]

2.3.1 显微镜观察 取β-CD、挥发油包合物、挥发油与β-CD物理混合物(1:10,ml/g),各样品分别加蒸馏水分散,装片,在显微镜下观察,结果见图1。

由图1可见,β-CD为中间透亮的块状细小结晶;而挥发油β-CD包合物未见明显的结晶,呈松散状;挥发油与β-CD物理混合物中结晶消失,挥发油分散在β-CD中,周围有油状液滴。

2.3.2 红外光谱分析 分别取挥发油、β-CD、挥发油包合物、挥发油与β-CD物理混合物(1:10,ml/g)4种样品适量,用KBr压片法进行红外光谱分析,扫描范围为4 000~400 cm^{-1} ,结果见图2。

由图2可见,包合物与物理混合物扫描图谱基本相似,峰形相同,但两者吸收并不完全相同。如物理混合物在1 154 cm^{-1} 处均有吸收,而包合物在此却未见吸收,说明包合物与物理混合物是不同物相;包合物与挥发油吸收光谱比较,在包合物吸收光谱中,挥发油的一些特征吸收峰吸收强度较弱,如1 414 cm^{-1} 、1 366 cm^{-1} ,而在物理混合物的吸收光谱中均有强吸收,表明β-CD与挥发油形成了新的物相。

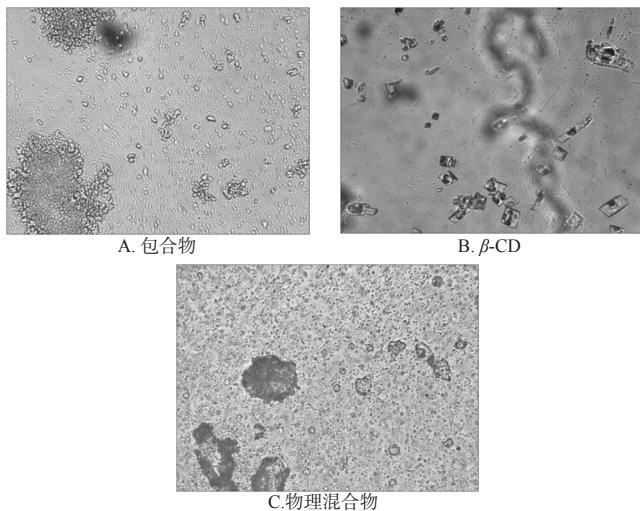


图1 3种样品显微镜观察结果(×400)

Fig 1 The observed results of 3 kinds of samples by microscope(×400)

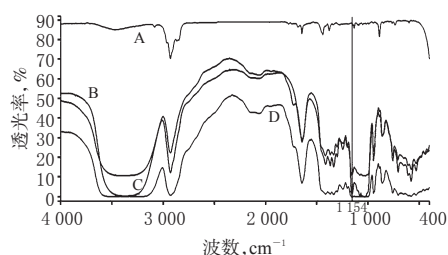


图2 4种样品红外光谱图

A. 挥发油; B. 物理混合物; C. β -CD; D. 包合物

Fig 2 IR spectrum of 4 kinds of samples

A. volatile oil; B. physical compound; C. β -CD; D. inclusion complex

2.3.3 紫外光谱分析 分别取挥发油、 β -CD、挥发油与 β -CD的物理混合物(1:10, ml/g)、包合物4种样品适量,加无水乙醇25 ml,振摇使之溶解,得供试液。取上述供试液分别于200~500 nm波长处进行紫外光谱扫描,以无水乙醇为空白对照,结果见图3。

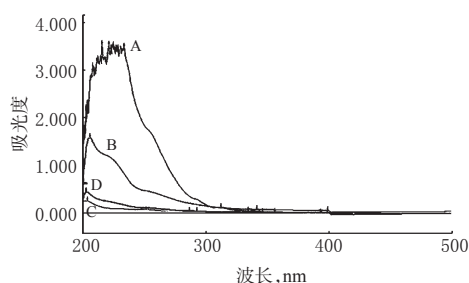


图3 4种样品紫外吸收光谱图

A. 挥发油; B. 物理混合物; C. β -CD; D. 包合物

Fig 3 UV absorption spectrum of 4 kinds of samples

A. volatile oil; B. physical compound; C. β -CD; D. inclusion complex

由图3可见, β -CD与包合物紫外吸收图谱基本相似,而挥发油和物理混合物在200~300 nm波长处有明显吸收,而挥发油的包合物在此波长范围内吸收不明显,表明挥发油已包含于 β -CD内,形成了与物理混合物物相不同的稳定包合物。

3 讨论

挥发油的提取方法主要有水蒸气蒸馏法、溶剂回流法、超临界萃取法等。其中,利用低温蒸干溶剂回收所得挥发油黏

度较高,且挥发油中会有溶剂残留;超临界萃取法对设备要求较高,投资较大,工业化大生产有一定的难度和限制;水蒸气蒸馏法操作简便,效率较高,适合医院制剂的生产。因此,本试验采用水蒸气蒸馏法提取苍术、枳实中的挥发油,验证试验结果表明水蒸气蒸馏法提取挥发油方法稳定可行。

苍术、枳实中挥发油成分组成复杂,发挥药理作用的化学成分有苍术醇、苍术酮、茅术醇、 β -月桂烯等。以挥发油收率为评价指标,更能保证各种有效成分的提取率,故没有以某一具体有效成分含量为评价指标,但下一步笔者将对此进行研究。包合工艺中以挥发油得率为评价指标,能够充分说明挥发油中各成分被包合的情况,以判断工艺参数的优劣;包合物收率可以辅助判断工艺参数的优劣,故2种指标对包合工艺参数优劣的评价影响程度相当,权重系数均为0.5。

挥发油包合方法有水溶液法、研磨法、冷冻干燥法、超声等,对药材苍术^[6,8]、枳实^[12]提取的挥发油进行 β -CD包合工艺的研究已有文献报道,均采用水溶液法进行包合。本文预试验中亦对水溶液法包合工艺进行了考察,发现其包合率和挥发油收率较高且较为稳定。故在此试验中直接采用水溶液法对苍术、枳实挥发油进行包合,且此方法具有包合率高,操作简单、快速,对设备要求不高的优点,适于医院制剂大规模生产。

本研究确定菏泽颗粒中苍术、枳实挥发油包合的最优工艺为挥发油与 β -CD的比例为1:10(ml/g),水与 β -CD的比例为10:1(ml/g),30℃下以280 r/min搅拌速度包合3.5 h。经医院制剂室中试生产验证,包合物收率达70%以上,挥发油得率达90%以上,表明工艺稳定、可行。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社,2010:150、XD.
- [2] 青木俊二. 苍术有效成分 β -桉叶醇及茅苍术醇对肠道平滑肌的作用[J]. 国外医学中医中药分册,1991,13(2):59.
- [3] 刘畅. 苍术药用研究进展[J]. 黑龙江科技信息,2013(12):101.
- [4] 张霄潇,李正勇,马玉玲,等. 中药枳实的研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(2):185.
- [5] 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.
- [6] 曾文雪,王晶,何琳珍,等. 苍术挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺研究[J]. 江西中医药,2010,41(11):64.
- [7] 宋宁宁,许扬彪. 正交试验优选复方鱼腥草颗粒中连翘挥发油 β -环糊精包合工艺[J]. 中国药房,2012,23(11):997.
- [8] 刘丽梅,王瑞海,陈琳,等. 苍术挥发油提取及包合工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志,2008,15(11):55.
- [9] 杨小催,柯雪红,陈锦,等. 石菖蒲挥发油包合工艺及包合物稳定性研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(2):202.
- [10] 南京,刘承,叶晓川,等. 均匀设计优选维药行气那尼花颗粒挥发油的 β -环糊精包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(13):53.
- [11] 贾永艳,祝侠丽,周红敏,等. 均匀试验设计优选产妇康颗粒挥发油的包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(18):34.
- [12] 张丹,周淑芳,唐学贵,等. 生白术、枳实挥发油的 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中成药,2008,30(11):1693.

(收稿日期:2015-10-22 修回日期:2015-12-08)

(编辑:刘萍)