

[制 剂]

鱼腥草挥发油羟丙基-β环糊精包合物的制备

张壮丽¹, 王亚飞^{2*}, 荣晓哲³, 赵志鸿¹, 张小俊¹, 王桂芳¹
[1. 河南省(郑州大学)医药科学研究院药化科, 河南 郑州 450052; 2. 太康县人民医院, 河南 周口 461400; 3. 郑州大学药学院, 河南 郑州 450001]

摘要: **目的** 制备鱼腥草挥发油羟丙基-β环糊精包合物。**方法** GC法测定挥发油含量(以甲基正壬酮为对照品), 计算包合率和载药量。分别采用搅拌法、研磨法和超声法制备包合物。以挥发油与羟丙基-β环糊精比例、包合温度、搅拌速度、包合时间为影响因素, 包合率和载药量为评价指标, 正交试验优化制备工艺。TLC法、红外光谱法、差示扫描量热法进行表征。再通过高温、高湿、强光照试验考察包合物稳定性。**结果** 搅拌法所得包合物的产率、包合率、载药量均最高。最佳条件为挥发油与羟丙基-β环糊精比例1:25, 包合温度50℃, 搅拌速度420 r/min, 包合时间80 min, 包合率77.35%, 载药量4.48%。所得包合物为白色粉末, 质地疏松, 溶解度显著增加, 体外累计释放度达80.05%。其在高温(60℃)、强光照(3 000 lx)下稳定性良好, 而在相对湿度大于75%时潮解结块, 包合率和载药量明显降低, 但复水性良好。**结论** 鱼腥草挥发油羟丙基-β环糊精包合物不是简单的混合物, 有可能生成了新物相, 在储藏时应保持干燥密封。

关键词: 鱼腥草; 挥发油; 羟丙基-β环糊精; 包合物; 制备

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2017)05-0926-08
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.05.009

Preparation of hydroxypropyl-β cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from *Houttuyniae Herba*

ZHANG Zhuang-li¹, WANG Ya-fei^{2*}, RONG Xiao-zhe³, ZHAO Zhi-hong¹, ZHANG Xiao-jun¹, WANG Gui-fang¹
[1. Medicinal Chemistry Section, Henan Provincial (Zhengzhou University) Academy of Medical and Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou 450052, China; 2. Taikang County People's Hospital, Zhoukou 461400, China; 3. College of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China]

ABSTRACT: **AIM** To prepare the hydroxypropyl-β cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from *Houttuyniae Herba*. **METHODS** In the content determination of volatile oil by GC, 2-undecanone was taken as a reference substance, and inclusion rate and drug loading were calculated. After the determination of optimal method for preparing the inclusion compound among techniques of mixing, grinding and ultrasonic methods. the preparation process was optimized by orthogonal test with ratio of volatile oil to hydroxypropyl-β cyclodextrin, inclusion temperature, mixing speed and inclusion time as influencing factors, and inclusion rate and drug loading as evaluation indices. The characterization was performed by TLC, infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. Then high temperature, high humidity and strong light tests were applied to investigating the inclusion compound stability. **RESULTS** Mixing method brought forth the maximal yield, inclusion rate and drug loading for the inclusion compound. And under the optimal conditions of 1:25 for ratio of volatile oil to hydroxypropyl-β cyclodextrin, 50℃ for inclusion temperature, 420 r/min for mixing speed, and 80 min for inclusion time, the inclusion rate and drug loading were identified to be 77.35% and 4.48%, respectively. The obtained inclusion compound

收稿日期: 2016-09-08
基金项目: 河南省重点科技攻关计划项目(142102310433); 河南省省属科研单位社会公益项目预研专项(2014, 2015)
作者简介: 张壮丽, 女, 博士, 助理研究员, 从事中药新药研究。Tel: (0371) 66658204, E-mail: zzl7814@163.com
* 通信作者: 王亚飞, 女, 硕士生, 从事新剂型与新型给药系统研究。Tel: 13653865139, E-mail: wangyf1991@126.com

was found to be white powder with loose texture and significantly increased solubility, the *in vitro* accumulative release rate reached 80.85%. Deliquescence and agglomeration, as well as obviously decreased inclusion rate and drug loading, were observed at a relative humidity of more than 75%, despite the good stability at high temperature (60 °C) and strong light (3 000 lx), and yet the rehydration character was good. **CONCLUSION** It is possible that the hydroxypropyl- β cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from *Houttuyniae Herba* generates a new phase rather than a simple mixture, which should be kept dry and sealed at the time of storage.

KEY WORDS: *Houttuyniae Herba*; volatile oil; hydroxypropyl- β cyclodextrin; inclusion compound; preparation

鱼腥草 *Houttuyniae Herba* 为三白草科多年生草本植物蕺菜 *Houttuynia cordata* 的干燥地上部分,生长于沟边、溪边及潮湿的疏林下,产于我国长江流域以南各省,其味辛、性寒凉,能清热解毒、排痛消肿疗疮、利尿除湿、健胃消食,用于治疗实热、热毒、湿邪、疾热为患的肺痈、疮疡肿毒、痔疮便血、脾胃积热等,被誉为“中药抗生素”^[1-2]。挥发油为其主要有效成分,大多为萜类化合物,有甲基正壬酮、癸酰乙醛、茨烯、 β -月桂烯、 β -罗勒烯、 α -蒎烯、2-十二烷酮、壬醛、*D*-柠檬烯、樟烯、丁香烯、乙酸龙脑酯等^[3-6],其中癸酰乙醛不稳定,可能在加热提取过程中被水解氧化为癸酰乙酸,后者极易降解为甲基正壬酮^[7],不同产地鱼腥草中该成分有所差异^[8]。目前,可用水蒸气蒸馏法、油脂吸收法、溶剂萃取法、超临界流体萃取法、冷压法等提取挥发油^[9],但其质量差别较大,现行质量标准仅以甲基正壬酮为控制指标^[10],尚未建立合理的定性、定量标准,难以控制挥发油质量,并且对甲基正壬酮的含有量也只规定了低限(0.8 g/mL),而无含有量范围及高限^[11]。

羟丙基- β 环糊精常温下水溶性很高,在人体内基本不被分解、代谢和累积,口服时绝大部分随粪便排出体外,而非肠道给药时基本上都随尿液排出体外,包合的药物在体内可以快速释放^[12],这种内疏水、外亲水的特性能使难溶性药物分子进入其内腔而形成包合物^[13],极大地提高在水中的溶解度,同时切断药物与环境的直接接触,降低了受光、热、氧和水解作用的影响,活性成分受到保护,延长药效和保存期限,从而提高了稳定性^[14]。因此,本实验将以羟丙基- β 环糊精包合鱼腥草挥发油,并进行优化和表征。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 7890A 气相色谱仪、HP-5MS 毛细管色谱柱(美国安捷伦公司);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);恒温磁力搅拌器(河南中良

科学仪器有限公司);WD-2A 药物稳定性检查仪(北京同德创业科技有限公司);DSC-60A 差示扫描量热仪(日本 Shimadu 公司);傅立叶红外光谱仪(美国 Thermo Scienfic 公司);ZD-85 恒温振荡器(常州国华电器有限公司)。

1.2 试剂 挥发油(自制,制备方法为取鱼腥草全草 500 g,加 5 L 水浸泡 12 h,水提法提取 12 h,即得);羟丙基- β 环糊精(西安德力生物化工有限公司,批号 20151124);甲基正壬酮对照品(中国食品药品检定研究院)。无水乙醇、石油醚、正己烷均为色谱纯(天津市科密欧化学试剂有限公司)。

2 方法和结果

2.1 方法学考察

2.1.1 色谱条件 HP-5MS 石英毛细管色谱柱;氦气为载气,氮气为尾吹气;进样口温度 280 °C;氢火焰离子化检测器温度 280 °C;空气体积流量 450 mL/min;H₂ 流量 40 mL/min;柱体积流量 1 mL/min;进样量 1 μ L;分流比 20:1;程序升温(70 °C 5 min,5 °C/min 升至 100 °C,2 °C/min 升至 123 °C,保持 3 min,30 °C/min 升至 280 °C,保持 10 min)。

2.1.2 溶液配制

2.1.2.1 对照品溶液 取甲基正壬酮对照品适量,正己烷溶解并定容到 10 mL 量瓶中,即得。

2.1.2.2 供试品溶液 取包合物 1 g,适量蒸馏水溶解,加入 3 mL 正己烷,300 W 功率下超声萃取 20 min,取出正己烷相,再加入 3 mL 正己烷超声萃取 20 min,合并正己烷相,定容至 10 mL,0.22 μ m 微孔滤膜过滤,即得。

2.1.2.3 挥发油溶液 称取挥发油适量,正己烷溶解定容至 10 mL 量瓶中,即得。

2.1.3 专属性试验 精密量取“2.1.2”项下对照品、供试品、挥发油溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样检测,记录色谱图,结果见图 1。由图

可知,在同样条件下甲基正壬酮的出峰时间在19.56 min,而羟丙基-β环糊精在此处无色谱峰出现,表明对其含有量测定无影响,该方法专属性良好。

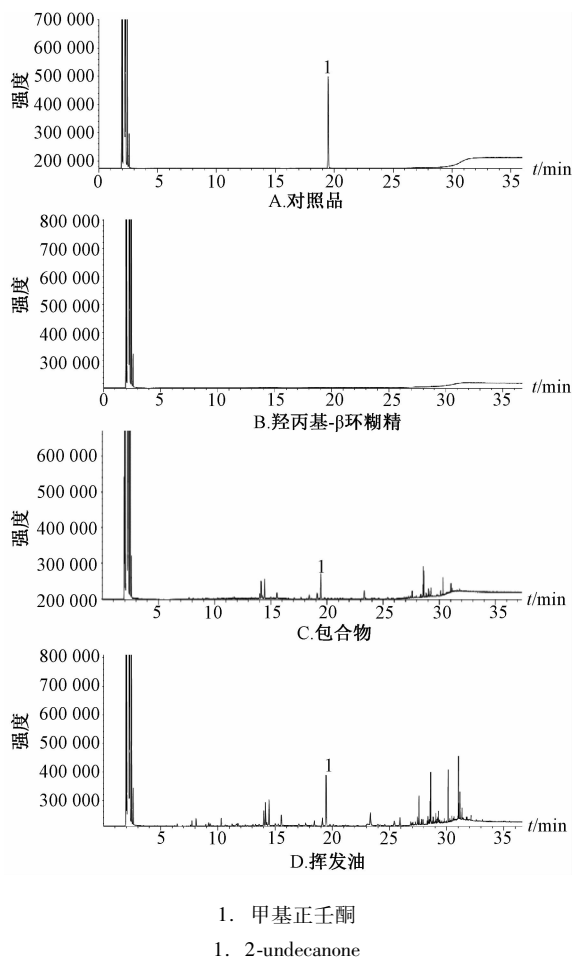


图1 样品GC色谱图(1)

Fig.1 GC chromatograms of samples (1)

2.1.4 精密度试验 制备低、中、高3种质量浓度对照品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下于1 d内连续进样5次,测定其日内精密度,再连续进样5 d,测定其日间精密度。结果,各对照品溶液的日内、日间RSD均小于3%,表明该方法精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 制备低、中、高3种质量浓度对照品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下于0、4、8、12、24 h测定,测得峰面积RSD均小于3%,表明对照品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 制备低、中、高3种质量浓度对照品溶液,进样5次,在“2.1.1”项色谱条件下测定,测得峰面积RSD均小于5%,表明该方法重复性良好。

2.1.7 线性关系考察 取“2.1.2”项下对照品溶液,正己烷稀释成8.170 24、15.319 2、25.532、49.787 4、102.128、199.149 6、301.277 6、408.512 μg/mL对照品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样。以甲基正壬酮质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得回归方程为 $Y = 69\,343X - 4.6 \times 10^6$ ($r = 0.999\,9$),在8.170 24 ~ 408.512 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.8 检测限及定量限 分别以信噪比10:1、3:1时供试品溶液的质量浓度为定量限和检测限,测得前者为8.061 6 μg/mL,后者为2.539 404 μg/mL。

2.1.9 加样回收率试验 精密量取相当于处方含有量80%、100%、120%的对照品溶液,加入挥发油含有量已知的包合物水溶液中,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,平行3次,在“2.1.1”项色谱条件下进样,测得平均加样回收率在95%~105%之间,RSD均小于3%。

2.2 包合物制备

2.2.1 方法

2.2.1.1 搅拌法 精密称取羟丙基-β环糊精5.0 g,加10 mL蒸馏水,置于25 mL圆底烧瓶中恒温搅拌溶解。另取挥发油0.5 mL,2 mL无水乙醇溶解后缓慢滴入上述溶液中,继续搅拌40 min后停止加热,石油醚萃取除去未包合的挥发油,微孔滤膜过滤,滤液于-20℃下预冻后冷冻干燥。

2.2.1.2 研磨法 精密称取羟丙基-β环糊精5.0 g,加10 mL蒸馏水,置于研钵中研磨溶解。另取挥发油0.5 mL,2 mL无水乙醇溶解后缓慢滴入研钵中,继续研磨40 min后停止,石油醚萃取除去未包合的挥发油,微孔滤膜过滤,滤液于-20℃下预冻后冷冻干燥。

2.2.1.3 超声法 精密称取羟丙基-β环糊精5.0 g,加10 mL蒸馏水,置于25 mL圆底烧瓶中溶解。另取挥发油0.5 mL,2 mL无水乙醇溶解后缓慢滴入上述溶液中,超声40 min后停止,石油醚萃取除去未包合的挥发油,微孔滤膜过滤,滤液于-20℃下预冻后冷冻干燥。

2.2.2 参数 以包合率和载药量为指标,取挥发油1 g,正己烷溶解后进样,通过“2.1.7”项下标准曲线测得出其含甲基正壬酮0.126 g。计算公式如下。

包合物中药物量 = (甲基正壬酮质量浓度 × 体积) / 0.126

包合率 = (包合物中药物量 / 实际投入药物

量) × 100%

载药量 = (包合物中药物量/包合物总质量) × 100%

产率 = [包合物总质量/(羟丙基-β 环糊精量 + 实际投入药物量)] × 100%

综合评分 = (0.7 × 包合率 + 0.3 × 载药量) × 100

2.2.3 筛选 表 1 显示, 搅拌法所得包合物的包合率及载药量明显高于超声法和研磨法, 其原因可能是研磨法下包合物结构容易被破坏, 挥发油置于敞口环境中易挥发, 而超声法下振幅有可能将包合后的挥发油重新萃取出来。因此, 选择搅拌法作为包合物的最佳制备方法。

表 1 制备方法筛选结果 (n = 3)

方法	包合率/%	产率/%	载药量/%	综合评分
搅拌法	48.75	92.31	3.98	35.32
研磨法	30.02	88.24	2.54	21.78
超声法	34.63	87.91	2.89	25.11

2.2.4 优化 在单因素试验基础上, 综合考虑多个因素之间的相互作用, 以及其对包合物包合率和载药量的影响, 以挥发油与羟丙基-β 环糊精比例 (A)、包合温度 (B)、搅拌速度 (C)、包合时间 (D) 为影响因素, 采用 L₉(3⁴) 正交试验进行优化。因素水平见表 2, 试验设计见表 3, 方差分析见表 4。

表 2 因素水平

Tab. 2 Factors and levels

水平	因素			
	A 挥发油: 羟丙基-β 环糊精	B 包合温度/℃	C 搅拌速度/(r·min ⁻¹)	D 包合时间/min
1	1:15	30	420	60
2	1:20	40	480	80
3	1:25	50	540	100

表 3 试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of tests

试验号	因素				包合率/%	载药量/%	综合评分
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	28.10	1.89	44.39
2	1	2	2	2	20.78	1.19	45.58
3	1	3	3	3	34.24	2.02	52.05
4	2	1	2	3	27.92	1.20	48.90
5	2	2	3	1	52.20	2.48	60.22
6	2	3	1	2	62.02	2.88	68.73
7	3	1	3	2	57.56	2.16	69.49
8	3	2	1	3	74.27	2.73	73.28
9	3	3	2	1	72.54	2.60	73.63
K ₁	47.340	54.260	62.133	59.413			
K ₂	59.283	59.693	56.037	61.267			
K ₃	72.133	64.803	60.587	58.077			
R ²	24.793	10.543	6.096	3.190			

表 4 方差分析

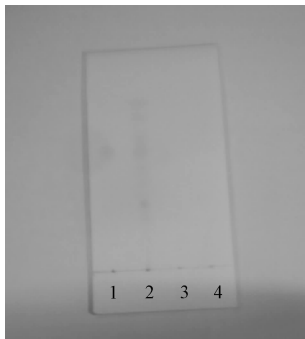
Tab. 4 Analysis of variance

因素	离均差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P 值
A	922.475	2	3.167	4.460	<0.05
B	166.795	2	0.573	4.460	>0.05
C	60.264	2	0.207	4.460	>0.05
D	15.398	2	0.053	4.460	>0.05
E(误差)	1164.930	8	—	—	—

由表可知, 各因素对包合物包合效果的影响程度依次为 A (挥发油与羟丙基-β 环糊精比例) > B (包合温度) > C (搅拌速度) > D (包合时间), 而且 K_{A3} > K_{A2} > K_{A1}、K_{B3} > K_{B2} > K_{B1}、K_{C1} > K_{C3} > K_{C2}、K_{D2} > K_{D1} > K_{D3}, 故最优工艺为 A₃B₃C₁D₂, 即挥发油与羟丙基-β 环糊精比例 1:25, 包合温度 50℃, 搅拌速度 420 r/min, 包合时间 80 min。

2.3 包合物验证

2.3.1 TLC 法 取甲基正壬酮、挥发油、包合物、羟丙基-β 环糊精适量, 乙醇溶解后点样于同一块硅胶板上, 以正己烷-醋酸乙酯 (9:1) 为展开剂, 饱和 15 min, 上行展开 13 cm 左右, 取出晾干, 二硝基苯肼试液显色, 结果见图 2。由图可知, 挥发油与甲基正壬酮对应位置显示相同斑点, 而包合物和羟丙基-β 环糊精处不显示, 表明挥发油已成功被羟丙基-β 环糊精包合。



1. 甲基正壬酮 2. 挥发油 3. 包合物 4. 羟丙基-β 环糊精
1. 2-undecanone 2. volatile oil 3. inclusion compound
4. hydroxypropyl-β cyclodextrin

图 2 样品 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of samples

2.3.2 GC 法 取包合物适量, 用研钵研成细粉, 加入 2 倍量正己烷, 涡旋振荡 1 min 后滤过, 即得包合物正己烷洗涤液。另取适量, 加水溶解后用正己烷萃取, 正己烷相过滤, 即得包合物正己烷萃取液。再配制挥发油正己烷溶液, 作为对照品溶液。

取上述三者，在“2.1.1”项色谱条件下进样，记录色谱图，见图3。由图可知，包合物正己烷洗涤液无色谱峰出现，而包合物、挥发油的正己烷溶液均有色谱峰出现，而且峰位基本一致，表明包合物已形成，而且包合前后挥发油主要成分无明显变化。

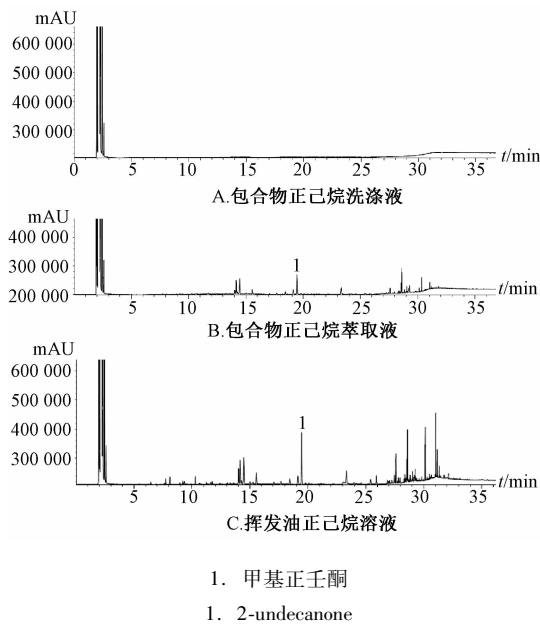


图3 样品GC色谱图(II)

Fig. 3 GC chromatograms of samples (II)

2.3.3 红外光谱分析 取羟丙基-β环糊精、物理混合物(羟丙基-β环糊精与挥发油，下同)、包合物适量，采用KBr压片，挥发油KBr涂片，在相同条件下进行红外光谱分析，结果见图4。由图可知，挥发油在 $1\,712\text{ cm}^{-1}$ 处的羰基特征吸收峰在物理混合物中依然存在，但在包合物中未观察到，同时 $1\,500\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收效应明显增宽，说明挥发油与羟丙基-β环糊精形成的包合物不是简单的混合物，有可能生成了新物相。

2.3.4 差示扫描量热分析 取羟丙基-β环糊精、包合物、物理混合物适量，置于铝坩埚中，设定温度 $15\sim 350\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，升温速度 $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，进行差示扫描量热分析，记录曲线，结果见图5。由图可知，羟丙基-β环糊精在 $50.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $245.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时有特征吸收峰，为其玻璃化温度，并在物理混合物中依然存在，但在包合物中其已不明显，而且热焓值减小，呈现出与前两者不同的吸收状态，表明包合物不是简单的混合物，可能生成了新物相。

2.4 包合物制剂学评价

2.4.1 外观 所得包合物呈白色粉末状，质地疏

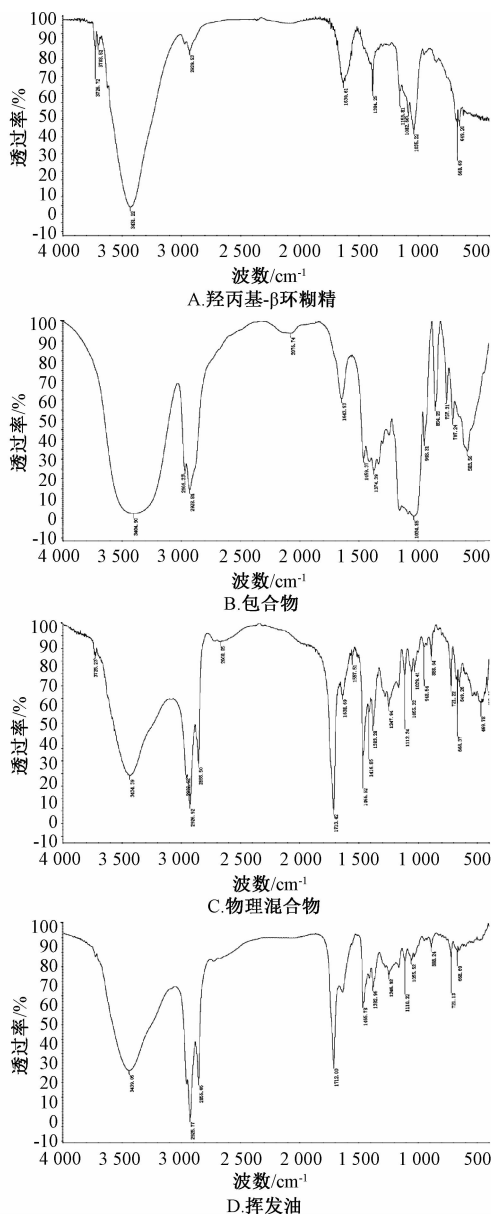


图4 样品红外图谱

Fig. 4 IR spectra of samples

松，溶解性较好。

2.4.2 包合率及载药量 取包合物3批，每批1g，按“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样，计算包合率和载药量。结果见表5。

2.4.3 残余水量 采用重量测量法测定^[15-18]，将包合物置于质量已知的敞口西林瓶中，放在真空干燥箱里48h，称定干燥前后包合物与西林瓶的总质量，计算残余水量，公式为残余水量 $=[(\text{干燥前包合物质量}-\text{干燥后包合物质量})/\text{干燥前包合物质量}]\times 100\%$ 。结果见表6。

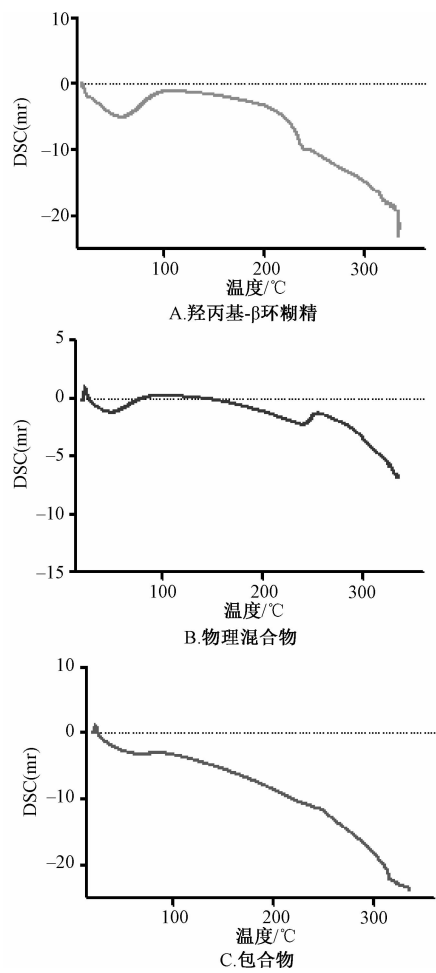


图 5 样品差示扫描量热曲线

Fig. 5 Differential scanning calorimetry curves of samples

表 5 包合物包合率和载药量测定结果
Tab. 5 Results of inclusion rate and drug loading determination of inclusion compound

编号	包合率/%	载药量/%
1	73. 71	4. 46
2	82. 69	4. 69
3	75. 64	4. 29
平均值	77. 35	4. 48

表 6 包合物残余水量测定结果
Tab. 6 Results of residual water content determination of inclusion compound

编号	干燥前质量/g	干燥后质量/g	残余水量/%
1	1. 384	1. 345	2. 82
2	1. 384	1. 359	1. 81
3	1. 208	1. 179	2. 40
平均值	—	—	2. 34

2. 4. 4 溶解度 精密称取最优处方制备的包合物 2 g、挥发油 1 mL，各 3 份，置于 4 mL 离心管中，加入 1 mL 蒸馏水，超声 20 min 以形成过饱和溶

液，37 ℃ 温水浴中孵育 24 h 后，0. 45 μm 微孔滤膜过滤，滤液用 1 mL 正己烷萃取，正己烷相用微孔滤膜过滤，在“2. 1. 1”项色谱条件下进样。另取包合物 2 g，共 3 份，同法制成过饱和溶液，0. 45 μm 微孔滤膜过滤，滤渣干燥称重，计算溶解度，公式为挥发油溶解度 = 1 mL 饱和溶液中甲基正壬酮浓度/0. 126、包合物溶解度 = 挥发油溶解度/载药量、羟丙基-β 环糊精溶解度 = 2 - 滤渣质量，结果见表 7。由表可知，挥发油被羟丙基-β 环糊精包合后溶解度显著增加，这是由于羟丙基-β 环糊精具有独特的疏水空腔，挥发油进入后可以借助其外部亲水结构而增加溶解度。

表 7 样品溶解度测定结果

Tab. 7 Results of solubility determination of samples

编号	溶解度/(g·mL ⁻¹)			
	包合前 挥发油	包合后 挥发油	羟丙基-β 环糊精	包合物
1	0. 002 61	0. 008 68	1. 602	1. 251
2	0. 002 58	0. 008 42	1. 694	1. 300
3	0. 002 51	0. 008 51	1. 690	1. 366
平均值	0. 002 57	0. 008 54	1. 662	1. 305

2. 4. 5 体外释放度 以甲基正壬酮为指标成分，取包合物 0. 5 g，加水溶解后置于分子量 1 000 Da 的再生纤维素膜内，透析膜两段扎紧至不渗漏。另取 1 只 50 mL 离心管，内装含 10% 乙醇的 PBS 缓冲溶液 30 mL，将含药透析袋浸没于透析介质中。再取物理混合物 0. 5 g，同法处理。将上述 2 只离心管置于 37 ℃ 恒温振荡器中，于 0. 5、1、2、4、6、8、12、24、36、48 h 取样 3 mL，同时补充等量透析介质，加入 3 mL 正己烷萃取，正己烷相微孔滤膜过滤，在“2. 1. 1”项色谱条件下进样，测定累积释放度，结果见图 6。由图可知，包合物释放速度稍大于物理混合物，最终释放度达到 80. 05%，而物理混合物仅为 70. 20%，表明挥发油经羟丙基-β 环糊精包合后，具有一定促释作用。

2. 4. 6 包合物稳定性考察

2. 4. 6. 1 高温试验 将装有包合物包合物的西林瓶敞口放入 60 ℃ 恒温培养箱中，于实验前、第 5 天、第 10 天取样，观察包合物外观和复水性，并按“2. 3. 2”项下方法计算包合率和载药量，结果见表 8。由表可知，包合物包合物经高温试验后，其外观并未发生明显变化，而且复水性良好，包合率及载药量随着时间延长仅略有降低，表明包合物

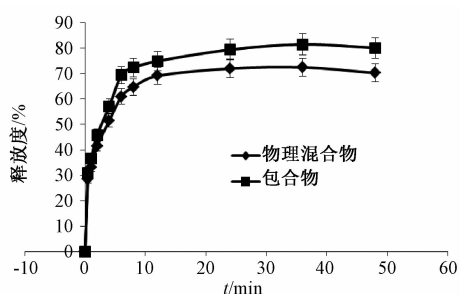


图 6 物理混合物与包合物累积释放曲线

Fig. 6 Cumulative release curves of physical mixture and inclusion compound

对高温的耐受力良好。

表 8 包合物高温试验结果

Tab. 8 Results of high temperature tests for inclusion compound

时间/d	外观	复水性	包合率/%	载药量/%
0	白色粉末	良好	74. 71	4. 48
5	白色粉末	良好	74. 08	4. 44
10	白色粉末	良好	72. 83	4. 36

2. 4. 6. 2 高湿试验 将包合物置于底部放置硝酸钾（相对湿度约 90%、温度 25 ℃）、氯化钠（相对湿度约 75%，温度 25 ℃）饱和溶液的层析缸^[19]里，考察实验前、第 5 天、第 10 天包合物的外观、复水性、包合率、载药量、吸湿率，结果见表 9。由表可知，包合物经高湿试验后，外观明显发生变化，在相对湿度 75% 时，第 5 天包合物外缘开始潮解，呈结块状，而在第 10 天其溶解度增加，仍呈结块状，包合率和载药量明显降低；在相对湿度 90% 时，第 5 天及第 10 天包合物均已经完全溶解，呈黏稠状，包合率和载药量显著降低，但 2 种湿度下其复水性均良好，表明包合物储藏时应保持干燥密封。

表 9 包合物高湿试验结果

Tab. 9 Results of high humidity tests for inclusion compound

时间/ d	湿度/ %	外观	复水性	包合率/ %	载药量/ %	吸湿率/ %
0	75	白色粉末	良好	74. 71	4. 48	0
5	75	结块	良好	63. 13	3. 784	8. 61
10	75	结块	良好	51. 23	3. 06	10. 02
0	90	白色粉末	良好	74. 71	4. 48	0
5	90	黏稠	良好	54. 16	3. 24	18. 14
10	90	黏稠	良好	30. 27	1. 81	28. 69

2. 4. 6. 3 强光照试验 将包合物置于药物稳定性检查仪上，设定温度 25 ℃、光照强度 3 000 lx，考察实验前、第 5 天、第 10 天包合物的外观、复水

性、包合率、载药量，结果见表 10。由表可知，随着光照时间延长，包合物外观未发生变化，复水性保持良好，其包合率及载药量几乎不发生改变，表明包合物对强光照的耐受力较强。

表 10 包合物强光照试验结果

Tab. 10 Results of strong light tests for inclusion compound

时间/d	外观	复水性	包合率/%	载药量/%
0	白色粉末	良好	74. 71	4. 48
5	白色粉末	良好	74. 52	4. 46
10	白色粉末	良好	74. 06	4. 44

3 讨论

在鱼腥草挥发油羟丙基-β 环糊精包合物的制备过程中，须密封搅拌以防止挥发油逸失。而且，羟丙基-β 环糊精过量和温度过高均会影响挥发油的包合率，前者可能导致分子间作用力增加，影响包合率，导致载药量下降；后者会使挥发油挥发而浮在液面，减少与羟丙基-β 环糊精的接触，从而降低包合率。另外，挥发油在加入羟丙基-β 环糊精溶液中前，可用少量乙醇溶解，使其充分分散于溶液中，减少在液面上的漂浮，增加包合效果。

由于挥发油是挥发性物质，故本实验采用 GC 法作为包合物挥发油含有量的测定方法。同时，溶剂选用正己烷，从图谱上可以发现，其溶剂峰在 2 ~ 3 min 之间，而挥发油在此处无色谱峰出现，故该溶剂对挥发油含有量测定无影响。

由于包合物载药量较低，为了方便起见，本实验未采取《中国药典》方法测定，而是选择超声破包法^[20]，即包合物用适量水溶解后用正己烷超声萃取，破坏包合物结构，使挥发油释放出来，再经 GC 法定量测定。结果发现，相对于《中国药典》，该方法较为准确，而且可减少挥发油损失。

在预试验中，选择含 0. 5% 十二烷基磺酸钠 (SDS)、1% 吐温 80、10%、20%、30% 乙醇的 PBS 缓冲液作为透析介质进行药物体外释放，发现以含 0. 5% 十二烷基磺酸钠或 1% 吐温 80 的 PBS 缓冲液为透析介质，透析液用正己烷萃取时，液体中 SDS 或吐温 80 会进入正己烷相中，使其成为糊状，从而难以将表面活性剂与挥发油分开；以含 20%、30% 乙醇的 PBS 缓冲液为透析介质时，挥发油扩散不均匀，大部分油滴会浮到液体表面；以含 10% 乙醇的 PBS 缓冲液为透析介质时，挥发油扩散较为均匀，而且透析液用正己烷萃取时，挥发油能够与透析液分开并完全进入正己烷相中。由于挥发油具有挥发性，本实验未将透析介质放到烧杯中

搅拌，而是将其置于 50 mL 离心管中，将透析袋浸入透析液中旋好旋塞，放到 37 ℃ 恒温振荡器中，用于减少挥发油挥发，同时振荡也可加快其释放。

观察累积释放度曲线时发现，40 h 后累积释放度略微降低，可能是由于挥发油的释放达到平衡，但有少量挥发，而且挥发速度可能大于释放速度。由药物稳定性试验可以看出，在高湿度条件下包合物明显潮解，包合率和载药量也显著下降，但在高温及强光照条件下变化不明显，表明鱼腥草挥发油-羟丙基 β 环糊精包合物储藏时应保持干燥密封，其原因可能是在高湿条件下，环糊精外部的亲水基团与水分子结合，导致包合物发生潮解，同时破坏了其结构，使部分挥发油游离出来，而高温及强光照条件下无此现象，证明羟丙基- β 环糊精将挥发油包合于其疏水空腔中，从而增加了其稳定性。

参考文献：

[1] 薛青松. 鱼腥草挥发油的研究进展[J]. 中国药业, 2014, 23(4): 15-18.

[2] 李晓宁, 胡 芸, 周枝凤, 等. 湖南产鱼腥草挥发油 GC/MS 数据的分析[J]. 计算机与应用化学, 2002, 19(3): 234-236.

[3] Liang M M, Qi M L, Zhang C B, *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile compounds from *Houttuynia cordata* Thunb after extraction by solid-phase[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 531(1): 97-104.

[4] 李 爽, 于庆海, 金佩珂. 鱼腥草的有效成分、药理作用及临床应用的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 1997, 14(2): 144.

[5] 瞿万云, 谭志伟, 余爱农, 等. 恩施山区鱼腥草挥发油的化学成分分析[J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2010, 28(1): 6-9.

[6] 曾虹燕, 蒋丽娟, 张英超. 鱼腥草挥发油的化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12(3): 50-52.

[7] 郑虎占, 董泽宏, 余 靖, 等. 中药现代研究与应用[M]. 5 版. 北京: 学苑出版社, 1998: 2983-3903.

[8] 段文录, 赵桂欣. 伏牛山区野生鱼腥草挥发油化学成分研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(30): 13217-13218.

[9] 吴立军. 天然药物化学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 258.

[10] 曾聪彦, 梅全喜. 从“鱼腥草注射剂事件” 看中药注射剂不良反应产生的根源[J]. 中国药房, 2007, 18(6): 401-403.

[11] 崔 刚, 李淑芳, 常 明, 等. 五厂家鱼腥草注射液质量评价[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 784-786.

[12] 刘鄂湖, 蔡光明, 夏新华, 等. 羟丙基- β -环糊精增溶难溶性药物研究进展[J]. 中国药业, 2007, 16(8): 25-27.

[13] Sofia B, Tiago R, Jorge G, *et al.* Host-guest interaction between herbicide oxadiargyl and hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Sci World J*, 2013, 2013: 825206. <http://doi.org/10.1155/2013/825206>

[14] 吴广通, 张夏华, 李凤前. 改善中药挥发油稳定性的制剂学研究进展[J]. 药学服务与研究, 2008, 8(3): 197-200.

[15] 洪佳璇, 徐淑媛, 江 丽, 等. 鲜品鱼腥草挥发油成分分析[J]. 浙江中医杂志, 2013, 48(5): 375-377.

[16] Tang Y J, Yang J S, Lin C F, *et al.* *Houttuynia cordata* Thunb extract induces apoptosis through mitochondrial-dependent pathway in HT-29 human colon adenocarcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(5): 1051-1056.

[17] Wagner H, Bauer R, Melchart D, *et al.* *Herba Houttuynia cordata*-Yuxingcao[M]. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines*, 2011: 59-69.

[18] 张 薇, 卢芳国, 潘双银, 等. 鱼腥草挥发油的提取分析及其抗菌抗病毒作用的研究[J]. 实用预防医学, 2008, 15(2): 312-316.

[19] 范 琦. 莪术油经丙基环糊精包合物包合物的制备和质量研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014.

[20] 司 奇, 吴 丹, 曹青日, 等. 缬草挥发油 β -环糊精包合物的制备与评价[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2309-2313.