

文章编号:1001-6880(2014)Suppl-0139-03

喷雾干燥法制备白藜芦醇壳聚糖微囊的工艺研究

胡 荣¹,杨荣平¹,吴 青²,秦伟瀚¹,张小梅¹,励 娜¹,王云红¹,罗先钦^{1 *}¹重庆市中药研究院,重庆 400065; ²重庆医科大学附属儿童医院,重庆 400014

摘要:采用喷雾干燥法制备白藜芦醇壳聚糖微囊,以载药量、包封率和收率为指标,进行正交试验优化处方及制备工艺。得到其最佳处方和工艺为:药载比 1:4,壳聚糖质量浓度 0.50%,进样速度为 9 mL/min,进风温度 165 °C。测得微囊的载药量为 16.87%,包封率为 63.05%,收率为 43.68%。结果表明,该制备工艺简单,可望成为实现中药微球工业化的有效方法。

关键词:白藜芦醇;壳聚糖;工艺;微囊;喷雾干燥法

中图分类号:R943

文献标识码:A

Preparation of Resveratrol-chitosan Microcapsule by Spray Drying Method

HU Rong¹, YANG Rong-ping¹, WU Qing², QIN Wei-han¹, ZHANG Xiao-mei¹,LI Na¹, WANG Yun-hong¹, LUO Xian-qin^{1*}¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China;²The Affiliated Children's Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, China

Abstract: The resveratrol-chitosan microcapsule was prepared using spray drying method. The loading capacity and entrapment efficiency and product yield were used to evaluate the influences of different formulations and preparation factors. The optimal formulation and preparation conditions were determined as follows: 1:4 as ratio of resveratrol to chitosan, 0.5% as chitosan concentration, 9 mL/min as sampling speed, 165 °C as inlet temperature. Under the optimized conditions, the loading capacity of microcapsule was 16.87%. The entrapment efficiency was 63.05%. The product yield was 43.68%. The preparation method developed in this study was simple, and the process was stable. It will provide the basis for realizing the industrialization in Chinese materia medica microcapsule.

Key words: resveratrol; chitosan; technology; microcapsule; spray drying

白藜芦醇(resveratrol)属于多酚类植物化学物中的芪类(stilbenes)^[1],研究表明其有抗氧化、抗自由基活性^[2],还有抗肿瘤、抗心血管疾病、抗炎、免疫调节、抗菌抗病毒、抗衰老及雌激素样活性等^[3]作用,因而具有重要的临床应用价值。但白藜芦醇对光、热稳定性差^[4]。在完全避光条件下,反式白藜芦醇可在乙醇中稳定数月,仅在高 pH(≥ 10)下稳定性差一些;顺式白藜芦醇在避光条件下只有在中性 pH 下较稳定^[5];在 30 °C 与 70 °C 条件下受热 30 min,后者比前者含量低了 29%^[6]。为此,本研究以壳聚糖为载体,用喷雾干燥法将白藜芦醇制备成其壳聚糖微囊,提高其稳定性,并为白藜芦醇新型制剂

的开发及应用提供参考。

1 材料与仪器

白藜芦醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111535—200802);白藜芦醇(重庆科瑞南海制药有限责任公司,批号 10040,质量分数为 98%);壳聚糖(脱乙酰度 $\geq 95\%$,黏度 < 60 cps,山东奥康生物科技有限公司,批号 090926);其他试剂均为分析纯。

Agilent 1200SL RRLC(美国 Agilent 公司);B-290 小型喷雾干燥机(瑞士 BUCHI 公司);AW-200 电子天平(日本岛津);BS224S 电子天平(德国赛多利斯)。

2 方法与结果

2.1 白藜芦醇微囊的制备

精密称取适量壳聚糖,用 0.1 mol/L 盐酸溶解

收稿日期:2013-08-20 接受日期:2014-03-18

基金项目:重庆市卫生局中医药科技项目(2011-2-149);中药新药品开发研究能力建设项目(cstc2012pt-kyys10004);重庆市 GLP 中心能力建设项目(cstc2012pt-kyys10001)

* 通讯作者 Tel:86-23-89029152;E-mail:lxq_0203@163.com

并配成不同质量浓度备用。将白藜芦醇溶解于少量的乙醇,滴加至慢速搅拌的盐酸溶液中,再将壳聚糖溶液缓慢加入其中,以 10000 rpm, 高压乳匀 10 min, 并按一定比例配成待喷溶液,充分搅拌均匀,静置除去气泡后进行喷雾干燥。

2.2 白藜芦醇测定方法的建立

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Welchrom C₁₈ (4.6 × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈—水(30: 70); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 306 nm; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。

2.2.2 标准曲线的建立

精密称取白藜芦醇对照品适量,用 70% 甲醇溶液溶解定容至 50 mL,作为储备液; 分别精密吸取储备液 0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00 mL 置于 10 mL 量瓶中,用 70% 甲醇溶液定容,摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,分别吸取 10 μL 注入液相色谱仪。以色谱峰面积 A 为纵坐标,白藜芦醇浓度 X 为横坐标绘制标准曲线,得到回归方程 $A = 48.19 X + 16.38, r = 0.9998$ 。结果表明,白藜芦醇在 0.3 ~ 9.6 μg/mL 内呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验

配制质量浓度分别为 0.3、4.8、9.6 μg/mL 白藜芦醇对照品溶液,在 1 d 内测定 3 次,计算得日内 RSD 分别为 0.59%、1.85%、1.74%; 同时,于第 1、2、3d 测定,计算得日间 RSD 分别为 1.63%、2.48%、1.04%。

2.2.4 回收率试验

精密称取 0.1 g 空白微球,共 9 份,分别精密加入白藜芦醇对照品 1.45 mg,用 0.1 mol/L 盐酸溶解,配成质量浓度分别为 0.3、4.8、9.6 μg/mL 的溶液,且每种浓度各 3 份,测定峰面积 A。结果平均回收率分别为 100.07%、101.30%、98.62%。

2.2.5 载药量的测定

精密称取微囊粉末约 80 mg 置 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol/L 盐酸溶解并定容,超声后摇匀,吸取 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中并用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度,测定峰面积 A,根据标准曲线方程计算药物质量浓度,并按下式计算载药量。

$$\text{载药量} = \frac{\text{微囊中含药量}}{\text{微球总质量}} \times 100\%$$

2.2.6 收率的测定

收集喷雾干燥器收集瓶中的微囊,称重量,计算其占投料量的百分率,即为收率。计算公式为: 收率 = 得到的微囊质量/投入总料量 × 100%。

2.2.7 包封率的测定

另取微囊粉末 100 mg 精密称定用水洗涤 3 次弃去洗涤液洗过的微囊,按照“2.2.5”项下操作,根据药物包封率% = 微球实际药物质量分数/微球理论药物质量分数 × 100% 公式,计算得微囊包封率。

2.3 制备工艺筛选正交试验设计

根据单因素考察结果,主要影响因素是:药载比(A)、壳聚糖质量浓度(B)、进样速度(C)、进风温度(D)。为优化微囊处方工艺,进行正交试验,其试验方案见表 1,以载药量、包封率和收率为综合评价指标,其权重系数依次为 0.3、0.3、0.4,结果见表 2。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal design test

水平 Level	因素 Factor			
	A(g · g ⁻¹)	B(%)	C(mL · h ⁻¹)	D(℃)
1	1:6	0.25%	7	165
2	1:4	0.50%	9	170
3	1:2	0.75%	12	175

表 2 正交试验设计和结果

Table 2 Experiments and result of the orthogonal design test

试验号 Number	A	B	C	D	综合指标 Composite score
1	1	1	1	1	34.96
2	1	2	2	2	36.32
3	1	3	3	3	32.71
4	2	1	2	3	41.36
5	2	2	3	1	42.57
6	2	3	1	2	39.58
7	3	1	3	2	32.72
8	3	2	1	3	36.28
9	3	3	2	1	34.98
K ₁	103.99	109.04	110.82	112.51	
K ₂	123.51	115.17	112.66	108.62	
K ₃	103.98	107.27	108.00	110.35	
R	84.7168	11.4578	3.6726	2.5323	

通过极差分析可知,各因素对丹酚酸微囊影响大小的顺序为: A > B > C > D。最终得到制备丹酚酸微囊的最优工艺和处方为 A₂B₂C₂D₁, 即药载比 1:4, 壳聚糖质量浓度 0.50%, 进样速度为 9 mL/min, 进风温度 165 ℃。

2.4 优化处方的验证

按照正交实验得出的最优工艺和处方条件,制

备白藜芦醇微囊3批,测得结果见表3。

表3 验证实验结果表($n=3$)
Table 3 Verified experiment ($n=3$)

批次 Number	载药量 Loading capacity	平均值 Mean	RSD(%)	包封率 Entrapment efficiency	平均值 Mean	RSD(%)	收率 Product yield	平均值 Mean	RSD(%)
1	16.37			62.58			45.07		
2	18.04	16.87	2.63	65.51	63.05	3.43	43.62	43.68	2.16
3	17.81			61.16			42.35		

验证试验表明该工艺稳定可靠,微囊的载药量、包封率和收率均较高。

3 讨论

采用喷雾干燥制备白藜芦醇微囊是一个物理过程,该技术可用于水溶性或难溶性的固态或液态药物^[7]。它对设备的要求比较低,工艺参数可控,操作起来非常简便,无需任何有机溶剂,有利于工业化大生产。并且微囊自身还可用作散剂、胶囊剂、颗粒剂、冲剂、片剂、丸剂、注射液(混悬型)、植入剂及软膏剂等各种剂型制备的基础原料。因此本研究将为白藜芦醇微囊固体制剂开发提供试验参考。

壳聚糖以其良好的生物相容性和生物可降解性越来越受到重视,现已应用于医疗卫生制品的各个领域。在预实验中发现壳聚糖质量浓度应该控制在0.25%~0.75%范围内,因为当壳聚糖质量浓度小于0.25%或大于0.75%时,微囊粉末主要沉积在分流瓶内,导致其收率较低。

单因素试验表明,在可顺利喷雾的空气流速范围内(601~742 L/h),空气流速对微球的质量无明显影响;当气流流速增加时,微球的流动也会加剧,但不利于雾化,并且影响微球的外观;由于白藜芦醇对热不稳定差,但当进口温度在165℃以下时,喷雾的

雾滴又无法完全干燥。

参考文献

- Yi L(易龙). The cardiovascular protection of resveratrol. *Int J Cardiovasc Dis*(国际心血管病杂志),2008,35:239-241.
- Wang SS(王世盛), Zhao WJ(赵伟杰), Liu ZG(刘志广). The biological activity of polyhydroxystibene (PHS). *World Phytomedicines*(国外药学·植物药分册),2001,12:9-11.
- Li YS(黎永胜), Wen J(文军). Advancement on pharmacological action of resveratrol. *Medical Recapitulate*(医学综述),2008,14:469-471.
- Zhao HT(赵海涛), Chen WT(陈为涛), Li WZ(李万忠). Research progress in preparation and formulation of resveratrol, *Asia Pacific Tradit Med*(亚太传统医药),2009,5:113-115.
- Han JJ(韩晶晶), Liu W(刘炜), Bi YP(毕玉平). Advances in Resveratrol studies. *Chin J Biotech*(生物工程学报),2008,24:1851-1859.
- Chen YB(陈易彬), Sun BX(孙宝祥), Chen JX(陈佳希). Study on the stability of resveratrol in Rhizoma Polygoni Cuspidati. *J Chin Med Mater*(中药材),2007,30:805-807.
- Hu R(胡荣), Luo XQ(罗先钦), Qin WH(秦伟翰), et al. Preparation of salvianolic acid-chitosan microcapsule by spray drying method. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药),2012,43:2173-2176.
- 18.
- Cui J(崔健). Flavonoids and volatile components from indocalams leaves. *Chinese Academy of Forestry*(中国林业科学研究院),2011.
- Wang ZK(王志坤), Lin XC(林新春), Li F(李妃), et al. Applied study on extraction of total flavonoids from bamboo leaves. *Food Res Dev*(食品研究与开发),2011,32(9):1-4.

(上接第138页)

- Li SF(李水芳), Yu XL(喻勋林), Li JJ(李娟), et al. Study of extraction methods of total flavonoids from indocalams leaves. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学),2007,35:6032.
- Tao WL(陶文亮), Wu YJ(吴钰娟). Summary of the extraction study on flavone compound in bamboo leaves. *Guizhou Chemical Industry*(贵州化工),2009,34(3):15-