

椒目油的 β -环糊精包合工艺研究

王宏阳¹, 蒋剑平^{1,2*}, 盛云杰¹, 陈 华², 熊耀康¹

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

2. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310007

摘要: 目的 考察用 β -环糊精包合椒目 CO_2 超临界萃取油的工艺条件。方法 以包合物收率和油利用率的综合评分作为评价指标, 选择椒目油与 β -环糊精的用量比、包合温度及搅拌时间为主要影响因素, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 优化包合椒目油的工艺条件。结果 最佳包合工艺条件为椒目油与 β -环糊精的用量比1:8, 包合温度50℃, 搅拌时间3h。结论 椒目油的 β -环糊精包合工艺合理、可行, 有效地提高了椒目油的稳定性。

关键词: 椒目油; CO_2 超临界流体萃取; β -环糊精; 包合工艺; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)03-0491-04

Inclusion technology of zanthoxylum seed oil by β -cyclodextrin

WANG Hong-yang¹, JIANG Jian-ping^{1,2}, SHENG Yun-jie¹, CHEN Hua², XIONG Yao-kang¹

1. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China

2. Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310007, China

Key words: zanthoxylum seed oil; supercritical CO_2 fluid extraction technology; β -cyclodextrin; inclusion technology; orthogonal test

椒目为芸香科花椒属植物花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟种子^[1], 是花椒的副产物, 我国大部分地区均有分布。现代药理研究表明, 椒目油及其制剂具有支气管扩张、抗过敏、抗炎、镇咳、祛痰和抗应激作用^[2-3]。本课题组以 α -亚麻酸提取量和椒目油总萃取得率为指标, 采用正交设计法优选了椒目超临界 CO_2 流体萃取条件, 萃取得到椒目油^[4], 并制备成椒目油复方制剂“椒枝软胶囊”, 该制剂具有较好的平喘、镇咳、抗炎等作用^[5]。为了提高椒目油的溶解度、稳定性, 使液体药物粉末化以便于制成质量稳定可控的固体制剂, 本实验采用饱和水溶液法将椒目 CO_2 超临界萃取油制成 β -CD包合物, 并运用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选了最佳包合工艺, 为椒目 CO_2 超临界萃取油制成各类固体制剂提供实验依据。

1 仪器与试剂

HA221—40—11型超临界萃取装置(南通市华安超临界萃取有限公司); 挥发油测定器(宁波宁海

玻璃仪器厂); DF—101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂); DHG—9023A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); 岛津 UV—2550型紫外分光光度计(日本); 岛津 IRPrestige—21型傅立叶变换红外光谱仪(日本); 岛津 XRD—6000型X射线衍射仪(日本)。

β -CD(上海伯奥生物科技有限公司, 批号080123); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 椒目油的超临界 CO_2 萃取^[4]

取40目椒目药粉3.5 kg, 投入超临界萃取釜中, 设定萃取条件: 萃取温度45℃, 萃取压力30 MPa, 分离釜I压力8 MPa, 分离釜II压力5.5 MPa, 分离釜I温度35℃, 分离釜II温度30℃, CO_2 流量45 kg/h进行萃取, 得淡黄色的椒目油, 萃取率为12.0%, 椒目油 α -亚麻酸质量分数为20%。

2.2 椒目油 β -CD包合工艺

2.2.1 预试验 (1) 研磨法: 称取 β -CD 6.0 g, 加

收稿日期: 2010-06-11

基金项目: 浙江省科技计划重大项目(2008C13005)

作者简介: 王宏阳(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂质量标准研究。

*通讯作者 蒋剑平 Tel: (0571)86611022 E-mail: jiangjp_zjtcn@yahoo.com.cn

4 倍量蒸馏水研匀后, 缓缓加入 1 mL 椒目油, 研磨 2 h 致均匀糊状, 抽滤, 包合物用乙醚洗涤 3 次, 40 °C 烘干, 称定。(2) 饱和水溶液法: 称取 β -CD 6.0 g, 加 50 mL 蒸馏水, 70 °C 加热搅拌溶解, 冷却至 40 °C, 置 40 °C 恒温磁力搅拌器上, 缓缓滴加 1 mL 椒目油, 恒温搅拌 2 h, 冷却至室温, 冷藏 24 h, 抽滤, 包合物用乙醚洗涤 3 次, 40 °C 烘干, 称定。

按上述方法分别制备 3 组包合物, 称定质量, 计算其收率; 再用水蒸气蒸馏法提取包合物中的挥发油, 计算挥发油利用率。研磨法包合物平均收率为 90.18%, 挥发油平均利用率为 57.30%; 饱和水溶液法包合物平均收率为 90.54%, 平均油利用率为 71.94%。饱和水溶液法的挥发油利用率明显高于研磨法, 因此, 本研究采用饱和水溶液法制备椒目油的 β -CD 包合物。

2.2.2 试验设计 通过预试验及查阅文献资料^[6]可知, 影响 β -CD 饱和水溶液法包合工艺的主要因素有: β -CD 与椒目油用量比 (A)、包合温度 (B)、搅拌时间 (C); 因素水平见表 1。按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验, 以包合物收率和油利用率为指标, 采用综合评分 (综合评分 = 包合物收率 $\times$ 0.3 + 油利用率 $\times$ 0.7) 法筛选最佳包合工艺条件, 结果见表 2。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A	B / °C	C / h
1	6 : 1	30	1.0
2	8 : 1	40	2.0
3	10 : 1	50	3.0

表 2 椒目油 β -CD 包合正交试验结果Table 2 Orthogonal test results of β -CD inclusion for zanthoxylum seed oil

试验号	A	B	C	D	包合物收率/%	油利用率/%	综合评分
1	1	1	1	1	84.09	75.76	78.26
2	1	2	2	2	71.85	83.34	79.89
3	1	3	3	3	76.40	40.91	51.56
4	2	1	2	3	68.51	83.34	78.89
5	2	2	3	1	82.05	50.00	59.62
6	2	3	1	2	64.23	33.33	42.60
7	3	1	3	2	84.43	60.61	67.76
8	3	2	1	3	79.28	60.61	66.21
9	3	3	2	1	75.48	50.00	57.64
$\bar{K}_1$	69.903	74.970	62.357	65.173			
$\bar{K}_2$	60.370	68.573	72.140	63.417			
$\bar{K}_3$	63.870	50.600	59.647	65.553			
R	9.533	24.370	12.493	2.136			

2.2.3 试验方法 取椒目油 1 mL, 加 3 mL 乙醇溶解。按正交试验中椒目油与 β -CD 用量比称取 β -CD, 置于具塞锥形瓶中, 加 50 mL 蒸馏水溶解, 恒温搅拌, 用注射器缓缓滴加入椒目油乙醇溶液, 搅拌至规定时间, 取出, 冷藏静置 24 h, 抽滤, 干燥, 即得。

2.2.4 包合物收率、挥发油利用率的测定 准确称取干燥包合物适量, 置圆底烧瓶中, 加 20 倍量水, 水蒸汽蒸馏提取挥发油约 6 h, 至刻度管中挥发油不再增加, 停止加热, 冷却, 读数, 折算成包合物中实际含油量。

包合物收率 = 包合物质量 / (β -CD 质量 + 油质量)

油利用率 = 包合物中挥发油量 / 投油量

2.2.5 正交试验结果分析 从正交试验结果直观分析可知, 影响综合评分的 3 个因素的程度顺序依次为 $B > C > A$; 由方差分析 (表 3) 结果可知, B 和 C 对试验结果有显著影响, 其中 B 的影响更显著; A 对试验结果无显著影响。结合实际生产, 确定最佳包合工艺为 $A_1B_1C_2$, 即加椒目油 6 倍量的 β -CD, 包合温度 30 °C, 搅拌时间 2.0 h。

2.2.6 验证性试验 按正交试验优选工艺 $A_1B_1C_2$ 进行包合, 包合物于 50 °C 恒温干燥 4 h。取适量包

表 3 方差分析结果
Table 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	显著性
A	139.536	2	17.898	
B	957.855	2	122.865	$P < 0.01$
C	259.141	2	33.240	$P < 0.05$
D (误差)	7.800	2		

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

合物, 按“2.2.4”项下操作, 计算包合物收率和油利用率, 重复 3 次, 包合物平均收率为 91.70%, RSD 为 0.87%; 平均油利用率为 75.69%, RSD 为 1.3%。

2.3 椒目油包合物验证与鉴别

2.3.1 紫外分光光度法 (UV) 样品 1: 取包合前椒目油, 加无水乙醇溶解, 滤过除去不溶物, 滤液定容至 25 mL。样品 2: 取包合物适量, 用水蒸气蒸馏法提取挥发油, 将提取所得挥发油, 用无水硫酸钠干燥后, 无水乙醇溶解、定容至 25 mL。样品 3: 取包合物适量, 用无水乙醇溶解, 滤过, 滤液定容至 25 mL。样品 4: 取 β -CD 适量, 用无水乙醇溶解, 滤过, 滤液定容至 25 mL。在 200~400 nm 波长测定各样品的吸收图谱, 结果见图 1。包合前椒目油与包合物的紫外吸收光谱明显不同, 而与从包合物中提取的挥发油的紫外吸收图谱相似, 说明椒目油已经包合进入 β -CD 分子内部, 形成了稳定的包合物, 椒目油中主要成分在包合过程中没有受到影响。包合物与 β -CD 的紫外吸收图谱峰形基本相同, 说明椒目油与 β -CD 并非简单的混合, 而是被包合进入 β -CD 分子内部, 椒目油紫外吸收被掩盖。从上述分析可知, 椒目油包合物已形成, 且包合前后椒目油的成分没有发生变化。

2.3.2 红外光谱法 (IR) 制备 3 份样品: 椒目油和 β -CD 混合物采用 KBr 压片后作为样品 1; 椒目油 β -CD 包合物粉末采用 KBr 压片作为样品 2; 空白 β -CD 采用 KBr 压片后作为样品 3。将 3 份样品在 4 000~400 cm^{-1} 波数测定其红外吸收光谱, 比较包合前后红外区吸收峰的变化^[7], 测定结果见图 2。

椒目油在 1 706、1 649 cm^{-1} 处的特征吸收峰在物理混合物中仍然存在, 而在包合物中该位置的吸收峰明显减弱, 说明所得包合物并非是椒目油与 β -CD 的物理混合, 而是形成了新的物象, 包合物已经形成。包合物与空白 β -CD 红外吸收特征相似, 如在 578、1 028、1 079、1 156 cm^{-1} 处两者都有吸收峰, 且峰形相同, 这是由于椒目油包合于 β -CD

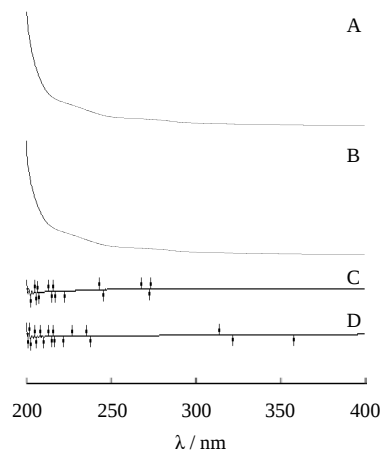


图 1 包合前椒目油(A)、包合物中椒目油(B)、包合物(C)、环糊精(D)的紫外吸收图谱

Fig. 1 UV spectra of zanthoxylum seed oil before inclusion (A), zanthoxylum seed oil extracted from inclusion complex (B), inclusion complex (C), and β -CD (D)

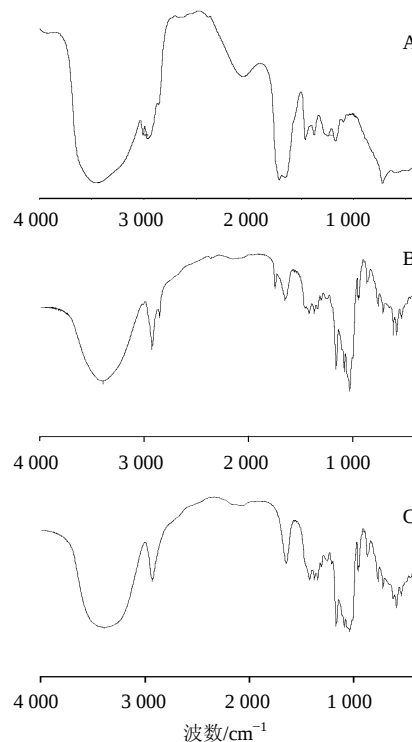


图 2 椒目油和 β -CD 混合物 (A)、椒目油 β -CD 包合物 (B)、空白 β -CD (C) 的红外吸收图谱

Fig. 2 IR spectra of zanthoxylum seed oil and β -CD mixture (A), zanthoxylum seed oil β -CD inclusion complex (B), and blank β -CD (C)

分子空腔内部, 椒目油包合物的红外吸收与 β -CD 的红外吸收呈现一定的相似性, 但二者的红外吸收并不完全相同, 并不是同一物象。

2.3.3 X-射线衍射 (XRD) 法 分别取少量空白

β -CD、椒目油 β -CD 包合物、按包合物比例制备的 β -CD 和椒目油混合物。以扫描角度作为横坐标,衍射强度作为纵坐标,各样品 XRD 测定结果见图 3。由 XRD 图可知,空白 β -CD 的衍射峰较混合物的衍射峰,在衍射强度上有一些不同,这主要是受物理混合物中椒目油的影响,但峰形基本相同。包合物的衍射峰则与前两者峰形有明显不同,首先是出现了一些新的峰,如在 $2\theta=10^\circ$ 、 12.5° 、 18° 、 24° 左右的峰发生了裂分或出现了新的峰,其次空白 β -CD 和物理混合物在 26° 、 35° 有吸收峰,在包合物中则消失或减弱^[7-8]。由此说明椒目油包合进入 β -CD 分子空穴内,形成了一个新物象,包合物已形成。

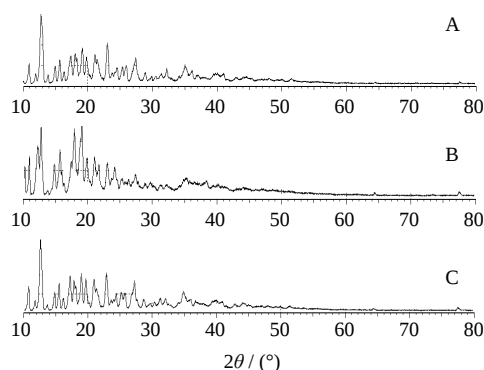


图3 β -CD 和椒目油混合物(A)、椒目油 β -CD 包合物(B)、空白 β -CD (C) 的 XRD 图

Fig. 3 XRD patterns of zanthoxylum seed oil and β -CD mixture (A), zanthoxylum seed oil β -CD inclusion complex (B), and blank β -CD (C)

3 讨论

超临界萃取技术因具有提取温度低,产品不存在热分解问题,特别适合热敏性成分的提取与分离;提取效率高,选择性强;产品无溶剂残留,无环境污染等诸多优势,因而被高度关注并广泛应用于中药有效物质的提取、分离,并形成了产业化发展。目前主要用于提取中药亲脂性成分,包括脂肪油、挥发油类等,与传统的水蒸气蒸馏法等挥发油提取技术相比,在产品质量、提取得率、生产周期等方面均具备极大优势,展现了广阔的应用前景。

赵红等^[9]采用 GC-MS 分析了椒目超临界提取物中挥发性成分的组成,结果表明其挥发性成分主要由烷烯类组成,相对量较高者为 β -蒎烯、 α -蒎烯、4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇和十三酸,上述成分占挥发油总量的 77.78%。烷烯类成分易发生氧化、

分解而失活,且液体制剂稳定性较差。 β -CD 包合技术因具有提高药物稳定性,使液态药物粉末化,便于制成质量稳定的固体制剂、靶向制剂等优势而被广泛应用于包合中药挥发油。目前大部分研究是采用水蒸气蒸馏法提取中药挥发油并制备 β -CD 包合物,而对中药超临界提取物的 β -CD 包合技术研究鲜见报道,因此亟需解决 β -CD 包合中药超临界提取物的技术问题,促进并推动中药现代化。

本研究首先通过预试验,以包合物收率及油利用率为指标,比较了研磨法、饱和水溶液法两种包合物制备方法,选择了采用饱和水溶液法制备椒目超临界 CO_2 提取油包合物。采用正交试验设计优化了包合工艺,确立了合理、稳定、可行的 β -CD 包合物制备工艺,达到了较高包合物收率(91.70%)。采用 UV、IR、XRD 法对包合物进行了验证和鉴别,结果显示包合物形成了一个新的物象。该研究结果可以为其他中药超临界 CO_2 提取挥发油的 β -CD 包合提供参考,为椒目超临界提取油的进一步开发提供基础。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [2] 金赛红, 谢强敏, 沈文会, 等. 喘宁软胶囊对嗜酸性粒细胞和肥大细胞的抑制作用 [J]. 中草药, 2002, 33(3): 242-244.
- [3] 金赛红, 谢强敏, 陈季强, 等. 喘宁软胶囊对多形核粒细胞生成和释放白三烯的抑制作用 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 244-247.
- [4] 许家鸾, 蒋剑平, 陈琳, 等. 正交设计法优选椒目超临界 CO_2 流体萃取工艺 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(2): 348-349.
- [5] 宋康, 柴秀娟, 骆仙芳, 等. 椒枝软胶囊的药效实验研究 [J]. 浙江中医学院学报, 2003, 27(4): 62-65.
- [6] 曹毅, 张春椿, 熊耀康. 皮炎净颗粒剂中挥发油的提取及包合工艺研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(2): 130-133.
- [7] 李香, 林秀丽. 环糊精包合物表征手段的研究进展 [J]. 食品与药品, 2007, 9(7A): 35-39.
- [8] 宋洪涛, 郭涛, 赵明宏, 等. 苏合香 β -环糊精包合物的理化性质考察 [J]. 中草药, 2002, 33(6): 500-502.
- [9] 赵红, 宋爱华, 赵余庆. 椒目超临界提取物中挥发性成分的气相色谱-质谱分析 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1382-1383.