

星点设计-效应面法优选穿心莲 提取物- β -环糊精包合物制备工艺

刘玲, 李小芳*, 文怡静, 舒予, 吴珊, 罗丽佳

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与
开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:**采用星点设计-效应面法优化穿心莲提取物- β -环糊精(β -CD)包合物的制备工艺。**方法:**采用超声法制备穿心莲提取物- β -CD包合物,以包合率为评价指标,采用星点试验考察 β -CD与穿心莲提取物的投料质量比、包合时间及包合温度对包合工艺的影响,对试验数据进行多元线性回归和二项式方程拟合,通过效应面法优选包合工艺条件并进行验证试验。**结果:**最佳包合工艺条件为 β -CD与穿心莲提取物的投料质量比5.57:1,包合时间4.5 h,包合温度55℃;包合率预测值与理论值的偏差1.18%。**结论:**星点设计-效应面法适用于优化穿心莲提取物- β -CD包合物的制备工艺,建立的数学模型具有良好的预测性。

[关键词] 穿心莲提取物; β -环糊精; 星点设计-效应面法; 包合工艺; 单因素试验; 紫外分光光度法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0022-04

[doi] 10.11653/syfy2014020022

Optimization of Preparation Technology of Andrographis Herba Extract- β -Cyclodextrin Inclusion Complex by Central Composite Design and Response Surface Methodology

LIU Ling, LI Xiao-fang*, WEN Yi-jing, SHU Yu, WU Shan, LUO Li-jia

(Chinese Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Ministry of Education, State Key Laboratory Breeding Base for System Research and Development Utilization of Chinese Herbs Resources Established by Province and Ministry, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of Andrographis Herba extract- β -cyclodextrin (β -CD) inclusion complex by central composite design and response surface method. **Method:** Andrographis Herba extract- β -CD inclusion complex was prepared by ultrasonic method. Taking inclusion rate as index, central composite design test was adopted to optimize inclusion process with mass ratio of Andrographis Herba extract and β -CD, inclusion time and inclusion temperature as factors, test data were fitted by multi-linear equation and second-order polynomial equation, optimal inclusion technology was predicted by response surface method. **Result:** Optimum inclusion technology were as follows: mass ratio of Andrographis Herba extract and β -CD 5.57:1, inclusion time 4.5 h, inclusion temperature 55℃; Deviation between the observed value and the predicted value was 1.18%. **Conclusion:** Central composite design and response surface method was suitable for optimizing preparation technology of Andrographis Herba extract- β -CD inclusion complex, this established mathematical model had good predictability.

[收稿日期] 20130705 (009)

[基金项目] 四川省教育厅重点项目(12ZA042)

[第一作者] 刘玲,在读硕士,从事中药新剂型及中药新技术研究,Tel:13548134063,E-mail:liuling206@foxmail.com

[通讯作者] *李小芳,教授,博士生导师,从事中药新剂型及中药新技术研究,Tel:13808195110,E-mail:lixiaofang918@163.com

[Key words] Andrographis Herba extract; β -cyclodextrin; central composite design-response surface methodology; inclusion process; single factor test; ultraviolet spectrophotometry

穿心莲具有清热解毒、凉血、消肿等功效^[1],主要有效成分为二萜内酯类化合物^[2]。该成分味苦,难溶于水,生物利用度低,拟采用包合技术将穿心莲提取物制备成包合物。已有文献报道将穿心莲内酯制成包合物并采用正交试验法对包合工艺进行优化,但建立的数学模型预测性较差^[3]。本实验采用星点设计-效应面法^[4-5]优选穿心莲提取物- β -环糊精包合物的制备工艺,选取投料质量比、包合时间及包合温度为考察因素,为穿心莲的药物制剂开发提供参考。

1 材料

UV-6000 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),UPT-I-10T 型实验室超纯水器(成都超纯水科技有限公司),BP211D 和 BP61 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),D2G-6020 型真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)。穿心莲饮片[购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学严铸云教授鉴定为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees 的干燥地上部分],穿心莲内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110797-200307), β -环糊精(β -CD,成都市科龙化工试剂厂),3,5-二硝基苯甲酸(上海科丰化学试剂有限公司),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 穿心莲提取物的制备^[1-2] 称取以 8 倍量石油醚于 60~90 °C 回流 1.5 h 脱脂的穿心莲粗粉,用 85% 乙醇浸泡 0.5 h,分别加 10,8 倍量 85% 乙醇于 85 °C 水浴回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,滤过,滤液减压回收乙醇,浓缩至适量,60 °C 真空干燥至恒重,粉碎过 100 目筛,即得。

2.2 穿心莲内酯的含量测定^[6]

2.2.1 紫外检测波长的选择 分别称取穿心莲内酯对照品、穿心莲提取物和 β -CD 适量,加入一定量 60% 乙醇溶液超声溶解并稀释至适宜质量浓度。精密移取上述 3 种溶液适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加入 60% 乙醇 2.0 mL,摇匀,加入 2% 3,5-二硝基苯甲酸甲醇溶液和含 2% 氢氧化钾的 60% 乙醇溶液各 1.0 mL,摇匀,静置 15 min,用 60% 乙醇定容至刻度,同法制备空白溶液。分别置分光光度计中,于 400~800 nm 进行全波长扫描,结果显示穿心莲内酯对照品和穿心莲提取物吸收光谱基本相似,均在

551 nm 处有最大吸收峰,而 β -CD 在此波长处则无吸收,故选择检测波长 551 nm。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取穿心莲内酯对照品 20 mg,置 100 mL 量瓶中,加 60% 乙醇超声溶解并定容,即得 0.20 g·L⁻¹ 的储备液。精密移取该储备液 1,2,3,4,5,6 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项下自“加入 60% 乙醇 2.0 mL”至“同法制备空白溶液”操作,于 551 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程为 $Y = 4.8911X + 0.0099$ ($r = 0.9994$),表明穿心莲内酯在 0.02~0.12 g·L⁻¹ 与 A 呈良好线性关系。

2.2.3 精密度试验 精密移取穿心莲内酯储备液 2.0 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项下自“加入 60% 乙醇 2.0 mL”至“用 60% 乙醇定容至刻度”操作,于 551 nm 处测定 A,结果日内连续 6 次和日间连续 3 d(每天连续 2 次)的 RSD 分别为 0.19%,0.47%,表明该方法精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 精密移取穿心莲内酯储备液 2.0 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项下自“加入 60% 乙醇 2.0 mL”至“用 60% 乙醇定容至刻度”操作,每隔 2 min 于 551 nm 处测定 A,结果 RSD 0.16%,说明对照品溶液显色 20 min 内基本稳定。

2.2.5 回收率试验 精密称取已知含量的同一穿心莲提取物粉末适量,平行 6 份,精密加入储备液 1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项下自“加入 60% 乙醇 2.0 mL”至“用 60% 乙醇定容至刻度”操作,于 551 nm 处测定 A,结果平均回收率 98.46%,RSD 1.64%。

2.3 穿心莲提取物- β -CD 包合物的制备 精密称取规定量的穿心莲提取物和 β -CD,将穿心莲提取物用无水乙醇 10 mL 溶于锥形瓶中,加入 3 倍量水制得的 β -环糊精溶液,选择一定温度和时间进行超声包合,冷至室温,冰箱中静置过夜,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,滤饼用水和无水乙醇各洗涤 3 次,于 50 °C 减压干燥,即得。

2.4 制备工艺优选

2.4.1 星点试验 在单因素试验基础上,选取 β -CD 与穿心莲提取物的投料质量比、包合时间及包合温度为考察因素,以包封率为指标,根据星点设计原理,每个因素设 5 个水平,分别用代码值 $-\alpha$, -1 , 0 , 1 , α 表示 ($\alpha = 1.682$),因素水平见表 1,试验安排

及结果见表 2。

表 1 穿心莲提取物-β-CD 包合物制备工艺星点试验因素水平

水平	X_1 β-CD 与穿心莲 提取物质量比	X_2 包合时间 /h	X_3 包合温度 /°C
-1.682	0.500:1	0.500	30
-1	2.021:1	1.615	38
0	4.250:1	3.250	50
1	6.479:1	4.885	62
1.682	8.000:1	6.000	70

表 2 穿心莲提取物-β-CD 包合物制备工艺星点试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	包合率/%
1	1	-1	1	68.89
2	-1	1	1	70.51
3	0	0	0	75.48
4	0	0	-1.682	66.29
5	-1	1	-1	63.06
6	0	0	0	75.92
7	-1.682	0	0	53.26
8	-1	-1	1	57.35
9	0	0	0	78.24
10	-1	-1	-1	57.10
11	0	0	0	74.35
12	1.682	0	0	75.78
13	0	-1.682	0	61.00
14	0	0	0	74.16
15	0	0	1.682	72.01
16	0	1.682	0	75.44
17	1	-1	-1	69.53
18	1	1	1	76.10
19	0	0	0	76.07
20	1	1	-1	73.54

2.4.2 模型拟合 应用 Design-Expert 8.0.6 统计软件对表 2 中数据,进行多元线性回归和二项式方程拟合,模型的好坏通过相关系数(r)进行判断,得多元线性回归方程 $Y = 44.956 + 2.560X_1 + 2.446X_2 + 0.118X_3$ ($r = 0.643, P < 0.05$),二次多项式拟合方程 $Y = -12.268 + 11.486X_1 + 6.576X_2 + 1.620X_3 - 0.271X_1X_2 - 0.027X_1X_3 + 0.067X_2X_3 - 0.786X_1^2 - 0.972X_2^2 - 0.016X_3^2$ ($r = 0.978, P < 0.05$),表明二项式拟合较多元线性回归拟合度高、预测性好,故选择二项式拟合为最佳模型,回归方程方差分析见表 3。

表 3 回归方程的方差分析

方差来源	f	SS	MS	F	P
模型	9	1 048.22	116.47	48.21	<0.000 1
X_1	1	444.51	444.51	184.00	<0.000 1
X_2	1	218.49	218.49	90.44	<0.000 1
X_3	1	27.11	27.11	11.22	0.007 4
X_1X_2	1	7.80	7.80	3.23	0.102 5
X_1X_3	1	4.18	4.18	1.73	0.217 9
X_2X_3	1	13.52	13.52	5.60	0.039 6
X_1^2	1	219.96	219.96	91.05	<0.000 1
X_2^2	1	97.32	97.32	40.28	<0.000 1
X_3^2	1	74.25	74.25	30.74	0.000 2
残差	10	24.16	2.42		
失拟项	5	13.28	2.66	1.22	0.416 1
纯误差	5	10.88	2.18		
总离差	19	1 072.38			

2.4.3 效应面优化及预测性评价 通过软件分析绘制各指标与影响显著的 2 个自变量的三维效应面和二维等高图(另外 1 个自变量设为中心点值),结果见图 1~3。根据所拟合的响应曲面形状,分析各因素对穿心莲提取物-β-CD 包合物包合率的影响,基于已建立的数学模型,得最佳包合工艺条件为 β-CD 和穿心莲提取物的质量比 5.57:1,包合时间 4.5 h,包合温度 55 °C。按最佳包合条件重复试验 3 次,计算包合率预测值与实测值的偏差 1.18%,证明建立的二项式拟合方程可较好地描述包合工艺中各因素与评价指标的关系。

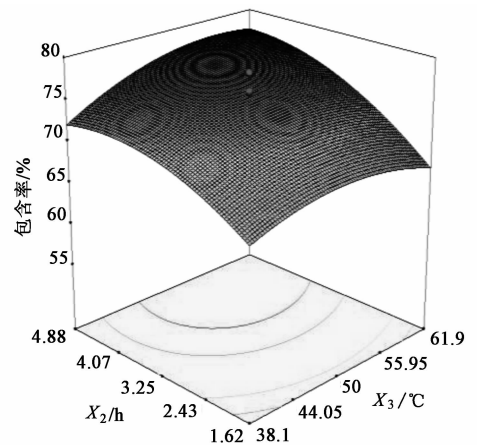


图 1 包合时间与包合温度对包合率的影响

3 讨论

包合技术中环糊精包合最为有效^[7],由于环糊精具有特殊的中空筒状结构,药物嵌入环糊精分子内部,通过范德华力起作用,形成稳定的包合物,可

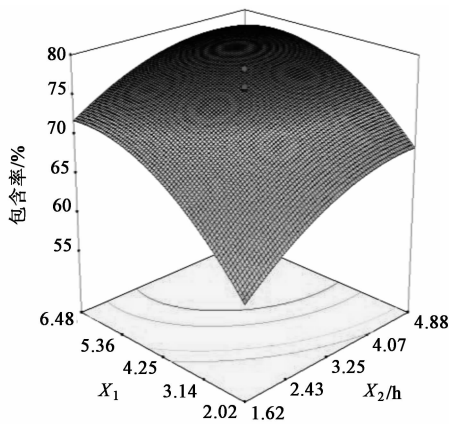


图2 β -CD和穿心莲提取物的质量比与包含时间对包含率的影响

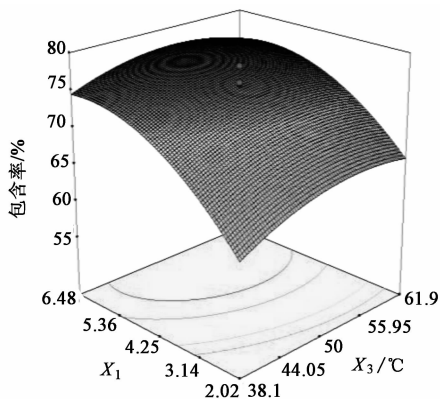


图3 β -CD和穿心莲提取物的质量比与包含温度对包含率的影响

降低药物与味蕾接触的量从而达到掩味目的^[8-9],进入体内后药物从包合物中释放出来发挥疗效。将穿心莲提取物制备成 β -CD包合物后能有效提高其生物利用度,同时掩盖穿心莲的苦味,增强了患者服药的顺应性。

近年来星点设计被广泛用于新型给药系统处方筛选和提取工艺优化^[10-11],在 β -CD包合工艺方面也有报道^[12]。本文通过星点设计-效应面法对影响穿心莲提取物- β -CD超声包合的各因素进行优化,进行了二次多项式模型拟合,结果发现建立的数学模型拟合度高,相关性好,预测值更接近真实值,优选的包合工艺包含率高且稳定可行。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:251.
- [2] 陈丽霞,曲戈霞,邱峰. 穿心莲二萜内酯类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(19):1594.
- [3] 韩光,李景华,刘蕾,等. 超声法制备穿心莲内酯- β -环糊精包合物的研究[J]. 中国新药杂志,2008,17(7):582.
- [4] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学:药学分册,2000,27(5):292.
- [5] Van Eeckhaut A, Detaevernier M R, Crommen J, et al. Influence of methanol on the enantioresolution of antihistamines with carboxymethyl-beta-cyclodextrin in capillary electrophoresis [J]. Electrophoresis, 2004, 25(16):2838.
- [6] 尹帮龙. 穿心莲总内酯骨架缓释片制备工艺及释药机理的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2012.
- [7] 侯芳洁,宋军娜. 环糊精包合技术及其在中药药剂中的应用[J]. 北方药学,2011,8(2):47.
- [8] Fatma M M, Khaled A K, Keishi Y, et al. Enhancement of the aqueous solubility and masking the bitter taste of famotidine using drug/SBE- β -CyD/povidone K30 complexation approach [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(10):4285.
- [9] 王睿,谭群友,柳珊,等. 羟丙基- β -环糊精对龙胆草提取物的包合工艺及掩味作用研究[J]. 重庆医科大学学报,2009,34(11):1549.
- [10] 盛欢欢,邹小广,杨涛,等. 星点设计-效应面法优化穿心莲总内酯固体脂质纳米粒处方[J]. 中成药,2012,34(8):1473.
- [11] 张瑜,杨磊. 星点设计-效应面法优化盐酸小檗碱胃漂浮小丸处方的研究[J]. 中成药,2012,34(2):251.
- [12] 王博,任晓文,李洪起,等. 星点设计-效应面法优化银杏酮酯包合物的制备工艺[J]. 中草药,2011,42(2):262.

[责任编辑 仝燕]