

不同色谱系统进行 TLC 鉴定,用标准品苦参碱和氧化苦参碱对照,其中有一组分为单一的生物碱类成分,但不是该两成分,其结构有待进一步鉴定。另一组分对生物碱显色剂呈阴性反应,其组成亦有待于进一步鉴定。其他几个峰均为非单一组分,可考虑调整溶剂系统再作进一步分离。

2.2 本文采用的溶剂系统中,水相 pH 值对分离结果有很大影响,可考虑采用 pH 梯度洗脱方法,以求获得更理想的分离效果。

2.3 本实验条件下,某些组分在固定相中溶解度较大,在其达到饱和浓度前不会随流动相流出。因此,

制备时采用了连续进样方式,对分离结果无不良影响。同时流动相经蒸馏后可反复使用,从而大大节省了溶剂,缩短了制备时间。

参 考 文 献

- 1 张天佑.逆流色谱技术.北京:科学技术出版社,1991: 1
- 2 张守芳.中草药通讯,1997,(1): 38
- 3 于喜水,关荣娟,赵晓丽,等.中成药,1990,12(3): 3
- 4 张天佑.逆流色谱技术.北京:科学技术出版社,1991: 295
- 5 蔡定国,顾明娟,张吉德,等.中成药,1990,12(6): 32
- 6 崔建芳,章观德,王慕邹,等.药科学报,1985,(1): 59
- 7 张中苏,张树英,王润生,等.中国中药杂志,1995,20(3): 171

(1999-12-22收稿)

肉桂油 β 环糊精包合物的制备工艺研究[△]

沈阳军区总医院药剂科 (110015)

沈阳药科大学

解放军八七疗养院

宋洪涛* 郭 涛

颜秀涛 张汝华

张 群

摘 要 应用三因素六水平的均匀设计方法,研究了 β 环糊精对肉桂油的包合作用。通过对包合物收得率和包合率这二个指标的比较,筛选优化出肉桂油 β 环糊精包合物的最佳制备条件。在此条件下,分别采用 5 种不同的包合方法制备肉桂油 β 环糊精包合物,结果以搅拌法为最好,所得包合物的包合率为 82.16%,包合物收得率为 77.82%。

关键词 肉桂油 β 环糊精 包合物 均匀设计

Studies on the Preparaton of Cinnamon Oil- β -Cyclodextrin Inclusion Complex

Department of Pharmacy, the General Hospital of Shenyang Military Region (Shenyang 110015) Song Hongtao and Guo Tao

Shenyang Pharmaceutical University Yan Xiutao and Zhang Ruhua

No. 87 Sanatorium of PLA Zhang Qun

Abstract Conditions for the preparation of the cinnamon oil- β -cyclodextrin inclusion complex were studied by 3 factors and 6 levels uniform design. The inclusion rate of cinnamon oil and recovery of inclusion complex were used as criteria in the study. An optimal condition was established, and inclusion complexes were prepared under such condition with 5 different methods. The results showed that the agitation method gave the best result. The inclusion rate of cinnamon oil was 82.16% and the recovery of inclusion complex was 77.82%.

Key words cinnamon oil β -cyclodextrin inclusion complex uniform design

肉桂油 (cinnamon oil) 为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干皮及树皮经水蒸气蒸馏得到的挥发油,是一种常用中药,但其易挥发,遇光和热不稳定^[1,2]。为了更好地发挥其治疗作用,提高其稳定性,并使其粉末化以便于制备各种剂型,

已有文献报道将肉桂油与 β 环糊精 (β -CD) 制成包合物,但包合率较低^[3]。为提高其包合率,笔者对影响包合率的诸多因素进行考察,经筛选优化得到了较佳的包合工艺。

1 仪器与试药

* Address: Song Hongtao, Shenyang Military Region General Hospital, Shenyang

宋洪涛 男,32岁,博士,主管药师。已发表论文 30余篇,参编著作 2部,获军队科技进步三等奖 2项,辽宁省科技进步三等奖 1项。现主要致力于“复方中药速释与缓释制剂的研究”。

[△]辽宁省科学技术基金资助项目, No. 9910500508

美国 Waters 501型高效液相色谱仪; 484型紫外检测仪; SC1100型色谱工作站 (北京化工学院); JB-50D型增力电动搅拌器 (上海标本模型厂); AS5150A型超声波清洗机 (天津奥特塞恩斯仪器有限公司); DS-200型高速组织捣碎机 (江苏江阴周庄科研器械厂); SO-V型球磨机 (浙江海宁新华医疗器械厂)。

肉桂 (购自沈阳市药材公司, 经鉴定为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮); 桂皮醛对照品、对羟基苯甲酸异丙酯内标物 (中国药品生物制品检定所); β -CD (广东郁南县环状糊精厂, 纯度 > 98%); 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 肉桂油的提取: 将肉桂粉碎过 2 号筛, 置入装有挥发油提取器的烧瓶中, 加 5 倍量水, 加热煮沸提取挥发油, 将挥发油加无水硫酸钠脱水即得。经测定其桂皮醛含量为 97.2%。

2.2 包合物中桂皮醛的含量测定方法

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil(ODS₂) C₁₈, 10 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm (大连依利特科学仪器有限公司); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (25: 75); 流速: 2 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 280 nm; 灵敏度: 0.01 AUFS; 内标: 对羟基苯甲酸异丙酯; 进样量: 20 μ L。

2.2.2 线性关系考察: 精密称取桂皮醛 10 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 作为对照品溶液; 精密吸取对羟基苯甲酸异丙酯 100 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 用乙醇溶解并稀释至刻度, 作为内标溶液; 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL 至 10 mL 容量瓶中, 并分别加入内标溶液 1 mL, 最后加乙醇至刻度, 混匀, 进样测定, 以对照品峰面积和内标峰面积比值为纵坐标, 对照品浓度与内标浓度比值为横坐标, 作图, 结果: 桂皮醛在 2.0 ~ 50.0 μ g/mL 范围内线性关系良好, 其回归方程为: $Y = 5.492X + 4.604 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$ 。

2.2.3 包合物中桂皮醛的回收率实验: 称取 β -CD 约 20 mg, 置 15 mL 具塞离心管中, 加入一定量的桂皮醛, 精密加入无水乙醇 10 mL, 混匀, 密封, 超声 15 min 后放置过夜, 次日离心 (2500 r/min) 10 min, 精密吸取上清液及内标溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 补加乙醇至刻度, 混匀, 进样测定, 结果桂皮醛平均回收率为 98.9%, $RSD = 1.8\%$ ($n = 6$)。

2.2.4 包合物中桂皮醛的含量测定: 精密称取包合物约 20 mg, 置 15 mL 具塞离心管中, 精密加入无水

乙醇 10 mL, 其他操作同 2.2.3 项下, 计算包合物中桂皮醛的含量。

2.3 包合工艺的研究

2.3.1 饱和水溶液电动搅拌法: ① 肉桂油溶媒的选择: 分别以乙醇、丙酮、异丙醇和乙酸乙酯为肉桂油的溶媒。将 β -CD 加入 90 $^{\circ}$ C 蒸馏水中制成饱和溶液, 在 800 r/min 条件下, 缓慢滴加用溶媒溶解的肉桂油 (β -CD 与肉桂油的投料重量比为 13: 1), 搅拌 1 h, 然后置冰箱内冷藏 24 h, 过滤, 并以少量蒸馏水洗涤, 以洗去部分未包合的 β -CD, 低温真空干燥 24 h, 研碎, 过 80 目筛得粗包合物。粗包合物用乙酸乙酯洗涤 3 次后晾干, 即得疏松状白色包合物粉末。对此粉末进行各项指标的考察, 结果见表 1。

结果表明用乙酸乙酯做溶媒制备的肉桂油 β -CD 包合物的包合率均高于用另外 3 种溶媒制备的包合物。

表 1 在不同溶媒条件下制备肉桂油 β -CD 包合物的实验结果

实验号	溶 媒	包合物收得率 (%)	桂皮醛含量 (%)	包合率 (%)
1	乙 醇	67.29	7.05	68.23
2	丙 酮	71.58	7.27	74.94
3	异 丙 醇	70.83	7.08	72.23
4	乙酸乙酯	77.82	7.33	82.16

② 均匀设计: 在选定溶媒的情况下, 经预实验发现, 影响包合效果的主要因素为: β -CD 与肉桂油的比例、搅拌时间、反应温度。为选择最佳条件, 以此三因素为考察指标, 组成 $U_6(A^3)$ 表, 进行三因素六水平均匀设计实验, 均匀设计方案与结果见表 2。

表 2 肉桂油 β -CD 包合物均匀设计方案与结果

实验号	β -CD/肉桂油 (w/w)	温度 ($^{\circ}$ C)	时间 (h)	包合物收得率 (%)	桂皮醛含量 (%)	包合率 (%)
1	8: 1	50	3	68.40	7.27	46.04
2	9: 1	70	6	76.20	7.25	56.84
3	10: 1	90	2	82.61	7.32	68.43
4	11: 1	40	5	57.12	7.30	51.48
5	12: 1	60	1	71.26	7.28	69.38
6	13: 1	80	4	74.09	7.35	78.43

③ 数据处理与结果分析: 将表 2 中各因素的水平对包合率和包合物收率, 用《均匀设计和统计优化软件》(沈阳药科大学研制) 进行多元逐步回归分析, 得到以下 2 个回归方程:

$$Y = -19.879 + 7.557X_1 + 0.298X_2 - 0.260X_3 - 0.134X_1^2$$

$$r = 0.9998, Q(\text{残数平方和}) = 0.2006, S = 0.4479$$

经上述优化软件自检, $\alpha = 0.0260$, F 检验通过, 各因素优化值为:

$$Y(\text{最大值}) = 82.24\%, X_1 = 12.998: 1(w/w), X_2 = 89.963^\circ\text{C}, X_3 = 1.047\text{ h}$$

包合物收率对各因素水平的回归方程: $Y = 36.120 - 1.361X_1 + 1.222X_2 - 0.709X_3 - 0.006X_2^2$
 $r = 0.9975, Q = 1.8412, S = 1.3569$

经上述优化软件自检, $\alpha = 0.1058$, F 检验通过, 各因素优化值为:

$$Y(\text{最大值}) = 85.74\%, X_1 = 8.010: 1(w/w), X_2 = 89.904^\circ\text{C}, X_3 = 1.015\text{ h}$$

从以上 2 个方程可以看出, 影响包合率和包合物收得率的主要因素为 X_1 和 X_2 , 即 β -CD 与肉桂油的投料比和温度, 其中投料比的影响比较复杂, 投料比大, 包合率高, 而包合物收得率降低, 但投料比对包合物收得率的影响远较对包合率的影响为小, 根据优化的自变量值并结合生产的实际情况和需要, 设计了一个新的试验条件: $X_1 = 13: 1(w/w), X_2 = 90^\circ\text{C}, X_3 = 1\text{ h}$, 按此条件实施 3 次, 结果包合物中桂皮醛的含量为 7.33%, 包合物收得率为 77.82%, 包合率为 82.16%, 其结果与方程预报值非常接近, 证明了以上 2 个回归方程具有高度的可靠性和预报功能

2.3.2 超声法: 按 β -CD-肉桂油 (w/w) = 13: 1, 精密称定 β -CD 与肉桂油 (下同), 先将 β -CD 制成近饱和溶液, 缓慢滴加以乙酸乙酯溶解的肉桂油, 超声 30 min, 冷藏 24 h, 包合物处理方法同 2.3.1 项下。

2.3.3 高速组织捣碎法: 将 β -CD 置高速组织捣碎机中, 以 150 mL 蒸馏水捣至溶解, 将用乙酸乙酯溶解的肉桂油分次加入 β -CD 饱和溶液中, 转速 8 000 r/min, 操作 9 min, 冷藏 24 h, 包合物处理方法同 2.3.1 项下。

2.3.4 手工研磨法: 将 β -CD 置研钵中, 加入 3 倍量蒸馏水, 边研边加入用乙酸乙酯溶解的肉桂油, 研磨 1 h, 低温真空干燥 24 h, 其他处理方法同 2.3.1 项下。

2.3.5 球磨法: 将 β -CD 倾入球磨缸内, 加入 2 倍

量蒸馏水, 然后加入用乙酸乙酯溶解的肉桂油, 在 42 r/min 转速下, 操作 1 h, 低温真空干燥 24 h, 其他处理方法同 2.3.1 项下。

以上几种方法制备包合物的结果比较见表 3
表 3 5 种不同方法制备肉桂油 β -CD 包合物结果比较

制备方法	包合时间 (min)	包合物收率 (%)	桂皮醛含量 (%)	包合率 (%)
电动搅拌法	60	77.82	7.33	82.16
超声	30	66.62	6.80	65.25
高速组织捣碎	9	62.73	6.95	62.79
手工研磨	60	-	2.99	43.07
球磨	60	-	4.75	68.21

3 讨论

由于肉桂油的主要有效成分为桂皮醛, 其含量高达 97.2%, 故本实验采用桂皮醛的含量作为包合率的考察指标, 测定方法采用 HPLC 法, 方法简便、灵敏、准确、重现性好。肉桂油用 β -CD 包合, 由于仍有部分挥发油未被包合而被吸附, 故在进行含量测定时, 用乙酸乙酯洗去未被包合的挥发油。文献报道用乙醇洗涤, 由于乙醇具有较强的极性, 对包合物具有破坏作用^[4], 而使已被包合的肉桂油被部分洗去, 故用乙醇对包合物进行洗涤是不妥当的。在供试品溶液的制备中, 以乙醇为溶媒可将包合物完全破坏, 从而使肉桂油完全游离出来, 但此过程需要一定时间, 实验证明, 超声 15 min 并不能将肉桂油完全提出, 须再浸泡 10 h 以上, 才能将肉桂油提取完全, 为了方便测定, 选择浸泡 24 h。

按照均匀设计后的优化条件, 本文对常用的几种包合物的制备方法: 电动搅拌法、超声法、高速组织捣碎法、手工研磨法、球磨法等 5 种方法进行比较, 结果表明, 肉桂油 β -CD 包合物的制备以电动搅拌法为优, 其包合率为 82.16%, 明显高于文献报道的 36.72%^[3]。

参考文献

- 1 中国医学科学院药用植物资源开发研究所编. 中药志 (第五册). 北京: 人民卫生出版社, 1994 388
- 2 中华人民共和国药典 (一部). 北京: 化学工业出版社, 1995 112
- 3 富志军, 张泓. 中成药, 1994, 16(12): 6
- 4 Josef Pitha, Teruhiko Hoshino. J Pharm, 1992, 80: 243

(2000-03-22 收稿)

欢迎订阅 2001 年《中国生化药物杂志》

《中国生化药物杂志》是由全国生化制药情报中心站主办、编辑出版的技术性刊物, 是我国生化制药行业唯一的专业性期刊。主要内容有: 新生化药物 (动物、植物、微生物、海洋生物来源); 动物资源的利用; 生化药物剂型研究; 生化制药新工艺、新技术、新材料及工艺改革; 先进的生化制药和仪器的推广及应用; 开发生化制品的新途径; 生化药物的理化分析、毒理学、药理学和临床医学; 生化制药工业管理等。

本刊为双月刊, 国内外公开发行。大 16 开, 54 页, 每期定价 8.00 元, 国内邮发代号: 28-233, 国外发行代号 BM-4561 如错过邮局订阅时间, 请与本编辑部联系邮购, 全年 60 元 (含邮费)。

编辑部地址: 南京市草场门外江东路 18 号, 邮编: 210011; 电话、传真: (025) 8808442