

春砂仁挥发油的包合固化及其镇痛作用

陈河如^{1,2a}, 翁疆铎^{2a}, 杨 炆^{2a}, 李冬梅^{2b},
李小专^{2b}, 吕秋兰^{2a}, 邹湘辉^{2b}

(1. 暨南大学药学院中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632;

2. 汕头大学 理学院 a:化学系, b:生物系, 广东 汕头 515063;)

[摘 要] 探索用 β -环糊精(β -CD)包合春砂仁挥发油的最佳工艺条件,利用正交试验法进行摸索;用X-射线衍射法和电镜扫描的方法研究包合物的微观结构. 通过小鼠灌药后扭体次数的变化,初步研究包合物的镇痛作用. 实验结果表明,在油和 β -CD质量比为1:12,包合温度为32℃,包合时间为2h的条件下包合结果最好;春砂仁挥发油的 β -CD包合物是一种新的物相,其结构呈类棱柱状,非晶相;包合物对冰醋酸所致小鼠疼痛有明显的抑制作用.

[关键词] 春砂仁; β -环糊精; 包合物; 镇痛作用

[中图分类号] R283 [文献标识码] A [文章编号] 1000-9965(2009)03-0335-04

Inclusive solidification of volatile oil from *Amomum villosom Lour* and the studies of its analgesic action

CHEN He-ru^{1,2a}, WENG Jiang-duo^{2a}, YANG Yang^{2a}, LI Dong-mei^{2b},
LI Xiao-zhuan^{2b}, LÜ Qiu-lan^{2a}, ZOU Xiang-hui^{2b}

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, Pharmacy College, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. a: Department of Chemistry; b: Department of Biology, School of Sciences, Shantou University, Shantou 515063, China)

[Abstract] The optimal process for the inclusion of volatile oil for *Amomum villosom Lour.* by β -cyclodextrin (β -CD) was explored. And the optimal conditions were found out by orthogonal test. The micro-structure of β -CD inclusion was disclosed by both of X-ray diffraction and Scan Electronic Microscopy (SEM). Preliminary investigation of the analgetic action of the inclusion had been carried on by studying the effect of the inclusion on reducing the body twisting of stimulated rats caused by injection of acetic acid. It is shown that the optimal conditions for the inclusion process are: mass ratio of volatile oil to β -CD 1:12, temperature 32℃, and inclusion time 2 h. Results from X-ray diffraction and SEM shown that the β -CD inclusion is a new phase and displays prism-like structure. Preliminary analgetic action study display that the inclusion is able to release the pain of the rats caused by injection of acetic acid apparently.

[Key words] *Amomum villosom Lour.*; β -cyclodextrin; inclusion; analgetic action

[收稿日期] 2008-06-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30672560); 广东省高等院校自然科学研究重点项目(05ZD12)

[作者简介] 陈河如(1967-),男,教授,博士生导师,研究方向:药物化学/多肽科学; Tel: 020-38375299; E-mail: thrchen@jnu.edu.cn.

春砂仁(*Amomum villosum* Lour.)是姜科豆蔻属的果实,作为著名的“四大南药”之一,在中国传统医学中具有行气、止痛、健脾、消胀、安胎止呕的功能^[1-2]。春砂仁含有的挥发油成分是有有效药用成分。如何防止挥发油的损失和提高疗效,解决的办法可以考虑用 β -环糊精(β -cyclodextrin)作为包合剂将精油包合固化^[3-9]。本文在前人工作的基础上,进一步用正交实验法优化包合工艺,并利用扫描电镜及X-射线衍射技术对包合物进行结构表征,同时对包合物的药理特性进行初步的动物实验研究。本研究对进一步开发广东地道药材春砂仁具有一定的积极意义。

1 材料与仪器

β -环糊精(β -CD)(中国天津市化学试剂分公司,纯度>99%);春砂仁(广东阳春市药材公司);电热恒温磁力搅拌器;真空干燥箱;JSM-6360LA电镜扫描仪(日本JEOL公司);D8 Advance X-射线衍射仪(德国Bruker公司)。

奇迈特(盐酸曲马多注射液)(tramadol hydrochloride injection):石药集团欧意药业有限公司;冰醋酸:广东光华化学试剂厂。

2 实验方法

2.1 春砂仁挥发油的提取

将春砂仁剥壳并粉碎,取170 g,水蒸汽蒸馏法提取,得9.7 mL淡黄色透明液体,具特别的芳香气味,冰箱中保存待用。

2.2 春砂仁挥发油的包合试验

(1)正交实验设计 文献[7-9]显示,影响 β -CD包合的因素主要是挥发油与 β -CD质量之比、包合温度、包合时间,因此以 $L_9(3^4)$ 进行设计,并以包合率、包合物收得率、包合物含油率为考察指标,进行优选。具体的因素水平见表1。

表1 因素水平表

水平	A: $m_{精油}:m_{\beta-CD}$ (g·g ⁻¹)	B: $\theta/^\circ\text{C}$	C: t/h
1	1:9	32	1
2	1:12	40	2
3	1:15	45	3

(2)包合物的制备 取一定量的 β -CD,加适量蒸馏水,搅拌下加热溶解,然后置恒温器中平衡到规

定温度,加入的水量以能使 β -CD在所规定温度下成接近饱和溶液状态为宜。按表1因素水平与表2搭配顺序,在磁力搅拌下用注射器逐滴滴入准确称量好的春砂仁精油,用少量的无水乙醇洗涤盛精油的器皿并用注射器滴入 β -CD的溶液中,反复3次。继续搅拌,保持在规定温度至规定时间。冷却后置冰箱中冷藏1 d,取出,抽滤,滤饼用乙醚洗涤3次,在真空干燥器中干燥,得白色粉末状固体,准确称重。滤液用乙醚萃取3次,合并乙醚层和乙醚洗涤液,无水 Na_2SO_4 干燥,室温下减压旋转蒸去乙醚,得到未被包合的精油,并计算其包合率和包合物收得率。结果见表2

包合率 =

$$\frac{\text{投入精油总量(g)} - \text{未被包合精油量(g)}}{\text{投入精油总量(g)}} \times 100\%$$

$$\text{包合物收得率} = \frac{\text{包合物质量(g)}}{\beta\text{-CD(g)} + \text{投入精油总量(g)}}$$

$\times 100\%$

(3)包合物含油率的测定 将所得到的干燥包合物精密称量,置装有沸石的250 mL圆底烧瓶中,加蒸馏水200 mL,按《中国药典》1995年版一部附录挥发油测定法提取挥发油,至油量不再增加时停止加热,放置1 h,读出挥发油的体积。按下列式子计算包合物含油率。结果见表2。

$$\text{包合物含油率} = \frac{\text{包合物中挥发油质量(g)}}{\text{包合物质量(g)}} \times$$

100%

2.3 包合物电镜扫描实验

首先对 β -CD包合物进行预处理,用压膜仪使样品镀上一层膜,之后直接放入电镜扫描仪进行扫描测定。

2.4 包合物X-射线衍射分析

X-射线分析条件:采用 $\text{Cu-K}\alpha$ 射线,功率40 kV \times 40 ma,光栅系统 $\text{DS} = \text{SS} = 1^\circ$, $\text{RS} = 0.3 \text{ mm}$,扫描速度 $2^\circ/\text{min}$ 。

2.5 春砂仁挥发油的 β -CD包合物对小鼠扭体的影响

(1)材料 实验动物:7周龄20~30 g雌性昆明种雌性小鼠(KM mice)购自广东省医学实验动物中心[许可证号SCXK(粤)2004-0009]。实验动物在清洁级层流架中饲养,饲养温度 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$,照明时间12 h/d(7:00-19:00开灯),适应性饲养1周后进行实验。

受试药:砂仁油 CD 包合物(载油量为 17.8%),超纯水配制成质量分数为 5% 和 10% 药液。

阳性对照药:奇迈特 0.1 g/mL。

冰乙酸:质量分数为 0.6% 水溶液。

(2)方法 取小鼠 40 只,随机分为 4 组:空白组(超纯水,10 mL/kg,灌胃),奇迈特组(7 mg/kg,皮下注射),质量分数 5% 砂仁油 β -CD 包合物药液组(330 mg/kg,灌胃),质量分数 10% 砂仁油 β -CD 包合物药液组(670 mg/kg,灌胃)。各组给药 1.5 h 后,每只小鼠 ip 注射质量分数 0.6% 醋酸 0.2 mL,观察并记录注射醋酸溶液后 15 min 内小鼠因疼痛而扭曲的次数,计算各组平均值,统计学处理采用 t 检验。

3 结果和讨论

3.1 春砂仁挥发油的最佳包合条件

实验结果表明(见表 2),在选择较高的 $m_{\beta\text{-CD}}/m_{\text{精油}}$ 比时,包合时间对结果的影响较小,而包合的温度条件对结果有较大的影响。当包合温度为 45 $^{\circ}\text{C}$ 时,即使 $m_{\beta\text{-CD}}/m_{\text{精油}}$ 比高达 15:1,包合率也只有 85.6%(表 2,试验号 9)。在室温条件下的包合,都有比较满意的结果,即包合率、收得率和含油量都较高(表 2,试验号 1、4、7)。考虑到生产的实际情况,我们认为 A2B1C2 的搭配是最佳的,具体的组合是: $m_{\text{精油}}:m_{\beta\text{-CD}}=1:12$,包合温度为 32 $^{\circ}\text{C}$,包合时间为 2 h 的条件下包合结果最好。

表 2 正交设计和实验结果

试验号	A	B	C	包合结果			
				包合率/%	收得率/%	$w_{\text{油}}/\%$	合计
1	1	1	1	90.8	48.0	18.9	157.7
2	1	2	2	89.6	46.2	19.4	155.2
3	1	3	3	85.4	44.5	19.1	149.0
4	2	1	2	97.6	42.2	17.8	157.6
5	2	2	3	87.2	38.9	17.2	143.3
6	2	3	1	86.3	38.5	17.3	142.1
7	3	1	3	99.7	35.1	17.8	152.6
8	3	2	1	86.6	32.2	16.8	135.6
9	3	3	2	85.6	31.3	17.1	134.0
均值 1	154.0	156.0	145.1				
均值 2	147.7	144.7	149.0				
均值 3	140.7	141.7	148.3				
极差	13.3	14.7	3.9				

3.2 春砂仁挥发油包合物的微观结构分析

比较 β -CD、 β -CD 和挥发油的混合物与挥发油

的 β -CD 包合物的 X-射线衍射图谱(见图 1, a, b, c),可以清楚看到, β -CD 和挥发油的混合物的衍射图谱与 β -CD 自身衍射图谱类似,它们的基本峰以及峰强基本相同;反观挥发油的 β -CD 包合物的 X-射线衍射图谱,与 β -CD 的衍射图谱相比较,它们的基本峰及峰强明显不同,说明包合后 β -环糊精的晶型发生了明显的改变,产生了新的物相,已不是 β -CD 和挥发油的物理混合物。

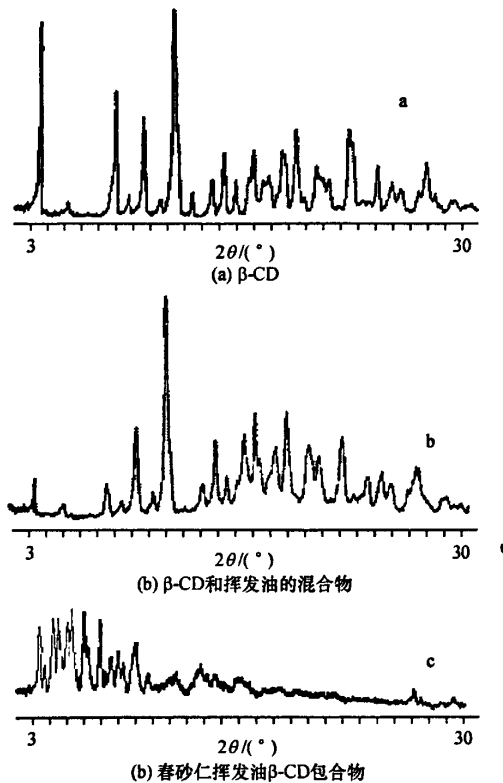


图 1 β -CD、混合物和包何物的 X-射线衍射图

图 2 是春砂仁的 β -CD 包合物的扫描电镜图。包合物晶体颗粒大小不一,呈类棱柱状结构,并非规则的晶体结构。

3.3 春砂仁挥发油的 β -CD 包含物对小鼠扭体的影响

研究了春砂仁挥发油的 β -CD 包含物对小鼠扭体的影响(表 3)。结果表明,受试药组 1(330 mg \cdot kg $^{-1}$)和受试药组 2(670 mg \cdot g $^{-1}$)的扭体次数明显少于空白组,差异具有非常显著性的意义,说明春砂仁挥发油的 β -CD 包含物对醋酸致痛小鼠有明显的抑制作用,但其确切的镇痛类型及机制还有待进一步的研究。

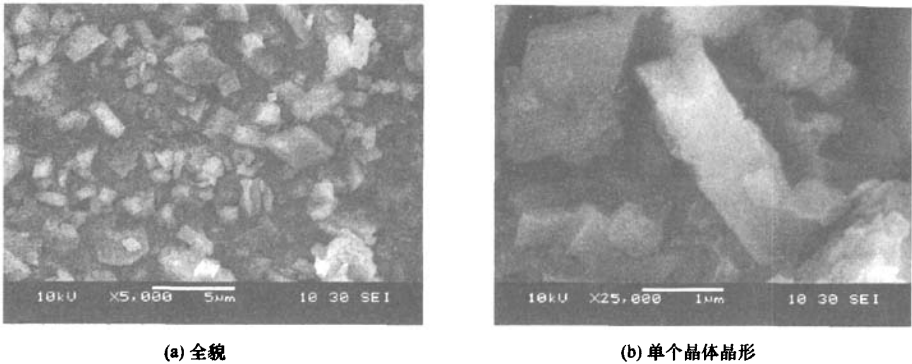


图 2 春砂仁挥发油的 β -CD 包合物的扫描电镜图

表 3 春砂仁挥发油的 β -CD 包合物对小鼠扭体的影响

组别	$w/(g \cdot kg^{-1})$	动物数/只	扭体次数 ($\bar{x} \pm SD$)
空白组 ¹⁾	-	10	31.6(8.0)
奇迈特组	0.007	10	7.8 \pm 1.3 ²⁾
受试药组 1	0.33	10	6.4 \pm 1.9 ²⁾
受试药组 2	0.67	10	4.4 \pm 1.7 ²⁾

1) 空白组的剂量为 $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; 2) 与空白组比较 $P < 0.01$.

本工作利用正交实验法获得 β -CD 包合春砂仁挥发油的最佳工艺条件为 $m_{\text{精油}}:m_{\beta\text{-CD}}=1:12$, 包合温度 $32\text{ }^{\circ}\text{C}$, 包合时间 2 h . 包合物为新的物相, 对醋酸致痛小鼠具有明显的抑制作用.

[参考文献]

[1] 朱晓光. 岭南本草古籍三种[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998: 153-160.
[2] 方洪钜, 余竞光, 陈敏亨, 等. 我国姜科植物研究 II 中药春砂仁挥发油成分的分析[J]. 中草药, 1982, 13(5): 5-10.

[3] 佟爽, 阎君, 张本. 一种鼻炎制剂挥发油包合实验[J]. 中成药, 2006, 28(4): 488-489.
[4] 汤建成, 章曙丹. 少腹逐瘀片挥发油提取与 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(1): 60-62.
[5] 黄怡, 范晓东. 环糊精在药物控制释放系统中的应用研究进展[J]. 化学研究与应用, 2005, 17(6): 715-719.
[6] 李建春, 傅莺, 孙玉明. 广藿香挥发油 β -环糊精包合工艺的研究[J]. 湖北中医杂志, 2001, 23(4): 52-55.
[7] 蒋伟, 韩建伟. 砂仁、枳实挥发油 β -环糊精包合优选工艺研究[J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(2): 52-53.
[8] 梦舒. 砂仁挥发油 β -环糊精包合工艺的研究[J]. 中医药学杂志, 2004, 22(7): 1356-1357.
[9] 蒋孟良. 砂仁挥发油的 β -环糊精包合物研究[J]. 中国新药杂志, 2000, 9(12): 834-836.

[责任编辑:黄建军]