

HP- β -CD对辛夷挥发油中桉油精溶解度的影响及辛芷滴鼻剂提取工艺研究[△]

库德热提·阿吉*, 赵媛, 杨继彪, 刘艺, 许忠(乌鲁木齐市中医医院药剂科, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R917;R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)34-4864-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.34.29

摘要 目的:研究2-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)对辛夷挥发油中桉油精溶解度的影响,并优化辛芷滴鼻剂提取工艺。方法:采用水蒸气蒸馏法提取辛夷药材中的挥发油;以辛夷挥发油中的桉油精含量为指标,采用高效液相色谱法测定不同质量浓度HP- β -CD对辛夷挥发油中桉油精溶解度的影响;以欧前胡素、浸膏得率的综合评分为指标,采用正交试验优化辛芷滴鼻剂提取工艺中乙醇用量和体积分数、提取时间,并进行验证。结果:50%的HP- β -CD水溶液可以提高桉油精溶解度至7.6倍。辛芷滴鼻剂最优提取工艺为10倍量80%乙醇,提取2次,每次1h;验证试验中欧前胡素平均含量为0.078%(RSD=2.01%, $n=3$),浸膏得率为10.80%(RSD=1.85%, $n=3$)。结论:HP- β -CD对辛夷挥发油中桉油精具有较好的增溶作用,辛芷滴鼻剂优化提取工艺可行。

关键词 辛夷;桉油精;欧前胡素;滴鼻剂;2-羟丙基- β -环糊精

Effect of HP- β -CD on Solubility of 1,8-Oxido-p-menthane in Volatile Oil of Magnoliae Flos and Study on the Extraction Technology of Xinzhi Nasal Drops

KUDERETI·Aji, ZHAO Yuan, YANG Jibiao, LIU Yi, XU Zhong (Dept. of Pharmacy, Urumqi TCM Hospital, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effect of HP- β -CD on solubility of 1,8-oxido-p-menthane in volatile oil of magnoliae flos, and optimize the extraction technology of Xinzhi nasal drops. METHODS: Steam distillation method was adopted to extract the volatile oil in magnoliae flos. Using the content of 1,8-oxido-p-menthane in volatile oil of magnoliae flos as index, HPLC was adopted to determine the effects of HP- β -CD with different concentration on solubility of 1,8-oxido-p-menthane in volatile oil of magnoliae flos. Using the comprehensive scores of imperatorin and extract yield as indexes, orthogonal test was used to optimize the amount of ethanol, volume fraction and extraction time in extraction technology of Xinzhi nasal drops. Verification test was carried out. RESULTS: 50% HP- β -CD aqueous solution can improve the solubility of 1,8-oxido-p-menthane to 7.6 times. The optimal extraction technology of Xinzhi nasal drops was as follow as 10-fold 80% ethanol, extracting twice, 1 h every time. In verification test, the average content of imperatorin was 0.078% (RSD=2.01%, $n=3$), and extract yield was 10.80% (RSD=1.85%, $n=3$). CONCLUSIONS: HP- β -CD shows good solubilization effect on the 1,8-oxido-p-menthane in volatile oil of magnoliae flos, and the optimized extration technology for Xinzhi nasal drops is feasible.

KEYWORDS Magnoliae flos; 1,8-Oxido-p-menthane; Imperatorin; Nasal drops; 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

辛芷滴鼻剂是我院名老专家结合临床经验自主研发的制剂品种,并作为院内制剂在临床上广泛使用^[1-2]。辛芷滴鼻剂由辛夷、白芷、防风等8味中药组成,挥发油及欧前胡素等均为有效成分。多年临床应用结果表明,该制剂安全、有效、毒副作用少,但存在工艺简单、有效成分提取率低、有效成分易挥发、稳定性较差、制剂有效期短等缺陷。本试验采用单因素及正交试验设计,以挥发油提取率、欧前胡素含量、浸膏得率及桉油精含量等多种有效成分为指标,优选提取工艺条件,改进制备工艺,为提高其临床疗效提供依据。

[△] 基金项目:乌鲁木齐市卫生局科学技术计划项目(No.201428)

* 副主任药师,硕士。研究方向:中药制剂。电话:0991-2506264。

E-mail:kudert@21cn.com

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);DE-100g型高速粉碎机(浙江红景天工贸有限公司);DATW型调温电热套(北京永光明医疗仪器有限公司);Sartorius BP 110S型分析天平(德国赛多利斯集团);HU-10260B型超声仪(天津汉高科技发展有限公司);HH-ZKS8型数显恒温水浴锅(上海科升仪器有限公司);Basic-Q15型去离子纯水机(上海和泰仪器有限公司)。

1.2 药材与试剂

辛夷、白芷等药材购自新疆奇康哈博维药股份有限公司,经新疆医科大学药学院帕丽达·阿不力孜教授鉴定符合2015年版《中国药典》(一部)相关规定。桉油精

对照品(批号:110788-201105,纯度:≥98%)、欧前胡素对照品(批号:110827-201611,纯度:≥98%)均购自国家食品药品检定研究院;2-羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD,淄博千汇生物科技有限公司,批号:20150403,规格:20 g/袋);甲醇、乙腈均为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺考察

采用水蒸气蒸馏法。称取粉碎好的辛夷样品 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加适量水,浸泡一定时间,连接挥发油提取器,加热提取至挥发油量不再增加,静置 1 h,收集并读取挥发油体积,计算挥发油提取率。挥发油提取率=挥发油体积(mL)×挥发油密度/药材质量(g)×100%。

2.1.1 粒度考察 按 2015 年版《中国药典》(一部)要求制备饮片、粗粉、中粉、细粉粒度的辛夷样品 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加 12 倍水,浸泡 12 h,连接挥发油提取器,加热提取 6 h 后静置 1 h,读取挥发油体积,计算挥发油提取率。结果,饮片、粗粉、中粉、细粉中挥发油提取率依次为 1.0%、2.1%、3.1%、3.1%。中粉和细粉的挥发油提取率相当,但细粉在提取过程中易糊底,故最终选择中粉为最适宜的粒度。

2.1.2 加水倍量考察 称取粉碎成中粉的辛夷样品 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,分别加入 8、10、12、14 倍量的水,浸泡 12 h,连接挥发油提取器,加热提取 6 h 后静置 1 h,读取挥发油体积,计算挥发油提取率。结果,加入 8、10、12、14 倍量的水后,挥发油提取率分别为 2.9%、3.1%、3.1%、3.1%。加水倍量达到 10 倍以上后,挥发油提取率不再变化,但是考虑到辛夷粉末较蓬松且吸水率较高,故确定最佳加水倍量为 12 倍。

2.1.3 提取时间考察 称取粉碎成中粉的辛夷样品 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加 12 倍量的水,浸泡 12 h,连接挥发油提取器,分别加热提取 1、2、3、4、5、6、7 h 后静置 1 h,读取挥发油体积,计算挥发油提取率。结果,加热提取 1、2、3、4、5、6、7 h 后,挥发油提取率分别为 2.0%、2.5%、2.6%、2.7%、2.9%、3.1%、3.1%。提取时间达到 6 h 以后挥发油提取率不再变化,故确定最佳加提取时间为 6 h。

2.1.4 浸泡时间考察 称取粉碎成中粉的辛夷样品 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加 12 倍量的水,分别浸泡 0、2、4、6、12、24 h,连接挥发油提取器,加热提取 6 h 后静置 1 h,读取挥发油体积,计算挥发油提取率。结果,浸泡 0、2、4、6、12、24 h 后,挥发油提取率分别为 2.8%、3.1%、3.1%、3.1%、3.1%、3.1%。浸泡 2 h 后,辛夷挥发油的提取率不再变化,故确定浸泡时间为 2 h。

2.1.5 验证试验 按优选的工艺条件制备 3 批样品进行验证试验,结果辛夷中挥发油的提取率分别为 3.1%、3.1%、3.1%,与上述试验结果吻合,证明最优提取工艺

合理、稳定可行。由此确定辛夷挥发油的最优提取工艺为:药材粉碎成中粉,加 12 倍量水浸泡 2 h,用水蒸气蒸馏法提取 6 h。

2.2 桉油精的含量测定

本制剂为滴鼻剂,最佳工艺制备出的挥发油需要最大限度溶解于其他药材的提取液中,为提高挥发油的溶解度,本试验选用 HP-β-CD 进行包合^[3-4]。桉油精为辛夷挥发油中的主要成分且含量最高^[5-6],通过测定包合物中桉油精的含量,最终确定环糊精的最佳浓度。

2.2.1 色谱条件与专属性考察 色谱柱:Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(68:32, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:35 ℃;检测波长:195 nm;进样量:5 μL^[7-9]。在此条件下,取“2.2.2”“2.2.3”项下溶液进样测定,结果各色谱峰分离度较好,并且添加剂在此波长处无紫外吸收干扰,色谱图见图 1。

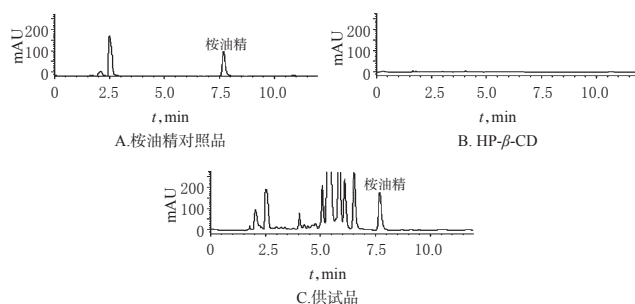


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.2.2 对照品贮备液制备 精密称取桉油精对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,乙腈溶解并稀释至刻度,即得质量浓度为 3.05 mg/mL 的对照品贮备液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密量取“2.1.5”项下辛夷挥发油 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度;精密量取 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备液 1、2、3、4、5 mL 至 5 mL 量瓶中,加乙腈稀释至刻度,得质量浓度为 0.61、1.22、1.83、2.44、3.05 mg/mL 的系列对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,测定峰面积。以桉油精质量浓度为横坐标(x)、色谱峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得回归方程 $y=592.13x-45.60$ ($r=0.9991$),表明桉油精在质量浓度为 0.61~3.05 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.5 方法学考察 按照相关操作进行方法学考察。结果,精密度试验 RSD 为 1.72% ($n=6$),重复性试验的 RSD 为 1.91% ($n=6$),平均加样回收率为 98.25% ($RSD=1.97, n=6$)。

2.3 HP-β-CD 对辛夷挥发油的增溶试验

分别称取 HP-β-CD 0、5、10、15、20、30、40、50 g,加入 100 mL 水中,制备不同质量浓度的 HP-β-CD 水溶

液。取上述溶液 2 mL,加入 2 mL 过量辛夷挥发油,密封,超声(功率:250 W,频率:25 kHz)1 h后,置于 45 °C 恒温水浴锅内振荡 24 h,取下层清液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,备用。按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算桉油精浓度和增溶倍数(增溶倍数=包合后溶液中桉油精的浓度/包合前溶液中桉油精的浓度),结果见表 1。

表 1 加入不同质量浓度 HP-β-CD 后桉油精的质量和增溶倍数测定结果

Tab 1 Determination results of solubility and solubilization multiples of 1, 8-oxido-p-menthane after adding different concentration of HP-β-CD

HP-β-CD, g/100 mL	桉油精质量浓度, mg/L	增溶倍数
0.00	7.58	1.00
5.00	13.61	1.80
10.00	15.10	2.00
15.00	19.15	2.50
20.00	37.20	4.90
30.00	39.02	5.20
40.00	53.21	7.00
50.00	57.71	7.60

由表 1 结果可知,HP-β-CD 对辛夷挥发油中桉油精具有一定的增溶作用,50%的 HP-β-CD 水溶液可以提高桉油精溶解度至 7.6 倍。用 HP-β-CD 包合后,有效解决了挥发油在水溶液中溶解度低及放置一定时间后油水分离等问题,进一步提高了辛芷滴鼻剂的稳定性。

2.4 欧前胡素的含量测定

参考文献[10-11]的方法。

2.4.1 色谱条件与专属性考察 色谱柱:Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(65:35, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:300 nm;柱温:35 °C;进样量:20 μL。在上述色谱条件下,依次吸取“2.4.2”~“2.4.4”项下溶液进样测定,结果在此条件下色谱峰分离度较好,并且阴性无干扰,色谱图见图 2。

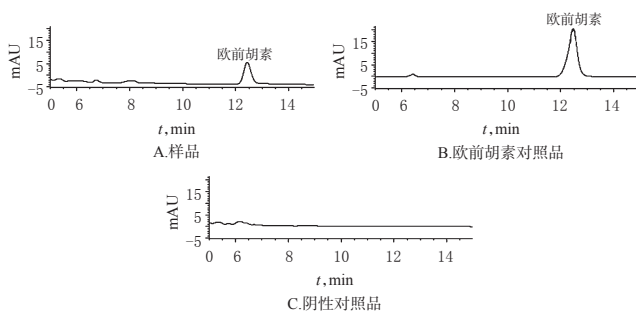


图 2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

2.4.2 对照品贮备液制备 精密称取欧前胡素对照品 4.30 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得质量浓度为 17.20 μg/mL 的欧前胡素对照品贮备液。

2.4.3 供试品溶液制备 按处方量称取白芷等 7 味中药

材,按“2.6”项下优选的工艺提取,提取液加甲醇稀释至刻度,滤过,即得样品溶液。

2.4.4 阴性对照品溶液制备 按处方量称取白芷以外的药材,按“2.6”项下优选的提取工艺提取,加甲醇稀释至刻度,滤过,即得阴性对照品溶液。

2.4.5 线性关系考察 精密吸取质量浓度为 17.20 μg/mL 欧前胡素对照品贮备液各 1、2、3、4、5 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得质量浓度依次为 1.72、3.44、5.14、6.88、8.60 μg/mL 的系列对照品溶液。按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,以欧前胡素质量浓度(x)为横坐标、色谱峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=48.14x-6.41$ ($r=0.9994$),结果表明欧前胡素在 1.72~8.60 μg/mL 质量浓度范围内线性关系良好。

2.4.6 方法学考察 按照相关操作进行方法学考察。结果,精密度试验 RSD 为 1.88% ($n=6$),重复性试验的 RSD 为 1.94% ($n=6$),平均加样回收率为 97.66% ($RSD=1.97, n=6$)。

2.5 浸膏得率测定

精密量取供试品溶液 50 mL,置于 105 °C 干燥至恒质量(m_1)的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 干燥至恒质量,置干燥皿中冷却 30 min,迅速称质量(m_2),计算浸膏得率。浸膏得率= $(m_2-m_1) \times V_1/V_2 \times m \times 100\%$,其中 V_1 为提取液总体积、 V_2 为量取的提取液体积、 m 为药材质量。

2.6 正交试验优化辛芷滴鼻剂醇提工艺

根据预试验结果,确定提取次数为 2 次,以欧前胡素含量和浸膏得率的综合评分为考察指标(综合评分= $W/W_{max} \times 20\% + c/c_{max} \times 80\%$,其中 W 为浸膏得率、 c 为欧前胡素含量),以乙醇体积分数、乙醇用量和提取时间为考察因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。因素与水平见表 2,正交试验设计与结果见表 3,方差分析结果见表 4。

表 2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A(乙醇浓度), %	B(加醇倍量)	C(提取时间), h
1	70	8	1.0
2	80	10	1.5
3	90	12	2.0

由表 3 可知,各因素对提取效果影响大小顺序为 $A>B>C$,各因素 3 个水平的影响大小顺序为 $A_2>A_1>A_3$ 、 $B_2>B_1>B_3$ 、 $C_2>C_3>C_1$,因此较优的提取工艺为 $A_2B_2C_2$;表 4 结果表明,A 和 B 因素对提取效果的影响有统计学意义($P<0.05$),而 C 因素影响无统计学意义($P>0.1$)。从工业化生产和节能降耗等全面综合考虑,最终确定最佳提取工艺为 $A_2B_2C_1$,即加入 10 倍量 80% 乙醇,提取 2 次,每次 1 h。

按处方量称取药材 500 g,按优选的工艺条件制备 3 批样品进行验证试验,结果欧前胡素平均含量为 0.078%

(RSD=2.01%, n=3),浸膏得率为10.80%(RSD=1.85%, n=3),表明上述提取工艺合理、稳定可行。

表3 正交试验设计与结果

Tab 3 Orthogonal test design and result

试验号	A	B	C	D	欧前胡素含量, %	浸膏得率, %	综合评分
1	1	1	1	1	0.075	13.05	89.83
2	1	2	2	2	0.080	13.82	96.19
3	1	3	3	3	0.075	13.10	90.72
4	2	1	2	3	0.080	14.49	96.87
5	2	2	3	1	0.083	14.41	100.00
6	2	3	1	2	0.076	13.43	91.42
7	3	1	3	2	0.077	10.03	87.86
8	3	2	1	3	0.079	10.28	90.25
9	3	3	2	1	0.077	10.22	88.36
K ₁	276.74	274.56	271.50	278.19			
K ₂	288.29	286.44	281.42	275.47			
K ₃	266.74	270.50	278.58	277.84			
R	21.82	15.94	9.92	2.72			

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance results

变异来源	平方和	方差	均方差	F
A	79.44	2.00	39.72	54.42
B	45.74	2.00	22.87	31.34
C	17.40	2.00	8.70	11.92
D	1.46	2.00	0.73	
总变异	144.05	8.00		

3 讨论

根据辛芷滴鼻剂的药理作用及药材中有效成分的化学性质,本试验采用分步提取。以挥发油提取率为指标,采用水蒸气蒸馏法提取辛夷药材中的挥发油;以桉油精为指标,用HP-β-CD对挥发油进行包合;以欧前胡素为指标采用乙醇对辛夷以外的白芷等其他7味中药材进行提取^[12-16];辛夷中的挥发油包合后溶解于其他药材提取液中,最终制备成滴鼻剂。

处方中辛夷为君药,桉油精为辛夷挥发油中的主要有效成分,且含量较高,故包合过程中以桉油精作为辛夷挥发油的指标性成分进行测定。HP-β-CD是β-环糊精结构修饰后的衍生物,修饰后其水溶性显著提高,是目前最常用的包合材料之一,包合后可提高难溶性药物的溶解度、促进药物的吸收、降低溶血活性,故本试验选用HP-β-CD作为挥发油的包合材料。试验结果表明,HP-β-CD可增加辛夷挥发油中桉油精的溶解度,50%HP-β-CD可增加桉油精的溶解度至7.6倍。

处方中白芷等其他7味中药材的有效成分皆溶于乙醇,故采用醇提法。在选择检测指标时,由于欧前胡素以外的有效成分含量过低,检测时易受到杂质峰的干扰,无法进行有效测定,因此最终选择欧前胡素为检测

指标。

综上所述,本研究在单因素的基础上进行正交试验,经验证试验表明,优选的最佳工艺稳定、可行,有效成分提取率较高,适合工业化大生产。

参考文献

- [1] 周培敏,张震环.辛芷滴鼻剂治疗鼻鼾300例临床观察[J].新疆中医药,2001,19(2):26-28.
- [2] 周培敏,张震环,何钢,等.辛芷滴鼻剂治疗变应性鼻炎93例临床观察[J].中国中医药科技,2011,8(4):244-245.
- [3] 李志雄,孙兆林,徐德生,等.羟丙基-β-环糊精在中药制剂中的应用概况[J].时珍国医国药,2013,24(5):1227-1228.
- [4] 富志军,季雪.鼻炎灵滴鼻剂的研制[J].海峡药学,2013,25(9):29-31.
- [5] 魏鹏程,赵铭钦,刘鹏飞,等.不同蒸馏方法提取辛夷挥发油的比较分析[J].现代食品科技,2013,29(2):358-361.
- [6] 邱琴,刘廷礼,崔兆杰,等. GC-MS法测定辛夷挥发油成分[J].中药材,2001,24(4):269-270.
- [7] 李慧,张翠欣,张少芳,等. HPLC-DAD法同时测定桉柠蒎肠溶软胶囊中桉油精、柠檬烯和α-蒎烯的含量[J].中国药房,2015,26(3):411-413.
- [8] 宋洪涛,郭涛,张跃新,等. 2-羟丙基-β-环糊精对大蒜油溶解度及稳定性的影响[J].中草药,2006,37(2):199-202.
- [9] 何兵,田吉,刘艳,等. HPLC测定11种中药挥发油中桉油精的含量[J].药物分析杂志,2012,32(5):769-771.
- [10] 王云龙,杨立志,姜雪敏,等. HPLC测定白芷药材中欧前胡素与异欧前胡素的含量[J].中国医药导报,2011,8(18):74-75.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:97-98.
- [12] 索建兰,袁佳妹.白芷的提取工艺[J].光谱实验室,2012,29(3):1620-1623.
- [13] 吴媛媛,蒋桂华,马逾英,等.白芷的药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2009,20(3):625-627.
- [14] 崔秋兵,张艺,兰莎,等.白芷镇痛作用物质基础研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):102-104.
- [15] 王永慧,叶方,张秀华,等.辛夷药理作用和临床应用研究进展[J].中国医药导报,2012,6(9):12-14.
- [16] 叶琳.正交试验法优选辛夷挥发油的提取工艺[J].内蒙古中医药,2010,29(20):61.

(收稿日期:2017-02-09 修回日期:2017-10-16)

(编辑:刘明伟)