

表 2 白术超临界 CO₂ 萃取正交试验结果Table 2 Results of orthogonal test on *A. macrocephala* extracted with supercritical CO₂ extraction

序号	A	B	C	D	E	F	G	白术内酯 I / (mg · g ⁻¹)
1	1	1	1	1	1	1	1	0.24
2	1	2	2	2	2	2	2	0.22
3	1	3	3	3	3	3	3	0.45
4	2	1	1	2	2	3	3	0.47
5	2	2	2	3	3	1	1	0.16
6	2	3	3	1	1	2	2	0.22
7	3	1	2	1	3	2	3	1.01
8	3	2	3	2	1	3	1	0.30
9	3	3	1	3	2	1	2	0.17
10	1	1	3	3	2	2	1	0.37
11	1	2	1	1	3	3	2	0.35
12	1	3	2	2	1	1	3	0.18
13	2	1	2	3	1	3	2	0.37
14	2	2	3	1	2	1	3	0.33
15	2	3	1	2	3	2	1	0.21
16	3	1	3	2	3	1	2	0.18
17	3	2	1	3	1	2	3	0.40
18	3	3	2	1	2	3	1	0.57
k ₁	0.302	0.440	0.307	0.453	0.285	0.210	0.308	
k ₂	0.293	0.293	0.418	0.260	0.355	0.405	0.252	
k ₃	0.438	0.300	0.308	0.320	0.393	0.418	0.473	
R	0.145	0.147	0.111	0.193	0.108	0.208	0.221	

40 ℃, 解析温度 30 ℃, 萃取时间 4 h, 药材粒度 60 目, 携带剂量 10%。

2.5 验证试验: 用同一批白术药材, 称取 400 g, 按照优化后所得最佳提取工艺进行提取, 进行 3 次试验, 测定白术内酯 I 的质量分数。结果表明, 白术内酯 I 平均质量分数为 1.02 mg/g, 可与正交表中

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	均差	F 值	显著性
A	0.080	2	0.040	0.953	0.408
B	0.082	2	0.041	0.990	0.395
C	0.049	2	0.025	0.561	0.582
D	0.118	2	0.059	1.498	0.255
E	0.036	2	0.018	0.406	0.674
F	0.163	2	0.082	2.256	0.139
G	0.159	2	0.080	2.183	0.147
误差	0.036	2	0.018		

优水平一致, 说明本研究所确定的工艺稳定性良好。

3 讨论

正交试验中药材粒度和萃取压力等因素水平越高, 白术内酯 I 的质量分数也有越高的趋势, 但是考虑到药渣要易于清出以及仪器的承受能力等原因, 这些因素并没有考察更高的水平。提取时间还考察了 5 h 和 6 h, 结果表明提取 4 h 已经基本提取完全 (提取率在 95% 以上)。

本实验建立的白术内酯 I 超临界 CO₂ 萃取工艺稳定可靠, 提高了白术内酯 I 的提取效率, 可用于工业化大生产和小规模试验; 建立的白术超临界提取中白术内酯 I 的测定方法简单、灵敏、结果可靠。

References:

- [1] Gu Y C, Ren L J, Zhang L. Research on polysaccharide of *Atractylodes macrocephala* Koidz. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23 (1): 507.
- [2] Zhou D W. Pharmacology and pharmacodynamic action of *Atractylodes* [J]. *World Phytomed* (国外医药: 植物药分册), 1996, 11 (3): 120-122.
- [3] Li W, Wen H M, Zhang A H, et al. Study on quality of *Atractylodes macrocephala* Koidz. I — Determination of 2 atractylenolides by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21 (3): 170-172.

灯盏花素海藻酸钙凝胶小球的制备

张彦青, 解军波, 戚务勤, 张明春, 韩淑珍, 孔秀华

(天津商学院 制药工程系, 天津 300134)

摘要: 目的 考察灯盏花素海藻酸钙凝胶小球的制备工艺和最优处方。方法 利用滴加法制备凝胶小球, 在单因素考察的基础上采用正交设计筛选最优处方。结果 最优处方为海藻酸钠质量分数为 2.5%, 海藻酸钠与药物的比例为 1:1, 氯化钙浓度为 0.3 mol/L。优化处方制备的凝胶小球大小均匀, 载药量均匀, 包封率和体外释放度具有良好的重现性。结论 利用滴加法制备灯盏花素海藻酸钙凝胶小球方法简单。

关键词: 灯盏花素; 海藻酸钙凝胶小球; 制备工艺; 处方优化

中图分类号: R283.6; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)09-1333-03

Preparation of breviscapin calcium alginate gel beads

ZHANG Yan-qing, XIE Jun-bo, QI Wu-qin, ZHANG Ming-chun, HAN Shu-zhen, KONG Xiu-hua

(Department of Pharmacy Engineering, Tianjin Commerce University, Tianjin 300134, China)

Abstract; Objective To investigate the preparation technique and optimal formulation of breviscapin calcium alginate gel beads (BCAGB). **Methods** BCAGB was prepared by drop-adding method. Based on the studies of influential factors, optimal formulation was obtained by the orthogonal design. **Results** The optimal formulation: sodium alginate concentration was 2.5%; ratio of alginate sodium to breviscapin was 1 : 1, and CaCl_2 concentration was 0.3 mol/L. Prepared BCAGB in this formulation had such advantages as simple technique, uniformity in diameters, and drug even content with better reproducibility of encapsulated rate and *in vitro* releasing rate. **Conclusion** This method is simple for the preparation of BCAGB.

Key words: breviscapin; breviscapin calcium alginate gel beads (BCAGB); preparation technology; formulation optimization

灯盏花素是由灯盏细辛中提取的黄酮类成分,主要为灯盏花甲素和黄芩素苷(灯盏花乙素, scutellarin),其中灯盏花乙素占 95% 以上^[1]。临床证明,灯盏花素可以增加脑血流量、降低脑血管阻力、提高血脑屏障的通透性以及对抗由二磷酸腺苷引起的小血小板凝集作用等,临床主要用于治疗冠心病、心绞痛、心肌缺血损伤及脑血栓形成等。目前市售普通制剂主要有灯盏花素片、注射液、颗粒剂。近几年来利用现代药物新剂型与新技术,对灯盏花素的新剂型进行了广泛的研究,涉及滴丸、分散片、缓控释制剂(缓控释片、缓释微丸)、脂质体等^[2,3]。海藻酸钙凝胶小球是利用天然高分子材料海藻酸钠与二价钙离子发生凝胶化作用制备而得。具有所得小球大小适宜、可防止药物局部突释,口服无毒并可生物降解的特点。本实验通过滴加法制备了灯盏花素海藻酸钙凝胶小球,并对最优处方与工艺的重现性进行了考察。

1 材料和仪器

灯盏花乙素对照品(中国药品生物制品检定所);灯盏花素原料药(云南雅阁臣药业有限公司);海藻酸钠(上海化学试剂分装站);无水氯化钙(天津市凯通化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司);EMS—2 型磁力搅拌器(天津欧诺仪表有限公司);UV755B 型紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);UV—2501PC 型紫外检测器(日本岛津);RCZ—8B 药物溶出仪、溶出仪自动取样器(天津大学精密仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 微球的制备工艺:称取适量灯盏花素粉末(过 100 目筛)与海藻酸钠按一定比例混合均匀,用注射器(6 号针头)吸取混悬液向 CaCl_2 溶液中滴加(30 滴/min),交联反应 2 h 后,取出小球,抽滤,并用去离子水冲洗 3 遍,置于 40 ℃ 烘箱干燥 24 h,即得。

2.2 测定方法的建立

2.2.1 吸收波长的选择:称取灯盏花乙素对照品适量,用 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS)溶解并稀释成一定浓度的溶液,在 200~400 nm 波长进行扫描。结果药物在 pH 6.8 的 PBS 中在 336 nm 处有最大吸收。将微球所用辅料按处方比例用 pH 6.8 PBS 稀释后滤过,在 200~400 nm 波长进行扫描,结果所用辅料在药物最大吸收波长处没有吸收,表明辅料对药物测定没有干扰。

2.2.2 标准曲线的制备:精密称定 105 ℃ 干燥至恒重的灯盏花乙素对照品约 10 mg,置于 100 mL 量瓶中,用 pH 6.8 PBS 溶解并稀释至刻度。精密吸取该溶液 1.0、2.0、2.5、3.0、4.0 mL,分别置 25 mL 量瓶中,用 pH 6.8 PBS 稀释至刻度,摇匀。以 pH 6.8 PBS 为对照,在 336 nm 处测定吸光度(A)值。以质量浓度(C)对 A 进行线性回归,得标准曲线方程为 $C = 21.45 A - 0.160$ ($r = 0.9999$)。

2.3 载药量与包封率的测定:称取灯盏花素海藻酸钙凝胶小球适量置研钵中研磨,精密称取粉末适量置 100 mL 量瓶中,用 pH 6.8 PBS 溶液溶解,超声 10 min,稀释至刻度,摇匀,静置,经 0.8 μm 醋酸纤维素微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液备用。精密吸取续滤液 2 mL 置 50 mL 量瓶中,用 pH 6.8 PBS 溶液稀释至刻度,摇匀,于 336 nm 波长处测定 A 值。根据标准曲线方程,求算凝胶小球中药物的质量,并按下式计算包封率。

包封率 = 微球中的含药量 / 微球和介质中的总药量 $\times$ 100%

2.4 正交设计:单因素考察确定了主要辅料种类、用量范围等,在此基础上采用正交设计筛选处方。可知海藻酸钠质量分数、氯化钙浓度和灯盏花素与海藻酸钠的比例为主要影响因素,每个因素选择 3 个水平,在此基础上采用 3 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验进一步筛选处方。以包封率作为评价指标,包封率

值越接近于 100% 越好。正交试验的因素和水平见表 1, 正交设计试验方案与结果的计算分析见表 2。

表 1 因素和水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 海藻酸钠 质量分数/%	B 海藻酸钠与 药物比例	C 氯化钙浓度/ (mol · L ⁻¹)
1	2.0	1 : 1	0.2
2	2.5	2 : 1	0.3
3	3.0	3 : 1	0.4

表 2 正交设计试验结果计算分析

Table 2 Calculation and analysis of orthogonal test

试验号	A	B	C	包封率/%
1	1	1	1	92.61
2	1	2	2	90.91
3	1	3	3	60.72
4	2	1	2	96.30
5	2	2	3	79.57
6	2	3	1	76.75
7	3	1	3	89.99
8	3	2	1	88.38
9	3	3	2	74.00
I	244.24	278.9	257.74	
II	252.62	258.9	261.21	
III	252.37	211.47	230.28	
R	8.38	67.43	30.93	

直观分析的结果可见, 在其他条件固定不变的前提下, 各因素对海藻酸钙成球影响的主次顺序为海藻酸钠与灯盏花素的比例 > 氯化钙浓度 > 海藻酸钠的质量分数, 其中海藻酸钠与灯盏花素的比例最为重要。各因素最优水平组合为 A₂B₁C₂, 即海藻酸钠质量分数为 2.5%, 海藻酸钠与药物的比例为 1 : 1, 氯化钙浓度为 0.3 mol/L。

2.5 验证试验: 按优化处方制备 4 批灯盏花素海藻酸钙凝胶小球, 测定包封率、载药量与体外释放度。释放度的测定方法为: 篮法, 转速为 100 r/min, 温度为 (37 ± 0.5) °C, 溶出介质为 900 mL pH 6.8 PBS。精密称取微球适量, 置于转篮中。在上述释放条件下, 以 pH 6.8 PBS 为释放介质。在预定时间间隔内取样 5 mL (同时补充同温同体积的新鲜介质), 立即用 0.8 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液以溶出介质为空白对照, 在 336nm 处测定 A 值, 按标准曲线方程

求算对应质量浓度和累积释放率。结果见表 3 和图 1。可知包封率、载药量与体外释放重现性良好。

表 3 凝胶小球的包封率与载药量 (n = 4)

Table 3 Encapsulated rate and drug loading of BCAGB (n = 4)

批 号	包封率/%	载药量/%
1	94.80	38.84
2	94.69	38.80
3	94.55	39.10
4	94.56	38.50

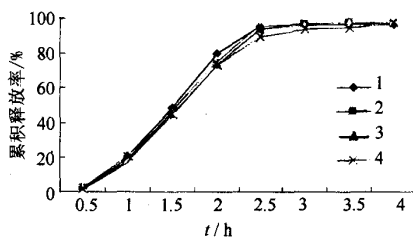


图 1 灯盏花素海藻酸钙凝胶小球优化处方释药曲线

Fig. 1 Drug releasing curve of breviscapin from BCAGA optimal formulation

3 讨论

海藻酸钠与氯化钙的交联过程是 Ca²⁺ 由海藻酸钠液滴表面向内部渗入的过程, 同时交联的过程也是海藻酸钠中的水分被“挤出”的过程。因此, 当氯化钙浓度过大时, 大量 Ca²⁺ 密集在液滴表面形成致密层, 使 Ca²⁺ 的进一步渗入受阻, 实际交联程度小, 制备的凝胶小球粒径偏大; 海藻酸钠质量分数较大时交联的位点相应增多, 故交联程度大, “挤出”的水分也随之增加, 因而溶解在水中的药物损失也增加, 所以导致包封率和载药量降低; 另一方面, 交联程度大, 形成的凝胶小球结构致密使药物释放减慢。

References:

- [1] Qu J, Wang Y M, Lou G A, et al. Determination of scutellarin by LC/MC/MS [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35 (2): 139-142.
- [2] Chen D W, Zhang Y Q, Zou Y S, et al. Preparation and formulation optimization of Breviscapin Sustained-release Pellets [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (11): 990-993.
- [3] Liu H, Yang X L, Zhou L Z, et al. preparation and the *in vitro* release characteristics of scutellarin sustained-release dropping pills [J]. *Pharm Care Res* (药学服务与研究), 2004, 4 (1): 30-33.

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅