

基于信息熵权法优选香果健消片挥发油羟丙基- β -环糊精包合工艺及其表征

郝佳旭^{1,2,3}, 查丽春^{1,2,3}, 范晓^{1,2,3}, 崔利利^{1,2,3}, 高家菊^{1,2,3}, 曾鹏辉^{1,2,3}, 武旭润¹, 马云淑^{1,2,3*}

1. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500

2. 云南省高校外用给药系统与制剂技术研究重点实验室, 云南 昆明 650500

3. 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 优选羟丙基- β -环糊精 (2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HPCD) 包合香果健消片 (Xiangguo Jianxiao Pian, XJP) 挥发油最佳工艺。方法 在单因素实验基础上, 以包合率、收率、含油率、每克包合物中 1,8-桉叶素的含量为指标, HPCD 与无水乙醇的质量体积比、包合温度、包合时间为影响因素, 采用信息熵权法确定各指标权重系数, 计算综合评分, 建立正交试验优选最佳包合工艺。采用薄层色谱、紫外吸收光谱、傅里叶红外光谱、差示扫描量热法、扫描电镜、X 射线衍射、GC-MS 等方法对包合物进行表征, 并考察其稳定性影响因素。结果 最佳包合工艺为 HPCD 与无水乙醇的质量体积比为 12:20 (g/mL), 包合温度 55 °C, 包合时间 2 h, 经验证制得的包合物平均包合率为 88.15%、收率为 96.11%、含油率为 7.65%、包合物中 1,8-桉叶素的含量为 20.28 mg/g。挥发油成功进入 HPCD 空腔中, 包合前后挥发油成分基本未发生变化, 包合物稳定性较好。结论 优选的挥发油包合工艺稳定可行。

关键词: 香果健消片; 挥发油; 羟丙基- β -环糊精; 1,8-桉叶素; 信息熵权法; 正交试验; 包合工艺

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)13-3962-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.13.009

Optimization of inclusion process of Xiangguo Jianxiao Pian volatile oils based on the information entropy method and its characterization

HAO Jia-xu^{1,2,3}, ZHA Li-chun^{1,2,3}, FAN Xiao^{1,2,3}, CUI Li-li^{1,2,3}, GAO Jia-ju^{1,2,3}, ZENG Peng-hui^{1,2,3}, WU Xu-run¹, MA Yun-shu^{1,2,3}

1. School of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Key Laboratory of External Drug Delivery System and Preparation Technology in University of Yunnan Province, Kunming 650500, China

3. Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi Medicines, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To optimize the best process of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) inclusion Xiangguo Jianxiao Pian (XJP, 香果健消片) volatile oil. **Methods** On the basis of single factor experiments, taking inclusion rate, yield, oil content, and the content of eucalyptol per gram of inclusion compound as indicators, and the ratio of HPCD to absolute ethanol, inclusion temperature, and inclusion time were influencing factors. The information entropy method was used to determine the weight coefficient of each index, then calculate the comprehensive score, the inclusion process conditions were optimized by orthogonal experiment. The inclusion complex was verified by thin layer chromatography, ultraviolet absorption spectroscopy, Fourier infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, scanning electron microscopy, X-ray diffraction, GC-MS, and investigated the factors affecting stability of the inclusion compound. **Results** The best inclusion process was that the ratio of HPCD to absolute ethanol was 12:20(g/mL), the inclusion temperature was 55 °C, and the inclusion time was 2 h. The average inclusion rate of the obtained inclusion compound was 88.15%, the yield was 96.11%, the oil content was 7.65%, and the content of eucalyptol per gram of the inclusion compound was 20.28 mg. The volatile oil successfully entered the HPCD cavity, and the composition of the volatile oil remained basically unchanged before and after the inclusion, and the inclusion compound had good stability. **Conclusion** The

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82060723); 国家自然科学基金资助项目 (82174065)

作者简介: 郝佳旭, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: zermattbm@163.com

*通信作者: 马云淑, 女, 博士, 教授, 研究方向为中药药剂学。Tel: (0871)65918217 E-mail: yunshuma2@126.com

preferred volatile oil inclusion process is stable and feasible.

Key words: Xiangguo Jianxiao Pian; volatile oil; 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; eucalyptol; information entropy method; orthogonal design; inclusion process

香果健消片(Xiangguo Jianxiao Pian, XJP)为中药部颁标准品种,原方为蜘蛛香(炒焦)250 g、草果(去壳、炒焦)100 g、木香(炒)70 g、糯米80 g。方中蜘蛛香辛温散寒,具有消食健胃、理气止痛的作用,善治胃肠疾病,为君药。

蜘蛛香在我国少数民族中有着广泛的应用,如白族、布依族等使用蜘蛛香水煎液治疗腹痛、腹胀、痞积等;阿昌族、傣族将蜘蛛香用作食疗,主治小儿消化不良^[1]。现代药理研究表明,蜘蛛香通过下调磷脂肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)以及蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)的表达水平,并通过抑制脱水来治疗由轮状病毒引起的腹泻^[2]。而在欧洲,蜘蛛香更常用于治疗抑郁症,有研究指出,蜘蛛香中总环烯醚萜类化合物可以通过调节脑-肠轴,改善大鼠慢性不可预知性刺激所致抑郁症^[3]。

木香与草果行气止痛、燥湿温中、消食导滞,共为臣药,以加强蜘蛛香理气止痛之功效,又能导滞健脾。木香中的木香烃内酯和去氢木香内酯以及乙醇提取物均对胃溃疡有着显著疗效^[4-5]。而草果水提物则可以改善洛哌丁胺诱导的小鼠便秘症状。可见 XJP 以调畅气机、疏通经脉为治则,善治因气机壅遏、气滞不通所致小儿腹痛。

方中蜘蛛香、草果、木香 3 味药材均具有挥发油类成分,且挥发油成分是其重要的活性成分。蜘蛛香挥发油以萜类成分为主,具有抗菌、抗氧化作用^[7]。木香挥发油中主要成分为去氢木香内酯^[8],同样具有抗菌、抗氧化作用^[9-10]。草果挥发油主要含有 1,8-桉叶素、 α -蒎烯等成分,具有抗氧化、调节肠胃功能、抗菌、抗肿瘤等作用^[11]。在制剂过程中,挥发油传统加入方式为直接加入,由于挥发油理化性质不稳定,直接加入挥发油易损失,难以保证产生预期的疗效。将挥发油制成一定的剂型后,再进行二次制剂可以有效增加挥发油的稳定性,使其更好的发挥疗效。目前,常用的挥发油新剂型有微乳^[12]、微球^[13]、微囊^[14]、脂质体^[15]、聚合物胶束^[16]、包合物^[17]等。故本研究拟采用羟丙基- β -环糊精(2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HPCD)包合技术固化 XJP 挥发油,以期增加其稳定性,为后续二次制剂提供保障。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Aglient 7820A 气相色谱仪,美国安捷伦公司;DSC-300 差示热量扫描仪,南京大展检测仪器有限公司;综合药品稳定性试验箱,上海一恒科技有限公司;Phenom Pro 扫描电子显微镜(SEM),Thermo Scientific 公司;X 射线衍射仪,日本理学 XRD Rigaku Ultima IV;Agilent 7890a-5975c 气质联用仪,美国 Agilent 公司。

1.2 材料

蜘蛛香(产地云南大理,批号 202109)、木香(产地云南大理,批号 202109)、草果(产地云南文山,批号 202109),所有药材经云南中医药大学张洁副教授鉴定,蜘蛛香为败酱科缬草属植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根茎和根、木香为菊科云木香属植物木香 *Aucklandia lappa* Decne 的干燥根、姜科砂仁属植物草果 *Amomum tsaoko* Crevost et Lemaire 的干燥成熟果实;1,8-桉叶素对照品,中国食品药品检定研究院,批号 110788-202108,质量分数 99.4%;HPCD,上海源叶生物科技有限公司,批号 O11GS163286;无水乙醇,天津市致远化学试剂有限公司,批号 20211001321;溴化钾,天津市光复精细化工研究所,批号 20210316;硅胶 G 板,青岛海洋化工有限公司,批号 20201207;香草醛,北京索莱宝科技有限公司,批号 1129M011。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取

按照《中国药典》2020 年版中挥发油测定甲法提取,依据前期研究,确定挥发油提取工艺为称取 500 g 蜘蛛香、200 g 草果、140 g 木香粗粉,加入 8 倍量的水,浸泡 2 h,提取时间 5 h,静置 1 h,加入过量无水硫酸钠,6000 r/min 离心(离心半径 4.0 cm)10 min,即得,挥发油得率(挥发油得率=所得挥发油体积/所用药材质量)为 0.60%,每次提取后于 4 °C 混合储存备用,实验前提取足量挥发油使用。

2.2 挥发油回收率、包合率、收率、含油率的测定

2.2.1 挥发油回收率测定 取 1 mL XJP 挥发油,置于 1 L 圆底烧瓶中,加入 400 mL 水,按照《中国药典》2020 年版中挥发油测定甲法测定,保持微沸 3 h,静置 1 h,读数,即得空白回收率(空白回收

率=回收量/加入量)。结果显示,挥发油平均空白回收率为 82.33%,RSD 值为 1.83% ($n=6$)。

取 1 mL XJP 挥发油,置于 1 L 圆底烧瓶中,加入 10 g HPCD 及 400 mL 水,其余操作同空白回收率测定,读数,即得加入 HPCD 后的回收率(加入 HPCD 后挥发油空白回收率=回收量/加入量)。结果显示,挥发油平均空白回收率为 80.67%,RSD 值为 0.92% ($n=6$)。

2.2.2 包合率测定 取包合物适量,置于 1 L 圆底烧瓶中,加入 400 mL 水,其余步骤同“2.2.1”项挥发油回收率测定,读取提取出的挥发油量,计算包合率,计算公式如下。

挥发油包合率=包合物中挥发油提取量/(挥发油加入量×加入 HPCD 后的挥发油回收率)

2.2.3 包合物收率测定 包合物制备完成后计算包合物收率,计算公式如下。

包合物收率=包合物质量/(HPCD 质量+挥发油质量)

2.2.4 包合物含油率测定 包合物制备完成后计算包合物含油率,计算公式如下。

包合物含油率=包合物中挥发油质量/包合物质量

2.2.5 综合评分(Z) 参照文献方法^[18]计算。

$$Z=(Y_1/Y_{1\max}\times 0.6+Y_2/Y_{2\max}\times 0.2+Y_3/Y_{3\max}\times 0.2)\times 100$$

Y_1 、 Y_2 、 Y_3 分别为包合率、收率及含油率, $Y_{1\max}$ 、 $Y_{2\max}$ 及 $Y_{3\max}$ 分别为最大包合率、最大收率及最大含油率

2.3 XJP 挥发油包合物制备方法考察

2.3.1 单相溶液法 称取 10 g HPCD 至 50 mL 烧杯中,加入 20 mL 无水乙醇,于 45 °C 下搅拌溶解,后逐滴加入 1 mL XJP 挥发油(质量 0.91 g,与无水乙醇 1:1 混匀),保持 45 °C,在 900 r/min 转速下搅拌 2 h,40 °C 减压浓缩干燥,石油醚洗涤 3 次,室温下挥至恒定质量,即得 XJP 挥发油包合物。

2.3.2 饱和水溶液法 称取 10 g HPCD 至 50 mL 烧杯中,加入 20 mL 纯净水,于 45 °C 下搅拌溶解,后逐滴加入 1 mL XJP 挥发油(与无水乙醇 1:1 混匀),保持 45 °C,在 900 r/min 转速下搅拌 2 h,50 °C 减压浓缩干燥,石油醚洗涤 3 次,室温下挥至恒定质量,即得 XJP 挥发油包合物。

2.3.3 研磨法 称取 10 g HPCD 至研钵中,加入 2.5 mL 纯净水,研磨至糊状,逐滴加入 1 mL XJP 挥发油(与无水乙醇 1:1 混匀),继续研磨 45 min,45 °C 下烘干,石油醚洗涤 3 次,室温下挥至恒定质量,即得 XJP 挥发油包合物。

2.3.4 超声法 称取 10 g HPCD 至 50 mL 烧杯中,

加入 20 mL 纯净水,超声溶解,逐滴加入 1 mL XJP 挥发油(与无水乙醇 1:1 混匀),超声(功率 100 W) 1 h,50 °C 减压浓缩干燥,石油醚洗涤 3 次,室温下挥至恒定质量,即得 XJP 挥发油包合物。

4 种包合方法比较结果见表 1。

2.4 单因素实验考察 XJP 挥发油包合物制备工艺

通过文献查阅^[19-20],选择 HPCD 与挥发油的质量体积比、HPCD 与无水乙醇的质量体积比、包合温度、包合时间以及搅拌转速作为影响因素进行单因素实验,单因素实验设计及结果见表 2~6。

2.5 XJP 挥发油包合物中 1,8-桉叶素含量测定方法的建立

2.5.1 色谱条件 毛细管柱 Agilent 19091J-413 HP-5

表 1 4 种包合方法的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Comparison of four inclusion methods ($\bar{x} \pm s, n=3$)

包合方法	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
单相溶液法	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
饱和水溶液法	26.86±1.89	81.55±8.76	2.75±0.32	38.54±2.24
研磨法	51.66±1.24	81.00±3.63	5.32±0.06	58.64±1.48
超声法	39.67±2.58	81.39±12.07	4.07±0.67	48.94±3.15

表 2 HPCD 与无水乙醇的质量体积比对综合评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of (hydroxypropyl-β-cyclodextrin)-(absolute ethanol) ratio on comprehensive score ($\bar{x} \pm s, n=3$)

HPCD 与无水乙醇 的质量体积比	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
4:20	67.15±1.79	87.08±6.24	6.43±0.43	71.79±4.50
6:20	77.82±2.39	81.37±12.89	7.98±1.23	79.96±2.46
8:20	75.93±1.55	93.53±3.27	6.77±0.33	70.43±1.14
10:20	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
12:20	74.03±2.60	82.11±7.23	7.52±0.44	76.93±2.59

表 3 HPCD 与挥发油的质量体积比对综合评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of (hydroxypropyl-β-cyclodextrin)-(volatile oils) ratio on comprehensive score ($\bar{x} \pm s, n=3$)

HPCD 与挥发油 的质量体积比	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
4:1	63.14±2.50	93.74±4.44	12.48±0.99	79.36±2.39
7:1	73.74±1.50	88.23±1.02	9.62±0.20	81.06±1.30
10:1	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
13:1	81.14±0.93	87.85±2.73	6.04±0.13	80.65±0.99
16:1	79.34±1.98	90.80±3.65	4.70±0.29	78.10±1.25

表 4 包合温度对综合评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of inclusion temperature on comprehensive score ($\bar{x} \pm s, n=3$)

包合温度/℃	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
25	77.27±1.89	89.83±2.76	7.18±0.34	80.15±1.42
35	78.10±1.24	93.61±1.13	6.96±0.19	81.16±0.88
45	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
55	87.19±3.12	90.86±5.79	8.00±0.30	88.16±2.86
65	72.31±1.89	81.18±1.85	7.43±0.29	75.74±1.52

表 5 包合时间对综合评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of inclusion time on comprehensive score ($\bar{x} \pm s, n=3$)

包合时间/h	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
0.5	73.14±1.24	88.79±0.45	6.87±0.09	76.76±1.03
1.0	75.62±1.24	92.64±2.07	6.81±0.26	79.10±0.79
2.0	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
3.0	74.79±2.58	91.23±3.81	6.84±0.05	78.30±2.42
4.0	73.25±1.43	84.66±1.24	7.22±0.21	76.49±1.11

表 6 搅拌转速对综合评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of stirring speed on comprehensive score ($\bar{x} \pm s, n=3$)

搅拌转速/ ($r \cdot min^{-1}$)	包合率/%	收率/%	含油率/%	综合评分
500	79.34±1.24	89.28±2.82	7.41±0.30	81.76±0.92
700	76.03±1.89	92.12±1.89	6.88±0.03	79.38±1.69
900	82.23±0.72	93.37±0.55	7.35±0.08	84.42±0.57
1100	76.44±1.89	91.93±1.30	6.94±0.23	79.69±1.46
1300	76.86±1.24	91.38±4.49	7.01±0.27	79.96±1.33

(30 m×320 μm×0.25 μm), FID 检测器; 进样口温度 200 ℃, 检测器温度 250 ℃, 柱温以 60 ℃为起始温度, 保持 4 min, 以 5 ℃/min 的速率升温至 100 ℃, 不分流, 进样量 1 μL。

2.5.2 对照品溶液的制备 取 1,8-桉叶素对照品适量, 加入适量无水乙醇将其配制成质量浓度分别为 814.5、407.3、203.4、162.9、81.5、40.7、16.3 μg/mL 的对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取 0.5 g 包合物, 加入 20 mL 无水乙醇, 超声 30 min 后, 补足, 过 0.22 μm 滤头, 即得供试品溶液。

2.5.4 专属性考察 分别取 1,8-桉叶素对照品溶液、供试品溶液和空白供试品溶液 (取 0.5 g HPCD 加入 20 mL 无水乙醇, 超声 30 min 后, 补足, 过 0.22 μm 滤头, 即得空白供试品溶液) 进行专属性

考察。结果显示供试品溶液中 1,8-桉叶素峰形良好, HPCD 对其检测无干扰, 表明该方法测定包合物中的 1,8-桉叶素准确可行, 具体结果见图 1。

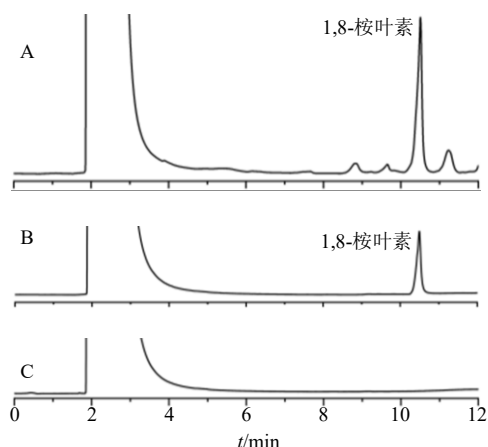


图 1 供试品溶液 (A)、1,8-桉叶素对照品溶液 (B) 和空白供试品溶液 (C) 的 GC 图

Fig. 1 GC of sample solution (A), eucalyptol reference substance (B), and blank sample solution (C)

2.5.5 线性关系考察 取“2.5.2”项下配制的对照品溶液, 按“2.5.1”项色谱条件进样测定, 结果显示 1,8-桉叶素在 16.3~814.5 μg/mL 线性关系良好, 线性方程为 $y=2\ 876.680\ 7x-2.168\ 5$, $r=1.000\ 0$ 。

2.5.6 精密度考察 取 1,8-桉叶素对照品溶液, 过 0.22 μm 滤膜后, 按“2.5.1”项色谱条件连续进样 6 针, 结果显示, 1,8-桉叶素峰面积的 RSD 为 1.72%, 表明仪器精密度良好。

2.5.7 重复性考察 平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.5.1”项色谱条件进样, 结果显示 XJP 挥发油包合物中 1,8-桉叶素质量分数的 RSD 为 0.86%, 表明该方法重复性良好。

2.5.8 稳定性考察 取供试品溶液, 分别于制备后 0、1、2、4、6、8、12、24 h 按“2.5.1”项色谱条件进样, 结果显示 1,8-桉叶素峰面积的 RSD 为 1.83%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.9 加样回收率考察 取包合物 9 份, 分别加入低、中、高质量浓度的 1,8-桉叶素对照品溶液各 3 份, 按照“2.5.3”项方法处理后, 按“2.5.1”项色谱条件进样测定, 计算 1,8-桉叶素加样回收率。结果显示 1,8-桉叶素高、中、低质量浓度平均回收率分别为 99.43%、95.98%、98.12%, RSD 分别为 1.71%、0.57%、0.57%。

2.6 正交试验优化 XJP 挥发油包合物制备工艺

2.6.1 正交试验因素、水平的确定 参照单因素实

验结果,可知 HPCD 与挥发油的质量体积比、搅拌转速对试验的影响较小,且当 HPCD 与挥发油的质量体积比为 10:1,搅拌转速为 900 r/min 时综合评分最高,故固定二者。选择 HPCD 与无水乙醇的质

量体积比 (X_1)、包含温度 (X_2) 以及包含时间 (X_3) 作为影响因素,以包含率 (Y_1)、收率 (Y_2)、含油率 (Y_3) 及包合物中 1,8-桉叶素含量 (Y_4) 为指标,建立 $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表 7。

表 7 正交试验因素水平及结果

Table 7 Orthogonal experimental factor-levels and results

编号	X_1	$X_2/^\circ\text{C}$	X_3/h	X_4 (误差)	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$	$Y_4/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	综合评分
1	8:20 (1)	45 (1)	1 (1)	(1)	75.93	97.96	6.52	17.16	90.79
2	8:20 (1)	55 (2)	2 (2)	(2)	80.58	96.24	7.04	19.39	94.84
3	8:20 (1)	65 (3)	3 (3)	(3)	74.38	91.77	6.82	18.26	89.40
4	10:20 (2)	45 (1)	2 (2)	(3)	76.86	94.50	6.84	17.85	91.07
5	10:20 (2)	55 (2)	3 (3)	(1)	80.58	95.60	7.09	19.50	94.79
6	10:20 (2)	65 (3)	1 (1)	(2)	76.86	98.26	6.58	17.03	91.28
7	12:20 (3)	45 (1)	3 (3)	(2)	82.64	94.71	7.34	20.10	96.24
8	12:20 (3)	55 (2)	1 (1)	(3)	86.77	95.33	7.66	20.45	98.97
9	12:20 (3)	65 (3)	2 (2)	(1)	82.64	91.66	7.58	19.79	95.30
K_1	275.03	278.10	281.04	280.88					
K_2	277.14	288.60	281.21	282.36					
K_3	290.51	275.98	280.43	279.44					
R	15.48	12.62	0.78	2.92					

2.6.2 信息熵法确定各指标权重系数^[17]

(1) 建立原始数据矩阵: 现有 m 个待评项目, n 个评价指标, 建立原始数据矩阵 $Y=(A_{ij})_{m\times n}$, 其中 A_{ij} 为第 j 个指标下第 i 个项目的评价值, m 为正交试验次数 ($m=9$), n 为评价指标 ($n=4$)。

(2) 原始数据矩阵标准化处理: 由于评价指标单位不统一, 故在数据处理前需进行指标标准化处理, 将原始数据矩阵 $Y=(A_{ij})_{m\times n}$ 转化为标准化数据矩阵 $B=(X_{ij})_{m\times n}$ 。正交试验中包含率、收率、含油率及包合物中 1,8-桉叶素含量均为正向指标, 标准化公式为 $X_{ij}=(A_{ij}-A_{ij\min})/(A_{ij\max}-A_{ij\min})$, 其中 X_{ij} 为标准化数据。

(3) 标准化数据矩阵归一化处理: 进行指标归一化处理, 将标准化数据矩阵 $B=(X_{ij})_{m\times n}$ 转化为标准化数据概率矩阵 $P=(P_{ij})_{m\times n}$ 。转化公式为 $P_{ij}=X_{ij}/\sum_{i=1}^n X_{ij}$, 其中 P_{ij} 表示第 j 个指标下第 i 个项目的概率, 且 $0\leq P_{ij}\leq 1$ 。

(4) 计算指标信息熵 (H_j): 计算第 j 个指标的 H_j , 计算公式如下。

$$H_j = - \sum_{i=1}^m (P_{ij} \times \ln P_{ij}) / \ln m$$

当 $P_{ij}=0$ 时, $\ln P_{ij}$ 无意义, 故 $P_{ij}=0$ 时, 将 $P_{ij}\times$

$\ln P_{ij}$ 修正为 0。

包含率、收率、含油率及包合物中 1,8-桉叶素含量的信息熵 H_j 分别为 0.866 6、0.871 8、0.953 5、0.936 2。

(5) 计算各指标的差异系数 (g_j) 及熵权系数 (W_j): g_j 计算公式为 $g_j=1-H_j$; W_j 计算公式为 $W_j=g_j/\sum_{j=1}^n g_j$, 其中 $0\leq W_j\leq 1$ 。

包含率、收率、含油率及包合物中 1,8-桉叶素含量的 g_j 分别为 0.133 4、0.128 2、0.046 5、0.063 8, W_j 分别为 0.358 6、0.344 7、0.125 1、0.171 5。

(6) 综合评分的计算: 综合评分 $= (Y_1/Y_{1\max} \times 0.358\ 6 + Y_2/Y_{2\max} \times 0.344\ 7 + Y_3/Y_{3\max} \times 0.125\ 1 + Y_4/Y_{4\max} \times 0.171\ 5) \times 100$ 。

2.6.3 结果分析

表 8 方差分析

Table 8 Analysis table of variance

因素	偏差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
X_1	46.982 2	2	23.491 1	33.058 1	$P<0.05$
X_2	30.445 4	2	15.222 7	21.422 3	$P<0.05$
X_3	0.112 2	2	0.056 1	0.078 9	
X_4 (误差)	1.421 2	2	0.710 6	1.000 0	

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

素对综合评分的影响大小为 $X_1 > X_2 > X_3$, 其中 X_1 、 X_2 对综合评分有显著性的影响 ($P < 0.05$), 最佳工艺为 HPCD 与挥发油的质量体积比为 10 : 1, HPCD 与无水乙醇的质量体积比为 12 : 20, 包含温度 55 °C, 包含时间 2 h, 搅拌转速 900 r/min。

2.6.4 验证实验 按照“2.6.3”项中确定的最佳工艺, 平行制备 3 份 XJP 挥发油包合物, 具体工艺为称取 12 g HPCD 至 50 mL 烧杯中, 加入 20 mL 无水乙醇, 于 55 °C 下搅拌溶解, 后逐滴加入 1.2 mL XJP 挥发油 (与无水乙醇 1 : 1 混匀), 保持 55 °C, 在 900 r/min 的转速下搅拌 2 h, 40 °C 减压浓缩干燥, 石油醚洗涤 3 次, 室温下挥至恒定质量, 即得。实验结果见表 9, 制得的包合物平均包含率为 88.15%, 收率为 96.11%, 含油率为 7.65%, 包合物中 1,8-桉叶素的含量为 20.28 mg/g, 综合评分为 99.67, RSD 值为 0.36%, 表明该工艺稳定。

表 9 验证实验结果

Table 9 Results of verification test

编号	包含率/ %	收率/ %	含油率/ %	1,8-桉叶素/ (mg·g ⁻¹)	综合评分	RSD/ %
1	87.81	94.49	7.75	20.45	99.26	0.36
2	87.81	97.85	7.49	20.33	99.91	
3	88.84	96.01	7.72	20.06	99.84	
平均值	88.15	96.11	7.65	20.28	99.67	

2.7 包合物的表征

2.7.1 薄层色谱 (TLC) 分析 对 HPCD、1,8-桉叶素、挥发油、包合后的挥发油、包合物及物理混合物 (1.2 mL 挥发油加入 12 g HPCD 中研磨 20 min) 进行 TLC 分析, 其中 HPCD、包合物及物理混合物按照“2.5.3”项方法进行处理, 1,8-桉叶素、挥发油、包合后的挥发油则取适量无水乙醇稀释。吸取上述样品溶液, 分别点样于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯 (17 : 3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 于 105 °C 下烘烤至斑点显色清晰。结果见图 2, 可见 HPCD 未显示出斑点, 挥发油、包合后的挥发油、包合物及物理混合物中化学成分几乎一致, 均含有 1,8-桉叶素, 表明包合前后挥发油中主要成分未发生变化。

2.7.2 紫外吸收光谱 对 HPCD、挥发油、包合物及物理混合物进行紫外吸收光谱分析, 取 HPCD、包合物、物理混合物、挥发油适量无水乙醇溶解。将上述样品进行紫外吸收光谱分析, 扫描范围

200~400 nm。结果见图 3, 挥发油、物理混合物在 300 nm 处有紫外吸收, 而包合物、HPCD 中未见紫外吸收, 且二者吸收曲线相似, 表明包合物已形成。

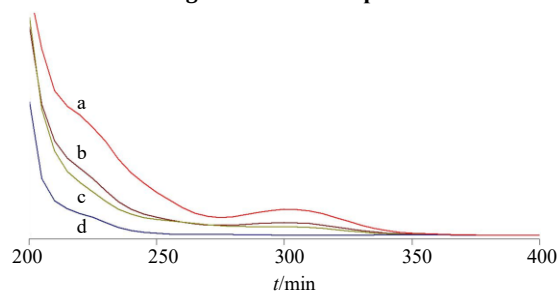


1-HPCD 2-1,8-桉叶素 3-挥发油 4-包合后的挥发油 5-包合物 6-物理混合物

1-HPCD 2-eucalyptol 3-volatile oils 4-volatile oils after inclusion 5-inclusion compounds 6-physical mixture

图 2 样品 TLC 图

Fig. 2 TLC of samples



a-挥发油 b-物理混合物 c-包合物 d-HPCD
a-volatile oils b-physical mixture c-inclusion compounds d-HPCD

图 3 紫外吸收光谱

Fig. 3 UV absorption spectrum

2.7.3 傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析 取 HPCD、物理混合物、包合物及挥发油适量, 将之与溴化钾共同压片, 在 4000~400 cm⁻¹ 波数进行 FTIR 分析。结果见图 4, 可知挥发油在 3 453.51、2 926.84、1 677.87 cm⁻¹ 有较强的特征吸收峰, 且在指纹区 1 155.53~669.20 cm⁻¹ 存在多个吸收峰, 而包合物中 2 929.62、1 669.48 cm⁻¹ 处吸收峰明显减弱, 表明挥发油已经进入 HPCD 空腔中, 导致其红外震动受限。HPCD、物理混合物以及包合物 3 者红外吸收图谱相似, 但又存在细微差别, 如 HPCD 在 2 362.42 cm⁻¹ 处表现有特征吸收, 但物理混合物、包合物中此处吸收峰消失; 物理混合物、包合物分别在 2 925.43、2 929.62 cm⁻¹ 及 1 673.67、1 669.48 cm⁻¹ 处存在特征吸收峰,

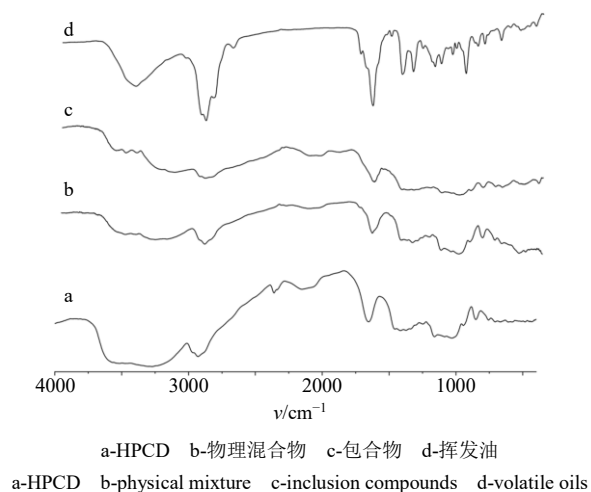


图 4 样品 FTIR 结果

Fig. 4 FTIR result of samples

且峰形、峰面积存在差异,而两者指纹区图谱也存在一定差别,表明二者为不同物象。

2.7.4 差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 对 HPCD、挥发油物理混合物、挥发油、包合物进行 DSC 分析,扫描条件为以空氧化铝 (Al_2O_3) 坩埚为空白参比,另一坩埚中加入待测物质,扫描范围为 25~400 °C,升温程序为 10 °C/min,测定气体为空气。结果见图 5, HPCD、挥发油分别在 56.5、49.0 °C 处有特征吸热峰,物理混合物的特征吸热峰表现在 55.3 °C 处,此处特征吸热峰的改变可能是由于挥发油中一些低沸点物质的存在,使得物理混合物的特征吸热峰降低。而包合物则在 83.4 °C 表现出 1 个特征吸热峰,且未表现挥发油在 141.6 °C 处的特征吸热峰,且其热熵值变化明显,表明形成了新的物相,且其热稳定性有着一

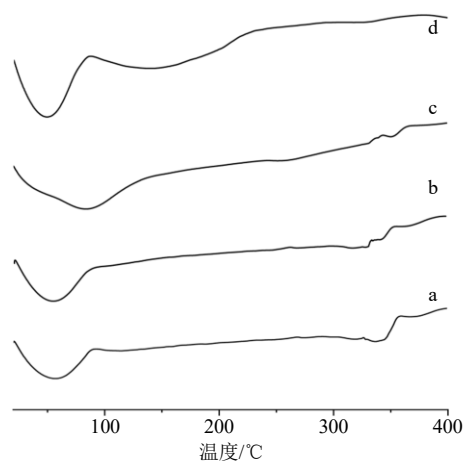


图 5 差示扫描量热结果

Fig. 5 Differential scanning calorimetry result

定的提升。此外,包合物除在 326.4~364.1 °C 处与 HPCD 存在一定差异外,其余温度均表现出与 HPCD 相似的 DSC 图,也表明包合物已形成。

2.7.5 SEM 观察 取适量 HPCD、物理混合物、包合物,真空镀金后固定于铜板上,分别于 500×、5000× 倍数下通过 SEM 观测各样品形貌。结果见图 6, HPCD 为扁平空心球状结构,且表面凹凸不平,分布有细小孔洞。物理混合物仍表现出与 HPCD 相似的形貌,但体积较 HPCD 更小,推测可能是由于研磨导致原有扁平空心球状结构破坏,但破坏不完全。包合物则表现出与 HPCD、物理混合物完全不同的形貌,原有扁平空心球状结构消失,变为表面较为平整、光滑的块状结构。

2.7.6 X 射线衍射 (XRD) 分析 取 HPCD、物理

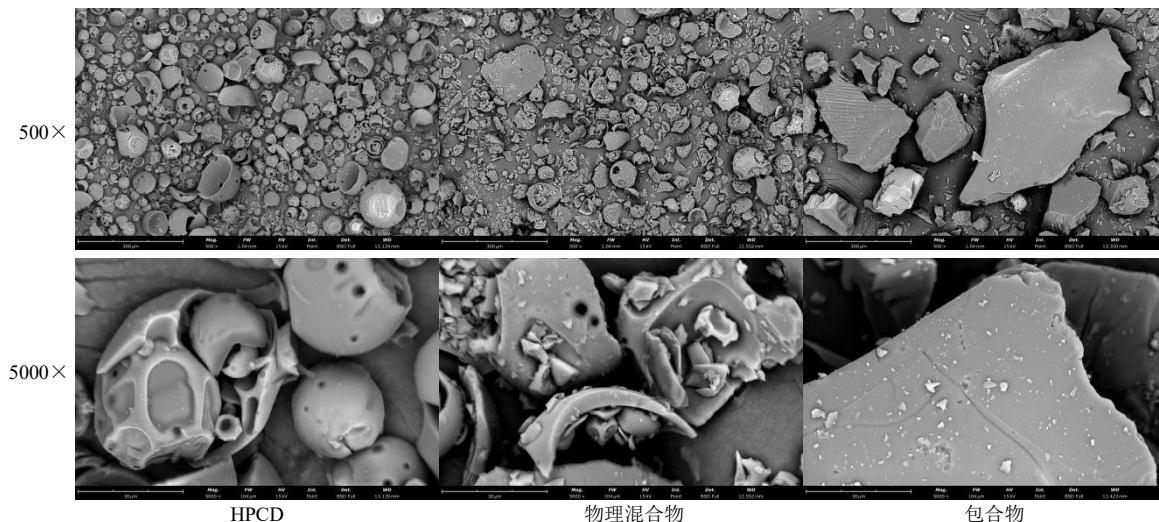


图 6 样品扫描电镜结果

Fig. 6 SEM result of samples

混合物、包合物进行 XRD 检测, 实验条件为 Cu 靶 (电压 40 kV, 电流 40 mA), 步进扫描 0.02°/步, 扫描范围 10°~80°, 扫描速度 2°/min。结果见图 7, HPCD、物理混合物、包合物均在 14°~22.5°有衍射峰, 但包合物衍射峰较强, 3 者 XRD 图谱相似, 均表现为无定形结构; 包合物在 22.5°~27°表现出与 HPCD 不同的峰形。表明包合挥发油后, 其晶型结构并未发生显著改变。

2.7.7 挥发油包合前后成分变化 分别取包合前、后挥发油 100 μ L, 加入无水乙醇稀释至 5 mL, 摇匀, 过 0.22 μ m 滤头, 按下述条件检测, 检测结果见图 8。使用中南大学中药现代化研究中心研发的“中药指纹图谱计算软件”, 以平均图谱为标准计算

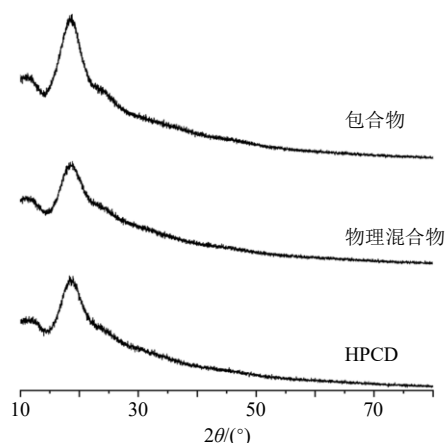


图 7 样品 X 射线衍射结果
Fig. 7 XRD result of samples

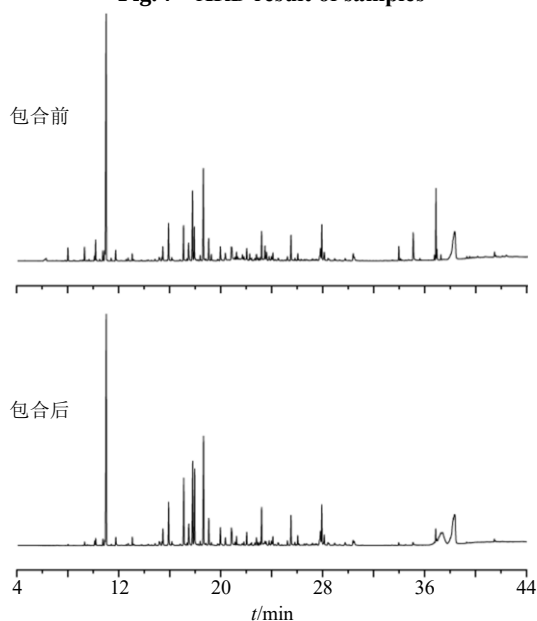


图 8 包合前、后挥发油 GC-MS 结果

Fig. 8 GC-MS results of volatile oil before and after inclusion

相似度, 包合前、后挥发油 GC-MS 指纹图谱相似度为 0.979、0.979, 表明包合前后挥发油相似, 而包合前、后某些成分存在差异可能是由于提取包合物中挥发油的过程所致。

GC 条件: J&W 122-5532 石英毛细管柱 (30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m), 柱温 40 $^{\circ}$ C (保持 1 min), 以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 180 $^{\circ}$ C (保持 2 min), 以 8 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 250 $^{\circ}$ C (保持 5 min), 进样口温度 230 $^{\circ}$ C, 载气为氦气, 体积流量 1 mL/min; 分流比 40:1, 进样量 1 μ L, 溶剂延迟 4 min。

质谱条件: 电离方式 EI, 离子源 230 $^{\circ}$ C, 电子能量 70 eV, 四极杆温度 150 $^{\circ}$ C, 辅助加热 290 $^{\circ}$ C, 扫描质量范围 m/z 50~600, 质谱检索标准库: NIST 11。

2.7.8 包合物稳定性影响因素考察

(1) 高温试验: 精密称取 3 份包合物, 每份 1.0 g, 置于烧杯中, 放置于药品稳定性试验箱, 设定温度为 60 $^{\circ}$ C, 于第 0、5、10 天取样, 观察包合物外观 (图 9) 及气味, 并测定包合物中的 1,8-桉叶素的含量, 计算 1,8-桉叶素损失率。包合物在第 5 天时, 外观为白色粉末, 无挥发油气味; 在第 10 天时, 包合物泛黄, 有轻微挥发油气味。在第 10 天时, 每克包合物中 1,8-桉叶素损失率为 29.55%, 结果提示包合物储存时应避免高温, 具体结果见表 10。

(2) 高湿试验: 精密称取 3 份包合物, 每份 1.0 g, 置于烧杯中, 放置于药品稳定性试验箱, 设定湿度为 90%, 于第 0、5、10 天取样, 观察包合物外

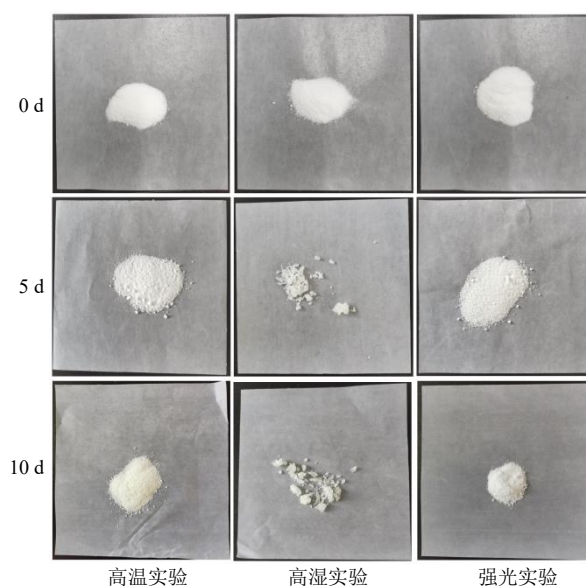


图 9 包合物外观

Fig. 9 Inclusion compound appearance

表 10 高温试验
Table 10 High temperature test

t/d	1,8-桉叶素/(mg·g ⁻¹)				损失率/%
	1	2	3	平均值	
0	20.59	20.59	20.59	20.59	0
5	15.95	16.13	16.15	16.08	21.88
10	14.24	14.58	14.69	14.50	29.55

观(图 9)及气味,并测定包合物中的 1,8-桉叶素的含量,计算 1,8-桉叶素损失率。在第 5 天时,包合物结聚为透明块状物,在第 10 天时,包合物结聚为淡黄色透明块状物;在第 5、10 天均无挥发油气味。在第 10 天时,包合物中 1,8-桉叶素损失率为 31.75%,结果提示包合物应当储存于干燥处,具体结果见表 11。

(3) 强光试验:精密称取 3 份包合物,每份 1.0 g,置于烧杯中,放置于药品稳定性试验箱,设定光强为 4500 lx,于第 0、5、10 天取样,观察包合物外观(图 9)及气味,并测定包合物中的 1,8-桉叶素的含量,计算 1,8-桉叶素损失率。在第 10 天时,包合物仍为白色粉末,无挥发油气味。在第 10 天时,包合物中 1,8-桉叶素损失率为 21.80%,结果提示光照对包合物储存的影响较小,但仍应避光处理,具体结果见表 12。

表 11 高湿试验
Table 11 High humidity test

t/d	1,8-桉叶素/(mg·g ⁻¹)				损失率/%
	1	2	3	平均值	
0	20.59	20.59	20.59	20.59	0
5	16.42	16.08	16.37	16.29	20.86
10	14.04	14.40	13.71	14.05	31.75

表 12 强光试验
Table 12 Strong light test

t/d	1,8-桉叶素/(mg·g ⁻¹)				损失率/%
	1	2	3	平均值	
0	20.59	20.59	20.59	20.59	0
5	17.05	17.49	17.04	17.19	16.84
10	16.08	16.14	16.07	16.10	21.80

3 讨论

XJP 善治因气机壅遏、气滞不通所致小儿腹痛。临床使用往往忽略了其挥发油类成分,而研究发现蜘蛛香、木香、草果挥发油均具有一定的药理作用。但挥发油理化性质不稳定,易分解,通常将其制成

一定的剂型来提高其稳定性。包合物是指将药物包载于环糊精空腔内,显著提升药物稳定性的一种给药形式。目前包合工艺已经较为成熟,有饱和水溶液法^[21]、研磨法^[22]、超声法^[20]、胶体磨法^[21]、单相溶液法^[20]等。单相溶液法是指以无水乙醇溶解 HPCD 及挥发油,形成单相溶液,制备包合物的一种方法。其包合率显著高于饱和水溶液法、研磨法、超声法,可能与增加了挥发油和 HPCD 分子间接触几率有关^[20]。

信息熵权法是一种客观赋权方法,其原理是依据指标评价结果,根据各指标的变异程度所反映的信息量来确定各指标权重,相较于指标评价通常采用的主观赋权法,信息熵权法能有效避免赋权时的主观性,更客观的对信息结果进行评价^[17, 23-24]。本研究发现,基于信息熵权法优选单相溶液法制备 XJP 挥发油 HPCD 包合物最佳工艺为:称取 12 g HPCD 至 50 mL 烧杯中,加入 20 mL 无水乙醇,于 55 °C 下搅拌溶解,后逐滴加入 1.2 mL XJP 挥发油(与无水乙醇 1:1 混匀),保持 55 °C,在 900 r/min 的转速下搅拌 2 h,40 °C 减压浓缩干燥,石油醚洗涤 3 次,室温下挥至恒定质量。对制得的包合物进行多种表征,验证了包合物的形成。影响因素试验表明,包合物应当避光、低温、低湿保存。该工艺简便、稳定,且使用的仪器较少,适合后续工厂放大生产,为后续进一步研究及产品开发提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄宝康,郑汉臣,张巧艳,等. 缬草和蜘蛛香的资源分布及民族药用调查 [J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(1): 12-15.
- [2] Zhang B, Wang Y, Jiang C M, et al. *Valeriana jatamansi* Jones inhibits Rotavirus-induced diarrhea via phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31(8): 1115-1122.
- [3] Wang L W, Sun Y, Zhao T T, et al. Antidepressant effects and mechanisms of the total iridoids of *Valeriana jatamansi* on the brain-gut axis [J]. *Planta Med*, 2020, 86(3): 172-179.
- [4] Xu Y N, Guo P X, Wang Y L, et al. Effect and mechanism of ethanol extracts of Muxiang (*Radix Aucklandiae*) on gastric ulcers in rats [J]. *Chung I Tsa Chih Ying Wen Pan*, 2020, 40(1): 59-66.
- [5] Zheng H, Chen Y L, Zhang J Z, et al. Evaluation of

- protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 250: 68-77.
- [6] 杨伟倩, 田洋, 张爱静, 等. 草果水提物对洛哌丁胺诱导的小鼠便秘症状的影响 [J]. 西南农业学报, 2020, 33(10): 2209-2214.
- [7] 赵兵, 郝萍, 高昂, 等. 缬草与蜘蛛香挥发油的抗菌抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(8): 1037-1040.
- [8] 陈飞龙, 谭晓梅, 汤庆发, 等. 不同产地木香挥发油成分的 GC-MS 分析比较 [J]. 中国药房, 2011, 22(23): 2187-2189.
- [9] 吴惠妃, 梅全喜, 李庆国, 等. 白木香种子挥发油化学成分及抗氧化性研究 [J]. 中药材, 2013, 36(9): 1463-1466.
- [10] 唐飞, 刘美辰, 敖慧. 木香与川木香挥发油化学成分及抗菌活性的对比研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 165-168.
- [11] 张琪, 黄燕, 杨扬. 草果挥发油的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4): 931-933.
- [12] 李绍林, 段启, 赵珍东, 等. 石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1935-1941.
- [13] 张焕焕, 王云, 张振海, 等. 共聚维酮-Soluplus 喷雾干燥微球包合肉桂油研究 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5723-5729.
- [14] 穆启运, 蓝涛华, 徐方方, 等. 正交试验优选川芎和细辛挥发油的 β -环糊精微囊萃取工艺及成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 1-5.
- [15] 管咏梅, 刘佳, 张建林, 等. 解郁安神方中 4 种混合挥发油脂质体的制备与评价 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(7): 1363-1370.
- [16] 张壮丽, 王纪芬, 汪婉莹, 等. 鱼腥草挥发油聚合物胶束的制备 [J]. 中成药, 2019, 41(7): 1490-1495.
- [17] 成余勤, 石森林, 来平凡. 基于熵权法和正交设计优化加减当归芍药散挥发油的 β -环糊精包合工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2951-2957.
- [18] 王红芳, 李国川, 陈层层, 等. 利肝隆颗粒组分挥发油提取、 β -环糊精包合工艺的优化 [J]. 中成药, 2019, 41(6): 1384-1388.
- [19] 王琪, 胡佳亮, 张金良, 等. 薄荷-荆芥穗挥发油羟丙基- β -环糊精包合物的制备 [J]. 中成药, 2020, 42(12): 3122-3128.
- [20] 陆兆光, 万琴, 孟瑾, 等. 青蒿挥发油羟丙基- β -环糊精包合物的制备及其抗病毒活性分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 11-15.
- [21] 李海亮, 崔小丽, 仝燕, 等. 2 种方法制备 4 种中药挥发油 β -环糊精包合物的规律性探索 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 908-912.
- [22] 徐佳, 黄一平, 王丽, 等. 石丹颗粒中挥发油包合工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1): 32-34.
- [23] 曾海蓉, 李婷娜, 冉倩, 等. 基于熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化桂枝芍药知母颗粒复方提取工艺 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 84-90.
- [24] 李珍, 乔向东, 杨洋, 等. 熵权法结合灰色关联度法评价白芷饮片质量 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(1): 61-67.

[责任编辑 郑礼胜]