

升血小板胶囊中连翘挥发油包合工艺研究

郝彬 景鹏* 张宗林 李淑盈

(陕西郝其军制药股份有限公司, 陕西 西安 710075)

摘要:目的 研究 β -环糊精包合升血小板胶囊中连翘挥发油的工艺条件。方法 选择挥发油和 β -环糊精比例、包合温度、搅拌时间以及加水倍数四个因素进行正交试验,以包合物的收得率、包合率综合评分为评价指标,确定挥发油最佳包合工艺条件。结果 最佳包合工艺为:挥发油(mL)与 β -环糊精(g)的比例为(1:8),包合温度 40 $^{\circ}\text{C}$,搅拌时间 2 h、加水倍数 8 倍量。结论 所选工艺简单、合理可行。

关键词:升血小板胶囊;连翘挥发油; β -环糊精;包合工艺;正交试验

中图分类号:R284 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1340(2022)02-0080-04

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2022.02.018

升血小板胶囊是由青黛、连翘、牡丹皮等五味中药组成的中药复方制剂,具有清热解毒,凉血止血,散瘀消斑的功效,用于治疗原发性血小板减少性紫癜。原制备工艺为连翘提取挥发油,将挥发油喷洒在颗粒上焖放一定时间,然后密封包装,挥发油在贮藏中较易损失。为了提高连翘挥发油在制剂中的稳定性,本研究用 β -环糊精对升血小板胶囊中的连翘挥发油进行包合,并采用正交试验法选择包合工艺的最佳条件。

1 仪器与试剂

79-1A 型恒温磁力搅拌器(天津鑫博得仪器有限公司),101 电热鼓风干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司),YP1002N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司), β -环糊精(天津市光复精细化工研究所),连翘挥发油(陕西郝其军制药有限公司提取车间自提,方法为:连翘加水浸泡 4 h,水蒸气蒸馏法提取挥发油 6 h),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 包合物的制备 β -环糊精包合物的制备方法有饱和水溶液法、研磨法、超声法等,进行预试验研究,根据试验结果初步确定包合物制备方法。

2.1.1 饱和溶液法 取 β -环糊精 40 g,加水 320 mL,40 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 30 min 使溶解,滴入等体积无水乙醇稀释的挥发油 10 mL,边加边搅拌,搅拌 1 h,低温冷藏 24 h,抽滤,用少量无水乙醇洗涤包

合物,包合物置烘箱中于 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥,粉碎,即得。

2.1.2 超声法 取 β -环糊精 40 g,加水 320 mL,40 $^{\circ}\text{C}$ 超声 30 min 使溶解,滴入等体积无水乙醇稀释的挥发油 10 mL,超声 1 h,低温冷藏 24 h,抽滤,用少量无水乙醇洗涤包合物,包合物置烘箱中于 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥,粉碎,即得。

2.1.3 研磨法 取 β -环糊精 40 g,加水 320 mL,研磨 30 min,滴入等体积无水乙醇稀释的挥发油 10 mL,继续研磨 1 h,低温冷藏 24 h,抽滤,用少量无水乙醇洗涤包合物,包合物置烘箱中于 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥,粉碎,即得。

2.2 空白回收率的测定 精密量取连翘挥发油 1 mL,置 500 mL 烧瓶中,加水 320 mL,按照中国药典 2015 年版四部挥发油测定项下甲法测定,按下公式计算空白回收率:

$$\text{空白回收率} = \frac{\text{实际收油量}}{\text{加入油量}} \times 100\%$$

2.3 挥发油包合率和包合物收得率的测定 取制得的包合物,称定重量,置于 500 mL 烧瓶中,加水 320 mL,按照中国药典 2015 年版四部挥发油测定项下甲法测定,按下公式计算挥发油包合率,结果见表 1。

$$\text{挥发油包合率} = \frac{\text{实际收油量}}{\text{加入油量} \times \text{空白回收率}} \times 100\%$$

包合物收得率 =
$$\frac{\text{包合物的量}}{\beta\text{-环糊精的量} + \text{加入油的体积} \times \text{挥发油的密度}} \times 100\%$$

表 1 包合物制备预试验结果(%)

	方法		
	饱和溶液法	超声法	研磨法
挥发油包合率	78.4	70.1	61.9
包合物收得率	83.5	78.6	67.0

结果表明,饱和溶液法制得的包合物挥发油包合率和收得率均较高,因此,选择饱和溶液法作为包合物制备方法,并进一步研究出最佳包合条件。

2.4 最佳包合工艺选择 选择挥发油(mL):β-环糊精(g)比例、包合温度、搅拌时间、加水倍数四个因素,各取三个水平,按照 L₉(3⁴)进行正交试验,因素水平表见表 2。

2.4.1 综合评价指标 挥发油包合率是衡量包合效果的重要指标,包合率越高,包合效果越好,可作为包合工艺筛选的主要指标,权重系数定为 80%;包合物收得率在大生产中也很有意义。在 β-环糊精和挥发油投入量一定的情况下,收得率越

高,包合效果越好,故将包合物收得率作为次要筛选指标,权重系数定为 20%。

综合评分 = 包合率(%) × 80% + 收得率(%) × 20%

表 2 β-环糊精包合挥发油因素水平表

水平	因素			
	A 挥发油(mL): β-环糊精(g)	包合温度 (℃)	搅拌时间 (h)	加水 倍数
1	1:4	30	1	8
2	1:6	40	2	10
3	1:8	50	3	12

2.4.2 正交试验结果与分析 按 L₉(3⁴)正交表的安排进行试验,结果见表 3。由直观分析可知,影响挥发油包合的因素顺序为:挥发油(mL)和 β-环糊精(g)比例、搅拌时间、加水倍数和包合温度,最佳工艺为 A₃B₂C₂D₁;方差分析见表 3。由方差分析可知,挥发油(mL)和 β-环糊精(g)比例对挥发油包合有显著性影响,其余均无显著性影响,影响次序为 A > C > D > B,和直观分析一致。因此,将包合工艺参数定为:挥发油(mL):β-环糊精(g)比例(1:8),包合温度 40℃,搅拌时间 2 h、加水倍数 8 倍量。

表 3 正交试验结果

试验号	因素				评价指标		
	A	B	C	D	包合率(%)	收得率(%)	综合评分
1	1	1	1	1	43.7	79.8	50.9
2	1	2	2	2	56.9	88.2	63.2
3	1	3	3	3	45.4	81.7	52.7
4	2	1	2	3	73.8	87.5	76.5
5	2	2	3	1	75.2	86.8	77.5
6	2	3	1	2	60.2	76.9	63.5
7	3	1	3	2	84.7	85.0	84.8
8	3	2	1	3	70.6	81.9	72.9
9	3	3	2	1	85.5	87.8	86.0
K ₁	166.8	212.2	187.3	214.4			
K ₂	217.5	213.6	225.7	211.5			
K ₃	243.7	202.2	215.0	202.1			
R	76.9	11.4	38.4	12.3			

$\sum X_i = 627.9$

表 4 方差分析表 $F_{0.05(2,2)} = 19$ $F_{0.01(2,2)} = 99$

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	1032.49	2	516.25	25.99	有显著性
B	39.72	2	19.86		
C	275.77	2	137.89	6.94	
D	41.52	2	20.76	1.05	

2.5 验证试验

2.5.1 包合率和收得率验证 按照最佳挥发油包合工艺条件,进行三批验证试验。

取连翘挥发油 5 mL,加无水乙醇 5 mL 振摇使溶解,取 β-环糊精 40 g,加水 320 mL,40 ℃ 搅拌 30 min 使溶解,滴入等体积无水乙醇稀释的挥发油 10 mL,边加边搅拌,40 ℃ 搅拌 2 h,低温冷藏 24 h,抽滤,用少量无水乙醇洗涤包合物,包合物于 50 ℃ 干燥,粉碎,即得。三批验证试验结果见表 5。

表 5 β-环糊精包合挥发油验证试验结果

	批号		
	20191201	20191202	20191203
挥发油包合率(%)	82.9	82.5	86.6
包合物收得率(%)	85.0	86.8	87.9

结果表明,该挥发油包合工艺稳定,具有重现性和可操作性。

2.5.2 TLC 法验证 比较挥发油、β-环糊精挥发油混合物、β-环糊精包合物、包合物中回收的挥发油以及 β-环糊精五个样品在同一薄层色谱条件下的斑点差异。

2.5.2.1 供试品溶液制备方法 连翘挥发油供试品溶液的制备:精密量取连翘挥发油 1 mL,加无水乙醇稀释至 20 mL,摇匀,即得。

包合物中回收的挥发油供试品溶液的制备:精密量取包合物中回收的挥发油 1 mL,加无水乙醇稀释至 20 mL,摇匀,即得。

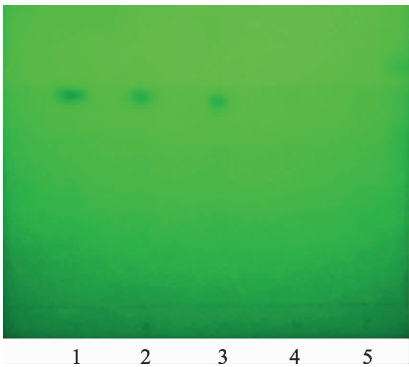
连翘挥发油和 β-环糊精混合物溶液的制备:取 β-环糊精 8 g,再精密量取连翘挥发油 1 mL,喷入环糊精中,混匀,加无水乙醇 20 mL,振摇使溶解,滤过,取续滤液,即得。

连翘挥发油 β-环糊精包合物溶液的制备:取连翘挥发油 β-环糊精包合物 8 g,加无水乙醇 20 mL,振摇使溶解,滤过,取续滤液,即得。

β-环糊精溶液的制备:取 β-环糊精 8 g,加无水乙醇 20 mL,振摇使溶解,滤过,取续滤液,即得。

2.5.2.2 试验方法 精密吸取上述五种溶液各

10 μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(8:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,结果见图 1。



1. 连翘挥发油;2. 包合物中回收的挥发油;3. 连翘挥发油 β-环糊精混合物;4. 连翘挥发油 β-环糊精包合物;5. β-环糊精

图 1 TLC 色谱图

2.5.2.3 试验结果 由图可知,连翘挥发油、包合物中回收的挥发油以及挥发油和 β-环糊精混合物在相同的 R_f值上,有相同颜色的斑点;而连翘挥发油 β-环糊精包合物和 β-环糊精,在此 R_f值上,没有斑点。结果表明,β-环糊精对挥发油进行包合后形成新物相,包合效果非常好,同时也表明包合工艺并未改变挥发油化学性质。

2.6 包合物的稳定性考察 将挥发油和 β-环糊精混合物和挥发油 β-环糊精包合物分别置 40 ℃ 和 60 ℃ 放置 10 d,分别于第 0 天、第 5 天和第 10 天取样,按挥发油测定法测定挥发油的收率,结果见表 6。

表 6 高温试验结果

温度(℃)	放置时间(d)	挥发油收率(%)	
		包合物	混合物
40	0	82.5	80.4
	5	80.4	14.4
	10	80.4	8.2
60	0	82.5	80.4
	5	76.3	10.3
	10	72.2	6.2

试验结果表明:40℃放置10 d,包合物中的挥发油几乎没有损失,混合物中的挥发油损失约89.8%;60℃放置10 d,包合物中的挥发油损失约12.5%;混合物中的挥发油损失约92.3%。由此可见,包合物中的挥发油热稳定性明显高于混合物,说明包合工艺是成功可行的。

3 讨论

β-环糊精包合连翘挥发油,能有效防止连翘挥发油挥发,提高其稳定性,从而保证疗效。该方法工艺操作简便,实用性强,对提高升血小板胶囊中挥发油的稳定性有着积极意义。

正交试验的直观分析和方差分析都表明,挥发油(mL)和β-环糊精(g)比例对包合结果又显著影响,其他因素对包合影响次之,但在包合物制备过程中,搅拌时间长,可在一定范围内提高包合物的包合率;包合温度升高,反应速度加快,包合物生成量增多,但是温度过高,部分挥发油会损失,包合率反而下降,温度过低,β-环糊精溶解度降低,包合物生成减少。因此,控制其他包合因素也是很有实际意义的。

用薄层色谱法验证包合效果为一种有效可行的方法,该法直观、简单可行。

对β-环糊精包合物和混合物进行40℃和60℃条件下稳定性考察,能比较出两者对温度的稳定性,从而进一步证明进行挥发油包合是必要的,有意义的。

参考文献

[1] 刘艳,田吉,付秀娟,等.连翘挥发油提取工艺及包合工艺研究[J].泸州医学院学报,2010,33(4):382-384.
[2] 宋宁宁,许扬彪.正交试验优选复方鱼腥草颗粒中连翘挥发油β-环糊精包合工艺[J].中国药房,2012,23(11):997-998.
[3] 施晓光.复方鱼腥草颗粒中连翘挥发油β-环糊精包合工艺优化研究[J].中国药业,2016,25(6):44-46.
[4] 王红芳,李国川,陈层层,等.利肝隆颗粒组分挥发油提取、β-环糊精包合工艺的优化[J].中成药,2019,41(6):1384-1388.
[5] 屈云萍,李哲,王娇,等.舒筋通络颗粒中乳香挥发油提取及包合工艺研究[J].河北工业科技,2018,35(4):294-298.

[6] 陈航,邓丽明.抗病毒口服液液中挥发油羟丙基-β-环糊精包合物的稳定性考察[J].药学与临床研究,2010,18(4):408-410.
[7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版四部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:203-204.
[8] 谢玲,左亚杰.β-CD包结挥发油工艺在中药制剂中的应用概况[J].湖南中医杂志,2006,22(1):83-84.
[9] 孔杰,姚健,达文燕,等.连翘挥发油化学成分的研究[J].西北师范大学学报(自然科学版),2001,37(4):77-81.
[10] 叶立新,张雄,邓振洪.β-环糊精包合技术在消食贴膏中的应用研究[J].中药材,2005,28(8):716-718.
[11] 严建业,王元清,喻林华,等.八角茴香挥发油的提取与β-环糊精包合研究[J].中成药,2010,32(2):316-318.
[12] 王水平,尹兴斌,董晓旭,等.化橘红药材挥发油提取及用饱和水溶液法包合工艺研究[J].中国中医药信息杂志,2017,24(11):67-70.
[13] 陈龙,吴凤智,周鸿翔,等.响应面法优化β-环糊精包埋核桃油工艺研究[J].食品科技,2014,39(7):172-175.
[14] 赵剑,陈玉兰,蒲清荣,等.正交实验法优选茵陈四苓颗粒中挥发油提取工艺[J].云南中医中药杂志,2012,33(8):58-59.
[15] 王晓琴,曹礼,安玲,等.当归和党参混合挥发油提取和β-环糊精包合工艺研究[J].中国酿造,2017,36(9):153-157.
[16] 张卫东,邢建国.维感颗粒中挥发油β-环糊精包合物制备及稳定性研究[J].中成药,2005,27(5):515-517.
[17] 田禾,冯程,张伯锋,等.健脾祛湿颗粒剂中挥发油β-环糊精包合工艺研究[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(3):46-49.
[18] 秦冬彦,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):255-257.
[19] 胡锡波,黄绳武,戴建锋,等.消瘤颗粒中丹皮酚的提取及其β-环糊精包合物的制备研究[J].中国药业,2007,16(2):42-44.
[20] 王成湖,黄娜.红花挥发油的提取及其β-环糊精包合工艺研究[J].医药导报,2007,26(11):1346-1347.

(收稿日期:2020-03-10 编辑:崔春利)