

环糊精及其分子包合技术在中药研究中的应用

刘 赞, 冯青然, 张保献

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

中图分类号: R283.6 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)05-0060-03

环糊精(cyclodextrin, CYD)系淀粉经酶解环合后得到的由6~12个葡萄糖分子连接而成的环状低聚糖化合物,是良好的天然合成包合材料。于1891年发现,直到1948年才认识到它的筒状分子内部可以包结多种适当大小的疏水性物质,可用于医药、食品、轻工、化工,以及农业等方面。近年来,环糊精在中药研究中的应用已较为普及和深入,本文试就环糊精及其分子包合技术在中药研究中的应用作一概述。

1 环糊精的性质

环糊精有多种同系物,常见的环糊精是由6、7、8个葡萄糖分子通过1,4-苷键连接而成的环状化合物,分别称之为 α 、 β 和 γ -CYD,经X-射线衍射和核磁共振研究证明,CYD的立体结构是上窄下宽两端开口环状中空圆筒型。三种CYD的空洞内径及物理性质有很大差别,以 β -CYD空洞大小适中,水中溶解度最小18.5g/L,最易从水中析出结晶,随着水中温度升高溶解度增大。这些性质为 β -CYD包结物的制备提供了有力条件。CYD对酸较不稳定,但比淀粉和非环状小分子糖类耐酸。对碱、热和机械作用都相当稳定^[1]。小鼠急性毒性实验表明,小鼠LD₅₀>10000mg/kg,属实际无毒剂;蓄积毒性实验中蓄积系数K>5,为弱蓄积;对4个受试菌株进行Ames试验无致突变性;小鼠1000,2000,5000mg/kg三个实验组微核发生率分别为1.4‰、1.4‰、0.8‰,经小鼠睾丸染色体畸变试验,未见有致生殖细胞染色体畸变作用^[2]。其中 β -CYD具有空洞适中,包药法简单,价格低廉等优点,使其得到广泛应用。

2 环糊精包合物在中药制剂中的应用

环糊精具有独特的分子结构,药物经环糊精包合后,仍保留原有的化学性质,口服后在消化液中经渗透、扩散作用,包合物中的药物被溶出而发挥药效,并可显著改善药物理化性质,如促进药物稳定化,增加难溶性药物溶解度和生物利用度,减少药物副作用和刺激性,使液体药物粉末化,掩盖不良气味,防止挥发或制成较纯的浓缩制剂,提高疗效。

2.1 提高药物的稳定性 中药不少成分受热、湿、光、空气和化学环境的影响,容易分解变质和挥发、升华,环糊精可以包结许多易挥发、氧化或光解的成分。通过不同贮藏时间及贮藏方法对生姜挥发油 β -环糊精包结物中挥发油的外观、性

状、含油量及主成分含量的稳定性进行了考察,实验证明生姜挥发油 β -环糊精包结物的上述情况较生姜原挥发油的稳定性大大提高^[3]。缬草油 β -环糊精包结物的工艺及稳定性研究中,应用X-射线衍射仪对包结物作定性鉴别,结果表明:缬草油用 β -环糊精包结后,可大大提高药物主要成分的稳定性,样品均未发生变色等性状改变^[4]。

2.2 改变药物状态,便于制剂 环糊精可使中药挥发油粉末化,以适应片剂、散剂等的制备,现已成为新药开发中的基本要求。脑立清片中冰片薄荷脑相互共熔而成粘稠液体,使颗粒流动性变差,压片时易产生松片、麻面及重量差异不合格,糖衣片在贮存期内糖衣层变色,制成包合物加入即可得到显著改善。

2.3 掩盖药物的不良气味和降低刺激性 药物中有的具有不良臭味、苦味涩味,甚至有些具有较强的刺激性,影响该制剂的应用,特别是儿童和老人。药物包合后可掩盖不良臭味,降低刺激性。盐酸黄连素经包合后苦味降低^[5]。阿魏油经包合后可掩盖臭味,减少刺激性^[6]。大蒜精油具有抗菌消炎、降血脂,降低血小板凝聚,减少冠状动脉粥样硬化斑块的形成及抗肿瘤等作用。但大蒜精油有特殊的臭味,对粘膜有较强的刺激性,其大蒜精油 β -环糊精包合物小鼠灌胃给药的LD₅₀为1280mg/kg,比未包含大蒜精油毒性明显降低。所以将大蒜精油用 β -环糊精包结后可掩盖臭味,减少刺激性,提高稳定性,有利于保存与使用^[7,8]。

2.4 增加药物的溶解度和溶出度 增加药物溶解度有利于药物制剂的制备,提高制剂的生物利用度,减少服药剂量,改善经皮吸收作用。岩白菜素的水溶性较低,其镇咳去痰作用也受到一定影响。岩白菜素经 β -环糊精包结后,溶解度增加两倍,有望提高其疗效^[4]。鱼腥草素经 β -环糊精包合后溶解度、溶出速度及稳定性增强,并可掩盖其不良气味^[9]。齐墩果酸经 β -环糊精包合后溶解度和溶出度明显高于齐墩果酸,将齐墩果酸制成包合物有利于提高其生物利用度^[10]。比较了包合前后的稳定性、溶解度及溶出速度,表明丹皮酚以包合物形式存在稳定性增强,溶解度增大,溶出速率提高,提示丹皮酚制成包合物有利于提高其在固体制剂中的稳定性和生物利用度^[11]。

2.5 促进药物经皮吸收作用,改善临床症状 在离体大鼠皮肤上进行桉叶油及其 β -环糊精包合物对5-氟脲嘧啶经皮

渗透影响的实验发现,桉叶油的增渗约60倍,单纯桉叶油 β -环糊精几乎无促进作用。在扩散池中加入桉叶油及其 β -环糊精包合物与仅用桉叶油相比,水溶性5-Fu具有更高的渗透系数和更持久的作用。研究表明,桉叶油及其包合物增加药物在皮肤中的分配系数,但扩散系数增加更为显著,证明促进剂通过改善扩散和分配两种机理发挥作用,其中以扩散过程为主^[12]。 β -环糊精在模拟肠道运动、温度、酸碱度的条件下,在不同剂量及不同反应时间的情况下,对胆汁中胆红素的吸附作用,高剂量组对胆红素的吸附率在3.6.9h后均可达到35%以上。可见 β -环糊精可以吸附经肠道的胆红素,减少其在肠道中的重吸收,降低血液中胆红素含量,从而对减轻因某种原因引起的黄疸症状有一定的意义^[13]。

3 环糊精包合物的制备方法

3.1 饱和水溶液法 将CYD制成饱和水溶液,加入客分子药物,对于水中不溶的药物,可加少量适当溶剂溶解后,搅拌混合30min以上,使客分子药物被包合,将析出的固体包合物过滤,根据客分子的性质,再用适当的溶剂洗净、干燥,即得稳定的包合物。包合生药中的挥发油,若由水蒸气蒸馏法所得,可将挥发油蒸馏液直接加入 β -CYD制成饱和水溶液,再搅拌混合制成包合物。满山红挥发油 β -环糊精包合物的制备采用饱和溶液法均匀设计,结果投料比为1:5,包合时间为6h,干燥温度40℃,用差热分析法、红外光谱法分析表明包合物已形成^[14]。

3.2 超声波法 将CYD饱和水溶液加入客分子药物溶解,混合后立即用超声波破碎仪或超声波清洗机,选择合适的强度,超声适当时间,制取包合物。优选丁香挥发油 β -环糊精包结最佳工艺条件为油与 β -环糊精之比为1:10(ml/g),其次超声时间为30min,超声时水温为25℃,乙醇浓度为75%,该工艺流程短,适合工业化生产^[15]。将 β -环糊精与丹皮酚以13:1的比例称重,然后加入与 β -环糊精等量的35%异丙醇的溶液,全溶后放在超声波池中,水温为30℃左右,超声振荡15min,取出冷藏,50℃吹干干燥3h,得到 β -环糊精与丹皮酚成品。经显微镜观察、X-射线衍射、荧光观察等方法比较了包合前后的理化性质的变化,证明了包合物的存在^[9]。

3.3 研磨法 取CYD加入2~5倍量水研匀,加入客分子药物(必要时将客分子药物溶于少量适当溶剂中)置研磨机中充分混合研磨成糊状,低温干燥后用适当溶剂洗净,再干燥,即得包结物。比较饱和水溶液法和机械研磨法制备 β -胡萝卜素包合物,结果为机械研磨法可提高 β -胡萝卜素的包裹率和收得率。在机械研磨法中加入适量抗氧化剂可进一步提高 β -胡萝卜素的包裹率和收得率^[16]。

3.4 胶体磨法 采用胶体磨制备挥发油的包合物简便、快速。富志军等比较了饱和水溶液法、研磨法和胶体磨法三种包合方法制备肉桂油 β -环糊精包合物,结果以胶体磨包合法肉桂油利用率高,简便、快速,适用于包合物的工业化大生产^[17,18]。

3.5 溶液一搅拌法 可在未饱和的CYD溶液中,加入客分子药物,在搅拌过程中形成微晶,过滤、干燥即得。

4 影响包合工艺的因素

4.1 客体理化性质与包结效果 在中药制剂研究中,客体往往是多组分化合物,混合客体的每个组分间存在着理化性质、分子结构的很大差异。环糊精包合物制备中,客体的理化性质、分子结构是包结效果的直接确定因素,当客体的理化性质、分子大小和形状适合于主体所提供的空间要求时,其包结较好,否则就差。在混合物的包结中它们的表现是:当两种中药成分的总体化学性质相似时它们的包结效果较相近,牡荆和黄荆都属马鞭草科植物,它们的挥发油在总体理化性质上很相近,因此包结效果也极为相似。牡荆油的油利用率为74.0%,包结物得率为92.40%,黄荆油的油利用率为71.0%,包结物得率为90.31%。相反当两种中药成分的总体理化性质相差较大时,它们的包结效果也相差甚远。如藿香挥发油包结物得率和油利用率高达94.25%和87.0%,而石菖蒲油包结物得率和油利用率仅有50.31%和53.0%。但多组分混合客体的每一个组分间的理化性质差异有时候也不可忽略。因为客体组分间的理化性质差异导致了它们每个组分间的包结能力的差别。这种差别可以导致包结前后主成分的含量变化。8种中药挥发油的包结前后主成分气相层析对比研究表明,除少数中药挥发油的主成分含量变化不大以外,大多数挥发油的主成分含量都发生了不同程度的变化。譬如牡荆油的 β -丁香烯,香桉烯均降了8%。高良姜的1,8-桉叶素降了5%等^[19]。

4.2 主客体的投入比例选择 客体投入量在一定范围内有提高包结效果的作用,但是过多的提高客体的投入量有时候反而会降低包结效果。应以不同比例的主客体投料进行包合,再分析不同包合物的含量和产率,计算应选择的投料比。薄荷脑与 β -环糊精比例对包结量的影响显著($P < 0.005$)^[20]。

4.3 包合方法的选择 根据设备条件进行试验,饱和水溶液法较常用;研磨法要注意投料比;超声法省时收率较高;干燥方法中冷冻干燥或喷雾干燥,由药物性质选择,溶解性均好,根据设备条件决定。在引流熊胆- β -环糊精包合物的研究中,分别以均匀设计法选择水包合法、研磨法制备,以包合物收率、包合率二项指标综合评价包合工艺,研究表明:水包合法制备的包合物收率低,部分未被 β -环糊精包合的熊胆及不被沉淀出的熊胆- β -环糊精包合物被遗弃在包合母液中,研磨法此两项指标均好,设备简单,适合大生产^[21]。

4.4 其它条件与包结效果 包合温度、用水量、搅拌速度及时间、干燥方法均应选择合适条件。包合条件各因素采用正交设计选择较多。如正交法优选 β -环糊精包结薄荷脑的研究中包结最佳条件为:薄荷脑与 β -环糊精比例为1:10,搅拌时间15min,温度30℃^[20]。

5 环糊精包合物的验证

环糊精与客分子药物通过包合技术是否已形成包合物可根据药物性质选用显微镜、相溶解度法、薄层色谱法、紫外可见分光光度法、荧光光谱法、圆二色谱法、红外分光光度法、热分析法、X-射线衍射法、核磁共振法等验证是否已形成包合物的物相,并对制成的包合物质量进行实验评定。如应

用TLC对包合物进行定性分析,测定包合物中当归油的含量^[22]。丹皮酚 β -环糊精包合物的含量测定用紫外分光光度法,以石油醚(90~120℃)作溶剂,检测波长为316nm,测定溶液的线性范围为4~20 μ g/ml, $r=0.9999$,吸收系数(E1%1cm)为396。操作简便,重现性好,结果准确^[23]。在对毛叶香茶菜醛 β -环糊精包合物分析时用差示扫描量热法、比旋光度测定证明包合物的存在^[24]。比较鱼腥草素 β -环糊精包合前后X-射线衍射图谱、紫外吸收光谱变化,二者紫外吸收光谱完全一致,包合后鱼腥草素的晶体衍射峰消失,构成了新的物相^[9]。

6 挥发油 β -环糊精包结物在颗粒剂生产工艺中的研究

王溶溶等采用溶液法得到 β -环糊精包结物,滤过,低温干燥,在颗粒剂制粒前混入干膏粉中,制粒,得到的成品进行挥发油含量测定,再将采用溶液法得到的 β -环糊精包结物直接加入将进行喷雾干燥的药液中,喷雾干燥,所得干膏粉制粒,成品测定挥发油含量,以挥发油保存率作为研究方法的评价指标,从生产角度研究挥发油 β -环糊精包结物在颗粒剂生产中的应用,并采用正交法考察不同喷雾干燥条件对挥发油保存率的影响,挥发油保存率达86.6%。采用本实验的方法,解决了颗粒剂制粒前加入 β -环糊精包结物所引起的色泽不匀,挥发油利用率低等问题,使挥发油利用率提高10~20%,由于喷雾干燥是采用瞬间加热,使 β -环糊精包结物脱包率减少,同时减少了生产步骤,节省资源,适用于工业生产^[25]。

7 小结

由上可见,环糊精及其分子包合技术在中药领域已有较普遍的应用和较深入的研究,对其药物是否制成包合物须视药物性质、剂量等综合考虑。药学工作者应在现阶段基础上提高包结物收得率,包结率,减少原、辅料消耗降低生产成本。由于该工艺需要一些特定技术条件,应加强制药机械研究,生产部门应研究适用于工业化生产的挥发油包结设备。目前研究较多集中在 β -环糊精,而缺乏对 α 、 γ -环糊精及其衍生物的研究。由于环糊精及其分子包合技术对提高中药制剂内在质量具有突出作用,其在中药研究中的应用必将展现出更为广阔的前景。

参考文献:

[1] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 29-30.
[2] 阎孝娣. β -环糊精的毒性与致突变性[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1995, 13(6): 323.
[3] 李树珍, 官仕杰. 生姜挥发油 β -环糊精包结物的稳定性考察[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(8): 481-483.
[4] 杨红武, 毛衍平, 邱应海等. 缬草油 β -环糊精包结物的工艺及稳定性研究[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 23(11): 676-678.
[5] 刘映麓, 罗晓燕, 尹春南. 盐酸黄连素的苦味包合研究

[J]. 广东药学, 1999, 9(3): 24-25.
[6] 王萍, 张惠云, 王平山, 等. 阿魏油 β -环糊精包合物的研究[J]. 中国药学杂志, 1995, 30(增刊): 122.
[7] 方小玲, 孙庆宇, 王在魁. β -环糊精包合技术在大蒜精油新剂型研究中的应用[J]. 上海医科大学学报, 1993, 20(4): 285-288.
[8] 沈联慈, 王瑞海. 大蒜挥发油 β -环糊精包合物的质量研究与稳定性考察[J]. 中草药, 1992, 23(10): 518-520.
[9] 魏世超, 徐丽君, 曾勤, 等. 鱼腥草素 β -环糊精包合物的研究[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(3): 167-169.
[10] 颜耀东, 冯波, 黄晓洁, 等. 齐墩果酸 β -环糊精包合物的研究[J]. 中成药, 1995, 17(6): 2-4.
[11] 王铮, 任天池, 乔淑珍. 丹皮酚 β -环糊精包合物的研究[J]. 中国药学杂志, 1989, 24(7): 410-412.
[12] 达尤·阿博杜拉, 平其能, 刘国杰. 桉叶油及其 β -环糊精包合物对5-氟脲嘧啶经离体大鼠皮肤渗透的促进作用[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(2): 77-82.
[13] 于丽萍, 崔乃莉. β -环糊精对胆汁中胆红素吸附作用的实验研究[J]. 天津第二医学院学报, 1994, 10(3): 6-9.
[14] 张秀珍, 邓娟, 李伟. 满山红挥发油 β -CD包合物的制备[J]. 黑龙江医药, 1998, 11(2): 65.
[15] 李树珍, 白卫国, 赵红霞. 正交实验优选丁香挥发油 β -环糊精包结工艺的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(7): 17-20.
[16] 黄耀洲. 环糊精及其分子包合技术[J]. 南京中医药大学学报, 1995, 11(3): 33-34.
[17] 富志军, 张泓. 肉桂油与 β -环糊精包合物的制备[J]. 中成药, 1994, 16(12): 6-7.
[18] 富志军, 周自新. 胶体磨应用于肉桂油 β -环糊精包合物制备工艺条件的实验筛选[J]. 中成药, 1995, 17(7): 4-5.
[19] 孟根达莱, 郭智. β -环糊精在中药领域中的研究及应用现状[J]. 中国药房, 1995, 6(1): 44.
[20] 解静萍, 景洪军. 正交法优选 β -环糊精包结薄荷脑的研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 1999, 16(1): 28-29.
[21] 史成和, 鲍燕燕, 刘晓琳, 等. 引流熊胆 β -环糊精包合物的研究[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(1): 66.
[22] 罗玉川, 袁学文. 当归油 β -环糊精包合物的研究[J]. 中药材, 1999, 22(7): 357-358.
[23] 高杰, 张纯, 林原文. 紫外分光光度法测定丹皮酚 β -环糊精包合物的含量[J]. 药学实践杂志, 1995, 13(3): 179-181.
[24] 王桂红, 寇澜. 毛叶香茶菜醛 β -环糊精包合物的制备及分析[J]. 河南医科大学学报, 1999, 34(3): 75-77.
[25] 王溶溶, 陈丹菲. 挥发油 β -环糊精包结物在颗粒剂生产中的研究[J]. 中成药, 1996, 18(10): 1-2.