

文章编号:1009-038X(2003)02-0067-04

β -环糊精包结莪术挥发油的技术条件

冯磊, 陶文沂*, 敖宗华, 尹光耀
(江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘要:为提高莪术挥发油生物利用度,研究了 β -环糊精包结莪术油的技术参数.以包合物油包结率及包合物收得率为考察指标,运用饱和水溶液包封法进行包结.当 $V(\text{油}):m(\beta\text{-环糊精}):V(\text{水})=1\text{ mL}:4\text{ g}:60\text{ mL}$,搅拌时间为2 h时,包合效果最佳,可稳定保持平均油包结率为62.29%.电镜观察证明了包合物的形成,GC-MS色谱分析表明包合前后莪术挥发油的化学组成基本不变.

关键词:莪术;挥发油; β -环糊精;包合工艺

中图分类号: R 282.4

文献标识码: A

Studies on Inclusion Complex of Volatile Oil from *Rhizoma curcumae* with β -Cyclodextrin

FENG Lei, TAO Wen-yi, AO Zong-hua, YIN Guang-yao
(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: To improve the bioavailability, the inclusion process conditions for volatile oil from *Rhizoma curcumae* with β -Cyclodextrin was studied. The ratio of volatile oil in the inclusion complex and recovery of inclusion complex were used as criteria in this experiment. The inclusion complex was made by saturated aqueous solution method. The best condition of inclusion complex was that the ratio of volatile oil, β -Cyclodextrin and water was 1:4:60 (mL/g/mL), and agitating for two hours. The ratio of volatile oil in the inclusion complex was about 62.29%. The complex formation was proved by electromicroscope. The chemical compositions of inclusive volatile oil from *Rhizoma curcumae* were not changed by GC-MS.

Key words: *Rhizoma curcumae*; volatile oil; β -Cyclodextrin; inclusion process

莪术挥发油可作为抗肿瘤药物的原料,且具有高效低毒的特点^[1-3].由于其不溶于水,挥发性较强,且对光、热敏感,在临床应用上受到一定的限制.莪术挥发油制成 β -环糊精(以下简称 β -CD)包合物,可以改善其理化性质,增加其稳定性、分散度和溶解度,掩盖其不良气味,提高药物的生物利用度^[4].作者采用正交试验法,探讨了莪术挥发油的

β -CD包合工艺条件,提高了包合物的稳定性.

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

FA1004型电子天平;上海精科天平仪器厂产品;HJ-3型数显恒温磁力搅拌器;常州国华电器有

收稿日期:2002-06-20; 修回日期:2002-09-16.

作者简介:冯磊(1974-),男,江苏无锡人,生物工程硕士研究生;*为通讯作者.

限公司产品;调温加热器:上海电理仪器厂产品;Finnigan Trace MS 气质联用仪:美国 Finnigan 公司产品;SX-40 型扫描电镜:日本明石公司产品; β -环糊精:中国医药集团上海化学试剂公司提供;本实验所用试剂均为分析纯。

1.2 原料

莪术药材购自浙江温州,经南京中医药大学中药学院陈建伟教授鉴定为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* 的干燥根茎。

1.3 提取

将莪术生药材制成粗粉,加适量水浸泡,按《中国药典》2000 版一部附录 XD 挥发油测定法提取^[5]。挥发油提取液经过无水硫酸钠脱水后,最终得到深棕色莪术挥发油,密闭保存,备用。此挥发油有较强的挥发性气味,相对密度 $D=0.9850$ g/mL。

1.4 包含实验设计及结果评判

采用正交实验设计,以 $V(\text{油}):m(\beta\text{-CD})$, $m(\beta\text{-CD}):V(\text{水})$, 搅拌时间为考察对象;以挥发油包结率、包含物得率作为筛选指标,权重系数分别为 0.7, 0.3, 运用 $L_9(3^4)$ 表进行综合评分。优选莪术挥发油的包含工艺,因素水平设计见表 1。

表 1 包结工艺因素水平表

Tab.1 Factors and levels in orthotropic experiment

水平	因素			搅拌时间/h
	$V(\text{油}):m(\beta\text{-CD})/$ (mL/g)	$m(\beta\text{-CD}):V(\text{水})/$ (g/mL)		
	A	B	C	
1	1:3	1:15		1.0 h
2	1:4	1:20		1.5 h
3	1:5	1:25		2.0 h

1.5 莪术油 β -CD 包含物的制备工艺

采用饱和水溶液液封装法。取一定量的 β -CD, 加入一定量的蒸馏水,制成饱和水溶液后,在恒温磁力搅拌机上慢慢滴加精密量取的莪术挥发油无水乙醇溶液(体积分数为 50%),在 50℃、200 r/min 下搅拌,后置冰箱中冷藏 24 h,抽滤。用少量蒸馏水及石油醚洗涤包含物,至无挥发油气味,放入干燥器中,30℃干燥 24 h 至恒重,得到白色粉状的 β -CD 挥发油包含物,计算相应的包含物得率:

包含物得率 = 包含物的质量(g)/[β -CD 投入质量(g) + 挥发油投入质量(g)]

1.6 挥发油测定器的空白回收率测定

精密量取 1 mL 莪术挥发油,加入 200 mL 水,按《中华人民共和国药典》2000 版一部附录 XD 挥发油测定法提取挥发油,计算空白回收率为 81.33% ($n=3$)。

1.7 包含物中挥发油包结率的测定

采用水蒸馏回收的方法。精确称取莪术挥发油 β -CD 包含物,置于 500 mL 圆底烧瓶中,加入 200 mL 水和几粒玻璃珠,按实验的方法,连接挥发油测定器,微沸 1.5 h 至油量不再增加为止,停止加热,放置 1 h,读取油的体积,计算包含物中油的包结率。

包含物中油的包结率 = 包含物中提出的油量(mL)/[挥发油投入量(mL) × 空白回收率]

1.8 包含物的扫描电镜成像法鉴定

取按实验 1.5 包含工艺制备的 β -CD 空白包含物(不含挥发油)及挥发油 β -CD 包含物各少许,在 SX-40 型扫描电镜下放大观察并成像。

1.9 包含物的 GC-MS 分析法鉴定

将包结前后的莪术挥发油进行 GC-MS 分析,并通过计算机与 NIST 和 Willy 质谱库提供的标准质谱图相对照。

色谱条件:ov1701 毛细管色谱柱,柱长 30 m,内径 0.25 mm,液膜厚度 0.25 μm ,载气为 He,进样口温度 250℃,起始柱温 50℃,以 10℃/min 升温至 240℃,保持 15 min。

质谱条件:电离方式 EI,电子能量 70 eV,离子源温度 200℃。

2 结果与讨论

2.1 β -CD 包含物正交实验结果及分析

在设定的因素与水平上,按 $L_9(3^4)$ 正交实验方法,结果见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交设计实验数据

Tab.2 The results of the orthotropic experiment

实验号	A	B	C	D(空列)	综合评分
1	1	1	1	1	82.73
2	1	2	2	2	83.16
3	1	3	3	3	82.26
4	2	1	2	3	92.67
5	2	2	3	1	98.34
6	2	3	1	2	80.58
7	3	1	3	2	98.60
8	3	2	1	3	84.91
9	3	3	2	1	75.83
K_1	248.15	274.00	248.22	256.90	
K_2	271.59	266.41	251.66	262.34	
K_3	259.34	238.67	279.20	259.84	
R	23.44	35.33	30.98	5.44	

注:包含物得率评分 = (包含物得率/最大包含物得率) × 0.3 × 100;包含物油包结率评分 = (油利用率/最大油利用率) × 0.7 × 100;综合评分 = 包含物得率评分 + 包含物油利用率评分。

对表 2 中综合评分进行方差分析,结果见表 3.

表 3 方差分析表

Tab.3 Analysis of standard deviation

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P	显著性
A	91.63	2	45.815	18.55	>0.05	
B	230.59	2	115.295	46.68	<0.05	*
C	192.23	2	96.115	38.91	<0.05	*
误差	4.94	2	2.47			

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

以综合评分为考察指标,由直观分析可知,各因素对莪术挥发油包合工艺的影响作用大小依次为 $B > C > A$. 方差分析结果表明:在包合温莪术挥发油的工艺中, $m(\beta\text{-CD}):V(\text{水})$ 的配比、搅拌时间对包合温莪术挥发油有显著影响, $V(\text{油}):m(\beta\text{-CD})$ 配比的影响也较显著. 由此,可确定 $\beta\text{-CD}$ 包合温莪术挥发油的最佳工艺为: $A_2B_1C_3$, 即 $V(\text{油}):m(\beta\text{-CD}):V(\text{水})$ 的配比为 1 mL:4 g:60 mL, 搅拌时间为 2 h.

2.2 扫描电镜成像鉴定结果

$\beta\text{-CD}$ 空白包合物(不含挥发油)及挥发油 $\beta\text{-CD}$ 包合物在 SX-40 型扫描电镜下放大观察并成像的结果见图 1 和图 2.

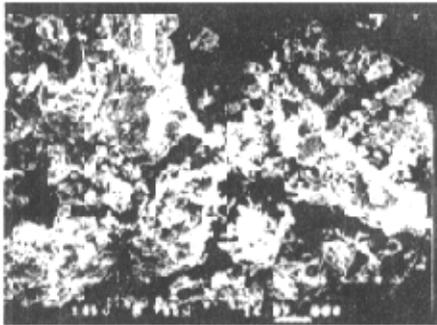


图 1 β-CD 空白包合物成像(1050×)

Fig.1 SEM pictures of β-Cyclodextrin



图 2 挥发油 β-CD 包合物成像(1050×)

Fig.2 SEM pictures of inclusion complex of volatile oil from *Rhizoma Curcumae* with β-Cyclodextrin

从图中可看出 $\beta\text{-CD}$ 空白包合物呈现不规则的团块状,挥发油 $\beta\text{-CD}$ 包合物则为规则块状结晶.

2.3 GC-MS 分析法分析结果

GC-MS 得到的色谱图见图 3 和图 4,由图可见,包结前后莪术挥发油的主要成分基本一致.

3 结 论

1) 通过正交实验得出,莪术挥发油包合物制备在采用饱和水溶液包封法的情况下, $V(\text{油}):m(\beta\text{-CD}):V(\text{水})$ 的配比为 1 mL:4 g:60 mL, 搅拌时间为 2 h, 包合效果最好. 根据此包合条件进行 3 次平行实验,结果表明:该工艺基本稳定,平均包合物得率为 81.52%,油包结率为 62.29%.

2) 扫描电镜观察可知含油与不含油的包合物形状明显不同,晶格排列发生变化,证明在 $\beta\text{-CD}$ 包合莪术油后有一新物相形成.而对包合前后挥发油的 GC-MS 色谱检验结果表明,莪术挥发油在包结前后化学成分基本不变.

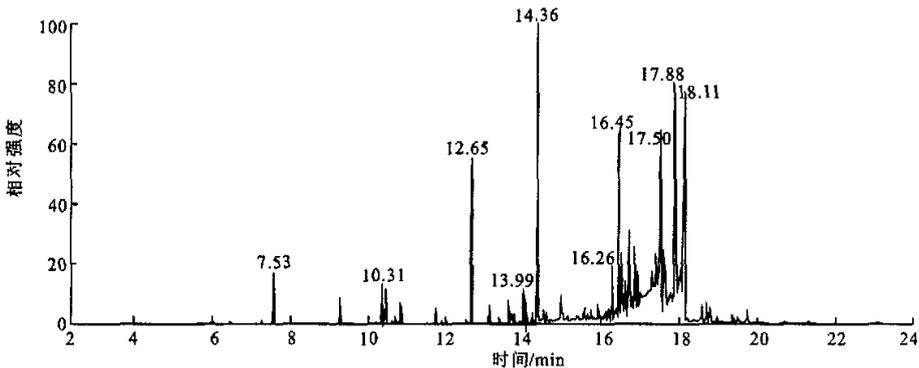


图 3 包结前莪术油的 GC-MS 图

Fig.3 The GC-MS chromatogram of volatile oil from *Rhizoma Curcumae* before inclusion

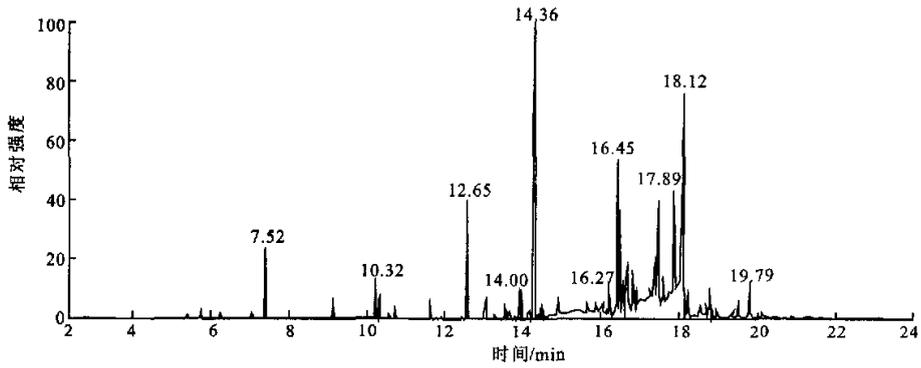


图4 包结后莪术油的GC-MS图

Fig.4 The GC-MS chromatogram of volatile oil from Rhizoma Curcumae after inclusion

3) 从验证实验结果看,此包合工艺的莪术挥发油的平均包结率为62.29%,尚有部分挥发油损失,可能是挥发油在包结过程中少量分散溶解到水中。

如果把 β -CD直接加入到莪术挥发油蒸馏液中进行包结,有可能克服上述不足。

参考文献:

- [1] 徐厚谦,李应东. 莪术研究概况[J]. 甘肃中医学院学报,1995,12(1):46-49.
- [2] 满伟. 莪术油药理研究及临床应用进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(7):663-664.
- [3] 李应东,李啸红,王毓美. 中药莪术拮抗致突变的初步研究[J]. 中国优生与遗传杂志,1999,7(1):22-23.
- [4] 王丽君,张伟. 莪术油- β -环糊精包合物的制备工艺及稳定性的考察[J]. 中草药,2001,32(4):314-316.
- [5] 中华人民共和国药典编委会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2000.

(责任编辑:朱明)