

胶体磨制备冰片- β 环糊精包合物工艺研究*

★ 熊耀坤¹ 张国松² 魏惠珍² 李爽¹ 罗晓健^{2**} (1. 江西中医学院 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

摘要:目的:研究冰片- β -环糊精胶体磨包合冰片的最佳工艺。方法:用正交试验设计法,以冰片包合率和包合物收得率为考察指标,研究物料比例、碾磨时间及加水量对使用胶体磨制备冰片- β -环糊精包合物效果的影响。结果:优化工艺为:冰片与 β -环糊精比例为1:8,碾磨时间为45 min,加水量为1倍。结论:经实验优选得到的工艺所得冰片包合率和包合物的收得率分别为95.2%和95.9%。

关键词:冰片; β -环糊精;胶体磨;正交设计

中图分类号:R 282 文献标识码:A

Reparation of Borneol- β -Cyclodextrin Inclusion Compound Process by Colloid Mill

XIONG Yao-kun¹, ZHANG Guo-song², WEI Hui-zhen², LI Shuang¹, LUO Xiao-jian^{2*}

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, 330004

2. National Pharmaceutical Engineering Centre for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang, 330006

Abstract: objective: To study the best technology of borneol- β -cyclodextrin inclusion compound process. Method: by the method of orthogonal experiment, with the rate and yield of borneol- β -cyclodextrin as investigation index; to study and research the rate of materials, the time of grinding, the amount of imbibition which effect the result of borneol- β -Cyclodextrin inclusion compound process by colloid mill. Result: the optimize of technology; the rate of materials is 1:8; the time of grinding is 45 min; the amount of imbibition is 1. Conclusion: by optimizeing of technology the rate and yield of Borneol- β -Cyclodextrin are 95.2% and 95.9%.

Key words: Borneol; β -Cyclodextrin; Colloid Mill; Orthogonal Design

冰片在很多中药处方中能起到开窍醒神、清热止痛的功效,但由于其极易升华^[1],致使其在制剂过程和贮存期内极不稳定。为了提高其稳定性,已有文献报道采用 β -环糊精(β -CD)对其进行包合制备成包合物。目前,常用的包合方法有饱和水溶液快速搅拌法、超声法等其他方法,但其包合率都较低^[2~3],在生产中推广应用具有一定困难,而采用胶体磨研磨法包合,具有包合温度低、时间短、包合率高、产量高、设备投入低,适合工业化生产等优点,本文以冰片包合率和包合物收得率为指标,采用正交设计筛选优化胶体磨制备冰片- β 环糊精包合物的最佳包合工艺,为工业生产提供实验依据。

1 实验仪器与试剂

TM-40 胶体磨(天津市鑫普机械制造有限公司);

Agilent6890N 型气相色谱仪(美国安捷伦); KQ-250E 型超声波清洗器(昆山市超生仪器有限公司); ZK-025B 型真空干燥箱(上海实验仪器厂有限公司); 电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂); LXJ-II 型离心沉淀机(上海安亭科学仪器厂); 冰片对照品(中国药品生物制品检定所 批号 110743-200504); β -环糊精(中国医药集团上海化学试剂公司批号 320030603); 冰片(购自江西南华药业有限公司); 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 包合物中冰片的含量测定

2.1.1 色谱条件及系统适应性试验 色谱柱: PEG-20M DB-WAX(Agilent122-7032) 30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m; 柱温: 110 $^{\circ}$ C 以 10 $^{\circ}$ C $\cdot$ min⁻¹ 的速度程序

* 基金项目:国家自然科学基金(30760313);江西省教育厅科技项目(GJJ08324)

** 通讯作者:罗晓健(1960-),男,教授,硕士研究生导师。Tel:(0791)7119619;E-mail:Luoxj98@126.com

升温至 180 ℃;气化室温度:220 ℃;分流比:20:1;恒流:1 mL·min⁻¹;载气:氮气;检测器:FID;检测温度:250 ℃;尾吹(N₂):25 mL·min⁻¹。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取冰片对照品 103.25 mg,精密称定,置于 100 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯溶解,并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密称取内标物水杨酸甲酯 42.93 mg,置于 200 mL 容量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,摇匀,作为内标溶液。精密取对照品溶液 0.1 mL,0.2 mL,0.5 mL,1 mL,2 mL,3 mL 于 5 mL 容量瓶中,各加入内标液 1 mL,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,进样 1 μL,在上述色谱条件下进行测定。以被测组分的浓度(μg·mL⁻¹)为纵坐标,以被测组分(龙脑和异龙脑面积之和)与内标的峰面积比为横坐标绘制标准曲线,回归方程为: $y = 22.876x - 2.05$, $R^2 = 0.9998$ 。结果表明在 20.67 ~ 619.5 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.1.3 精密度试验和平均校正因子测定 将同一浓度对照品溶液进样 6 次,计算所测的浓度的 RSD 为 1.5%。平均校正因子(f)为 0.5241, RSD = 1.2%。

2.1.4 重复性试验 取供试品溶液 6 份,按样品测定法平行操作,结果 RSD 为 1.8%。

2.1.5 回收率试验 精密称取已知浓度的样品适量,分别加入一定量的冰片对照品,按样品测定方法测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 冰片的 GC 法测定回收率的考察结果

加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
14.8	14.4	97.30	95.72	1.78
	14.2	95.95		
	13.9	93.92		
18.5	18.4	99.46	95.86	3.45
	17.6	95.14		
	17.2	92.97		
22.2	21.8	98.20	97.60	1.48
	21.3	95.95		
	21.9	98.65		

2.1.6 包合物中冰片的含量测定 精密称取包合物约 20 mg,置入 15 mL 具塞离心管中,加入无水乙醇 10 mL,混匀,超声振荡 15 min 后放置过夜,次日离心(2500 r/min) 10 min,取上清液备用。精密吸取上清液 3 mL 置 5 mL 容量瓶内,加入内标溶液 0.2 mL,加无水乙醇至刻度,混匀,进样 1 μL,测定并计算包合物中冰片的含量。

2.2 胶体磨包合冰片的正交试验

2.2.1 包合物的制备方法 取 120 g 的 β-环糊精,

加入规定倍量的水研匀,倒入胶体磨中,缓慢连续滴加用适量乙醇溶解的冰片,碾磨一定时间,低温真空干燥 24 h,取出包合物,用适量的乙酸乙酯冲洗三次,以去除表面残留未包合的冰片,将包合物置于 40 ℃ 电热鼓风干燥箱中干燥,即得。

2.2.2 胶体磨包合工艺正交试验设计 根据预试验结果,影响包合效果的主要因素有冰片与 β-环糊精的质量比、包合时间和加水量 3 个因素,采用 L₉(3⁴) 正交设计,以包合物收得率和包合率为评价指标,分析优选最佳工艺。因素及水平划分见表 1,正交试验安排及结果见表 1,包合物收得率和包合率计算公式如下^[4]:

包合物收得率(%)

$$= \frac{\text{包合物重量(g)}}{\text{β-环糊精投入量(g)} + \text{冰片投入量(g)}} \times 100\%$$

冰片包合率(%)

$$= \frac{\text{包合物中冰片的含量} \times \text{包合物重量(g)}}{\text{冰片加入量}} \times 100\%$$

2.2.3 包合结果分析 采用 SPSS 统计软件根据实验结果,对不同指标进行统计分析,分析结果见表 2 ~ 5。

表 2 正交试验因素水平表

水平	因素		
	冰片: β-CD/g·g ⁻¹	A 碾磨时间/min	B 加水倍量
1	1:6	30	1
2	1:7	45	1.5
3	1:8	60	2

表 3 正交试验条件及结果

实验号	A	B	C	D	收得率(%)	包合率(%)
1	1	1	1	1	87.34	89.07
2	1	2	2	2	86.45	92.67
3	1	3	3	3	87.43	91.3
4	2	1	2	3	89.56	90.63
5	2	2	3	1	93.34	93.14
6	2	3	1	2	88.96	94.87
7	3	1	3	2	95.43	90.21
8	3	2	1	3	95.3	96.12
9	3	3	2	1	94.76	96.25
收得率(%)	i 29.02	ii 30.21	iii 31.29	R 2.27		
包合率(%)	i 30.34	ii 30.96	iii 31.34	R 1.00		

表 4 包合物收得率方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	44.119	2	22.059	62.952	0.089
B	5.871	2	2.935	8.377	0.237
C	8.979	2	4.489	12.812	0.194

表 5 冰片包合率方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	9.470	2	4.735	315.676	0.040
B	28.000	2	14.000	933.349	0.023
C	5.175	2	2.590	172.501	0.054

由统计结果可知,以包合率为指标,根据方差分析表,因素 B 对其有显著性影响,其次为因素 A,再次为 C,即碾磨时间 > 冰片:β-CD 比例 > 加水倍量,综合直观分析来看,因素 B₂ 水平包合率最高,因素 A₃ 水平最高,因素 C₁ 水平最高,确定工艺为: A₃B₂C₁。以包合物的收得率为指标,因素 A 对结果影响最大,其次为 C,再次为 B,但实验结果无统计学意义,综合直观分析来看,确定工艺为: A₃B₂C₃。结合包合物收得率和包合率的方差分析、直观分析及实际情况,得出最佳包合工艺为 A₃B₂C₁,即冰片与 β-环糊精比例为 1:8,碾磨时间为 45 min,加水量为 1 倍。

2.2.4 优选工艺验证试验 为了进一步验证上述工艺参数的稳定性和可行性,以优化出的最佳工艺进行 3 次验证实验,结果见表 6。

表 6 验证试验结果

	包合物收得率(%)	包合率(%)
1	94.7	96.9
2	95.2	95.2
3	95.7	95.7
平均	95.2	95.9

由表 6 结果可见,用验证后的制备工艺制备的颗粒各项指标均较好,具有较好的重现性和可行性。

2.3 包合物的鉴定^[5]

2.3.1 薄层色谱法(TLC) 称取包合物 100 mg,置于具塞离心管中,加乙酸乙酯 10 mL,超声处理 15 min,离心(2 500 r/min)10 min,倾出上清液,为乙酸乙酯提取液;残渣加无水乙醇 10 mL,超声处 15 min,离心(2 500 r/min)10 min,倾出上清液,为无水乙醇提取液。再取冰片对照药材 10 mg,加乙酸乙酯 10 mL 溶解,作为对照品溶液。

吸取上述 3 种溶液各 5 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙醚(8:2)为展开剂,展开、取出、晾干,喷与 3% 香草醛浓硫酸溶液,在 105 ℃ 烘至斑点显色清晰。无水乙醇提取液色谱中,在与

对照药材色谱相应的位置上,日光下显相同颜色的 2 个斑点,而在乙酸乙酯提取液色谱中,则没有以上 2 个斑点。可见包合物确已形成,并且包合物前后主成分没有发生变化。

2.3.2 差示热分析法(DTA) 测试条件:样品量 5 mg,气氛为 N₂,流量为 40 cm³·min⁻¹,铝质坩埚,升温速率 10 ℃·min⁻¹、取冰片、β-CD、冰片 β-CD 包合物和混合物,按上述条件进行测试,结果见图 1。

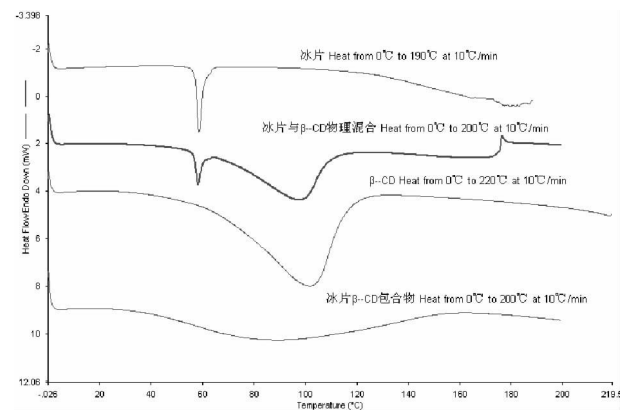


图 1 冰片、β-CD、冰片

β-CD 包合物和混合物差示热分析(DTA)图

试验结果表明,冰片在 58.59℃ 有一个较强的吸热峰,β-CD 的吸热峰在 102.51 ℃、当冰片被 β-CD 包合后,在 90.72 ℃ 时有一个吸收峰,而冰片的吸热峰消失,而在二者物理混合图谱上,出现的是二者吸热峰叠加,与包合物吸热峰有着显著差别,由此可见,包合物确已形成。

3 讨论

(1) 利用胶体磨制备冰片 β-环糊精包合物在优化条件下所得包合物的收得率和冰片包合率,分别可达到 95.2% 和 95.9%,明显高于文献报道值^[6],用胶体磨制备 β-环糊精包合物的产品得率高,包合时间短、温度低、产量大,占用空间小,设备投入少,工艺条件易控制,适合企业工业化大量生产。

(2) 冰片室温下易升华,且有不良气味,在制剂的成型过程中,直接加入损失量较大,直接影响到药物的质量。而且 β-环糊精具有掩盖药物的不良气味,降低药物刺激性,增加药物的稳定性,减少挥发等特点。因此,将冰片与 β-环糊精制成包合物,既提高了药物的稳定性,又克服冰片难以加入到制剂中的问题。

(3) 本文分别采用了薄层色谱法、差示热分析法对包合物进行了鉴定,结果表明冰片被 β-环糊精包合前后主成分没有发生变化,包合物与混合物及

正交设计优选黄芪多糖的微波辅助与传统提取工艺研究^{*}

★ 张萍 梁新丽^{**} 廖正根 赵国巍 赖珺 戴春兰 (江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:目的:以水为提取溶剂,比较微波辅助与传统提取对黄芪多糖的影响研究。方法:采用正交实验设计,蒽酮-硫酸比色法测定其含量,优选微波辅助与传统提取黄芪的工艺,比较两种提取工艺对黄芪多糖的影响。结果:优化传统提取条件为料液比12:1,提取时间60 min,提取2次,黄芪多糖提取率为89.34%;微波辅助提取条件为料液比12:1,提取时间15 min,微波功率800 W,黄芪多糖提取率为93.02%。结论:微波辅助提取时间短、有效成分提取率高,可用于黄芪多糖的提取工艺。

关键词:正交设计;黄芪;多糖;微波提取;传统提取

中图分类号:R 284.2 **文献标识码:**A

Study on Microwave-assisted Extraction and Conventional Extraction Astragalus-polysaccharose by Orthogonal Design

ZHANG Ping, LIANG Xing-li, LIAO Zheng-gen, ZHAO Guo-wei, LAI Jun, DAI Chun-lan

Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

Abstract: Objective: Comparative study on extracting astragalus-polysaccharose from conventional extraction and microwave-assisted by water. Methods: Orthogonal test was used, Polysaccharide content was determined with anthrone-sulphuric acid colorimetry. Results: The optimum conventional extraction procedure was as follow: 12 times of water decocting 60 min, 2 times, the polysaccharide extraction rate was 89.34%; The optimum microwave-assisted extraction procedure was: 12 times of water abstraction 15 min, microwave irradiation (800W) 2 times, the extraction rate was 93.02%. Conclusion: The microwave technique could be a better method for polysaccharides extraction in the Radix astragali.

Key words: Orthogonal design; Radix astragali; Polysaccharides; Microwave-assisted extraction; Conventional extraction

黄芪是豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Var. *mong-holicus* (Bge) Hsiao. 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。黄芪味甘性温,归肺、脾经。具补气固

表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌等功效,药用历史悠久,应用广泛^[1]。

关于植物活性多糖的提取已有较多研究报道,传统的浸提方法主要有冷水浸提^[2]、热水浸提^[3]、

冰片相比,其晶体特征发生了显著变化,呈现出一种新的物相,确证包合物已经形成。

参考文献

- [1] 马琳,周庆华. 冰片损失量的测定[J]. 中医药学报,1994(3):38-39.
- [2] 袁敏,赵仁永,王平,等. 白石降压胶囊中冰片 β -环糊精包合工艺的研究及其包合物鉴定[J]. 齐鲁药事,2007,(14):126.
- [3] 王晓平,廖工铁,侯世祥. 蟾酥冰片 β -环糊精包合物的制备与鉴

定[J]. 华西药理学杂志,1992,7(3):138-142.

- [4] 王翊臻,荆树汉. 冰片 β -环糊精包合物制备工艺研究[J]. 广西医学,2004,26(6):820-821.
- [5] 宋洪涛,郭涛,赵明宏,等. 冰片 β -环糊精包合物的理化性质考察[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(4):255-257.
- [6] 姚波,廖工铁,洪净,等. 冰片 β -环糊精包合物包合方法的研究[J]. 中成药研究,1989,(11):1-2.

(收稿日期:2008-12-12)

^{*} 基金项目:国家十一五科技支撑计划资助项目(2006BAI09B07-05);江西省卫生厅中医药科研基金资助项目(2007A018);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ08327)

^{**} 通讯作者:梁新丽,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:(0791) 7119011;E-mail:paln7@163.com