

· 工艺与制剂 ·

甘草黄酮-β-CD 包合物的制备及增溶作用研究

梁旭霞¹, 刘莉², 张文新², 黄志刚¹, 刘强^{2*}

(1. 广东省惠州市九惠制药股份有限公司, 广东 惠州 516007; 2. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

[摘要] 目的: 筛选制备甘草黄酮-β-CD 包合物的最佳工艺。方法: 采用正交设计实验以包合率和回收率为指标筛选最佳工艺条件, 采用紫外分光光度法测定溶解度及溶出度。结果: 甘草黄酮-β-CD 包合物的最佳工艺为甘草黄酮: β-CD(g : g) 为 1 : 6, 包合时间为 2 h, 温度为 40 ℃。结论: 甘草黄酮的包合物的溶解度增加, 体外溶出度增加。

[关键词] 甘草黄酮; β-环糊精; 优选; 增溶

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 07-0001-03

Study on the Preparation Technology of Licorice Flavone-β-cyclodextrin Encapsulation Compounds

LIANG Xu-xia¹, LIU Li², ZHANG Wen-xin², HUANG Zhi-gang¹, LIU Qiang^{2*}

(1. Huizhou Jiuhui Pharmaceutical Co., Ltd, Huizhou 516007, China;
2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation technology of Licorice Flavone-β-cyclodextrin encapsulation compounds. **Method:** The optimum preparation condition was studied by orthogonal test, the inclusion compounds were prepared with solution-agitating technique at the same time, UV was adopted in determining the solubility and dissolution rate. **Result:** The optimum condition was: licorice flavone: β-CD 1 : 6; inclusion time 2 h; and the inclusion temperature 40 ℃. **Conclusion:** The solubility and dissolution rate of licorice flavone was improved.

[Key words] licorice flavone; β-CD; optimization; solubilizing

甘草来源于豆科原植物乌拉尔甘草 *G. uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat 和光果甘草 *G. glabra* L.。20 世纪 80 年代中后期的研究表明, 甘草中的黄酮类化合物具有明显的活性, 引起人们对甘草黄酮进行诸多方面研究的极大兴趣。研究表明甘草黄酮具有保肝、清除自由基、抗肿瘤、抗炎、抗变态反应、抗病原微生物、抑制酶活性、抗溃疡、抗心率失常作用、解痉、镇痛、抗血小板等作用^[1]。但是甘草

黄酮存在着口服剂量大、水中溶解性差、生物利用度低、制成制剂后日服次数偏多等缺点。β-环糊精(β-CD)是一种无毒无副作用的辅料, 与药物包合后能增加药物的溶解度, 提高其生物利用度, 实验采用β-CD 作为包合材料, 采用正交实验法优选甘草黄酮-β-CD 包合物的制备工艺。

1 仪器与试药

RC-6 溶出度测定仪(天津市国铭医药设备有限公司), HP8453-紫外-可见分光光度计(美国惠普公司), JB-3 型定时恒温磁力搅拌器(上海雷磁新经仪器有限公司), CENTRIFUGE 80-2 型离心机, 上海科导 SK1200H 超声波提取器(工作频率: 59 kHz, 功率 45 W), BP110S 电子天平(德国)。

甘草苷对照品(批号 111610-200503, 中国药品生物制品检定所), 甘草黄酮(广东省惠州市九惠制药股份有限公司提供, 产品符合中华人民共和国药品标准 Ws3-001(Z-001)-98(Z)), β-环糊精(广州郁

[收稿日期] 20100225(006)
[基金项目] 广东省教育部产学研结合项目(2007B090400039)
[第一作者] 梁旭霞, 制药工程师, 主要从事中药新药研究与开发
[通讯作者] * 刘强, 南方医科大学中医药学院中药制剂教研室教授, 中药新剂型与新技术, Tel: (020) 61648264, E-mail: gzlq2002@163.com

南环糊精厂), 乙醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 甘草黄酮含量测定方法

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取甘草黄酮 0.2 g 左右, 置 25 mL 的量瓶中, 加 70% 的乙醇适量, 超声处理 20 min, 放至室温, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取甘草苷对照品适量, 加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液即得。

2.1.3 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各加 70% 乙醇 1 mL, 加 10% 氢氧化钾溶液 0.5 mL, 混匀, 放置 5 min, 加 70% 乙醇稀释至刻度。以相应的试剂制成的溶液为空白, 依照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2005 年版一部附录 VA) 在 337 nm 波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 56\ 605 X + 0.018\ 2$, $R^2 = 0.999\ 4$, 结果表明, 在考察的范围内甘草黄酮的浓度与其吸光度呈良好的线性关系。

2.1.4 βCD 空白干扰试验 取一定浓度的 βCD 溶液分别于 335, 336, 337, 338, 339 nm 处测定吸光度, 分别为 - 0.000 3, - 0.000 1, - 0.000 1, - 0.000 1, 0.000 0, 说明 βCD 溶液对甘草黄酮的测定无干扰。

2.1.5 回收率试验 精密吸取上述储备液 2, 6, 10 mL 置于 50 mL 量瓶中, 用 70% 乙醇溶液定容, 得低、中、高 3 个浓度的样品溶液。按标准曲线项下同法测定, 回收率分别为 99.7%, 107.5% 和 100.2%, RSD 分别为 0.08%, 0.11% 和 0.13% (n = 5)。

2.1.6 精密度实验 精密吸取上述储备液 2, 6, 10 mL 置于 50 mL 量瓶中, 用 70% 乙醇溶液定容, 得低、中、高 3 个浓度的样品溶液, 分别测定日内及日间精密度。测得日内精密度 RSD 分别为 1.08%, 0.21% 和 0.85% (n = 5), 日间精密度 RSD 分别为 1.20%, 1.32% 和 0.92% (n = 5)。

2.2 甘草黄酮-βCD 包合物的制备工艺研究^[2]

2.2.1 βCD 包合物的制备方法 将 6 g βCD 溶于 100 mL 蒸馏水中, 置 60 ℃ 恒温水浴中加热, 制成 βCD 的近饱和溶液, 冷却至规定温度, 在一定的速度搅拌下, 缓缓滴加甘草黄酮的无水乙醇溶液, 并继续搅拌一定时间, 放置冰箱冷藏 24 h, 抽滤, 40 ℃ 低温

干燥, 得淡黄色粉末, 即为包合物, 粉碎过 80 目筛, 备用。

2.2.2 制备工艺正交方案设计 根据预实验分析, 选择甘草黄酮与 βCD 的质量比(A)、包含时间(B)、包含温度(C)为实验因素, 采用 L₉(3⁴) 正交试验方法进行试验, 因素水平设计见表 1。

表 1 正交因素水平

水平	A	B	C
	甘草黄酮与 βCD 质量比	包含时间 /h	包含温度 /
1	1 3	2	40
2	1 6	4	60
3	1 9	6	80

2.2.3 包合物收得率的测定 精密称定按上述包含方法制备的包合物, 按下列公式计算收得率:

包合物收得率 = $\frac{\text{包后物质质量}}{\text{甘草黄酮质量} + \beta\text{CD 质量}} \times 100\%$

2.2.4 包含率的计算方法 精密称取甘草黄酮-βCD 包合物 20 mg, 置量瓶中, 加入乙醚 50 mL 振摇 10 min, 过滤, 取滤液蒸干, 用 70% 乙醇溶解残渣, 照标准曲线制备项下的方法, 紫外测吸光度, 代入回归方程, 得到黄酮含量, 按下列公式计算包含率。

包含率 = $\frac{\text{投药量} - \text{乙醚洗脱量}}{\text{投药量}} \times 100\%$

2.2.5 正交实验结果 包含率、包合物收得结果见表 2, 方差分析见表 3 ~4。

从表 2 中极差 R 值大小可知, 对于包含率及包合物得率, 因素影响大小均依次为 A > C > B, 方差分析结果表明甘草黄酮与 βCD 质量比对实验结果有显著性差异, 而 B 因素及 C 因素则无方差分析意义。对 A 因素分析可知, A₂ 是对于包含率及包合物得率均优的因素, 故综合以上数据得出最佳包含工艺为 A₂B₁C₁, 即包含时甘草黄酮: βCD 质量比 1 6, 包含温度 40 ℃, 包含时间 2 h。

2.2.6 验证性实验 称取 3 份 18 g βCD, 加 300 mL 蒸馏水, 置 60 ℃ 恒温水浴中加热, 制成饱和溶液, 冷却至 40 ℃, 在规定的速度搅拌下, 缓缓滴加 3 g 甘草黄酮的无水乙醇溶液, 并继续搅拌 3 h, 放置冰箱冷藏 24 h, 抽滤, 40 ℃ 低温干燥, 得淡黄色粉末, 结果见表 5。

2.3 甘草黄酮溶解度的测定方法 取过量的甘草黄酮-βCD 包合物分别加入 2 个 10 mL 量瓶中, 依次分别精密加入水、30% 乙醇 10 mL, 超声 3 h,

表 2 甘草黄酮-包合正交实验总结果					%
No	A	B	C	包合物收得率	包合率
1	1	1	1	76. 4	42. 26
2	1	2	2	93. 39	23. 6
3	1	3	3	76. 75	42. 08
4	2	1	2	96. 27	37. 42
5	2	2	3	90. 84	51. 21
6	2	3	1	99. 03	46. 46
7	3	1	3	98. 78	11. 24
8	3	2	1	98. 02	15. 91
9	3	3	2	98. 29	11. 07
包 合 率	K1	35. 980	30. 307	34. 937	
	K2	45. 090	30. 240	24. 030	
	K3	12. 740	33. 263	34. 843	
	R	32. 350	3. 023	10. 907	
包 合 物 收 得 率	K1	81. 180	90. 483	91. 150	
	K2	95. 380	94. 083	95. 983	
	K3	98. 363	91. 357	88. 790	
	R	16. 183	3. 600	7. 193	

表 3 包合物收得率方差分析				
因素	SS	f	F	P
质量比	1 669. 612	2	93. 342	<0. 05
时间	17. 887	2	1. 000	>0. 05
温度	235. 892	2	13. 188	>0. 05
误差	17. 89	2	—	—

$F_{0.05}(2, 2) = 19$ (下表同)。

表 4 包合率方差分析				
因素	SS	f	F	P
质量比	445. 041	2	21. 035	<0. 05
时间	21. 157	2	1. 000	>0. 05
温度	73. 009	2	3. 813	>0. 05
误差	21. 16	2	—	—

表 5 验证性实验结果			/%
实验次数	包合物收得率	包合率	
1	95. 2	48. 8	
2	95. 6	47. 2	
3	94. 9	48. 6	

4 000 r·min⁻¹离心 15 min, 将上层液用 0. 8 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液 0. 5 mL 按 2. 1. 3 方法操作, 计算溶解度, 结果甘草黄酮-βCD 包合物在水中的溶解度为 0. 335 0 mg·mL⁻¹, 在 30% 乙醇中的溶解度为 0. 491 7 mg·mL⁻¹。

2. 4 甘草黄酮-βCD 包合物体外溶出度的测定 精密称取甘草黄酮-βCD 包合物 4. 002 3 g, 照药典方法, 以脱气的 30% 乙醇 1 000 mL 为溶出介质, 温度(37 ± 0. 5)℃, 转速为 100 r·min⁻¹, 分别于 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240 min 时间点取样 5 mL, 同时补充同体积同温度的脱气 30% 乙醇, 样品取适量按“2. 1. 3”方法操作, 计算不同时间点的累积溶出度, 结果在 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240 min 的累积溶出度分别为 1. 590, 4. 756, 6. 199, 8. 644, 10. 963 0, 14. 886 0, 21. 710 mg。

3 讨论

本实验采用饱和水溶液法制备甘草黄酮-βCD, 以包合物得率及包合率为筛选指标确定最佳工艺。得出甘草黄酮-β环糊精包合的最佳工艺为甘草黄酮颗粒:βCD 质量比 1:6, 包合温度 40℃, 包合时间 2 h。本实验包合物得率较高, 但包合率较低, 可能与实验方法的选取特点有关。项目研究为甘草黄酮-β环糊精包合物的制备提供了工艺参考。正交试验 7#-9#号实验中βCD 用量为 9 倍, 但包合率都较低, 其原因尚待进一步研究。

甘草黄酮在水中几乎不溶, 制备成βCD 后, 溶解度可增至 0. 335 0 mg·mL⁻¹。因为甘草黄酮在乙醇中的溶解度比水大, 因此在溶出度测定试验中采用 30% 乙醇作为体外溶出介质。

[参考文献]

[1] 刘强, 陈兴兴, 孙学刚, 等. 甘草黄酮对荷瘤(S 180)小鼠免疫细胞数量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(12): 904.
[2] 金小平, 唐伟, 陈力, 等. 阿昔洛韦的羟丙基-β环糊精包合物的研究[J]. 医药导报, 2005, 24(1): 57.

[责任编辑 仝燕]