

种技术将为中药应用开辟出更为广阔的新领域。

影响中药材超临界萃取的因素有很多,包括超临界流体的流量、夹带剂、物料粒度以及萃取过程的萃取参数如压力、温度、时间和解析压力、温度等^[6]。本实验由于实验条件的限制,仅研究了萃取压力、萃取温度及萃取时间对克感利咽口服液处方药材超临界萃取效果的影响,未能进行更系统的研究。

超临界萃取是否可以替代传统的水蒸气蒸馏挥发油的提取,其实还有很多的工作要做,包括传统挥发油与超临界萃取物的化学组成的异同,提取产物应用方法上的异同,特别是两者间在药效学方面的异同等。关于这些方面的研究工作,部分正在进行之中,部分工作已经完成,研究结果将另文阐述。

致谢:超临界萃取实验得到广州中医药大学新药中心苏子仁老师、李耿同学和广东药学院梁润芳

同学的大力帮助。

References:

- [1] Chen S Z, Yang Y J, Gu L Z, *et al.* Study on the antioxidant of Keganliyan Oral Liquor by ESR [J]. *China J Tradit Chin Med Sci Technol* (中国中医药科技), 2002, 9 (6): 329-330.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [3] Wang C G, Wang C L. Mensuration of menthol in *Oleum Menthae Dementiolatum* by gas chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (11): 1252-1253.
- [4] Nozal M J, Bernal J J. Extraction of thymol, eucalyptol, menthol, and camphor residues from honey and beeswax, determination by gas chromatography with flame ionization [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 954 (1-2): 207.
- [5] Wang C Z, Shi R, Wu Z H, *et al.* Applications of supercritical fluid extraction on the study of Chinese traditional medicine [J]. *Res Inf Tradit Chin Med* (中药研究与信息), 2005, 7 (2): 20-23.
- [6] Xiao X L, Gan H T, Qie D L. Extraction of active constituents from Chinese traditional medicine by supercritical CO₂ [J]. *Chem Ind Eng Prog* (化工进展), 2001 (5): 7-9.

人参皂苷 Rg₃ 与羟丙基-β-环糊精包合作用的研究

林东海¹, 侯茂奇¹, 陈继永², 李金明², 刘珂¹

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003)

摘要:目的 研究人参皂苷 Rg₃ 与羟丙基-β-环糊精 (HP-β-CD) 在水溶液中的包合作用、包合比及包合过程中的热力学参数变化。方法 采用相溶解度法、薄层色谱法、红外光谱法、核磁共振法测定人参皂苷 Rg₃ 与 HP-β-CD 在水溶液中包合作用、包合比及包合过程中热力学参数变化。结果 在水溶液中人参皂苷 Rg₃ 与 HP-β-CD 均可形成 1:1 摩尔比可溶性包合物; 人参皂苷 Rg₃ 的苷元部分可能嵌入 HP-β-CD 分子的疏水性空穴中, 两个葡萄糖裸露在环糊精腔外。对包合物进行了鉴定和确证, 表明人参皂苷 Rg₃ 与羟丙基-β-环糊精已经形成包合物。人参皂苷 Rg₃ 与 HP-β-CD 在水溶液中的包合过程可自发进行 ($\Delta G < 0$), 且为放热反应 ($\Delta H < 0$), 同时也是熵减过程 ($\Delta S < 0$)。结论 人参皂苷 Rg₃ 与 HP-β-CD 在水溶液中可自发形成 1:1 摩尔比可溶性包合物, 从而增加溶解度。选择适宜的包合温度将有利于包合作用的进行。

关键词: 人参皂苷 Rg₃; 羟丙基-β-环糊精; 溶解度; 包合比; 热力学参数

中图分类号: R283.6; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)09-1328-04

Inclusion of ginsenoside Rg₃ with hydroxypropyl-β-cyclodextrin

LIN Dong-hai¹, HOU Mao-qi¹, CHEN Ji-yong², LI Jin-ming², LIU Ke¹

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. Shandong Engineering and Technology Research Center for Natural Drugs, Yantai 264003, China)

Abstract: Objective To investigate the inclusion of ginsenoside Rg₃ with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) in aqueous solutions, inclusion molar ratio of host and guest molecules, and change of thermodynamic parameters during the inclusion process. **Methods** The measurements of the inclusion mechanism, inclusion molar of the host and guest molecules, and change of thermodynamic parameters were carried out by the following methods: phase solubility, IR, NMR, and TLC methods, respectively. **Results** The results indicated that the inclusion compound of ginsenoside Rg₃-HP-β-CD was formed. The content analysis of the inclusion compound showed that the inclusion ratio of ginsenoside Rg₃-

HP- β -CD was 1 : 1. The change in the thermodynamic parameters suggested that the inclusion could proceed ($\Delta G < 0$) spontaneously along with the heat release ($\Delta H < 0$) and the entropy decrease ($\Delta S < 0$). **Conclusion** A molar ratio inclusion complex (1 : 1) of ginsenoside Rg₃ with HP- β -CD in aqueous solution could be formed spontaneously and, hence the solubility of ginsenoside Rg₃ in aqueous solution increased. Appropriate temperature probably favors the progress of inclusion procedure.

Key words: ginsenoside Rg₃; hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD); solubility; inclusion ratio; thermodynamic parameter

人参皂苷 Rg₃ 是从人参或西洋参中提取分离并经转化获得的一种四环三萜类人参二醇型皂苷单体,具有抑制肿瘤浸润和转移的作用。其抗肿瘤机制与调节机体免疫、调节细胞的核酸代谢、糖代谢和蛋白质代谢等有关。人参皂苷 Rg₃ 的人体药动学研究表明;本品口服吸收快,消除也较快,但血药浓度很低,属一级动力学吸收、消除过程^[1]。人参皂苷 Rg₃ 在水中溶解度为 0.047 mg/mL (25 ℃)。由于在水中几乎不溶,生物利用度低,难以达到治疗效果,所以限制了剂型设计。为克服其溶解度问题,本实验以羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)为包合材料,研究人参皂苷 Rg₃ 在水溶液中与 HP- β -CD 的包合作用及其特点,为人参皂苷 Rg₃ 的 HP- β -CD 包合物注射剂的制备提供理论参考。

1 材料与仪器

人参皂苷 Rg₃ (HPLC 法测定质量分数大于 90%,山东省天然药物工程技术研究中心);羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD) (质量分数大于 98%,西安德立生物化工有限公司);红外光谱仪(美国 PE-Spect. One FT-IR 型);Avance-400 型核磁共振仪(瑞士 Bruker);高效液相色谱仪(美国 Agilent);磁力搅拌仪(余姚市检测仪表厂);YXQ-L-30S 型不锈钢座式灭菌器(上海博迅实业有限公司);HZS-H 水浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 Rg₃ 的 HPLC 测定方法的建立

2.1.1 色谱条件: Supelco C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相: 乙腈-水(0.05%磷酸)(46 : 54);检测波长: 203 nm;体积流量: 1.0 mL/min;柱温: 30 ℃;进样量: 20 μ L。

2.1.2 标准曲线的制备: 精密称取人参皂苷 Rg₃ 对照品适量,以甲醇配制质量浓度为 1.034~20.68 μ g/mL 的溶液,按照上述色谱条件分别进样测定峰面积。以人参皂苷 Rg₃ 的质量浓度为横坐标,其色谱峰面积为纵坐标作线性回归,求得回归方程为 $A = 765\,882C + 36\,334$, $r = 0.999\,9$ 。

2.1.3 人参皂苷 Rg₃ 的测定: 精密量取人参皂苷 Rg₃ 的 HP- β -CD 包合物 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释并定容至刻度。吸取 20 μ L 进样。记录色谱图,计算人参皂苷 Rg₃ 的量。

2.2 包合物的制备^[2]: 称取 HP- β -CD 10 g,置于 200 mL 烧杯中,加 50 mL 水溶解,放于磁力搅拌器上,加热至 60 ℃。另取人参皂苷 Rg₃ 0.2 g 用适量乙醇溶解后,缓慢滴加入 HP- β -CD 的溶液中,搅拌 2 h,室温搅拌 3 h,即得。冷冻干燥后得白色粉末。

2.3 薄层色谱法: 配制 1 mg/mL 的人参皂苷 Rg₃ 乙醇溶液、相当于 1 mg/mL 人参皂苷 Rg₃ 包合物的乙醇溶液及人参皂苷 Rg₃ 与包合物的乙醇溶液,分别点样于硅胶 G 板上,以氯仿-甲醇-水(65 : 35 : 10)为展开剂,以 5%硫酸乙醇溶液显色,测量 R_f 值。显色后可在硅胶板上看到 3 个紫红色斑点,其 R_f 值均为 0.5,说明包合物生成以后人参皂苷 Rg₃ 没有发生化学结构上的变化,包合反应是一种物理过程。

2.4 红外光谱分析^[3]: 取人参皂苷 Rg₃、HP- β -CD、人参皂苷 Rg₃ 与 HP- β -CD 的 1 : 1 物理混合物、人参皂苷 Rg₃ 的 HP- β -CD 包合物样品分别采用 KBr 压片法制样,进行红外光谱测定。红外图谱分析表明: 包合物与人参皂苷 Rg₃ 的红外图谱比较,明显看出人参皂苷 Rg₃ 的红外谱有缔合羟基峰,在 3 200 cm^{-1} (ν_{OH} , OH) 左右,是一肩峰;包合物的红外谱中该峰消失,表明 HP- β -CD 和人参皂苷 Rg₃ 产生了包合作用。人参皂苷 Rg₃ 和 HP- β -CD 的 1 : 1 物理混合物的红外图谱吸收峰表现为 HP- β -CD 和人参皂苷 Rg₃ 各自红外吸收峰的加合。

2.5 核磁共振波谱法分析^[4]: 分别取人参皂苷 Rg₃、HP- β -CD、HP- β -CD 与人参皂苷 Rg₃ 的物理混合物、人参皂苷 Rg₃ 的 HP- β -CD 包合物样品,以吡啶($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)为溶剂,进行 ^1H -NMR 测定。结果显示,混合物 ^1H -NMR 谱是 HP- β -CD 和人参皂苷 Rg₃ 加合谱;而包合物 ^1H -NMR 谱中 δ 6.04、4.99 处的质子峰型变锐,且 δ 3.87、4.23 处峰的偶合现象消失。

结合红外分析结果,说明人参皂苷 Rg_3 由 HP- β -CD 包合后,不再有人参皂苷 Rg_3 分子间的氢键形成。

2.6 包合物主客分子摩尔比的测定^[5]:配制不同浓度 HP- β -CD 溶液 (0, 3.927 839, 5.891 759, 7.855 678, 9.819 598 mol/L)。取上述溶液加到 10 mL 量瓶中,分别加入过量的人参皂苷 Rg_3 ,加盖密封,摇匀,放入 45 °C 水浴中平衡 4 d,滤过,采用高效液相法测定人参皂苷 Rg_3 的质量浓度。以人参皂苷 Rg_3 的质量浓度为纵坐标,HP- β -CD 的质量浓度为横坐标,绘制溶解度曲线,作线性回归。人参皂苷 Rg_3 浓度与 HP- β -CD 浓度呈线性关系,进行线性回归得方程: $Y=0.019\ 6\ X+0.207$, $R^2=0.999\ 8$ 。由此可以确定包合物中人参皂苷 Rg_3 与 HP- β -CD 的摩尔比为 1:1。

2.7 包合过程中有关热力学参数的测定^[6]:配制一系列不同浓度的 HP- β -CD 水溶液,分别于 25、35、45 °C 下测定人参皂苷 Rg_3 的相溶解度,测定方法同前。分别求得不同温度下包合物的表观稳定常数 (K_a),由公式 $\Delta G=-RT\ln K_a$ 计算不同温度下包合过程的吉布斯自由能变化 (ΔG)。再根据 Van't Hoff 方程: $\ln K_a=-\Delta H/RT+\Delta S/R$,以 $\ln K_a$ 对 $1/T$ 作线性回归,由回归方程的斜率 ($\Delta H/R$) 与截距 ($\Delta S/R$) 即可求得包合过程的焓变 (ΔH) 与熵变 (ΔS)。

在 25、35、45 °C 条件下,测得 Rg_3 相溶解度曲线方程: $Y=0.035\ 5\ X+0.066\ 8$ ($R^2=0.988\ 7$); $Y=0.025\ 3\ X+0.118\ 4$ ($R^2=0.999\ 5$); $Y=0.019\ 6\ X+0.207$ ($R^2=0.999\ 8$)。结果表明,在不同温度下,人参皂苷 Rg_3 的溶解度均随 HP- β -CD 的浓度的增加而呈线性增加,随着温度的升高包合物的 K_a 值减少。包合过程中的 ΔG 、焓变 (ΔH)、熵变 (ΔS) 均为负值,测定结果见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg_3 与 HP- β -CD 包合物的热力学参数

Table 1 Thermodynamic parameters in inclusion of ginsenoside Rg_3 with HP- β -CD

T /°C	K_a / ($L \cdot mol^{-1}$)	ΔH / ($kJ \cdot mol^{-1}$)	ΔS /($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$)	ΔG / ($kJ \cdot mol^{-1}$)
25	551.0	-68.70	-0.18	-15.64
35	221.0	-68.67	-0.18	-14.82
45	96.6	-70.90	-0.18	-13.27

3 讨论

3.1 人参皂苷 Rg_3 在水中几乎不溶。将其制备成包合物后,其溶解度增加到 5 mg/mL。HP- β -CD 是环糊精的衍生物,与环糊精相比较,其具有溶解度大、不良反应小的特点,可作为注射用辅料。HP- β -CD

对药物分子的包合效率不高,即使使用大量 HP- β -CD 也只能包合少量药物。提高包合效率即优化包合工艺是需要进一步解决的问题。

3.2 包合物的热力学参数如标准自由能变 (ΔG)、标准焓变 (ΔH) 和熵变 (ΔS) 通过包合物稳定常数的温度依赖关系得到。包合物的形成总是引起体系的焓大量减少 (ΔH 绝对值较大且为负);体系的熵有增大的也有减小的 (即 ΔS 为正或负)。疏水相互作用常使体系的熵大量增加,体系的焓稍有增加,故经典疏水相互作用是熵驱动的,而包合物的形成如上所述是一种焓驱动过程。说明经典疏水相互作用并未参与包合物的形成。形成包合物主要驱动力来自于主分子空腔中的富焓水分子的释放。疏水性空腔中的水分子难以充分形成氢键,也就是说水分子形成氢键的潜能未能充分释放,故有相当大的焓值。富焓水被极性比水小的客体分子替代而释放出来便导致体系焓大大降低。此外,主分子中环张力的减少,非经典疏水性相互作用,氢键以及溶剂——表面张力的变化等都可对包合物的形成做出贡献。

包合过程的 ΔS 为负值,说明包合过程为熵值减小过程。原因可能为:随着包合过程的进行,原来可自由运动的客分子人参皂苷 Rg_3 被包合在 HP- β -CD 分子的刚性孔穴中,其自由运动受到明显限制,结果使得整个包合体系的混乱度减小,熵值变小。根据热力学第二定律,熵值减小的过程将不利于反应的进行。但此包合过程的极为有利的是焓变 ($\Delta H < 0$, 其绝对值远大于 ΔS 的绝对值) 弥补了不利的熵变,结果使得包合过程的 ΔG 在上述不同的温度下均为负值,提示该包合反应在常温常压下可自发进行。随着温度升高,包合过程 ΔG 的绝对值减小。HP- β -CD 和人参皂苷 Rg_3 在溶液中的包合作用为放热过程 ($\Delta H < 0$)。故随着温度升高,包合过程将向相反方向 (解离) 进行,具体表现为 HP- β -CD 的增溶作用下降,包合物的表观稳定常数减小。这同样表明,温度的升高将不利于包合过程的进行。因此可推测,适当降低包合温度将有利于包合过程的进行。

3.3 温度升高使包合常数降低,平衡的移动不利于包合反应,温度的升高使反应速率增加,又有利于反应快速达到平衡,因此开始使用较高的温度,反应快速达到平衡,后降至室温,平衡向有利的方向移动。

References:

- [1] Pang H. Pharmacokinetic studies of 20 (*R*) ginsenoside Rg_3 in human volunteers [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36 (3): 170.
- [2] Cui F D. *Pharmacy* (药剂学) [M]. Beijing: People's Medical

- Publishing House, 2003.
- [3] Shao W, Xie Q C. Study on the inclusion compound of quercetin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *J. Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25 (2): 121.
- [4] Lu W L. Structure investigation of inclusion complex of ketoprofen and β -cyclodextrin [J]. *J. China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1998, 29 (3): 176.
- [5] Tu J S. Study on inclusion complex of Nifedipine with β -cyclodextrin [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 1996, 27 (12): 539-542.
- [6] Wu W Z. Study on the thermodynamic property of Aspirin by inclusion complexation of β -cyclodextrin [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm* (广东药学院学报), 1995, 11 (1): 1-3.

白术中白术内酯 I 的超临界 CO₂ 萃取工艺研究

杨 林¹, 何 丹²

(1. 重庆市药品检验所, 重庆 400015; 2. 重庆医科大学, 重庆 400016)

摘要:目的 探讨超临界 CO₂ 流体萃取白术中白术内酯 I 的方法, 并建立白术内酯 I 高效液相色谱测定方法。方法 考察了萃取压力、解析压力等 7 个因素对白术中白术内酯 I 的超临界 CO₂ 流体萃取的影响。采用高效液相色谱法对白术内酯 I 进行 HPLC 分析。色谱柱: Hypersil ODS2, 流动相: 甲醇-水 (70 : 30), 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 220 nm。结果 以 10% 乙醇为携带剂, 药材粒度 60 目, 萃取压力 25 MPa, 解析压力 5 MPa, 萃取温度 40 ℃, 解析温度 30 ℃ 的条件下萃取 4 h 为最佳工艺。结论 超临界萃取法提取白术中白术内酯 I 耗时少、准确、效率高, 可用于工业化大生产和小规模试验。建立的白术超临界提取物中白术内酯 I 的测定方法简单、灵敏、结果可靠。

关键词: 白术; 白术内酯 I; 超临界 CO₂ 萃取

中图分类号: R284. 2; R286. 02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)09-1331-03

Supercritical CO₂ extraction of atractylenolide I from *Atractylodes macrocephala*

YANG Lin¹, HE Dan²

(1. Chongqing Institute for Drug Control, Chongqing 400015, China; 2. Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the extraction technique for atractylenolide I in *Atractylodes macrocephala* by supercritical CO₂ fluid extraction and develop a method used for determining the content of atractylenolide I in the extract by HPLC. **Methods** The effects of seven factors, such as the extracting pressure, resolving pressure etc, to the extraction rate of atractylenolide I in *A. macrocephala* by supercritical CO₂ extraction were investigated. RP-HPLC was used to determine the content of atractylenolide I in extraction of *A. macrocephala*. The separation was performed on Hypersil ODS2 column with methanol-water (70 : 30) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and the wavelength of UV detector was 220 nm. **Results** The optimal extracting conditions: taking 10% alcohol as entrainer, the particle size of medicinal substances was 60 screen meshes, extracting pressure 25 MPa, resolving pressure 5 MPa, extracting temperature 40 ℃, resolving temperature 30 ℃, and the extracting time 4 h. **Conclusion** Supercritical extraction is time-shorter and efficient in extracting atractylenolide I from *A. macrocephala*. It is suitable to both trial and industrialized production. The method established to determine the content of atractylenolide I of *A. macrocephala* by supercritical extraction is simple, sensitive, and reliable.

Key words: *Atractylodes macrocephala* Koidz; atractylenolide I; supercritical CO₂ fluid extraction

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。《神农本草》列为上品, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗安胎功效。白术根茎中含挥发油、倍半萜内酯化合物、多炔醇类化合物

等^[1], 其中白术内酯类成分具有抗炎、抗癌、调节胃肠道功能作用, 尤其白术内酯 I 的药理作用明显^[2], 为白术的主要活性成分, 也为白术质量控制的主要指标。本实验采用正交试验设计的方法, 以白术内酯

收稿日期: 2005-12-14

作者简介: 杨 林(1978—), 男, 陕西西安人, 药师, 医学硕士, 从事药物分析研究。

Tel: (023) 86072737 E-mail: yyanglin925@163.com