

丁香酚微囊的制备及质量评价

华彩丽, 宋晓平, 杨国栋, 杨向颖, 付明哲

(西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】研究丁香酚微囊的制备工艺,并对所制备的微囊质量进行评价。【方法】以海藻酸钠为囊材、丁香酚为囊心、吐温-80 为乳化剂制备丁香酚微囊,用正交试验优化制备工艺,对微囊的形态、药物包封率及其挥发性进行检测。【结果】丁香酚微囊的最佳制备工艺条件为:海藻酸钠质量浓度为 25 g/L,海藻酸钠与丁香酚质量比为 1:1,吐温-80 添加量为 0.3%。按以上工艺所制备的丁香酚微囊呈圆球形,表面光滑,粒径为 35~65 μm 的丁香酚微囊占 76.1%~78.4%,丁香酚含量为 820.7~823.5 mg/g,包封率为 87.5%~87.8%。100 $^{\circ}\text{C}$ 加热后 10 h,微囊中丁香酚的挥发率为 13.4%,而原料药丁香酚的挥发率为 42.4% ($P < 0.01$)。【结论】确定了丁香酚微囊的最佳制备工艺条件,所制备的微囊圆整光滑,包封率高,稳定性好。

【关键词】 海藻酸钠;丁香酚;微囊;制备工艺;凝聚法

【中图分类号】 S853.73⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)04-0047-04

Studies on preparation and quality evaluation of eugenol microcapsules

HUA Cai-li, SONG Xiao-ping, YANG Guo-dong, YANG Xiang-ying, FU Ming-zhe

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The research was to study the preparation conditions of eugenol microcapsules and their quality evaluation. 【Method】The eugenol microcapsules were made by using sodium alginate as wall material, eugenol as core and Tween-80 as emulsifier, and the process was optimized by orthogonal experiment, as well as the formulation, drug encapsulation efficiency and volatile of microcapsules were investigated. 【Result】The optimum parameters were that the concentration of sodium alginate was 25 g/L, the weight ratio of sodium alginate to eugenol 1:1, the proportion of Tween-80 0.3%, and the prepared microcapsules spherical with smooth surface, and the proportion with a diameter of 33-65 μm 76.1%-78.4%. The content and encapsulation efficiency of eugenol was 820.7-823.5 mg/g and 87.5%-87.8% respectively. The volatile rate of eugenol in the microcapsules was 13.4%, and that of the material eugenol 42.4% ($P < 0.01$) after heating 10 h at 100 $^{\circ}\text{C}$. 【Conclusion】The optimal conditions were confirmed. The eugenol microcapsules were spherical with smooth surface, high encapsulation efficiency and good stability.

Key words: sodium alginate; eugenol; microcapsule; preparation technology; coacervation method

丁香酚为桃金娘科植物丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb) 花蕾挥发油的主要成分,具有抗菌、驱虫、抗癌和麻醉等功能^[1-4]。丁香酚在空气中易挥发,有强烈的丁香气味,极难溶于水,临床使用

存在诸多不便。微囊技术 (Microcapsule technique) 是利用天然或合成的高分子材料作为囊材,将固体或液体药物 (囊心) 包裹成微小囊状物使用。微囊化可以提高药物的稳定性,减少药物的挥发,具有掩盖

* [收稿日期] 2008-05-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30070577)

[作者简介] 华彩丽 (1979-), 女, 河南舞钢人, 在读硕士, 主要从事中药成分及药理作用研究。E-mail: huacaili666@126.com

[通信作者] 宋晓平 (1963-), 男, 陕西周至人, 教授, 主要从事中药成分及药理作用研究。E-mail: sxpxbnl@163.com

不良气味和降低刺激性等特点^[5-6]。目前,关于丁香酚微囊制剂的制备工艺尚未见研究报道。为此,本研究以海藻酸钠为囊材,采用凝聚法制备丁香酚微囊,并利用正交试验对微囊制备的工艺进行了优化,以期为丁香酚的进一步开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试药物 丁香油,购自西安绿达生物化工有限公司;丁香酚对照品,购自中国药品生物制品检定所。

1.1.2 化学试剂 海藻酸钠、无水氯化钙、吐温-80、乙醚、氢氧化钠、硫酸、甲醇、石油醚,上述试剂除甲醇为色谱纯外,其余均为分析纯。

1.1.3 主要仪器 Waters 高效液相色谱仪系统(600Epump, 600controller, 996PDA, Millnnium32 软件系统),日本岛津仪器有限公司生产;JJ-2 组织捣碎匀浆机,江苏天由有限公司生产;98-1 磁力搅拌器,上海司乐仪器有限公司生产;显微镜,上海精谊

仪器仪表有限公司生产。

1.2 丁香酚的制备

取丁香油 90 mL 置于 250 mL 分液漏斗中,加入 30 mL 30 g/L 的氢氧化钠萃取 3 次;合并各次碱层萃取液,用 30 mL 乙醚萃取 3 次;非乙醚层用 3 mol/L 硫酸酸化,调溶液 pH=5,每次用 30 mL 乙醚萃取 3 次,合并各次萃取液,蒸除乙醚,得淡黄色油状液体,即为纯化的丁香酚^[7]。

1.3 丁香酚微囊的制备

参考文献[8],采用凝聚法制备丁香酚微囊,即将囊材海藻酸钠在 50~60 ℃下溶解后,与囊心丁香酚、乳化剂吐温-80 制备乳化液,将乳化液加入到 20 g/L CaCl₂ 溶液中凝聚、固化,自然干燥。根据本研究前期单因素试验结果并参考文献[9],选择对丁香酚微囊制备有较大影响的因素,即海藻酸钠质量浓度、海藻酸钠与丁香酚质量比、吐温-80 添加量进行正交试验,并以包封率为评价指标确定最佳工艺参数。正交试验的因素水平见表 1。

表 1 丁香酚微囊制备工艺的优化因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments of the preparation of eugenol microcapsules

| 水平 Level | 因素 Factor | | |
|-------------|---|---|---------------------------------------|
| | 海藻酸钠质量浓度/(g·L ⁻¹) Concentration of sodium alginate | $m(\text{海藻酸钠}) : m(\text{丁香酚})$ $m(\text{Sodium alginate}) : m(\text{Eugenol})$ | 吐温-80 添加量/% Proportion of Tween-80 |
| 1 | 15 | 2 : 1 | 0.1 |
| 2 | 20 | 1 : 1 | 0.3 |
| 3 | 25 | 1 : 2 | 0.5 |

1.4 丁香酚微囊的质量评价

1.4.1 丁香酚微囊的形态 按照丁香酚微囊制备的优化参数制备丁香酚微囊,重复 3 次,在光学显微镜下观察所制备微囊的形态。测定微囊粒径,每次测 500 个,结果取其平均值^[10]。

1.4.2 丁香酚微囊的包封率 (1)微囊中丁香酚含量的测定。精密称取丁香酚微囊样品 5 mg(精确至 0.000 1 g),置于 100 mL 容量瓶中,加体积分数 65% 的甲醇溶液至刻度线,萃取,然后过滤。精密吸取 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中,用体积分数 65% 的甲醇稀释至刻度,摇匀,取 10 μL 参考文献[8]方法检测丁香酚含量。

(2)微囊表面丁香酚的质量。称取丁香酚微囊样品 5 mg(精确至 0.000 1 g),置布氏漏斗中,用石油醚洗涤,收集滤液,回收石油醚,置于 100 mL 容量瓶中,加体积分数 65% 的甲醇溶液至刻度线,取 10 μL 参考文献[11]方法检测丁香酚含量。

按下式计算微囊中丁香酚含量和丁香酚微囊的

包封率:

微囊中的丁香酚含量 = 微囊中丁香酚的总含量 - 微囊表面丁香酚含量;

包封率/% = (微囊中的丁香酚含量/微囊和介质中的总丁香酚含量) × 100%。

1.4.3 丁香酚微囊的挥发性 取 6 个 10 mL 小烧杯,分别加入丁香酚 5 mg、丁香酚微囊 6.59 mg(即包埋有丁香酚 5 mg)各 3 份,放入 100 ℃ 的烘箱中,分别在试验后的 1, 2, 5 和 10 h 时称质量。按下式计算丁香酚及丁香酚微囊的挥发率,并进行 *t* 检验。

丁香酚的挥发率/% = (丁香酚初始质量 - 丁香酚剩余质量)/丁香酚初始质量 × 100%;

微囊中丁香酚的挥发率/% = (微囊总质量 - 微囊剩余质量)/微囊总质量 × 100%。

2 结果与分析

2.1 丁香酚微囊的制备

丁香酚微囊制备工艺条件的优化结果见表 2。

由表2可以看出,在丁香酚微囊制备过程中,各因素对微囊包封率的影响程度由大到小依次为海藻酸钠质量浓度>海藻酸钠与丁香酚的质量比>吐温-80添加量,即海藻酸钠质量浓度对丁香酚微囊包封率

的影响最大。最佳工艺条件为:海藻酸钠质量浓度为25 g/L,海藻酸钠与丁香酚质量比为1:1,吐温-80添加量为0.3%。

表2 丁香酚微囊制备条件的优化结果

Table 2 Optimization result of the eugenol microcapsules

| 编号 No. | 因素 Factors | | | 包封率/% Encapsulation efficiency |
|-----------|---|---|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | 海藻酸钠质量浓度/(g·L ⁻¹) Concentration of sodium alginate | m(海藻酸钠):m(丁香酚) m(Sodium alginate): m(Eugenol) | 吐温-80添加量/% Proportion of Tween-80 | |
| 1 | 15 | 2:1 | 0.1 | 29.8 |
| 2 | 15 | 1:1 | 0.3 | 46.1 |
| 3 | 15 | 1:2 | 0.5 | 42.5 |
| 4 | 20 | 2:1 | 0.5 | 53.2 |
| 5 | 20 | 1:1 | 0.3 | 58.4 |
| 6 | 20 | 1:2 | 0.1 | 47.5 |
| 7 | 25 | 2:1 | 0.5 | 68.6 |
| 8 | 25 | 1:1 | 0.1 | 87.6 |
| 9 | 25 | 1:2 | 0.3 | 82.6 |
| T1 | 118.4 | 151.6 | 164.9 | |
| T2 | 159.1 | 192.1 | 187.1 | |
| T3 | 238.8 | 172.6 | 164.3 | |
| t1 | 39.47 | 50.53 | 54.97 | |
| t2 | 53.03 | 64.03 | 62.37 | |
| t3 | 79.60 | 57.53 | 54.77 | |
| R | 40.13 | 13.5 | 7.6 | |

2.2 丁香酚微囊的质量评价

在光学显微镜下观察发现(图1),制备的丁香酚微囊多为圆球形,表面光滑。由表3可知,制备的丁香酚微囊中,粒径>65 μm的占13.8%~15.7%,粒径为35~65 μm的占76.1%~78.4%,粒径<35 μm的占7.6%~8.2%;包封率为87.5%~87.8%;丁香酚含量为820.7~823.5 mg/g。

由表4可知,在100℃分别加热1,2,5,10 h后,微囊中丁香酚的平均挥发率分别为6.2%,10.1%,13.0%和13.4%,均极显著高于原料药丁香酚100℃加热相同时间的挥发率(8.6%,18.6%,33.2%和42.4%, $P<0.01$),表明丁香酚微囊具有

较高的热稳定性。

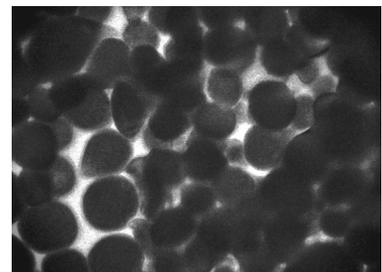


图1 丁香酚微囊形态的光学显微观察(15×40)

Fig. 1 Eugenol microcapsules appearance(15×40)

表3 丁香酚微囊的粒径分布及其丁香酚含量

Table 3 Size distribution of the eugenol microcapsules and content of eugenol

| 测定次数 Measure time | 不同粒径所占比例/% Proportion of each diameter | | | 包封率/% Encapsulation efficiency | 丁香酚含量/(mg·g ⁻¹) Content of eugenol | 相对标准偏差 RSD |
|----------------------|--|----------|--------|-----------------------------------|---|---------------|
| | >62 μm | 35~65 μm | <35 μm | | | |
| 1 | 13.8 | 78.4 | 7.8 | 87.5 | 820.7 | |
| 2 | 15.7 | 76.1 | 8.2 | 87.8 | 823.5 | 0.20 |
| 3 | 14.1 | 78.3 | 7.6 | 87.5 | 820.7 | |

表 4 丁香酚微囊挥发性的分析($n=3$)Table 4 Experiment results of volatile of eugenol microcapsules($n=3$)

| 检测时间/h Detected time | 丁香酚挥发率/% Volatile rate of eugenol | |
|-------------------------|--------------------------------------|--------------|
| | 微囊 Microcapsules | 原料药 Material |
| 1 | 6.2±0.021 A | 8.6±0.058 B |
| 2 | 10.1±0.024 A | 18.6±0.058 B |
| 5 | 13.0±0.058 A | 33.2±0.055 B |
| 10 | 13.4±0.009 A | 42.4±0.027 B |

注:同行数据后标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: The different capital letters labeled after data in the same line stand for significant differences($P<0.01$).

3 讨论

微囊的制备有化学法、物理机械法和物理化学法等^[12]。在物理化学法中,采用一种高分子材料加入凝聚剂使之凝聚成囊、固化定型的方法,称为单凝聚法。单凝聚法是微囊制备中常用的方法之一,其主要影响因素有囊材的用量、囊材与药物的比例及乳化剂的用量。王金宇等^[13]以干酵母细胞为囊材,制备丁香油微囊,包埋时间长达 9 h,干酵母细胞与丁香油质量比为 1:1,微囊中丁香油的包埋率为 41.26%。徐文秀等^[9]研究表明,以阿拉伯胶与麦芽糊精 1:1 为囊材,丁香油与囊材的配比为 12:1,乳化剂用量为 0.3%,所制备的丁香油微囊的包封效果较好。本研究以海藻酸钠为囊材,采用单凝聚法制备丁香酚微囊,结果表明,海藻酸钠质量浓度为 25 g/L,海藻酸钠与丁香酚质量比为 1:1,吐温-80 添加量为 0.3% 时,所制备的丁香酚微囊呈圆球形,粒径为 35~65 μm 的微囊达 76.1%~78.4%,包封率达 87.5%~87.8%。

微囊化具有保护药物免受环境影响、改善制剂稳定性和达到控释等作用^[14]。尚北城等^[15]以明胶、阿拉伯胶为囊材制备酮康唑微囊,长期稳定性试验结果显示,该微囊中酮康唑含量的变化量小于 1%,而原料含量变化超过 5%。杨官娥等^[16]对制备的橄榄油微囊进行了稳定性考察,结果发现,微囊橄榄油含量变化小于 3%,而原料含量变化超过 8%。Ritta 等^[17]分别以麦芽糊精和衍生化淀粉为囊壁包裹香菜油,并以香菜油中的芹菜酮和柠檬油为指标检测挥发性,结果发现,2 种微囊在室温下贮存 45 d,70 $^{\circ}\text{C}$ 下贮存 56 d 后芹菜酮的含量几乎没有变化,2 种微囊中芹菜酮、柠檬油呈均匀释放。本研究制备的丁香酚微囊,在 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 h 后微囊中丁香酚的挥发率为 13.4%,与原料挥发率(42.4%)相比差异

极显著($P<0.01$),说明微囊化可显著提高制剂中挥发性成分的稳定性。

[参考文献]

- [1] 卢丹,李平亚.丁香属植物的化学成分和药理作用研究进展[J].长春中医学院学报,2001,17(4):58.
Lu D, Li P Y. Lilac plants and the chemical composition of pharmacological research progress [J]. Journal of Changchun College of Traditional Chinese Medicine, 2001, 17(4): 58. (in Chinese)
- [2] Kamel C, Hafedh H, Tarek Z, et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myraceae): a short review [J]. Phytotherapy Research, 2007, 21(6): 501-506.
- [3] 阮娜,宋晓平.丁香杀螨活性成分的追踪分离纯化与结构鉴定[J].中国农学通报,2005,21(9):24-27.
Ruan N, Song X P. Tracing isolation purification and identification of compound with acaricidal activity in *Eugenia caryophyllata* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(9): 24-27. (in Chinese)
- [4] Kamel C, Tarek Z, Riadh K, et al. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species [J]. Mycoses, 2007, 50(5): 403-406.
- [5] 闫丽霞.中药制剂技术[M].北京:化学工业出版社,2004:294-298.
Yan L X. Traditional Chinese medicine technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 294-298. (in Chinese)
- [6] 毕殿洲.药剂学[M].北京:人民卫生出版社,2002:124-126.
Bi D Z. Pharmacy [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 124-126. (in Chinese)
- [7] 陈晓青,蒋新宇,刘佳佳.中草药成分分离分析技术与方法[M].北京:化学工业出版社,2006:279-289.
Chen X Q, Jiang X Y, Liu J J. Chinese herbal medicine ingredients separate analysis techniques and methods [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 279-289. (in Chinese)
- [8] 崔福德.药剂学[M].北京:人民卫生出版社,2004:262-283.
Cui F D. Pharmacy [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 262-283. (in Chinese)
- [9] 徐文秀,吴彩娥,李强.丁香油喷雾干燥微胶囊技术研究[J].食品科学,2006,27(1):278-281.
Xu W X, Wu C E, Li Q. Study on processing technology of clove essential oil microencapsulation by spray-drying method [J]. Food Science, 2006, 27(1): 278-281. (in Chinese)
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2005 版第二部[M].北京:化学工业出版社,2005:181-182.
Chinese Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China Pharmacopoeia 2005 version of part II [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 181-182. (in Chinese)

(下转第 57 页)