

星点设计效应面法优化艾草挥发油环糊精包合工艺

黄忻^(通讯作者) 廖鹏 吴漫晔 黄乾峰 肖雄伟

揭阳职业技术学院生物工程系, 广东 揭阳 522000

摘要: 目的 艾草挥发油由于密度小, 质轻, 极易挥发, 本研究通过星点设计响应面法探索艾草挥发油包合最佳工艺改善其稳定性, 为其制剂的应用开发提供理论依据。方法 本研究以包合物产率、包合率、OD 值为评价指标, 采用饱和水溶液法, 在单因素实验的基础上通过星点设计响应面法对艾草挥发油包合工艺优化并进行多项式模型拟合, 筛选出最佳包合工艺并进行工艺稳定性验证实验。所得包合物采用薄层色谱法、差示扫描热分析法进行表征。结果 通过响应面分析得到最佳制备工艺为挥发油/ β -CD 比例为 1:6.7, 包合温度为 70℃, 包合时间为 2h, 采用此工艺所制备的包合物产率、包合率和 OD 值的平均值分别是 78.95%、92.19%和 98.76%, 预测值与实测值均较为接近, 经表征结果证明包合物已经形成。结论 艾草挥发油包合物可采用星点设计响应面法进行包合工艺优化, 所建立的数学模型具有良好的预测性。

关键词: 艾草挥发油; 包合物; 星点设计响应面法

中图分类号: R283.6 **文献标识码:** A

艾草 (*Artemisia argyi* Levl. et Van), 为菊科植物艾的干燥叶, 在临床上主要用于各类杀虫止痒、出血症、内科、妇科等疾病。艾具有特殊气味, 很早就被用于“辟疫”, 至北宋时已经开始被用于熏蚊, 其提取精油具有驱虫, 止咳, 平喘, 消炎, 祛痰等作用^[1-4]。本课题组前期研究制备的艾草挥发油驱蚊水驱蚊效果良好, 但由于挥发油密度小, 质轻, 极易挥发, 驱蚊保护时长较短。因此本研究以湖北蕲艾为原料, 提取艾草中驱蚊主要成分挥发油, 用饱和水溶液法制备艾草挥发油包合物从而增强稳定性以及提高在水中的溶解度, 并采用星点设计响应面法优化制备工艺, 为艾草挥发油制剂的应用开发提供理论依据^[5-7]。

1 试剂与仪器

1.1 试剂

艾草挥发油 (实验室自制, 艾草来源于广东汇康元药业有限公司), β -环糊精 (天津市大茂化学试剂厂), 蒸馏水等。

1.2 仪器

挥发油提取器, 磁力加热搅拌器, 循环水真空泵 (郑州长城 SHB-III A), 热风循环烘箱 (常州群干 RXH-12)、具塞锥形瓶等。

2 方法

2.1 艾草挥发油包合物的制备方法

饱和水溶液法是制备包合物常用方法, 其所需设备较为简单, 包合效果较好, 因此本研究采用此方法制备艾草挥发油包合物。称取 β -CD 一定质量于 150ml 具塞三角瓶中, 加入纯化水 100ml, 摇匀, 置沸水浴加热搅拌 30min 至完全溶解后, 用移液枪移取艾草挥发油适量, 缓慢滴入维持一定温度的 β -CD 混悬液中, 继续恒温搅拌一定时间后, 冷藏 24h, 减压抽滤, 用少量水冲洗后用乙醇洗涤 3 次, 在真空干燥箱中干燥即得^[8]。

2.2 分析方法

2.2.1 挥发油空白回收率的测定

按照 2010 版《中国药典》附录 XD 挥发油测定法进行测定^[9], 计算空白回收率, 平行操作三次, 计算 RSD。

2.2.2 评价指标

将所得到的干燥包合物精密称重, 按照 2.2.1 项下方法测定, 读取挥发油量, 并计算供试品中挥发油的含量 (%)。按下列公式测定艾草挥发油包合率 (Y_1) 和产率 (Y_2):

$$\text{挥发油包合率 } \% (Y_1) = \frac{\text{包合物中挥发油量}}{\text{投油量} \times \text{挥发油空白回收率}} \times 100 \%$$

$$\text{包合物产率 } \% (Y_2) = \frac{\text{包合物质量 (g)}}{\beta\text{-CD (g)} + \text{挥发油 (g)}} \times 100 \%$$

包合率是衡量包合效果的主要指标^[10-12], 包合率越高, 包合效果越好, 将其权重系数定为 0.6; 包合物产率在生产中具有现实意义, 在物料投入量不变的情况

下, 随着产率增大, 包合效果越好, 将产率作为次要指标, 权重系数定为 0.4, 以每次试验中包含率和产率数据的最大值为基准, 将其余数据进行归一化处理得到综合指标 (OD)。

$$\text{综合指标 (OD)} = (Y_1/Y_{1\max}) \times 0.6 + (Y_2/Y_{2\max}) \times 0.4。$$

2.3 星点设计-效应面法优化艾草挥发油包合物工艺

在前期单因素研究基础上, 选取挥发油/ β -CD 不同比例、包合温度、包合时间三个因素对产率、包合率及 OD 值的影响, 每个因素分别选取五个水平通过星点实验设计进行包合工艺优化, 因素水平见表 1。

表 1 星点设计因素水平表

水平	A 挥发油/ β -CD 比例	B 包合温度 (°C)	C 包合时间 (h)
-1.682	1: 13	30	0.66
-1	1: 10	40	1.0
0	1: 7.5	55	1.5
1	1: 6	70	2.0
1.682	1: 5.3	80	2.3

2.4 包合物的物性鉴别

2.4.1 薄层色谱法鉴别

将实验室自制艾草挥发油、包合物中提取出的挥发油、自制艾草挥发油与 β -CD 混合物、包合物分别用适量的正己烷溶解, 2000r/min 离心后, 取上清液点于同一硅胶板上, 石油醚-乙酸乙酯 (3:1) 作为展开剂,

5%香草醛浓硫酸溶液显色。

2.4.2 艾草挥发油包合物 DSC 分析

DSC 可用来评价药物制剂中原辅料晶型、相互作用等变化, 对自制艾草挥发油、 β -CD、艾草挥发油包合物及其物理混合物进行差热扫描热分析来检验包合物是否形成。试验条件为: 起始温度 30°C, 升温速率 10°C·min⁻¹, 终止温度 350°C, N₂ 流速 40ml·min⁻¹。

3 实验结果

3.1 挥发油空白回收率

挥发油空白回收率结果如表 2 所示, 结果得到挥发油空白回收率为 91%, RSD 为 0.63%, 此方法准确性良好。

表 2 挥发油空白回收率结果

加入挥发油量 (ml)	蒸馏之后的挥发油量 (ml)	回收率 (%)	平均值	RSD (%)
1.00	0.91	91		
1.00	0.92	92	91	0.63
1.00	0.91	91		

3.2 响应面分析

3.2.1 星点设计及响应面实验结果

星点设计实验安排及响应面实验结果如表 3 所示。

3.2.2 响应曲面模型建立及回归方程显著性结果分析

将表 3 数据计算 Y (OD) 值后进行多元二次方程拟合, 拟合得到的回归方程:

表 3 星点设计及实验结果

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	W ₁ 产率 (%)	W ₂ 包合率 (%)	Y OD (%)
1	1.682	0	0	74.07	75.19	85.77
2	0	0	0	74.38	82.94	91.13
3	0	0	-1.682	67.37	51.83	66.87
4	0	0	0	79.27	82.94	93.45
5	0	0	0	79.82	87.08	98.60
6	1	1	1	73.34	86.93	93.32
7	-1	-1	1	56.74	85.16	84.25
8	-1	1	1	60.24	82.42	84.07
9	0	0	0	79.22	82.94	93.43
10	0	0	0	77.33	80.86	91.13
11	0	1.682	0	75.17	85.01	88.71
12	-1	1	-1	49.53	30.22	43.86
13	0	0	0	76.77	78.79	92.26
14	1	1	-1	69.97	75.45	84.00
15	-1	-1	-1	44.35	74.18	70.98
16	0	-1.682	0	74.69	89.16	95.46
17	-1.682	0	0	45.16	53.17	57.22
18	1	-1	1	82.79	73.81	88.98
19	0	0	1.682	69.79	87.08	91.74
20	1	-1	-1	67.8	78.73	85.17

表 4 响应曲面多元二次方程的方差分析

差异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	3577.5	9	397.5	37.94	< 0.0001	极显著
A-挥发油/ β -CD 比例	990.82	1	990.82	94.56	< 0.0001	
B-包合温度	92.19	1	92.19	8.8	0.0141	
C-包合时间	860.99	1	860.99	82.17	< 0.0001	
AB	116.05	1	116.05	11.08	0.0076	
AC	203.52	1	203.52	19.42	0.0013	
BC	131.63	1	131.63	12.56	0.0053	
A ²	901.06	1	901.06	85.99	< 0.0001	
B ²	5.68	1	5.68	0.5417	0.4786	
C ²	381.63	1	381.63	36.42	0.0001	
残差	104.78	10	10.48			
失拟项	66.16	5	13.23	1.71	0.2846	不显著
纯误差	38.62	5	7.72			
总和	3682.28	19				

注: P<0.05, 差异显著; P<0.01 差异极显著。

$Y=93.36+8.52X_1-2.60X_2+7.94X_3+3.81X_1X_2-7.91X_1^2-0.6276X_2^2-5.15X_3^2$ ($R^2=0.9715$), 二项式回归系数 R^2 为 0.9715, 表明其拟合度高, 预测性好。利用 Design Expert 12.0 软件对方程进行显著性检验及方差分析, 结果如表 4 所示。该模型的 F 值为 37.94, $P<0.0001$, 表明模型具有显著性, 方程的失拟项不显著说明模型与实际情况拟合较好, 模型中对响应值作用显著性顺序依次为 $A>C>B$, 交互项均不显著, 二次项 A^2 、 C^2 对 OD 值影响显著, 可见艾草挥发油环糊精包合模型中各因素对综合考察指标 OD 的影响不是简单的线性关系, 可用该回归模型代替真实试验点对结果进行分析。

3.2.3 响应曲面条件优化及预测性评价

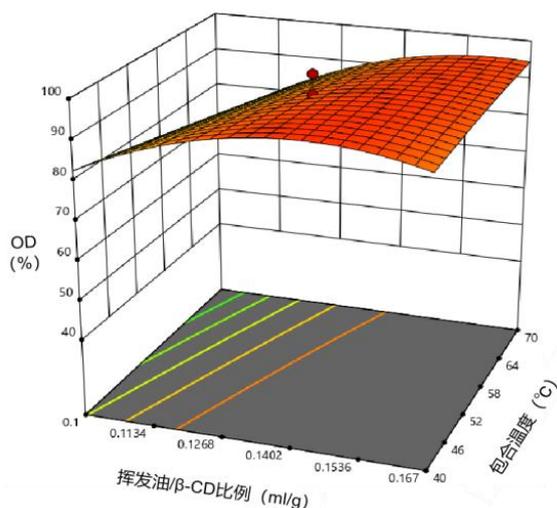


图 1 挥发油/ β -CD 比例与包合温度交互作用对 OD 值的影响

经 Design Expert 12.0 软件对实验数据分析后得到交互因素之间对 OD 值的 3D 响应曲面图, 见图 1-3。根据上述多项式模型预测, 得到的最佳包合工艺条件为: 挥发油/ β -CD 比例为 1:6.7, 包合温度为 70℃,

包合时间为 2h, 在此工艺条件下, 预测所得到的包合物产率为 75.96%, 包合率为 94.12%, 综合指标 (OD) 为 98.68%。采用优化后的工艺条件制备 3 批包合物分别测定产率、包合率及 OD 值, 结果如表 5 所示, 在优化条件下, 艾草挥发油包合物产率、包合率和 OD 值的平均值分别是 78.95%、92.19%和 98.76%, 通过对比分析, 预测值与实测值均较为接近, 证明本实验建立的数学模型可靠, 能够反映各实验因素与评价指标之间的关系, 具有良好的预测性。

表 5 3 批工艺稳定性结果

批次	产率 (%)	包合率 (%)	OD (%)
1	78.07	91.58	97.93
2	79.86	93.41	100.0
3	78.92	91.58	98.35
平均值	78.95	92.19	98.76
RSD (%)	1.2	1.2	1.2

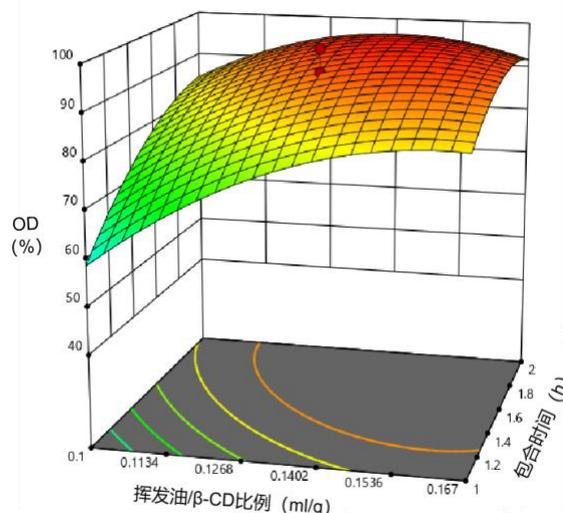


图 2 挥发油/ β -CD 比例与包合时间交互作用对 OD 值的影响

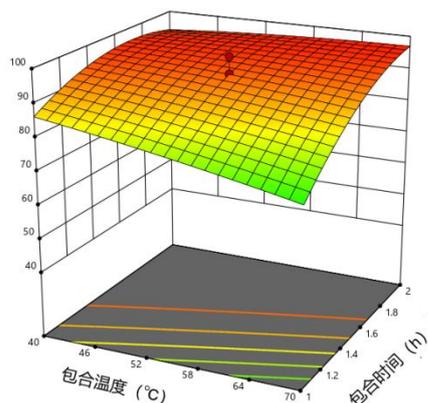


图3 包含温度与包含时间交互作用对OD值的影响

3.4 包合物的物相鉴别

3.4.1 薄层色谱法物相鉴别结果

薄层分析结果显示,在与实验室自制艾草挥发油斑点的同一位置上,从包合物中提取出的挥发油与物理混合物在同一位置出现颜色相同的斑点,而包合物无斑点展开,表明包合物中包含的艾草挥发油与自制艾草挥发油成分一致,艾草挥发油与 β -CD已形成包合物。

3.4.2 DSC物相鉴别结果

DSC测定结果如图4所示,物理混合物的热曲线呈现艾草挥发油和 β -CD的吸收峰,而包合物的吸收峰位置跟其余三者不同,说明艾草挥发油已经与 β -CD形成包合物。

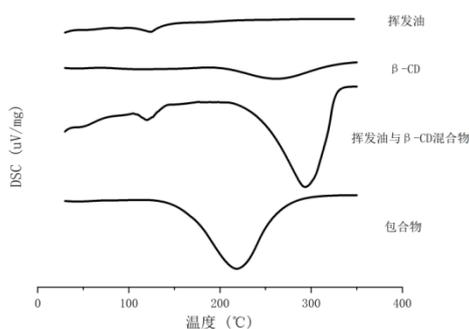


图4 差示扫描量热图

4 讨论

本研究采用饱和水溶液法制备艾草挥发油包合物,在单因素实验基础上,通过星点设计响应面法对包合工艺进行优化,得到的二项式数学模型能够较好的预测包合效果,经薄层色谱以及差示扫描热分析法验证

包合物已经形成,根据最佳包合工艺制得三批产品包合率、产率稳定。将艾草挥发油制备成包合物,不仅可以增加挥发油的稳定性,还可以将液体挥发油粉末化,有利于保存和剂型的多样性,为艾草挥发油制剂的开发和研究提供理论依据。

参考文献

- [1]赵志鸿,耿楠,黄勇勇.艾叶挥发油提取工艺的优化[J].中国医药导报,2014,11(35):66-69.
 - [2]王慧竹,朱文静,石琳.星点设计-响应面法优化月见草油- β -环糊精包合物的制备工艺[J].食品工业科技,2017,38(20):211-215.
 - [3]谢雨,廖鹏,吴漫晔.基于水蒸气蒸馏法的艾草精油提取工艺研究[J].科技经济市场,2020(4):13-14.
 - [4]白云娥,漆小梅. β -环糊精在中药方面的应用[J].中国医院药学杂志,2000(4):45-46.
 - [5]李颖.星点设计-效应面法优化鱼腥草挥发油- β -环糊精包合物的制备工艺[J].中草药,2014,45(13).
 - [6]孙军凯,苏丹,宋永贵,刘文阳.星点设计-效应面法优化莪术挥发油 β -环糊精包合物制备工艺[J].西北药学杂志,2011,26(02):131-132.
 - [7]刘道群.星点设计-效应面法优化芹菜籽挥发油羟丙基- β -环糊精的包合工艺[J].天津中医药,2019.
 - [8]李冬梅,张新春,尹晓飞. β -环糊精包合艾叶挥发油的研究[J].中国医院药学杂志,2005(6):519-521.
 - [9]何文江,陈向东.肉桂提取工艺及其挥发油包合制备工艺的研究[J].中药材,2012,35(9):1511-1515.
 - [10]孙军凯.星点设计-效应面法优化莪术挥发油 β -环糊精包合物制备工艺[J].西北药学杂志,2011(2).
 - [11]李海亮.2种方法制备4种中药挥发油 β -环糊精包合物的规律性探索[J].中国中药杂志,2012(7):90.
 - [12]吴波.薄荷油-羟丙基- β -环糊精包合物的制备与验证[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(11):25-27.
 - [13]刘艳秋,段伟丽,包怡红.艾蒿精油最佳提取工艺条件优化[J].中国林副特产,2014(06):12-14.
- 基金项目:2021年度广东省普通高校青年创新人才项目(编号:2021KQNCX245);揭阳职业技术学院“创新强校工程”项目(编号:2019JYPCQC02)。