

正交设计法优选川芎挥发油的 β 环糊精包合工艺

魏小亮, 胡久梅*, 毛霞
(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

[摘要] 目的: 优选 β 环糊精(β CD) 包合川芎挥发油的最佳工艺。方法: 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法, 以 β CD 与川芎挥发油的比例、包合温度、包合时间为考察因素, 以挥发油包合率、包合物收得率及包合物含油率为综合评价指标, 优选最佳的包合工艺, 并对包合物进行验证。结果: 川芎挥发油的 β CD 最佳包合工艺为挥发油- β CD(1 8), 搅拌 2 h, 45℃ 下包合。结论: 所建立的方法稳定可靠, 挥发油包合率较高, 适用于含川芎药材制剂的剂型改进。

[关键词] 川芎挥发油; β 环糊精; 正交设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011) 05-0046-04

Research on Optimum Preparation Technology for β -Cyclodextrin Inclusion Compound of Volatile Oil from Rhizoma Chuanxiong by Orthogonal Design

WEI Xiao-liang, HU Jiu-mei*, MAO Xia
(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation technology of β cyclodextrin(β CD) inclusion compound of volatile oil in Rhizoma Chuanxiong. **Method:** The study was carried out with $L_9(3^4)$ orthogonal design, using three indexes including the proportion of volatile oil to β cyclodextrin, inclusion temperature and stirring time as the investigation factors, to evaluate the volatile oil utilization efficiency, inclusion yield and inclusion oil content comprehensively, then choose the best preparation technology and validate the inclusion compound. **Result:** The optimum preparation condition for inclusion was established as: the ratio of volatile oil from Rhizoma Chuanxiong to β CD was (1 8); the temperature was at 45℃ and the stirring time was 2 h. **Conclusion:** The preparation procedure of including volatile oil was stable, reliable and was suitable for improving dosage form of Rhizoma Chuanxiong.

[Key words] volatile oil of Rhizoma Chuanxiong; β CD; orthogonal design

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。具有活血行气、祛风止痛的功效, 挥发油是其重要的活性成分^[1]。本研究以饱和水溶液法制备挥发油 β CD 包合物, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法, 以包合率、包合物收得率及包合物含油率作为综合指标对包合工艺进行优选, 并且用显微镜法、紫外-可见分光光度法和薄层色谱法对包合物进

行验证。

1 仪器与试药

UV-2450 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); IX71 光学显微镜(奥林巴斯); 78HW-1 恒温加热磁力搅拌器(杭州仪表电机有限公司); DHG-9240A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); YB 电子天平(上海力能电子仪器有限公司); 挥发油测定仪(上海玻璃仪器制造厂)。

川芎药材(产自四川省成都市都江堰石羊镇徐渡村 6 组川芎 GAP 基地, 经西南交通大学生命科学与工程学院胡久梅副研究员鉴定为川芎的干燥根茎, 符合 2005 年版《中国药典》一部相关项下规定); β CD(成都市科龙化工试剂厂); 试剂均为分

[收稿日期] 20101109(014)

[第一作者] 魏小亮, 硕士, 从事川芎及其制剂研究, Tel: 13688017310, E-mail: weixiaoliang_198@163.com

[通讯作者] * 胡久梅, 副研究员, 从事川芎道地药材研究, Tel: 028-87603201, E-mail: biojy@home.swjtu.edu.cn

析纯。

2 方法与结果

2.1 川芎挥发油的制备 取适量川芎药材, 粉碎, 过筛, 精密称取粉碎粒度为 20 ~50 目的川芎 100 g 装入 1 000 mL 圆底烧瓶中, 浸泡 4 h, 加 6 倍量水和玻璃珠数粒, 连接挥发油测定器, 按《中国药典》^[3] 挥发油测定法(甲法) 提取 5 h。待提取液冷却后, 收集挥发油, 用乙醚萃取 3 次, 合并乙醚液, 脱水, 低温挥尽乙醚, 得橙黄色挥发油, 用减重法称定挥发油, 装于棕色试剂瓶中, 4 ℃ 条件下保存备用。

2.2 正交设计优选包合工艺

2.2.1 正交设计 根据预试验和文献报道^[4-5], 影响 βCD 包合挥发油工艺的主要因素为挥发油与 βCD 的投料比(*A*)、包合温度(*B*) 及包合时间(*C*) 等。本试验以挥发油包合率、包合物收得率及包合物含油率的综合评分作为评价指标, 每个因素各取 3 个水平, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 因素水平见表 1。

表 1 挥发油 β-CD 包合工艺正交试验因素与水平

水平	<i>A</i>	<i>B</i> /	<i>C</i> /h
1	1 6	35	1. 5
2	1 8	45	2. 0
3	1 10	55	2. 5

2.2.2 包合物的制备 采用饱和水溶液法包合。精密称取 βCD 适量, 加到一定温度的水中制成饱和溶液, 按规定比例将挥发油(用等量无水乙醇稀释) 缓缓滴入 βCD 饱和溶液中。在不同的温度下搅拌包合不同的时间, 取出, 冷却, 置冰箱中冷藏 24 h 后抽滤, 用少量蒸馏水和乙醚洗涤沉淀, 至无挥发油气味, 40 ℃ 恒温干燥 1 h, 即得。

2.2.3 挥发油包合率、包合物收得率、包合物含油率和空白回收率的测定 精密称取干燥包合物 5 g, 将其置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加蒸馏水 200 mL 和玻璃珠数粒, 连接挥发油测定器, 沸腾 1 ~2 h, 至油量不再增加时停止加热, 收集挥发油, 按下列公式计算:

挥发油包合率 = 包合物中挥发油量 / 挥发油投入量 × 空白回收率 × 100%

包合物收得率 = 包合物质量 / (βCD 加入质量 + 挥发油加入质量) × 100%

包合物含油率 = 包合物中挥发油质量 / 包合物质量 × 空白回收率 × 100%

2.2.4 空白回收率的测定 于 500 mL 圆底烧瓶中

加入 200 mL 蒸馏水、玻璃珠数粒和 0.5 mL 挥发油, 按照 2.2.3 方法, 按下式计算装置的空白回收率, 经 3 次测定, 计算装置的挥发油平均空白回收率为 75. 0%。

空白回收率 = 实际测得挥发油量 / 挥发油投入量 × 100%

2.2.5 综合评价结果 根据文献报道^[6], 包合率是衡量包合效果的重要指标, 包合率越高, 挥发油的包合效果越好, 对稳定性的提高起关键作用, 故权重系数定为 0. 6; 收得率在实际生产中具有重要意义, 在投入量一定的情况下, 收得率越高, 包合率越高, 权重系数定为 0. 2; 而含油率是控制制剂质量的重要因素, 权重系数也定为 0. 2。包合率_{max}、收得率_{max} 和含油率_{max} 分别是试验中各指标的最大值, 综合评分按下列公式计算:

综合评分 = (包合率 / 包合率_{max}) × 0. 6 + (收得率 / 收得率_{max}) × 0. 2 + (含油率 / 含油率_{max}) × 0. 2

2.3 正交试验结果及数据分析 按正交试验方案, 进行 9 组试验, 每组平行 3 次, 计算相关指标的平均值。正交试验结果及直观分析见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 2 挥发油 β-CD 包合工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果及直观分析

No	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	包合率 / %	收得率 / %	含油率 / %	综合评分 / %
1	1	1	1	1	35.56	49.28	9.41	52.54
2	1	2	2	2	59.26	53.33	14.50	77.83
3	1	3	3	3	56.30	53.62	13.70	74.67
4	2	1	2	3	68.15	57.75	11.93	81.97
5	2	2	3	1	82.96	66.29	12.66	96.08
6	2	3	1	2	71.11	62.25	11.55	84.85
7	3	1	3	2	56.30	66.01	7.04	68.98
8	3	2	1	3	68.15	68.99	8.16	79.92
9	3	3	2	1	74.07	71.20	8.59	85.42
K_1	205.04	203.49	217.31	234.04				
K_2	262.90	253.83	245.22	231.66				
K_3	234.32	244.94	239.73	236.56				
<i>R</i>	19.29	16.78	9.30	1.63				

根据正交试验的结果及直观分析可知, 影响包合效果的顺序为 $A > B > C$, 进一步方差分析可知, 因素 *A* 和 *B* 对包合工艺有极显著影响, 因素 *C* 对包合工艺有显著影响。因此, 根据试验结果确定最佳包合工艺为 $A_2B_2C_2$, 即川芎挥发油与 βCD 比值为 1 8, 在 45 ℃ 下包合 2 h。

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	557. 99	2	279. 00	139. 40	<0. 01
B	481. 25	2	240. 63	120. 23	<0. 01
C	145. 75	2	72. 88	36. 41	<0. 05
D(误差)	4. 00	2	2. 00		

注： $F_{0.05}(2,2)=19.00$ ， $F_{0.01}(2,2)=99.00$ 。

2.4 工艺验证试验 按正交试验筛选出的最佳工艺条件 $A_2B_2C_2$ 进行验证, 验证结果见表 4。

表 4 验证试验结果

No.	包合率 / %	收得率 / %	含油率 / %	综合指标 / %
1	85. 93	61. 80	14. 06	98. 90
2	82. 96	63. 37	13. 24	96. 06
3	80. 00	59. 77	13. 53	93. 32

结果表明, 正交试验所确定的 β -CD 包合川芎挥发油工艺稳定。

3 β -CD 包合物的验证

3.1 显微镜法 取用水溶解的 β -CD、挥发油包合物各少许于载玻片上, 置光学显微镜下观察。结果: β -CD 为规则的板块状结晶, 而挥发油包合物为不规则的细小粉末状, 没有明显的结晶状, 表明挥发油与 β -CD 确已形成包合物, 见图 1, 2。

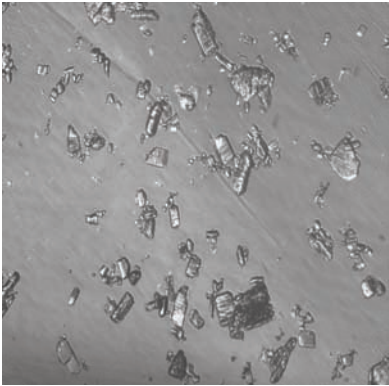


图 1 空白 β -CD 显微镜照 (10 × 10)

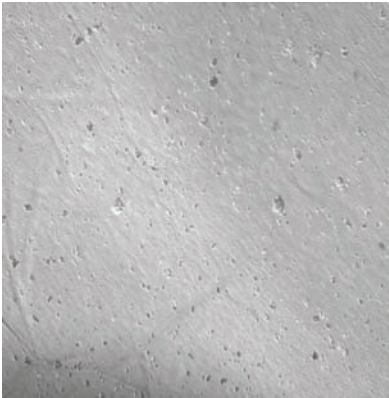


图 2 包合物显微镜照 (10 × 10)

3.2 紫外-可见分光光度法 分别把挥发油、从包合物中提取的挥发油用乙醇稀释。进行紫外全波长扫描, 结果表明包合前后挥发油紫外图谱基本一致, 说明 β -CD 和川芎挥发油形成的包合物并未改变挥

发油主要成分的理化性质。

3.3 薄层色谱法 取川芎挥发油 0. 2 mL, 用乙醚稀释成 4% 的溶液, 作为供试液 1; 取 β -CD 包合物, 加水蒸馏提取挥发油, 取 0. 2 mL, 以乙醚稀释成 4% 的溶液, 作为供试液 2; 取 β -CD 包合物适量, 用适量乙醇溶解过滤, 取滤液作为供试液 3。将这 3 个样品分别点于硅胶 GF_{254} 薄层板上, 以石油醚-乙酸乙酯 (9 : 1) 为展开剂, 点样后上行展开, 晾干, 在 254 nm 紫外光下观察。结果: 包合物中回收的挥发油与未经包合的川芎挥发油具有相同的色谱图, 成分无变化。而包合物图谱无明显斑点, 显示挥发油已被 β -CD 包合。

4 讨论

正交试验结果表明, 挥发油与 β -CD 投料比和包合温度对工艺有极显著影响, 包合时间对工艺有显著影响。最佳工艺即为挥发油与 β -CD 投料比为 1 : 8, 搅拌时间为 2 h, 包合温度为 45℃, 工艺验证结果表明本工艺重复性较好。 β -CD 包合物经过验证表明包合物已经形成。

冯希勇^[7]等用饱和水溶液法得到的川芎挥发油与 β -CD 投料比、包合时间与本研究相同, 包合温度低于本研究; 黄媛莉^[8]用超声法得到的挥发油与 β -CD 的投料比与本研究相同, 超声时间比本研究的包合时间短; 张爱军^[9]等用胶体磨法得到的挥发油与 β -CD 的投料比与本研究相同, 研磨温度比本研究包合温度高, 研磨时间比本研究的包合时间短。

川芎挥发油是川芎的一种重要有效成分, 但其易挥发, 易氧化, 不易贮存, 在长期的放置过程中极易失效。通过 β -CD 包合技术, 川芎挥发油那种强烈的挥发油气味基本被掩盖, 液态的川芎挥发油成为稳定的固态化, 便于制成多种剂型, 大幅降低了挥发油在贮存过程中的散失, 从而可提高制剂的稳定性。

对川芎挥发油进行空白回收试验, 结果挥发油回收率为 75. 0%, 可能是由于部分挥发油被水乳化、挥发油受热有一定的逸失及蒸馏时粘附在器壁上所致。

[参考文献]

[1] 谢秀琼, 詹珂, 尹蓉莉, 等. 川芎挥发油的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6) : 1508.
[2] 谢玲, 左亚杰. β -环糊精包结挥发油工艺在中药制剂中的应用概况[J]. 湖南中医杂志, 2006, 22(1) : 83.
[3] 中国药典. 一部[S]. 2005: 附录 57.

槐米滴丸制备工艺及其含量测定

谭桂莲, 武佳
(首都医科大学燕京医学院药学系, 北京 101300)

[摘要] 目的: 研究影响槐米滴丸制备的各种因素, 确立最佳制备工艺。方法: 以外观质量、溶散时限和丸重差异为评价指标, 采用正交设计试验对各影响因素进行考查, 以聚乙二醇 6 000-聚乙二醇 4 000(9 1) 为基质, 药物与基质的质量比1 3, 药液温度 82 , 二甲基硅油冷凝剂, 冷凝剂温度 7 , 滴速 50 d·min⁻¹, 滴头内径 4.5 mm。结果: 所制得的滴丸, 用紫外分光光度法 AlCl₃ 显色, 在 410 nm 测定吸光度, 求其芦丁含量, 线性范围 10 ~60 mg·L⁻¹(*r* = 0.999 7)。结论: 滴丸的芦丁含量均匀, 外观质量好, 溶散时限短、丸重差异小, 重现性好; 分光光度法简便快捷, 准确度高, 可作为槐米滴丸的质量控制方法。

[关键词] 槐米; 滴丸; 制备工艺; 正交试验; 分光光度法; 质量控制

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011) 05-0049-03

Research on Preparation and Measurement of Dropping Pills
from Flos Sophorae Immaturus

TAN Gui-lian, WU Jia
(Department of Pharmacy, Yanjing Medical College, Capital Medical University, Beijing 101300, China)

[Abstract] **Objective:** To study the factors which affect the preparation of dropping pills of Flos Sophorae Immaturus and acquire the optimum preparation process. **Method:** The main evaluation criteria include the apparent quality, melting time and difference between pill weights by using orthogonal design. The substrate was a mixture of polyethylene glycol 6 000 and polyethylene glycol 4 000(with a ratio of 9 1); the mass ratio of rutin to substrate was 1 3 at the temperature of 82 ; condensate was dimethicone at 7 . The dropping speed is 50 drops per minute and the inside diameter of the dropping tip was 4.5 mm. **Result:** The content of rutin in pill was determined with absorben- cy at 410 nm by using the ultraviolet spectrophotometry-AlCl₃ method; and the linear range was from 10 to 60 mg·L⁻¹ (*r* = 0.999 7). **Conclusion:** Under the above preparation process, the type of dropping pills had stable rutin, a fine ap- pearance, a short melting time and subtle difference between pill weights; in the mean time the above preparation process is accurate, convenient and can be used as quality control method for Flos Sohporae Immaturus.

[Key words] Flos Sohporae Immaturus; dropping pill; preparation process; orthogonal design; spectropho- tometry; quality control

[收稿日期] 20101018(008)
[第一作者] 谭桂莲, 从事天然药物研究, Tel: 010-69426761

[4] 张炯炯, 李功华, 徐建泓, 等. 樟树叶挥发油 β环糊精包合工艺的研究[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(2): 146.

[5] 严建业, 王元清, 喻林华, 等. 八角茴香挥发油的提取与 β环糊精包合研究[J]. 中成药, 2010, 32(2): 316.

[6] 崔征, 郑啸, 高珍, 等. β环糊精包合川芎挥发油的制备工艺研究[J]. 中药材, 2008, 31(12): 1904.

[7] 冯希勇, 朱小虎, 邢海燕. 川芎挥发油的 β环糊精包合工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(6): 65.

[8] 黄媛莉. 川芎配方颗粒药学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2007.

[9] 张爱军, 朱宁, 杨安东. 川芎超临界流体 CO₂ 萃取挥发油- β环糊精包合物制备工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 39.

[责任编辑 仝燕]