

# 正交试验优选白藜芦醇微囊处方<sup>△</sup>

胡 荣\*, 罗先钦, 秦伟瀚, 张小梅, 励 娜, 王云红, 杨荣平<sup>#</sup>(重庆市中药研究院, 重庆 400065)

中图分类号 R283.62;R286 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)47-4449-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.47.11

**摘要** 目的: 优选白藜芦醇微囊的处方。方法: 采用滴制法制备白藜芦醇微囊, 以海藻酸钠黏度、海藻酸钠与白藜芦醇质量比、海藻酸钠质量分数、氯化钙质量分数为考察因素, 以白藜芦醇载药量和包封率的综合评分为评价指标, 采用正交试验优选白藜芦醇微囊处方。结果: 最优处方为海藻酸钠黏度为380 cps、海藻酸钠与白藜芦醇的质量比为0.5:1、海藻酸钠质量分数为2.0%、氯化钙质量分数为3.0%。结论: 所选白藜芦醇微囊处方合理, 制得的白藜芦醇微囊载药量和包封率较高。

**关键词** 白藜芦醇; 微囊; 海藻酸钠; 氯化钙

## Optimization of the Formulation of Resveratrol Microcapsules by Orthogonal Test

HU Rong, LUO Xian-qin, QIN Wei-han, ZHANG Xiao-mei, LI Na, WANG Yun-hong, YANG Rong-ping (Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the formulation of Resveratrol microcapsules. METHODS: Resveratrol microcapsules were prepared by the dropping method. The formulation of Resveratrol microcapsules was optimized by orthogonal test with the viscosity of sodium alginate, mass ratio of sodium alginate to resveratrol, mass fraction of sodium alginate, mass fraction of calcium chloride as factors using the drug-loading amount and encapsulation coefficient of resveratrol as index. RESULTS: The optimal formulation was as follows: sodium alginate of 380 cps, mass ratio of sodium alginate to resveratrol 0.5:1, mass fraction of sodium alginate 2.0%, mass fraction of calcium chloride 3.0%. CONCLUSIONS: Resveratrol microcapsules are reasonable in formulation and characterized with high drug-load amount and high encapsulation coefficient.

**KEY WORDS** Resveratrol; Microcapsules; Sodium alginate; Calcium chloride

白藜芦醇是萘醌蒽类化合物, 主要来源于蓼科植物虎杖 (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.) 的根茎提取物<sup>[1]</sup>。研究表明, 其有抗癌、抗心脑血管疾病、抗突变、抗菌、抗炎等药理作用<sup>[1-4]</sup>。但是, 白藜芦醇对光、热的稳定性较差<sup>[5-7]</sup>, 因此提高其稳定性是拓宽白藜芦醇应用范围的关键。

微囊是利用天然的或合成的高分子材料将固体或液体药物包嵌而成的微型胶囊, 粒径在2~10 mm 范围内, 其中大粒

径微囊主要用于掩盖药物气味、提高稳定性, 小粒径微囊则用于靶向给药<sup>[8]</sup>。微囊以源于天然海洋多糖作为载体, 具有良好的生物相容性、生物降解性和低毒性, 越来越受到人们的重视, 广泛应用于医药卫生和食品领域, 在新剂型的研究中也显示出良好的应用前景<sup>[9]</sup>。

## 1 材料

### 1.1 仪器

NOS 活性, 且前者效果好于后者。

## 参考文献

[1] 王晓杨, 毛宇飞, 王万铁, 等. 氧化应激与总肺缺血再灌注细胞凋亡的相关性及川芎嗪干扰的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(18): 3 857.

[2] 李艳玲, 黄荣清, 崔玉芳, 等. 水蛭的研究概况及展望[J]. 科学技术与工程, 2004, 4(3): 239.

[3] 李可建. 水蛭治疗缺血性中风急性期随机对照试验的系统评价[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(17): 2 311.

[4] 梁进权, 宓穗卿, 王宁生. 水蛭、蛇虫配伍的抗凝血和抗血

小板聚集的作用[J]. 中药材, 2009, 32(9): 1 347.

[5] 冯光军, 朱正光, 余传林, 等. 水蛭乙醇提取物体外抗凝血活性研究[J]. 中药材, 2007, 30(8): 910.

[6] 朱正光, 吴曙光, 孙燕荣. 水蛭水煎液抗栓作用机制的体外实验研究[J]. 中国生化药物杂志, 2001, 22(5): 229.

[7] Zhang X, Bedard EL, Potter R, et al. Mitogen-activated protein kinases regulate HO-1 gene transcription after ischemiareperfusion lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283(4): 1 815.

[8] 王卫, 王万铁, 徐正, 等. 川芎嗪对家兔肠缺血再灌注损伤时血浆 TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> 水平的影响[J]. 温州医学院学报, 2004, 34(4): 256.

[9] 杜文兵, 甄丽芳, 黄福开, 等. 二十五味珊瑚丸对偏头痛大鼠血浆 NO 和 NOS 的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 29(2): 147.

(收稿日期: 2013-10-22 修回日期: 2013-11-12)

△ 基金项目: 重庆市卫生局中医药科技项目(No.2011-2-149)  
\* 助理研究员, 硕士。研究方向: 药物新剂型。电话: 023-89029068。E-mail: hr790606@163.com  
# 通信作者: 研究员, 博士。研究方向: 新药开发。电话: 023-89029056。E-mail: rongpingyang18@yahoo.com.cn

1200SL 高分离度快速液相色谱仪(RRLC,美国 Agilent 公司);78HW-1 恒温磁力搅拌器(金坛市中大仪器厂);SB-5200DT 超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司,功率:300 W,频率:45 kHz)。

## 1.2 试剂

白藜芦醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111535-200802);白藜芦醇(重庆科瑞南海制药有限责任公司,批号:0040,质量分数:98%);壳聚糖(山东奥康生物科技有限公司,批号:090926,脱乙酰度 $\geq 95\%$ ,黏度 $< 60$  cps);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 白藜芦醇微囊的制备

称取适量白藜芦醇粉末,加入海藻酸钠水溶液,混匀,用注射器(9号针头)吸取混悬液滴加至缓慢搅拌的氯化钙溶液中,钙化10 min,滤过,水洗3次,50℃干燥,得白藜芦醇微囊。

### 2.2 白藜芦醇含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Welchrom C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu$ m);流动相:乙腈-水(30:70, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:306 nm;柱温:室温;进样量:10  $\mu$ l。

2.2.2 供试品溶液的制备 称取干燥的白藜芦醇微囊60 mg,精密称定,研磨,加入无水乙醇适量,超声提取3次,合并提取液至50 ml量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 线性关系考察 精密称取白藜芦醇对照品适量,用70%甲醇溶解至50 ml,作为贮备液;分别精密吸取贮备液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  $\mu$ m微孔滤膜滤过,分别吸取10  $\mu$ l注入液相色谱仪。以色谱峰面积(A)为纵坐标,白藜芦醇质量浓度(c)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $A = 48.19c + 16.38$ ( $r = 0.9998$ )。结果表明,白藜芦醇质量浓度在0.3~9.6  $\mu$ g/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验 量取质量浓度分别为0.3、4.8、9.6  $\mu$ g/ml的白藜芦醇对照品溶液适量,按上述色谱条件进样测定,在1 d内测定3次,计算日内精密度;分别在3 d内测定,计算日间精密度。结果,日内精密度的RSD分别为0.59%、1.85%、1.74%( $n = 3$ );日间精密度的RSD分别为1.63%、2.48%、1.04%( $n = 3$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.5 加样回收率试验 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1.38 mg,用0.1 mol/L盐酸溶解,制成质量浓度分别为0.3、0.3、0.3、4.8、4.8、4.8、9.6、9.6、9.6  $\mu$ g/ml的溶液,按上述色谱条件进样测定,并计算加样回收率。结果,平均回收率为99.99%,RSD=2.75%( $n = 9$ )。

### 2.3 白藜芦醇微囊包封率和载药量的测定

称取干燥的白藜芦醇微囊适量,研磨,加入适量无水乙醇,超声3 min,滤过,共3次,滤液定容至50 ml,根据回归方程计算白藜芦醇质量浓度,并按下式计算载药量和包封率:载药量=微囊中药物质量/白藜芦醇微囊总质量 $\times 100\%$ ;包封率=白藜芦醇微囊中药物质量/投药质量 $\times 100\%$ 。

### 2.4 正交试验优选处方

根据单因素考察结果,发现影响处方工艺的主要因素有:海藻酸钠的黏度(A)、海藻酸钠与白藜芦醇质量比(B)、海藻酸钠质量分数(C)、氯化钙质量分数(D)。笔者以此为考察因素,选取载药量和包封率的综合评分(综合评分=0.5 $\times$ 载药量+

0.5 $\times$ 包封率)为评价指标,选用正交试验优选处方。因素与水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, cps	B, m/m	C, %	D, %
1	30	0.5	1.0	2
2	125	1.0	1.5	3
3	380	2.0	2.0	4

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	载药量, %	包封率, %	综合评分
1	1	1	1	1	44.15	78.09	61.12
2	1	2	2	2	35.40	82.34	58.87
3	1	3	3	3	47.10	80.28	63.69
4	2	1	2	3	37.72	83.72	60.72
5	2	2	3	1	45.83	85.15	65.49
6	2	3	1	2	48.17	75.39	61.78
7	3	1	3	2	47.01	88.43	67.72
8	3	2	1	3	50.13	76.49	63.31
9	3	3	2	1	43.52	77.62	60.57
K <sub>1</sub>	183.68	189.56	186.21	187.18			
K <sub>2</sub>	187.99	187.67	180.16	188.37			
K <sub>3</sub>	191.60	186.04	196.90	187.72			
R	10.481 6	2.068 8	47.900 7	0.236 7			

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	10.481 6	2	5.240 8	5.240 8	
B	2.068 8	2	1.034 4	1.034 4	
C	47.900 7	2	23.950 3	23.950 3	<0.05
D(误差)	0.236 7	2	0.118 3		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

由表2、表3可知,各因素对白藜芦醇微囊影响大小的顺序为 $C > A > B > D$ ,且海藻酸钠质量分数对处方有显著性影响( $P < 0.05$ ),最优处方为 $A_3B_1C_3D_2$ ,即海藻酸钠的黏度为380 cps,海藻酸钠与白藜芦醇的最佳质量比为0.5:1,海藻酸钠质量分数为2.0%,氯化钙质量分数为3.0%。

### 2.5 工艺验证试验

按上述优选的处方,称取原、辅料各适量,共3份,按“2.1”项下方法制备白藜芦醇微囊,并测定其载药量和包封率。结果,制备的3批样品,载药量分别为48.12%、47.04%、46.21%,平均载药量为47.12%,RSD=2.03%( $n = 3$ );包封率分别为88.71%、86.41%、89.16%,平均包封率为88.09%,RSD=1.67%( $n = 3$ ),表明所选处方合理,所制备的白藜芦醇微囊的载药量和包封率均较高。

## 3 讨论

笔者利用海藻酸钠与氯化钙形成凝胶的性质来制备白藜芦醇微囊,采用手工滴制法的试验条件温和,且不需要有机溶媒。并且,该制备方法的模型药物选择广泛,尤其对难溶性药物及大分子药物更有优势。

预试验表明,微囊粒径主要受针头直径的控制,其直径越小,微囊的粒径就越小,但载药后滴制时易堵塞针头。本试验

# 正交试验优选八宝通脉颗粒制备工艺

涂瑶生<sup>1\*</sup>,朱颖<sup>1,2</sup>,张建军<sup>1</sup>(1.广东省中医研究所,广州 510095;2.广州中医药大学,广州 510405)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)47-4451-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.47.12

**摘要** 目的:优选八宝通脉颗粒制备工艺。方法:以提取次数、加水量、提取时间为考察因素,以芍药苷得率和得膏率的综合评分为评价指标,采用正交试验优选水提取工艺;以颗粒收率、溶解率、吸湿率的综合评分为评价指标,采用单因素试验对填充剂种类进行考察,并测定颗粒的流动性和临界相对湿度。结果:最佳提取工艺为加8倍量的水提取3次,每次1h;最优填充剂为麦芽糊精,颗粒的流动性较好,其临界相对湿度为59.07%。结论:优选的工艺合理、可行,可用于八宝通脉颗粒的制备。

**关键词** 水提工艺;颗粒剂;芍药苷

## Optimization of Preparation Process of Babao Tongmai Granules by Orthogonal Test

TU Yao-sheng<sup>1</sup>, ZHU Ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian-jun<sup>2</sup> (1.Guangdong Institute for TCM, Guangzhou 510095, China; 2. Guangdong University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize preparation process of Babao tongmai granules. METHODS: The water extraction technology of Babao tongmai granules was optimized by orthogonal test with extracting times, amount of water adding and extracting time as factors using extraction rate of paeoniflorin and yield of extracts as index. The kind of filler were investigated by single factor test with yield, solubility and moisture absorption as index. RESULTS: The optimum technology was as follows: 8 times of water, extracting 3 times, lasting for 1 h each time. The optimum was maltodextrin, and the RCH of the granule was 59.07%. CONCLUSIONS: The optimal process is reasonable and feasible, and it could be suitable for the preparation of Babao tongmai granules.

**KEY WORDS** Water extraction technology; Granules; Paeoniflorin

视网膜静脉阻塞(Retinal vein occlusion)是老年人常见的眼底血管病,是发生率仅次于糖尿病视网膜病变的第二大致盲性视网膜血管病<sup>[1]</sup>。中医认为,视网膜静脉阻塞属暴盲、视瞻昏渺范畴,利用中药治疗有一定疗效<sup>[2]</sup>。八宝通脉颗粒由柴胡、赤芍、当归等8味中药组成,具有疏肝理气、健脾化湿、祛瘀通脉之功,主要用于治疗出血所致暴盲、视瞻昏渺等气滞血瘀、脾虚湿困之证。原处方以煎剂内服,但煎剂煎煮、携带、使用不方便。为了方便患者用药,又因本方日服用剂量大,难以

制成片剂或胶囊剂,故制成无糖型颗粒剂。

## 1 材料

### 1.1 仪器

BP 211D 电子分析天平(瑞士Mettler公司)LXJ-IIB 低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂);DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);1200 高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司)。

中,笔者采用直径较大的9号针头。另外,虽然固化时间和氯化钙溶液的体积对微囊均无显著影响,但为了确保试验的重复性,规定其氯化钙溶液体积为海藻酸钠溶液体积的5倍,固化时间为5 min。

## 参考文献

- [1] 熊小春,安春妹.白藜芦醇抗肿瘤的研究进展[J].黑龙江医药,2010,23(1):59.
- [2] 郭雪红.白藜芦醇的制备及药理作用概述[J].天津药学,2008,20(3):71.
- [3] Mertens-Talcott SU, Percival SS. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells[J]. *Cancer Lett*, 2005, 218(2):141.

- [4] 王新春,侯世祥,李文,等.白藜芦醇纳米脂质体体外释药和大鼠小肠吸收特性的研究[J].中国中药杂志,2007,32(11):1084.
- [5] 赵海涛,陈为涛,李万忠.白藜芦醇制备与制剂研究进展[J].亚太传统医药,2009,5(1):113.
- [6] 韩晶晶,刘炜,毕玉平.白藜芦醇的研究进展[J].生物工学报,2008,24(11):1851.
- [7] 陈易彬,孙宝祥,陈佳希.虎杖中白藜芦醇的稳定性研究[J].中药材,2007,30(7):805.
- [8] 车晓侠,余李敏,傅强.丹皮酚微囊的制备及体外释药考察[J].中国医院药学杂志,2010,30(11):905.
- [9] 胡荣,罗先钦,励娜,等.丹参酮缓释微囊的制备工艺研究[J].中草药,2012,43(11):2173.

(收稿日期:2013-05-21 修回日期:2013-09-19)

\* 研究员,教授,博士研究生导师,博士。研究方向:中药制剂。电话:020-83482683。E-mail: tuyaos@21cn.com