

# 正交设计实验优化丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物制备工艺

简 晖<sup>1</sup>, 高丽丽<sup>2</sup>, 孙婷婷<sup>2</sup>, 肖志强<sup>2</sup>, 罗晓健<sup>1,2\*</sup>

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006;  
2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

[摘要] 目的: 正交试验法优化搅拌法制备丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物的最佳工艺。方法: 以含药率为指标, 考察主客分子质量比 HP- $\beta$ -CD 浓度和搅拌时间等因素制备丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物的最佳制备工艺。结果: 主客分子以 1:7 质量比, HP- $\beta$ -CD 浓度: 10%, 搅拌时间: 1 h, 搅拌法制备的丹皮酚包合物载药量为  $(8.88 \pm 0.06)\%$ , 收率为  $(96.63 \pm 0.97)\%$ ; 丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物可显著增大药物溶解度。结论: 优化的制备工艺具有包合物收率高、重复性好、操作简单的优点, HP- $\beta$ -CD 包合物能够显著地提高丹皮酚的溶解度。

[关键词] 丹皮酚; 羟丙基- $\beta$ -环糊精; 包合物; 紫外分光光度; 正交试验设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)12-0037-04

## Preparation Technique of Paeonol HP- $\beta$ -CD Inclusion Complex with Orthogonal Design

JIAN Hui<sup>1</sup>, GAO Li-li<sup>2</sup>, SUN Ting-ting<sup>2</sup>, XIAO Zhi-qiang<sup>2</sup>, LUO Xiaojian<sup>1,2\*</sup>

(1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in  
Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006 China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To screen and optimize the preparation conditions of paeonol HP- $\beta$ -CD inclusion complex (paeonol HP- $\beta$ -CD) with stirring method. **Methods:** The load drug and recovery of paeonol were adopted as the index, host-guest weight ratio, concentration of HP- $\beta$ -CD and stirring time as factors, have been investigated in the techniques of paeonol HP- $\beta$ -CD. **Results:** The load drug and recovery of paeonol HP- $\beta$ -CD were respective  $(8.88 \pm 0.06)\%$  and  $(96.63 \pm 0.97)\%$  by optimizing conditions which were host-guest weight ratio 1:7, 10% HP- $\beta$ -CD and stirring time 1 h.

At the same time, its solubility of paeonol was increased. **Conclusion:** The optimizing techniques fit to prepare paeonol HP- $\beta$ -CD in industry.

[ **Key words** ] paeonol; HP- $\beta$ -CD; inclusion complex; ultraviolet spectrophotometer; orthogonal design

丹皮酚为常用中药牡丹皮、徐长卿、芍药等主要药效成分,临床上用于治疗风湿病、牙痛、胃痛、皮肤病及心血管疾病、慢性支气管炎等症<sup>[1]</sup>。丹皮酚的挥发性较强,水溶性较差,致使制剂的加工和贮存受到一定的限制。HP- $\beta$ -CD 是一种良好的药物载体,与  $\beta$ -CD 相比,具有水溶性好、增溶效果显著、毒副作用少的优点,本文采用 HP- $\beta$ -CD 对丹皮酚进行了包合研究,以便提高丹皮酚包合物收率,增加丹皮酚溶解度和在制剂中的稳定性,充分发挥药物疗效。

## 1 仪器与材料

**1.1 仪器** 岛津 UV2550 紫外分光光度计(日本岛津),真空干燥箱(DZF-6050 型,上海新苗医疗器械制造有限公司),旋转蒸发器(RE-5210,上海亚荣生化仪器厂),高效剪切乳化机(JRJ300-S,上海标本模型厂),超声波清洗仪(KQ3200E,昆山市超声仪器有限公司),胶体磨(TM40,天津鑫普机械制造有限公司),气浴恒温振荡器(SHZ-82,常州国华电器有限公司)。

**1.2 材料** 牡丹皮药材(毛茛科,拉丁名 Cortex Moutan,购于安徽亳州,经江西中医学院褚小兰教授鉴定),丹皮酚对照品(批号 0708-9703,购自中国药品生物制品检定所),HP- $\beta$ -CD(购于山东新大精细化工有限公司),磷酸二氢钾,无水乙醇,盐酸均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 丹皮酚的制备** 药材粉碎浸泡 2 h,加入 15 倍量水,水蒸气蒸馏法提取 8 h,收集蒸馏液冷藏 24 h、过滤,滤液进行二次蒸馏,收集蒸馏液冷藏、过滤、得结晶,合并两次得到结晶,40℃干燥即得。

### 2.2 丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物含量测定方法的确定

**2.2.1 贮备液的制备** 精密称丹皮酚对照品 16.5 mg 置 250 mL 的容量瓶中,加水超声使溶解后,加水稀释至刻度,即得 66  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的贮备液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密称取丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物 20 mg,置于 25 mL 容量瓶中,蒸馏水溶解并定容至刻度,即得。

**2.2.3 测定波长的选择** 分别将丹皮酚,HP- $\beta$ -CD 及丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物的水溶液在 200~ 400 nm

波长范围进行紫外测定,由图 1 可知,在 274 nm 处丹皮酚和丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物吸收最大,而 HP- $\beta$ -CD 在此处无吸收,故选择 274 nm 作为丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物测定的吸收波长。

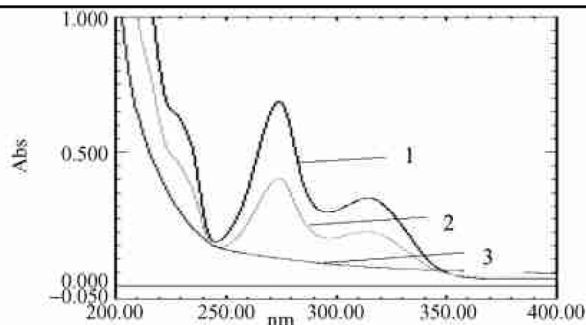


图 1 丹皮酚紫外分光光度计扫描图

1-丹皮酚 HP- $\beta$ -CD 包合物,2-丹皮酚,3-HP- $\beta$ -CD

**2.2.4 标准曲线的制备** 分别吸取贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,配制成 3.3, 6.6, 13.2, 19.8, 26.4, 33  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的对照品溶液,以水作空白,分别在 274 nm 波长处测定吸光度 A。将浓度(X)对吸光度(Y)回归,得回归方程为  $Y=0.0904X+0.09$ ,  $r=0.9999$ 。结果表明,丹皮酚在 3.3~ 33  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好。

**2.2.5 精密度实验** 取高中低不同浓度对照品溶液,分别测定其吸光度,每个重复测定 6 次,记录吸收度值,考察本法的精密度。结果 RSD 值分别为 0.86%, 0.18%, 0.17%, 说明紫外分光光度计精密度良好。

**2.2.6 重复性实验** 取平行制备的供试品溶液 6 份,精密吸取样品溶液测定其吸收度,记录吸收度值,考察重复性。结果表明, RSD 值为 0.48%, 表明本方法重复性良好。

**2.2.7 稳定性实验** 取同一供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 于 274 nm 测定其吸光度,记录吸收度值,考察供试品溶液的稳定性。结果表明, RSD 值为 1.51%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

**2.2.8 加样回收率实验** 精密称取丹皮酚包合物 11 mg(含量为 8.25%), 分别加入高、中、低 3 个不同浓度的丹皮酚对照品,每个平行 3 份,加水至刻度,摇匀。测定含量,计算回收率。结果见表 1。平均

回收率为 97.7%, RSD 值为 2.9%, 表明本方法回收率良好。

表 1 丹皮酚 HP-β-CD 包合物加样回收率结果

样品	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.757	0.738	97.5		
2	0.757	0.736	97.3		
3	0.757	0.746	98.5		
4	0.908	0.894	98.4		
5	0.908	0.92	101.2	97.7	2.9
6	0.908	0.877	96.6		
7	1.06	0.988	93.2		
8	1.06	1.004	94.8		
9	1.06	1.081	102		

2.3 丹皮酚 HP-β-CD 包合物制备方法的选择 根据环糊精包合物的常用制备工艺, 分别用胶体磨法、超声法和搅拌法制备丹皮酚 HP-β-CD 包合物, 以选择合适的制备方法。

2.3.1 胶体磨法 分别称取丹皮酚 3.5 g HP-β-CD 25 g, 将丹皮酚溶于 20 mL 乙醇中, HP-β-CD 溶于 50 mL 水, 研磨成糊状, 将二者加入胶体磨中研磨 30 min, 减压蒸发溶剂至干, 备用。

2.3.2 超声法 分别称取丹皮酚 3.5 g HP-β-CD 25 g, 将丹皮酚溶于 20 mL 乙醇中, HP-β-CD 溶于 250 mL 水, 置于超声波清洗仪, 缓慢将丹皮酚乙醇溶液滴加至 HP-β-CD 水溶液中, 超声 30 min, 减压蒸发溶剂至干, 备用。

2.3.3 搅拌法 分别称取丹皮酚 3.5 g HP-β-CD 25 g, 将丹皮酚溶于 20 mL 乙醇中, HP-β-CD 溶于 250 mL 水, 置于高速剪切乳化机上, 缓慢将丹皮酚乙醇溶液滴加至 HP-β-CD 水溶液中, 搅拌 1 h, 减压蒸发溶剂至干, 备用。

2.3.4 样品分析 精密称丹皮酚 HP-β-CD 包合物 200 mg 置于容量瓶中, 石油醚洗涤 3 次, 洗脱未包合的丹皮酚, 过滤, 将残渣挥干石油醚, 用蒸馏水溶解, 以水为空白测定其吸收度, 由标准曲线方程, 求得 20 mg 样品中含丹皮酚的重量。按下面公式计算:

$$\text{包合物含药率} = \frac{\text{样品中丹皮酚重量}}{\text{样品重量}} \times 100\%$$

$$\text{丹皮酚包合物收率} = \frac{\text{包合物重量}}{\text{HP-}\beta\text{-CD 投入量} + \text{丹皮酚重量}} \times 100\%$$

3 种方法制备丹皮酚包合物的含药率和收率见

表 2。

表 2 丹皮酚 HP-β-CD 包合物的含药率和收率( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

制备方法	含药率 (%)	收率 (%)
胶体磨	4.33 ± 0.75	85.11 ± 1.20
超声法	6.71 ± 1.22	88.75 ± 0.94
搅拌法	8.22 ± 0.58	93.12 ± 0.77

结果表明, 搅拌法所制备的丹皮酚 HP-β-CD 包合物具有较高的收率和含药率, 因此选择搅拌法作为制备丹皮酚 HP-β-CD 包合物的制备工艺。

2.4 正交实验优化丹皮酚 HP-β-CD 包合物的制备工艺 根据预试验结果和参考文献<sup>[2]</sup>, 搅拌法的影响因素主要有 HP-β-CD 浓度、丹皮酚与 HP-β-CD 的比例、包合时间。采用正交试验法, 以包合物含药率为指标, 对搅拌法制备丹皮酚 HP-β-CD 包合物的上述因素进行考察, 用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验, 因素水平见表 3, 试验条件安排见表 4。

表 3 搅拌法制备包合物因素水平

水平	因素		
	HP-β-CD 浓度 A (%)	质量比 B	包合时间 C (h)
1	10	1:7	1
2	20	1:10.5	2
3	30	1:14	3

按照正交设计处方和工艺条件, 采用搅拌法制备 9 种处方的丹皮酚 HP-β-CD 包合物, 照 2.2 项下方法测定包合物的含量, 计算含药率及收率。结果见表 4。

表 4 丹皮酚 HP-β-CD 包合物制备正交实验结果表

试验号	因素				实验结果	
	1(A)	2(B)	3(C)	4(D)	含药率 (%)	收率 (%)
1	1	1	1	1	8.22	96.33
2	1	2	2	2	6.71	96.79
3	1	3	3	3	5.38	95.85
4	2	1	2	3	8.92	97.21
5	2	2	3	1	7.33	95.97
6	2	3	1	2	5.52	96.52
7	3	1	3	2	8.98	96.84
8	3	2	1	3	7.26	96.32
9	3	3	2	1	4.99	97.56
∑ I	20.31	26.12	21	20.54		
∑ II	21.77	21.3	20.62	21.21		
∑ III	21.23	15.89	21.69	21.56		
I	6.77	8.71	7	6.85		
II	7.26	7.1	6.87	7.07		
III	7.08	5.3	7.23	7.19		
R	0.49	3.41	0.36	0.34		

表 5 含药率方差分析表

因素	离差平方和	自由度	均方	F	Sig.
HP-β-CD 浓度	0.363	2	0.182	2.029	0.33
质量比	17.461	2	8.731	97.502	0.01
时间	0.196	2	0.098	1.095	0.477
误差	0.179	2	0.090		

注: F 检验临界值  $F_{0.01(2,2)} = 0.990$ ,  $F_{0.05(2,2)} = 0.961$

结果分析: 由于包合物是通过减压浓缩后真空干燥制得, 其收率与制备过程得操作有关, 而与其制备工艺无关, 结果并无明显差别, 因而选择单独含药率作为考察指标进行方差分析。

由表 4、表 5 可知, 质量比对丹皮酚 HP-β-CD 包合物的含药率有显著性影响 ( $P < 0.05$ ); 而 HP-β-CD 浓度和包合时间对试验结果影响均不显著 ( $P > 0.05$ ), 为减少成本, 质量比选 1 水平。结果表明, 最优制备工艺条件可选方案  $A_1B_1C_1$ 。

**2.4.1 验证实验** 称取丹皮酚 3.52 g 及 HP-β-CD 25 g 三份, 按优选工艺进行验证试验, 实验方法同上, 测定包合物含药率, 结果 3 份丹皮酚 HP-β-CD 包合物含药率分别为 8.95%, 8.83%, 8.86%; 收率分别为 95.60%, 97.52%, 96.77%。表明按优选的包合工艺制备包合物, 所得丹皮酚 HP-β-CD 包合物含药率稳定, 为  $(8.88 \pm 0.06)\%$ , 收率为  $(96.63 \pm 0.97)\%$ , 表明其工艺可行。

### 2.5 丹皮酚及丹皮酚 HP-β-CD 包合物饱和溶解度的测定

将过量的丹皮酚 3 份, 置 25 mL 容量瓶中, 分别加入水、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 同法在过量丹皮酚 HP-β-CD 包合物中分别加入 3 种不同溶剂, 置空气浴振荡器 ( $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 上振荡 72 h (频率为  $120 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 分别于不同时间 24 h, 48 h, 72 h 取上清液 2 mL, 用  $0.45 \text{ }\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 0.10 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 蒸馏水定容, 在 274 nm 处测定其吸光度, 计算丹皮酚及包合物在 3 种不同介质中的饱和溶解度。

表 6 丹皮酚及包合物在不同介质中饱和溶解度 ( $n = 3$ )

样品	溶解度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			
	24 h	48 h	72 h	96 h
包合物(水)	2 319	3 004	3 096	3 094
包合物( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸)	2 012	2 539	2 624	2 630
包合物(pH6.8 磷酸盐缓冲液)	2 467	2 988	3 016	3 015
丹皮酚(水)	809	1 025	1 138	1 140
丹皮酚( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸)	634	839	887	884
丹皮酚(pH6.8 磷酸盐缓冲液)	740	974	1 006	1 009

结果表明: 丹皮酚 HP-β-CD 包合物在水、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸、pH6.8 磷酸盐缓冲液 3 种介质中的饱和溶解度分别为 3.096、2.624、3.016  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 而丹皮酚在水、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸、pH6.8 磷酸盐缓冲液 3 种介质中的饱和溶解度为: 1.138, 0.887, 1.006  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 分别增大溶解度 2.7、3.2、3.0 倍。因此, 与未经处理的丹皮酚比较, 丹皮酚 HP-β-CD 包合物在不同介质中饱和溶解度显著提高。

### 3 讨论

丹皮酚水溶性较差, 在制备包合物的过程中, 如将丹皮酚粉碎后直接加入 HP-β-CD 溶液中, 则易析出丹皮酚结晶, 使包合难以进行。为使包合易于进行, 可将丹皮酚溶于适量乙醇中, 再滴加到 HP-β-CD 水溶液中进行包合。

用正交设计方法确定包合物的制备条件为 HP-β-CD 浓度为 10%, 质量比为 1:7, 包合时间(h) 为 1 h, 验证试验结果表明, 按确定的最佳工艺进行包合, 所得丹皮酚 HP-β-CD 包合物含药率稳定, 工艺稳定可行, 且可显著增大丹皮酚在水、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸、pH6.8 磷酸盐缓冲液 3 种介质中溶解度, 有利于丹皮酚开发成其它剂型。

### [参考文献]

- [1] 廖正根, 平其能, 邹红, 等. 丹皮酚-β-环糊精包合物的制备工艺研究[J]. 中草药, 2005, 36(6): 842-846.
- [2] 张学农, 阎雪莹, 唐丽华, 等. 正交试验优化马蔺子素-羟丙基-β-环糊精包合物的制备工艺[J]. 中成药, 2004, 26(9): 695-698.