

醒脑静固体剂中挥发性成分 环糊精包合物制备工艺

马勇, 杜守颖*, 黎迎, 陆洋, 宋逍, 陈晓兰
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 优化醒脑静固体剂中挥发性成分艾片、人工麝香的 β -环糊精包合工艺。方法: 以球磨法包合艾片和人工麝香; 以艾片中龙脑和人工麝香中麝香酮包合率作为评价指标, 采用 Box-Behnken 响应面设计考察环糊精用量、加水量及包合时间对包合物制备工艺的影响, 运用 Design-Expert 软件对工艺参数拟合优化并进行验证。结果: 最佳工艺为龙脑和麝香酮质量-环糊精质量比为 1:8, 环糊精-水质量比为 1:4, 包合时间为 53 min, 龙脑和麝香酮理论包合率分别为 98.82%, 83.33%; 经验证, 龙脑及麝香酮包合率分别为 97.41%, 82.59%。结论: 采用球磨法包合, 结合 Box-Behnken 响应面法优选的艾片、人工麝香- β -环糊精包合物制备工艺稳定可行, 包合率高, 适用于生产。

[关键词] 醒脑静; 艾片; 人工麝香; β -环糊精包合物; Box-Behnken 响应面设计

[中图分类号] R 283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)14-0007-05

Preparation Process of Volatile Components β -cyclodextrin Inclusion Compound from Oral Solid Preparation of Xingnaojing

MA Yong, DU Shou-ying*, LI Ying, LU Yang, SONG Xiao, CHEN Xiao-lan
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation process of the aipian, artificial moschus- β -cyclodextrin inclusion compound from the oral solid preparation of Xingnaojing. **Method:** Aipian and artificial moschus were included by ball grinding method; Box-Behnken response surface method was used to investigate the amount of β -cyclodextrin, inclusion time, the amount of water which effect the preparation process of β -cyclodextrin inclusion compound with the entrapment efficiency of borneol in aipian and muscone in artificial moschus as the index. Design-Expert software was applied to imitate, optimize and verify the process parameter. **Result:** The optimal process was as follows: the weight rate of borneol-muscon to β -cyclodextrin was 1:8; the weight rate of β -cyclodextrin to water was 1:4; inclusion time was 53 min; the theoretical entrapment efficiency of borneol and muscone was 98.82% and 83.33% respectively. The entrapment efficiency of borneol and muscone was 97.41% and 82.59% respectively by verification. **Conclusion:** The optimized preparation process of aipian, artificial moschus- β -cyclodextrin inclusion compound by ball grinding method and Box-Behnken response surface method is stable and feasible. The entrapment efficiency is high. It can be used for production.

[Key words] Xingnaojing; aipian; artificial moschus; β -cyclodextrin inclusion compound; Box-Behnken response surface method

[收稿日期] 20110322(015)

[基金项目] 重大新药创制科技重大专项(2009ZX09502-008; 2009ZX09308-003); 教育部博士点基金(20090013110007)

[第一作者] 马勇, 在读研究生, 从事中药新剂型与新技术研究, E-mail: mayong_0517@163.com

[通讯作者] * 杜守颖, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与制剂关键新技术研究, Tel: 010-84738615, E-mail: dushouying@263.net

醒脑静固体制剂由醒脑静注射液进行剂型改造而得,由人工麝香、艾片、栀子、郁金组成。方中药物多含挥发性成分,在生产和贮存时易挥发损失,影响制剂质量和临床疗效。 β -环糊精包合具有增加药物的稳定性、防止挥发、降低药物刺激性等特点^[1]。本实验将醒脑静方中艾片、人工麝香制成 β -环糊精包合物,以增加方中挥发性成分的稳定性;采用球磨法进行包合,操作简便,适合工业生产;以 Box-Behnken 响应面设计法优选包合物的制备工艺,并以非线性数学模型拟合,复相关系数高,预测结果接近实际试验结果,且使用方便^[2-4]。

1 仪器与试药

安捷伦 7890A 型气相色谱仪(安捷伦 7683B 进样器,安捷伦工作站),DB-WAX 型气相毛细管色谱柱(0.53 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$,1.00 μm ,美国惠普),BSA224S-分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),XQM-0.4L 变频行星式球磨机(南京大冉科技有限公司)。

龙脑对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110881-200706),麝香酮对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110719-200613),艾片(贵州金色制药有限责任公司,龙脑含量 88.16%),人工麝香(北京联馨药业有限公司,麝香酮含量 6.02%), β -环糊精(北京奥博星生物技术责任有限公司),十八烷(色谱纯,天津市光复精细化工研究所),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

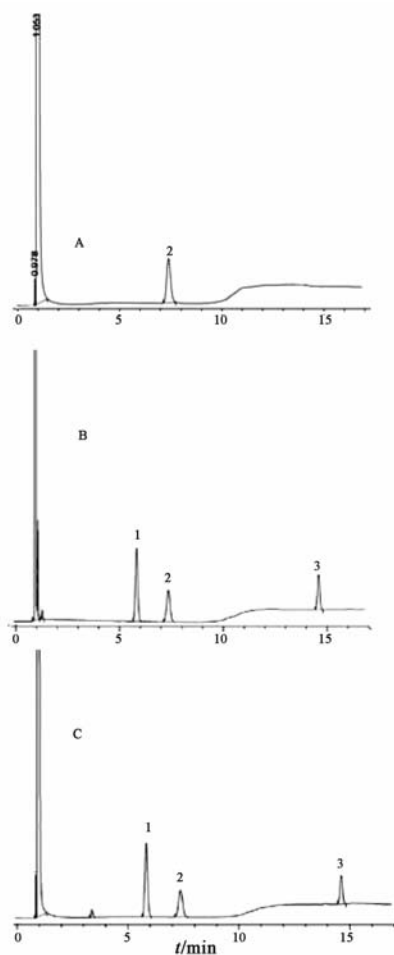
2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 DB-WAX 型气相毛细管色谱柱,氢火焰离子检测器,氢气流量 30 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样口及检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$,氮气流速 6 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,采用程序升温起始温度为 140 $^{\circ}\text{C}$,保持 9 min,以 30 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 上升至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 6 min,分流比为 20:1,进样量 1 μL 。色谱图见图 1。

2.1.2 内标液、对照品、供试品溶液制备 内标液配制精密称定十八烷于量瓶中,加无水乙醇配制成每 mL 含十八烷 149.545 μg 的内标液,备用。

对照品溶液制备 精密称取龙脑和麝香酮对照品,加上述无水乙醇内标液配制成每 mL 含龙脑和麝香酮 690.40,322.80 μg 的对照品贮备液。

供试品溶液制备 精密称取包合物约 30 mg,置于 10 mL 量瓶中,加十八烷无水乙醇内标液定容至刻度,超声 25 min,补足体积,滤过,取续滤液进行



A. 空白内标;B. 对照品;C. 供试品;1. 龙脑;2. 十八烷;3. 麝香酮

图 1 醒脑静固体制剂气相色谱

测定。

2.1.3 线性关系考察 精密移取一定量对照品储备液,用内标液配制成 34.52, 69.04, 138.08, 276.16, 414.24, 690.40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的龙脑对照品溶液和 16.14, 32.28, 64.56, 129.12, 193.68, 322.80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的麝香酮混合对照品溶液。以质量浓度为横坐标,成分与内标峰面积的比值为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $Y_{\text{龙脑}} = 0.0058X - 0.0088$ ($r = 0.9999$),在 34.52 ~ 690.40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好; $Y_{\text{麝香酮}} = 0.0059X - 0.0045$ ($r = 0.9999$),在 16.14 ~ 322.80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 精密称取龙脑和麝香酮对照品,加无水乙醇十八烷内标液配制成低、中、高 3 个质量浓度混合对照品,于同 1 天内测定 5 次于第 2,3,4,5 d 内分别测定,计算日内和日间精密度。龙脑日内精密度 RSD 分别为 0.09%, 0.44%, 2.78%; 日间精密度 RSD 分别为 0.40%, 1.15%, 2.24%。

麝香酮日内精密度 RSD 分别为 0.78% ,0.24% ,0.44% ; 日间精密度 RSD 分别为 1.24% ,0.36% ,1.35% 。

2.1.5 稳定性试验 取供试品溶液,于 0,2,4,6,8,10,12 h 进样测定,各时间点龙脑、麝香酮与十八烷峰面积比值 RSD 分别为 1.37% ,0.52% ,

2.1.6 回收率试验 精密称取包合物,加入龙脑和麝香酮混合对照品,按 2.1.2 项下处理,平行操作 6 份,计算回收率,龙脑平均回收率为 96.47% ,RSD 1.07% ; 麝香酮平均回收率为 103.73% ,RSD 1.34% 。

2.2 艾片-人工麝香-β-环糊精包合物制备 按处方配比称取艾片 0.5 g,置于球磨机罐中,用 1 mL 无水乙醇溶解,加入人工麝香 3.75 g,再加入相应的蒸馏水和 β-环糊精,转速为 300 r·min⁻¹,球磨一定时间后,置冰箱冷藏 24 h,抽滤,用乙酸乙酯洗涤沉淀物。将沉淀物置于减压干燥箱中 50 °C 干燥 6 h,精密称定其质量后,粉碎,过 80 目筛,置干燥器中备用。

$$\text{包合率} = \frac{\text{包合物中龙脑(麝香酮)含量} \times \text{包合物质量}}{\text{加入龙脑(麝香酮)质量}} \times 100\%$$

2.3 Box-Behnken 响应面法优化包合物制备工艺 根据预试验考察结果,选择加入环糊精量、蒸馏水体积、包合时间为因素,以龙脑、麝香酮包合率为评价指标对包合工艺进行优化。因素水平、Box-Behnken 试验因素设计及结果见表 1,2。

表 1 艾片-人工麝香-β-环糊精包合物制备工艺因素水平编码

水平	A 环糊精用量/g	B 蒸馏水体积/mL	C 球磨时间/min
-1	3	15	30
0	4	20	60
1	5	25	90

由表 3 结果可知:环糊精用量有显著性差异,而蒸馏水体积和球磨时间无显著性差异。经 *F* 值检验显示总模型方程显著 ($P < 0.0001$), $r = 0.9901$,表明该回归模型的拟合情况良好,回归方程的代表性较好,能准确的预测实际情况。其校正定系数 ($R^2 \text{ adj}$) 为 0.9547,表明此模型能解释 95.47% 效应值变化,试验误差较小。拟合回归方程为 $Y_1 = 95.41 + 7.38A - 0.83B - 0.29C - 0.063AB - 0.83AC + 0.97BC - 4.06A^2 - 3.12B^2 - 3.36C^2$ 。多元线性回归的 $r = 0.8328$, $R^2 \text{ adj} = 0.6229$,不如二项式回归拟合,线性方程为 $Y_1 = 90.45 + 7.38A - 0.83B - 0.29C$ 。

表 2 Box-Behnken 设计及结果

No.	A	B	C	龙脑包合率/%	麝香酮包合率/%
1	1	-1	0	96.30	74.06
2	1	0	-1	95.89	80.61
3	0	1	1	88.00	65.68
4	0	0	0	96.00	74.74
5	0	0	0	95.69	74.75
6	0	-1	1	87.19	61.16
7	-1	1	0	80.29	52.93
8	0	0	0	94.39	74.85
9	0	0	0	96.06	75.84
10	0	0	0	95.47	75.16
11	-1	0	1	81.76	61.96
12	0	1	-1	88.74	62.02
13	1	0	1	95.77	76.32
14	-1	0	-1	78.56	58.75
15	-1	-1	0	82.35	57.00
16	0	-1	-1	91.80	67.53
17	1	1	0	93.993	78.72

表 3 龙脑包合率二项式回归模型系数显著性检验

方差来源	SS	<i>f</i>	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
常量	623.82	9	69.31	38.51	<0.0001
A	435.27	1	435.27	241.81	<0.0001
B	5.48	1	5.48	3.04	0.1246
C	0.66	1	0.66	0.36	0.5652
AB	0.016	1	0.016	0.0087	0.9284
AC	2.76	1	2.76	1.53	0.2559
BC	3.74	1	3.74	2.08	0.1924
A ²	69.29	1	69.29	38.49	0.0004
B ²	40.96	1	40.96	22.76	0.0020
C ²	47.44	1	47.44	26.35	0.0013
残差误差	12.60	7	1.80		
失拟	11.12	3	3.71	0.04	0.0247
纯误差	1.48	4	0.37		
合计	636.42	16			

由表 4 结果可知,环糊精用量有显著性影响,而蒸馏水体积和球磨时间都无显著性差异。经 *F* 值检验显示总模型方程显著 ($P < 0.0001$), $r = 0.9969$,表明该回归模型的拟合情况良好,回归方程的代表性较好,能准确的预测实际情况。 $R^2 \text{ adj} = 0.9860$,表明此模型能解释 98.60% 效应值变化,因此该模型拟合程度良好,试验误差小。拟合回归方程 $Y_2 = 75.07 + 9.88A - 0.17B - 0.35C + 2.18AB - 1.88AC + 2.76BC - 1.92A^2 - 7.48B^2 - 3.75C^2$ 。而

多元线性回归的 $r = 0.8115$, $R^2 \text{ adj} = 0.5796$, 不如二项式回归拟合, 线性方程为 $Y_2 = 68.89 + 9.88A - 0.17B - 0.35C$ 。

2.4 影响因素的响应面曲线图 根据 Design-Expert 软件绘制不同影响因素对于响应值的三维曲线图, 见图 2, 3。图 2, 3 为分别固定 3 个影响因素其中之一, 而考察其他 2 个因素对药物包合率影响的响应曲面图。由图可以看出, 随着环糊精用量的增加, 龙脑、麝香酮包合率显著增加, 但随着球磨时间和加水量的增加, 包合率有先增加后减少的趋势, 但经统计分析没有差异。根据 Box-Behnken 响应面设计结果, 并结合包合物的制备工艺, 得到优化条件为龙脑和麝香酮质量-环糊精质量比为 1:8, 环糊精-水质量比为 1:4, 包合时间为 53 min, 龙脑和麝香酮理论包合率分别为 98.82%, 83.33%。

2.5 验证试验 为了确定建立模型与实验结果是否相符, 通过进一步验证实验对模型的可靠性进行

表 4 麝香酮包合率二项式回归模型系数显著性检验

方差来源	SS	f	MS	F	P
常量	1 181.75	9	131.31	126.49	<0.000 1
A	781.71	1	781.74	753.06	<0.000 1
B	0.24	1	0.24	0.23	0.644 3
C	0.97	1	0.97	0.94	0.365 2
AB	19.01	1	19.01	18.31	0.003 7
AC	14.06	1	14.06	13.55	0.007 9
BC	30.42	1	30.42	29.30	0.001 0
A ²	15.49	1	15.49	14.93	0.006 2
B ²	235.63	1	235.63	226.99	<0.000 1
C ²	59.08	1	59.08	56.91	0.000 1
残差误差	7.27	7	1.04		
失拟	6.40	3	2.13	9.84	0.025 6
纯误差	0.87	4	0.22		
合计	1 189.02	16			

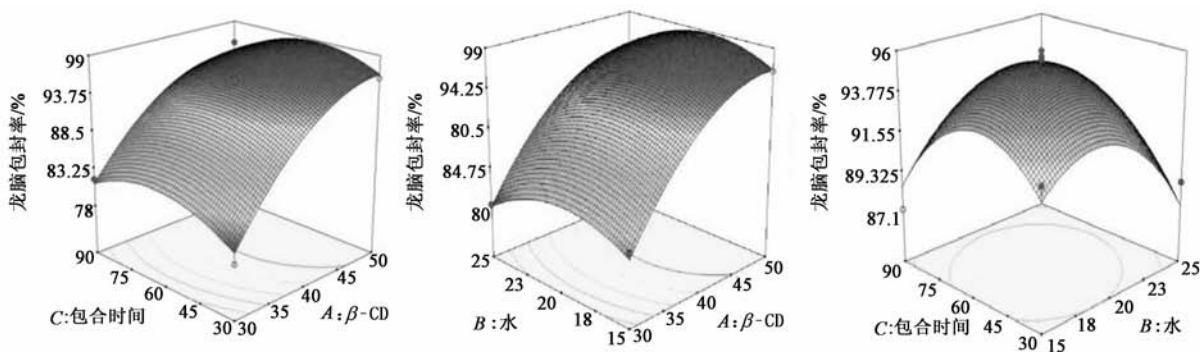


图 2 龙脑包合率的响应曲面

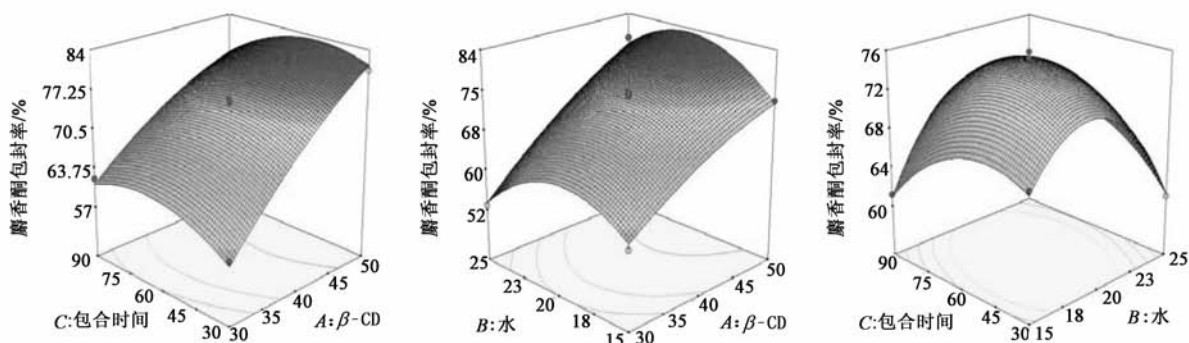


图 3 麝香酮包合率的响应曲面

评价。在验证实验中, 各因素取值为上述确定的最优条件, 共进行 4 组实验, 龙脑的包合率分别为 97.58%, 97.70%, 97.34%, 97.03%; 麝香酮的包合

率分别为 81.66%, 82.18%, 83.09%, 83.43%。实测值与理论计算值偏差均小于 2%, 说明模型比较可靠。

三七总皂苷肠溶微囊的制备及体外释放度

陆仕华¹, 刘华钢^{1*}, 赖玲¹, 秦艳娥¹, 文丽², 陈明³, 刘冠萍³

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 广西中医学院, 南宁 530001;
3. 广西梧州制药(集团)股份有限公司, 广西 梧州 543000)

[摘要] 目的: 探讨三七总皂苷(PNS)肠溶微囊的制备方法, 并对其进行体外释放度研究。方法: 以聚丙烯酸树脂 II 为囊材, 采用溶剂-非溶剂法制备 PNS 肠溶微囊, 并考察其包封率、载药量及其体外释放性能。结果: 3 批 PNS 肠溶微囊的包封率分别为 90.85%、90.15%、89.06%; 载药量分别为 26.05%、25.04%、25.16%; R_1 , R_{g1} , R_{b1} 在人工胃液中释放量 < 10%, 人工肠液中 45 min 累积释放率分别达到 86.08%、88.76%、84.98%。结论: 溶剂-非溶剂法制备 PNS 肠溶微囊方法简单, 体外释放符合药典对肠溶制剂的要求。

[关键词] 三七总皂苷; 肠溶微囊; 溶剂-非溶剂法; 释放度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0011-04

Preparation and *in vitro* Release of *Panax notoginseng* Saponins Enteric Microcapsules

LU Shi-hua¹, LIU Hua-gang^{1*}, LAI Ling¹, QIN Yan-e¹, WEN Li², CHEN Ming³, LIU Guan-ping³

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;

3. Guangxi Wuzhou Pharmaceutical Group Co. Ltd, Wuzhou 543000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the preparation method of PNS enteric microcapsules and to investigate the release properties *in vitro*. **Method:** The solvent-non-solvent extraction was used to prepare enteric microcapsule of PNS with the polyacrylic acid resin II as the pouch material. The encapsulation efficacy and loading efficiency as

[收稿日期] 20110126(008)

[基金项目] 广西企业科技特派员专项(桂科攻 09321049), 广西自然科学基金项目(2010GXNSFB013068)

[第一作者] 陆仕华, 药师, 硕士生, E-mail: lushihua2318@163.com

[通讯作者] * 刘华钢, 教授、博士生导师, 从事中药药理学、中药新制剂的开发研究, Tel: 0771-5358272, E-mail: hgliu@263.net

3 讨论

处方中艾片和人工麝香均为挥发性成分, 通过环糊精包合, 能够增加其稳定性。本实验采用球磨法同时包合艾片中龙脑和人工麝香中麝香酮, 能达到既节约原料又节约时间的目的, 更适合于工业化生产。

本实验采用 Box-Behnken 实验设计优化龙脑-麝香酮- β -环糊精包合工艺, 其充分考虑到各因素的交互作用, 设计方法简单, 采用非线性模型拟合, 复相关系数较高, 验证试验结果表明, 该工艺稳定可行。

[参考文献]

[1] 秦彦彦, 宋洪涛, 郭涛, 等. 冰片 β -环糊精包合物的稳定

性考察[J]. 中草药, 2000, 31(4): 255.

[2] 李娟, 陆洋, 王广基. Box-Behnken 效应面法优化甘草次酸长循环脂质体的处方[J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(2): 120.

[3] 邹国省, 关浩彬, 秦凌浩. Box-Behnken 响应面设计法优化替硝唑环糊精包合物的制备工艺[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 444.

[4] 吴大章, 吴品江, 杨明. Box-Behnken 设计-效应面法优化紫苏叶挥发油- β -环糊精包合物制备工艺[J]. 成都中医药大学学报, 2009, 32(1): 81.

[责任编辑 全燕]