

β -环糊精聚合物微球包结当归挥发油的研究

李仲谨, 韩春鹏, 杨威, 陈玉苗, 丁金浩, 田晓静

(陕西科技大学教育部轻工助剂化学与技术重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘要:以 β -环糊精聚合物(β -CDP)微球为原料,采用饱和水溶液法制备当归挥发油 β -CDP微球包结物;以挥发油包结率和包结物产率为评价指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验设计对制备工艺进行了优化。结果表明:最佳制备工艺条件是挥发油1 mL, β -CDP微球为6 g,包结温度为30℃,包结时间为4 h,水为120 mL;影响因素的大小依次为:包结时间> β -CDP微球与水之比>包结温度>当归挥发油和 β -CDP微球投料比。

关键词: β -环糊精聚合物微球;当归挥发油;回归分析法;方差分析

中图分类号:TQ461

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2010)12-0040-04

Study on β -cyclodextrin polymeric microspheres of angelica oil

LI Zhong-jin, HAN Chun-peng, YANG Wei, CHEN Yu-miao, DING Jin-hao, TIAN Xiao-jing

(Key Laboratory of Auxiliary Chemistry and Technology for Chemical Industry of the Ministry of Education, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: With β -cyclodextrin polymer (β -CDP) microspheres as material, volatile oil β -CDP inclusion microspheres are prepared by saturated aqueous solution method; With volatile oil inclusion rate and the rate of inclusion property as evaluation index, the fabrication process is optimized through $L_9(3^4)$ orthogonal experimental design. The results show that the best preparation conditions are as follows: 1 mL of volatile oil, 6 g of β -CDP microspheres, 30℃ of inclusion temperature, 4 hours of inclusion time, 120 mL of water; The importance of influencing factors is in turn: inclusion time > β -CDP ratio of the microspheres and water > inclusion temperature > the feed ratio of volatile oil and β -CDP microspheres.

Key words: β -cyclodextrin polymer microspheres; angelica oil; regression analysis; variance analysis

中药当归具有补血活血、调经止痛、润肠通便等功效,是我国传统妇科用药^[1-2]。当归的主要有效成分为多糖和挥发油,由于挥发油具有较强的挥发性,采用水蒸气蒸馏法提取后,在制剂及储存过程中容易散失^[3-6],因而影响了当归制剂的稳定性。为了尽可能保证制剂中挥发油成分的稳定,确保药物治疗效,一般采用包结技术将其制成 β -环糊精包结物^[7-8]。但其包结率和包结物产率较低,只有80%左右^[9]。 β -环糊精聚合物(β -cyclodextrin polymer, β -CDP)微球是近年来发展的一种无毒、生物相容性好的新型载体^[10-13],由 β -环糊精(β -CD)与环氧氯丙烷(ECH)交联而成,粒径分布在一定范围内,既保留了 β -CD自身的分子结构特点,又具有空间三维网络结构^[14]。笔者采用饱和水溶液法制备当归挥发油 β -CDP微球包结物^[15],并通过正交试验设计对制备工艺进行了优化。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

β -CDP微球,自制;当归挥发油,陕西瑞正生物有限公司;无水乙醇等均为分析纯试剂。津南玻璃

仪器仪表厂 91678500 型挥发油检测器;中国科学院仪器厂 KYKY1000B 型扫描电子显微镜(SEM);丹东百特科技有限公司 BT-9300Z 型激光粒度分布仪;日本岛津公司 UV-265FW 型傅里叶红外光谱仪(IR);日本理学 D/max-2200pc 型 X 射线衍射仪(XRD);美国 TA 公司 Q500 型热重分析仪(TGA)。

1.2 实验过程

1.2.1 β -CDP 微球的制备^[16-17]

在三口烧瓶中放入 6 g β -CD 溶于一定浓度的 NaOH 溶液,加入 7.34 g ECH 交联 1.5 h,在高速搅拌下,加入一定量含有乳化剂(司盘 80:吐温 20 = 3:1,质量比)的煤油,反应 6 h,离心,依次用稀盐酸、乙醇、蒸馏水、丙酮充分洗涤,除去各种杂质。置于真空通风橱内 30℃ 下晾干,最后在真空干燥箱于 60℃ 下干燥至恒重,即得 β -CDP 微球。

1.2.2 当归挥发油 β -CDP 微球包结物的制备

分别取一定量合成的 β -CDP 微球,加一定量蒸馏水加热溶解,制成饱和溶液,放凉至所需温度,加 1 mL 当归挥发油混合,恒温电磁搅拌一定时间后,取出,冷却,置冰箱冷藏 24 h,然后取出抽滤,包结物再用少量无水乙醇洗涤,置 40℃ 下减压干燥 5 h,即得。

收稿日期:2010-07-02

基金项目:国家自然科学基金项目(50573046)

作者简介:李仲谨(1946-),男,教授,博士生导师,研究方向为主要从事天然高分子产物研究;韩春鹏(1970-),男,硕士生,研究方向为高分子改性材料,通讯联系人,xinanhan@126.com。

1.2.3 挥发油空白回收率的测定

取当归挥发油 1 mL, 置圆底烧瓶中, 加入蒸馏水 300 mL, 以水蒸气蒸馏法提取至油量不再增加, 用挥发油测定器测定挥发油量, 计算当归挥发油空白回收率为 82%。

1.2.4 挥发油包结率及包结物的产率的测定

按《中国药典》2005 年版 I 部附录挥发油测定法(甲法)^[2]进行。当归挥发油包结物置圆底烧瓶中, 加蒸馏水 300 mL, 连接挥发油测定器, 使沸腾 2 h 左右, 直至油量不再增加时停止加热, 放置至室温, 然后读取挥发油回收量(mL), 计算挥发油包结率(Y_1)和包结物的产率(Y_2), 见式(1)、式(2)。

$$Y_1 = \frac{\text{包结物中挥发油的量(mL)}}{\text{投油量(mL)} \times \text{挥发油空白回收率(\%)}} \times 100\% \quad (1)$$

$$Y_2 = \frac{\text{干燥后包结物重量(g)}}{\beta\text{-CDP 微球重量(g)} + \text{加入挥发油重量(g)}} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.5 包结工艺的正交优化实验

经初步实验, 选定当归挥发油和 β -CDP 微球油投料比(A)、包结温度(B)、包结时间(C)、 β -CDP 微球与水之比(D)为影响因素, 每因素 3 水平, 见表 1, 进行正交优化实验。

表 1 包结工艺的因素水平表

因素水平	A/(mL:g)	B/°C	C/h	D/(g:mL)
1	1:4	30	3	1:10
2	1:6	45	4	1:15
3	1:8	60	5	1:20

2 结果与讨论

2.1 β -CDP 微球的 SEM 图

由图 1 中 SEM 图分析表明, β -CDP 微球表面比较圆整光滑, 成较好的圆球形。经激光粒度分布仪

测得的载药微球的中位径(D_{50})为 98.72 μm , D_{97} 为 215.03 μm , 平均粒径为 112.69 μm , 跨距为 1.68。粒径越小包结效果越好, 过 40 目筛分。

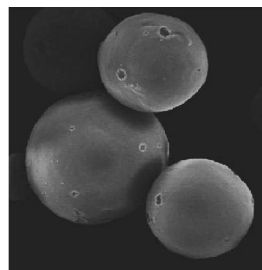
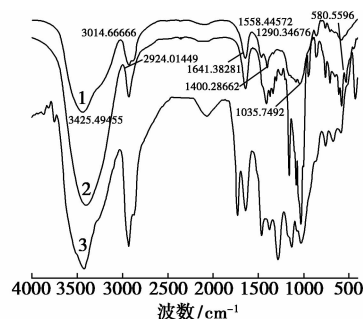


图 1 β -CDP 微球的扫描电镜图($\times 250$)

2.2 β -CD、 β -CDP 微球和当归挥发油 β -CDP 微球包结物的 IR 表征

图 2 中在 3 300 ~ 3 400 cm^{-1} 处都出现强的—OH 伸缩振动吸收峰, 表明 β -CD 的多羟基官能团在聚合前后均存在, 但 β -CDP 微球中—OH 峰较 β -CD 明显减弱。在 2 920 cm^{-1} 处都有—CH₂—的伸缩振动峰, 且 β -CDP 微球的峰较强, 是由于 β -CD 与交联剂交联后—CH₂—增多所致。1 300 ~ 1 000 cm^{-1} 处是醚键的特征峰, 聚合后的峰较宽较强,



1— β -CDP 微球; 2— β -CD;
3—当归挥发油 β -CDP 微球包结物

图 2 β -CD、 β -CDP 微球及当归挥发油 β -CDP 微球包结物的红外谱图

(上接第 41 页)

[12] Jiang Xiaoxiang, Ellis N. Upgrading bio-oil through emulsification with biodiesel: Mixture production [J]. Energy Fuels, 2010, 24: 1358–1364.

[13] Ikura M, Stanculescu M, Hogan E. Emulsification of pyrolysis derived bio-oil in diesel fuel [J]. Biomass and Bioenergy, 2003, 24: 221–232.

[14] Chiamonti D, Bonini M, Fratini E, et al. Development of emulsions from biomass pyrolysis liquid and diesel and their use in engines—Part 1: Emulsion production [J]. Biomass and Bioenergy, 2003, 25: 85–99.

[15] 张健, 李文志, 陆强, 等. 复配乳化剂乳化生物油/柴油技术 [J]. 农业机械学报, 2009, 40(2): 102–106.

[16] Chiamonti D, Bonini M, Fratini E, et al. Development of emulsions from biomass pyrolysis liquid and diesel and their use in engines—Part 2: Tests in diesel engines [J]. Biomass and Bioenergy, 2003, 25: 101–111.

[17] Tang Z, Zhang Y, Guo Qingxiang. Catalytic hydrocracking of pyrolytic lignin to liquid fuel in supercritical ethanol [J]. Ind Eng Chem Res, 2010, 49: 2040–2046.

[18] 刘承运, 陆强, 孙书生, 等. 稻壳生物油的燃烧及污染物排放特性研究 [J]. 燃料化学学报, 2008, 36(5): 577–582.

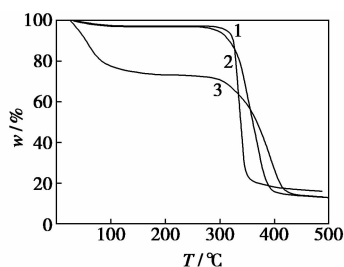
[19] Scholze B, Meier D. Characterization of the water-insoluble fraction from pyrolysis oil (Pyrolytic Lignin): Part I. PY-GC/MS, FTIR, and functional groups [J]. J Anal Appl Pyrolysis, 2001, 60(1): 41–54. ■

进一步证明了 β -CD与交联剂有明显的交联。1线和3线相比较,包结物在 $2\ 100\sim 2\ 400\text{ cm}^{-1}$ 处出现强的累积双键伸缩振动峰,而 β -环糊精微球本身没有,这是由于当归挥发油被微球包结的结果。另外包结物在 $1\ 400\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$ 处出现很强的苯环吸收峰,在 $3\ 300\sim 3\ 400\text{ cm}^{-1}$ 处出现更强的—OH伸缩振动吸收峰,说明以酚类、烯类、芳香族化合物为主要成分的当归挥发油的包结物形成。因此由红外光谱分析主要官能团的吸收峰变化,可表明包结物形成。

2.3 TGA 分析

实验在 N_2 气中(N_2 气流速为 20 mL/min)进行,升温范围 $20\sim 550^\circ\text{C}$,控制升温速率为 10°C/min 。分别进行测定,结果见图3。

由图3可知, β -CDP微球(1)和 β -CD(2)的热分解过程2个阶段。第1阶段并不明显,为 $50\sim 100^\circ\text{C}$, β -CD和 β -CDP微球失重率分别约为9%和3%,这是由于失水造成。从 $100\sim 400^\circ\text{C}$ 为第2阶段,在此阶段之后基本不再随温度的升高而变化, β -CD和 β -CDP微球失重率分别约为80%和86%,这是由于 β -CD主链、交联键的断裂以及 β -CD葡萄糖单元的分解致使 β -CDP微球失重率比 β -CD呈增大趋势且较为平缓。 β -CDP微球在 283.6°C 开始失重,因此该聚合物在 283.6°C 以下不会因分解而失重,具有较好的热稳定性。



1— β -CDP微球;2— β -CD;3—当归挥发油 β -CDP微球包结物

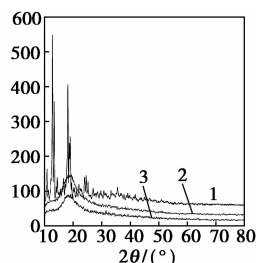
图3 β -CD、 β -CDP微球及当归挥发油 β -CDP微球包结物的TGA曲线

包结当归挥发油的 β -CDP微球(3)呈现明显的2个阶段,第1阶段在 25°C 开始脱水,温度低于 β -CDP微球,且失重率达25.46%,第2阶段到 290°C 就开始分解,说明当归挥发油 β -CDP微球包结物中自由水比例较大,而键合水比例较少。 β -CDP微球分解时失重较小,当归挥发油 β -CDP微球包结物失重较大,失重率达86.76%。显示已形成一种新的物相,说明 β -CDP微球主链,交联链不易断裂、包结当归挥发油后主链、交联链较不稳定,致

使包结物的热稳定性略微下降,这可能与当归油的挥发性有关。

2.4 β -CDP微球和当归挥发油 β -CDP包结物的XRD分析

由图4中1线可以看出,在 2θ 为 11° 、 13° 、 18° 、 25° 、 36° 附近存在明显的特征衍射峰,为“A”型结晶形态特征,即表现出晶体衍射特征和非晶弥散衍射特征,说明 β -环糊精颗粒同时含有结晶区和非结晶区。而由2线看出, β -CDP微球在 2θ 在 18° 、 11° 、 13° 、 25° 、 36° 附近的衍射峰基本消失,附近的衍射峰强度明显降低,表明已基本呈现无定形聚集态。原因在于交联反应使原有的 β -CD聚集形态发生了改变,使 β -CD分子链的分子间作用力、氢键作用力显著减弱,从而导致其结晶能力显著降低,其结晶度为6.19%左右。3线不仅在 2θ 为 11° 、 13° 、 25° 、 36° 附近的衍射峰消失,而且在 18° 附近也基本消失,说明产生了新的镜面反射,出现了新的物相,在反应过程中,虽然发生了一定程度的膨胀,但是仅限于颗粒的无定形区,化学反应很容易在此区域发生。说明挥发油已与 β -CDP微球结合。从上述鉴定结果来看,表明当归油 β -CDP微球包结物形成。



1— β -CD;2— β -CDP微球;
3—当归挥发油 β -CDP微球包结物

图4 β -CD、 β -CDP微球及当归挥发油 β -CDP微球包结物的XRD谱图

2.5 正交试验结果

以挥发油包结率($Y_1/\%$)和包结物产率($Y_2/\%$)为评价指标,综合考虑各项指标的优劣及重要程度排序,分别以最高产率和包结率记为10分,最低为1分,得出每号实验结果的经验得分 Y_3 。然后把它作为因变量,将各指标经验得分分别作为自变量 Y_1 、 Y_2 ,求出它们的回归线性方程式: $Y_3 = 0.450Y_1 + 0.641Y_2 - 70.125$,并对其进行直观分析,详细结果见表2。

由表2的极差分析和表3的方差分析可以看出,当归挥发油和 β -CDP微球油投料比无显著影响,包结温度、包结时间、 β -CDP微球与水之比均有

表2 极差分析表

试验号	因素/水平				试验指标		综合评价 Y_3
	A/(mL:g)	B/°C	C/h	D/(g:mL)	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	
1	1:4	30	3	1:10	48.78	85.50	6.89
2	1:4	45	4	1:15	60.98	88.80	14.18
3	1:4	60	5	1:20	43.90	98.40	12.59
4	1:6	30	4	1:20	60.98	94.43	17.90
5	1:6	45	5	1:10	48.78	90.44	9.89
6	1:6	60	3	1:15	40.24	91.03	6.53
7	1:8	30	5	1:15	58.54	85.17	10.92
8	1:8	45	3	1:20	51.22	85.67	7.05
9	1:8	60	4	1:10	57.32	83.55	9.41
K_1	26.37	35.70	20.47	26.19			
K_2	34.32	23.83	34.20	24.34			
K_3	27.38	28.53	33.39	37.53			
R	7.950	11.88	13.93	13.20			

显著影响;最佳工艺为 $A_2B_1C_2D_3$, 即包结时挥发油: β -CDP 微球为1:6(mL:g), 包结温度为 30°C, 包结时间为 4 h, β -CDP 微球和与水之比为 1:20(g:mL); 影响因素大小顺序是: 包结时间 > β -CDP 微球与水之比 > 包结温度 > 当归挥发油和 β -CDP 微球油投料比。

表3 方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著值
A	12.287	2	6.1435	0.367	
B	23.864	2	11.932	0.701	*
C	39.593	2	19.797	1.163	*
D	34.054	2	17.027	1.000	*
误差	34.05	2	17.025	0.367	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.000$; $F_{0.01}(2,2) = 99.000$ 。

2.6 验证性实验

取当归挥发油 3 批按最佳工艺包结, 当归挥发油平均包结率为 63.0% 左右, 包结物产率为 98.6% 左右, 与理论推导能较好吻合。

3 结语

(1) IR 分析及 XRD 分析表明当归挥发油 β -CDP 微球包结物的形成。TGA 分析可以看出 β -CDP 微球, 当归油 β -CDP 微球包结物结晶度逐步降低且包结物热稳定性良好。

(2) 通过回归分析法对正交试验进行分析得出当归油 β -CDP 微球包结的最佳合成工艺条件是: β -CDP 微球 6 g、当归挥发 1 mL、蒸馏水 120 mL、包结温度 30°C、包结时间 4 h。原料投入量可放大和缩小。按最佳合成工艺包结率和产率分别为

63.0% 左右和 98.6% 左右。

(3) 当归挥发油采用 β -CDP 微球包合进一步提高包结物产率、包结率, 减少原辅料消耗、降低生产成本, 它在提高中药产品的质量和临床方面有重要意义。同时 β -CDP 微球包结当归油为中药制剂的研究开发提供了一个新的方向。

参考文献

- [1] 陈江波, 杨崇仁. 当归属植物的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 359-365.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [3] Cho S K, Abd El-Aty A M, Choi J H, et al. Optimized conditions for the extraction of secondary volatile terpenoids in Angelica roots by accelerated solvent extraction[J]. J Pharm Biomed Ana, 2007, 44(5): 1154-1158.
- [4] Chan S S, Cheng T Y, Lin G. Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of Ligusticumchuanxiong, in rat isolated aorta[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 11(1): 677.
- [5] Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, et al. Determination of lethal doses of volatile and fixed oils of several plants[J]. Eastern Journal of medicine, 2004, 9(1): 4-7.
- [6] Zhao R J, Koo B S, Kim G W, et al. The essential oil from angelica gigas NAKAI suppresses nicotine sensitization[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(12): 2323-2326.
- [7] 龚来颀, 彭晓霞, 展学孔. 姜黄挥发油环糊精包合工艺研究[J]. 中国民族民间医药, 2008, 8(19): 34-35.
- [8] Zhang Weifen, Chen Xiguang, Li Piwu, et al. Preparation and characterization of theophylline loaded chitosan/ β -cyclodextrin microspheres[J]. J Mater Sci: Mater Med, 2008, 19(1): 305-310.
- [9] 李元波, 殷辉安, 周琳, 等. 当归挥发油的提取与包合工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(5): 838-839.
- [10] Szejtli J, Swbestyen G. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry[J]. Chem Rev, 1998, 98(5): 1743-1754.
- [11] Szenté L, Szejtli J. Highly soluble cyclodextrin derivatives: Chemistry, properties, and trends in development[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 36: 17-28.
- [12] Duchene D. Cyclodextrins and their industrial uses[M]. Paris: Editions de Santé, 1987: 448.
- [13] Arakawa Y, Kawakami S, Yamashita F, et al. Effect of low-molecular-weight β -cyclodextrin polymer on release of drugs from mucoadhesive buccal film dosage forms[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(9): 1679-1683.
- [14] 胡晖, 刘郁杨, 范晓东, 等. 温度及 pH 敏感的 β -环糊精聚合物微球的合成及药物控制释放研究[J]. 高分子学报, 2005, 6(3): 357-358.
- [15] 宋凤兰, 杨轶群, 梁开艳, 等. 薄荷油 β -环糊精包合物的制备[J]. 中南药学, 2009, 7(3): 193-194.
- [16] 王晓明, 谭载友, 曹磊, 等. 聚 β -环糊精微球的制备及结构表征[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(3): 226-227.
- [17] Das M, Sanson N, Fava D, et al. Microgels loaded with gold nanorods photothermally triggered volume transitions under physiological conditions[J]. Langmuir, 2007, 23(1): 196-201. ■