技术与方法 文章编号:0253-3626(2009)11-1549-03

羟丙基－β－环糊精对龙胆草提取物的包合工艺及掩味作用研究

王 睿[1],谭群友[2],柳 珊[1],赵春景[3],杨 帆[2],张景勋[1]

(1.重庆医科大学药学院药物高校工程研究中心,重庆 400016;2.第三军医大学大坪医院野战外科研究所胸外科,重庆 400042;3.重庆医科大学附属第二医院药剂科,重庆 400010)

【摘 要】目的:研究羟丙基－β－环糊精(Hydroxypropyl cyclodextrin,HP-β-CD)对龙胆草提取物的包合工艺及掩味作用。方法:采用研磨法制备龙胆草提取物/HP-β-CD包合物,以包合物的苦味为评价指标,通过正交试验设计,确定最佳制备工艺。通过差示扫描量热法(DSC)、紫外分光光度法(UV)对包合物进行鉴定。结果:提取物用量为5 mg/ml,HP-β-CD用量为20%(W/V),研磨时间为25 min,水浴温度为55℃,水浴时间为6h时,包合效果较好,掩味效果较好。DSC及UV法确证形成了包合物。结论:HP-β-CD可与龙胆草提取物形成包合物,包合物对龙胆草液体制剂有很好的掩味效果。

【关键词】龙胆草提取物;HP-β-环糊精;包合物;掩味

【中国图书分类法分类号】R943 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-11-13

Study on inclusion process and taste masking effect of hydroxypropyl cyclodextrin on gentian extract

WANG Rui, et al

(*Medicine Engineering Research Center in University, School of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the inclusion process and taste masking effect of hydroxypropyl cyclodextrin (HP-β-CD) on the extract of Gentian. *Method*: The inclusion complex was prepared by grinding method. The multiple factors and levels experiments were done by orthogonal experiments design with the bitterness score as criteria. Then the optimum preparation was established. *Results*: The optimum entrapment conditions were as follows: the concentration of HP-β-CD was 20%; the grinding time was 5min, the bath temperature was 55℃; and the bath time was 6h. The formation of inclusion complex of the Gentian extract was confirmed by the change of differential scanning calorimetry and ultraviolet spectrophotometry. *Conclusion*: The inclusion compound from the extract of gentian cyclodextrin was prepared. The inclusion complex showed significant effects of bitter taste masking.

【Key words】Gentian formulation;HP-β-CD;Inclusion complex;Taste masking

中药龙胆草(Gentian)为龙胆科植物龙胆(Gentiana scabra Bye)、三花龙胆(Gentiana triflom pal)和条叶龙胆(Gentiana manshurica Kitag)的干燥根及根茎,具有清热燥湿,泻肝胆火的功效,临床常用于高血压,温热黄疸,急性传染性肝炎等的治疗。龙胆草的主要活性成分为龙胆苦苷(Gentiopicroside,GPS)等环烯醚萜及裂环环烯醚萜的苷类。将龙胆草煎成汤剂或制成口服液等液体制剂服用,味苦,使用不便。因此,本研究拟采用羟丙基-β-环糊精(Hydroxylpropyl beta cyclodextrin, HP-β-CD)分子包合技术[1]掩盖其苦味,提高病人服用顺应性,为开发口感好的龙胆草液体制剂提供参考。

1 材料与试药

1.1 仪器

AG135型电子天平(Mettler-Toledo设备有限公司);RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司);HHS-4S型电子恒温不锈钢水浴锅(上海南阳仪器有限公司);DZF-1型真空干燥箱(上海跃进医疗器械厂);UV5130型紫外分光光度计(日本岛津公司),KQ218型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)

作者介绍:王 睿(1982-),男,硕士,研究方向:药物新型递药系统与新技术。

通讯作者:张景勋,女,研究员,E-mail: zjqrae01@163.com。

基金项目:重庆市科委自然科学基金资助(CSTC,2007B135456)。

1.2 试药

龙胆苦苷对照品（中国药品生物制品检定所，批号110770-200611，纯度＞99.5%）；龙胆草（川产龙胆）；HP-β-CD（药用，广东省郁县环状糊精厂）；无水乙醇（分析纯，重庆川江化学试剂厂）。

2 方法与结果

2.1 龙胆草提取物的制备

取龙胆草药材 440 g，40℃干燥 1 h，加水 3 000 ml 浸泡 30 min，水煎煮 3 次，煎煮时间分别为 30 min、25 min、20 min。合并煎液，4℃放置 24 h，取上清液浓缩至 440 ml（比重约为 1.08），醇沉，4℃静置 24 h，抽滤，滤液回收乙醇，50℃真空干燥 5 h，置干燥器中放置 12 h，称重，计算提取物收率（提取物收率为 4.53%）[2]。

2.2 龙胆草提取物中总裂环环烯醚萜苷的含量

精密称取 GPS 对照品适量，无水乙醇定容于 50 ml 棕色瓶中，作为 GPS 对照品溶液，在 200～400 nm 波长紫外光谱扫描，在 271 nm 有最大吸收。精密量取 GPS 对照品溶液 2、3、4、5、6 ml 于 25 ml 容量瓶中，加无水乙醇定容至刻度，在 271 nm 处测量其吸光度[3]。以吸光度值对 GPS 浓度进行线性回归，得标准曲线 Y=0.024 7C+0.013 3，(r=0.999 7，n=3)，结果表明，GPS 的浓度在 10.544～31.632 μg/ml 范围内与吸光度有良好的线性关系。称取龙胆草提取物适量，依上法测定，计算得到龙胆草提取物中总裂环环烯醚萜苷的含量为 41.20%（RSD=0.68%，n=3）。

2.3 龙胆草提取物的 HP-β-CD 包合物的制备

称取适量 HP-β-CD 于研钵中，加入等量蒸馏水，研磨使之形成糊状物，称取 50 mg 龙胆草提取物，继续研磨一定时间，转移至 10 ml 容量瓶中，定容，再于一定温度下水浴包合一定时间，即得。

2.4 龙胆草提取物的 HP-β-CD 最佳包合工艺条件选择

将龙胆草提取物的浓度固定为 5 mg/ml，以包合物溶液的苦味值为考核指标，HP-β-CD 的用量，研磨时间，水浴时间和水浴温度为影响包合物掩味效果的主要因素，每个因素选 3 个水平设计正交试验因素水平表，见表 1，按 $L_9(3^4)$正交表安排实验，见表 2[4]。

以苦味值对包合物进行质量评价[5]。苦味程度分为 5 级。1 级（0~20 分）：几乎没有苦味；2 级（21~40 分）：感觉到苦味、但可以忍受；3 级（41~60 分）：感觉到苦味，不想忍受；4 级（61~80 分）：苦味较浓，难以忍受，感到痛苦；5 级（81~100 分）：极苦，无法忍受，立即吐出。龙胆草提取物浓度为 5 mg/ml 时，苦味为 100 分。苦味评价方法为：先用温水漱口三次，再将待测液含于口中，10 s 后吐出，漱口至无溶液味道（至少 10 次以上），再检测第二种溶液，每尝过一份即做评价（n=5）。

由表 2 极差结果进行直观分析，可知：各因素对苦味值影响的大小顺序为 A>B>D>C，且以 $A_3B_3D_2C_3$ 水平最佳，即 HP-β-CD 用量为 20%（W/V），研磨时间为 25 min，水浴温度为 55℃，水浴时间为 6 h。对表 2 结果做方差分析，可知，A 因素（即 HP-β-CD 的用量）对包合工艺有显著性影响（P<0.05）。按最佳包合工艺平行制备 6 批包合物样品，依照苦味评价标准对其苦味值作出评价，其苦味得分为 9.33 ± 1.63（n=6）。

表 1 正交试验因素水平表 $L_9(3^4)$

水平	因素			
	A HP-β-CD（%）	B 水浴温度（℃）	C 研磨时间（min）	D 水浴时间（h）
1	10	35	5	4
2	15	45	15	6
3	20	55	25	8

表 2 正交试验安排与结果

序号	因素				评价指标
	A	B	C	D	苦味值
1	10	35	5	4	38
2	10	45	15	6	30
3	10	55	25	8	20
4	15	35	15	8	36
5	15	45	25	4	30
6	15	55	5	6	18
7	20	35	25	6	16
8	20	45	15	8	10
9	20	55	5	4	10
K_1	29.333	30.000	22.000	26.000	
K_2	28.000	23.333	25.333	21.333	
K_3	12.000	16.000	21.000	22.000	
R	17.333	14.000	3.333	4.667	

2.5 龙胆草提取物的 HP-β-CD 包合物的验证

将龙胆草提取物，HP-β-CD，龙胆草提取物与 HP-β-CD 的混合物，龙胆草提取物的包合物用 DSC 分析仪进行差示扫描热（Differential scanning calorimetry，DSC）分析，测定条件为升温速率 10 K/min，测定气氛为 N_2，室温 30℃，扫描范围 30~300℃。测定结果见图 1。龙胆草提取物在 180~240℃范围内有一系列分解峰；混合物的 DSC 图中药物在 180~250℃范围内有一系列分解峰；包合物的 DSC 图中药物分解峰消失，混合物与包合物的 DSC 图有明显的区别，可证明包合物的形成。

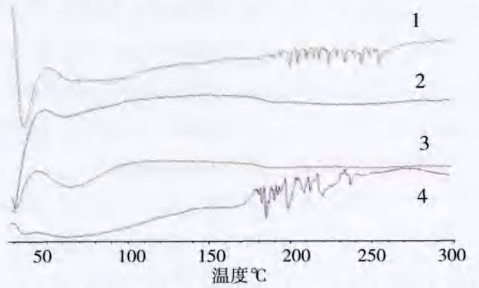
分别称取龙胆草提取物适量于 5 个 10 ml 量瓶中，称取 HP-β-CD 0、0.5、1.0、1.5、2.5、4.5 g，用适量水溶解后转移入上述 5 个量瓶中，蒸馏水定容，超声 30 min，冷至室温后，在 200～400 nm 范围内进行紫外扫描，见图 2。龙胆草提取物在最大吸收峰处的吸光度随 HP-β-CD 浓度的增加呈规律性的增减趋势，波峰未出现明显的位移，符合诱导光谱变化理论，紫外分光光度法证明了龙胆草提取物包合物的形成。

由上而下 HP-β-CD 的浓度依次为：0×10^{-1} g/ml，0.5×10^{-1} g/ml，1.0×10^{-1} g/ml，1.5×10^{-1} g/ml，2.5×10^{-1} g/ml，4.5×10^{-1} g/ml。

3 讨 论

3.1 掩味技术

目前，药物的不良味道多考虑通过加入矫味剂（如甜味剂、芳香剂、胶浆剂等）进行改善。口服液中龙胆苦味，仅靠加入矫味剂不足以改善味道。除开加入矫味剂的方法，分子包合等掩味技术的研究，多局限于口崩片等固体制剂，很少用于液体制剂，几乎没有用于中药口服液的，造成这种情况的部分原因是因为口服液等液体制剂掩味难度大，掩味效果通常不够理想，掩味后要达到原有液体制剂的质量要求较难（如口服液掩味后外观仍需澄明等）。中国专利号 CN 1136837C 公开了名称为“药物掩味液”的发明专利，该专利提供了一种掩味赋形剂基质，主要是通过将常态固体聚乙二醇与纤维素类混合在一起，通过增加粘度来实现对不良味道的化学药物的掩味，基质中除了固体聚乙二醇与纤维素类，还加有甜味剂如糖精钠、玉米糖浆及山梨糖醇溶液，薄荷醇及各种增香剂等改善味觉的辅料。用该专利制备的掩味液体制剂流动性及外观明显不同于普通口服液。中国专利号 CN 1174740C 公开了名称为“掩味的药用液体制剂”的发明专利，该专利提供了可用于对化学成分包衣的共混聚合物，该共混聚合物由甲基丙烯酸酯和纤维素酯组成，在胃 pH 值下可溶解但在口腔 pH 值下相对不溶解。此专利得到的是混悬剂，不是口服液或溶液型液体制剂。上述两个专利均针对的是化学药物。用上述技术对口服液龙胆苦味掩味，效果均不理想。



1. 龙胆草提取物与 HP-β-CD 的混合物；2. 龙胆草提取物与 HP-β-CD 的包合物；3. HP-β-CD；4. 龙胆草提取物

图 1 差示扫描量热图谱

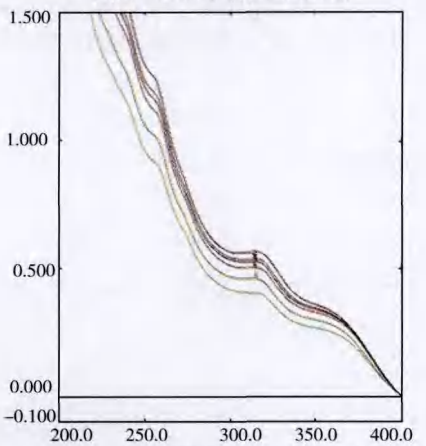


图 2 龙胆草提取物包合物紫外光谱图

3.2 HP-β-CD 包合技术

目前制备 HP-β-CD 包合物的方法主要有饱和溶液法、研磨法、冷冻干燥法、喷雾干燥法、液－液法或气－液法、固相包合法等[6-9]。需要根据主客体特性选择适宜的包合方法，溶媒种类、用量等包合条件。经过查阅文献和大量预实验，我们最终选用研磨后水浴保温的方法，利用研磨过程中的机械能和水浴保温过程中热能的去溶剂化作用来促进包合。本实验的包合客体龙胆草提取物的浓度为 5 mg/ml，比文献报道的（0.8 mg/ml）要高很多，在优化条件下制备龙胆草提取物的包合物，结果满意，所得液体制剂的澄明度好。

参 考 文 献

[1] Yuan C, Jin Z Y, Xu X M, et al. Preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with hydroxypropyl-β-cyclodextrin[J]. Food Chemistry, 2008, 109(2): 264-268.

[2] 沈钦海，陈国民. HLPC 法测定木芙蓉提取物中芦丁含量[J]. 重庆医科大学学报，2005，30（6）：862-863.

[3] 李春莉，王莎莉，王亚平，等. 紫外分光光度法测定青蒿素的含量 [J]. 重庆医科大学学报，2007，32(4)：413-415.

[4] 吴红兵，邓意辉，张玲玲，等. 苯丙醇-β-环糊精包合物的制备[J]. 中国药学杂志，2006，41(8)：600-603.

[5] 王优杰，冯 怡，徐德生. 中药复方掩味技术初步研究 [J]. 中国中药杂志，2007，32(13)：1285-1288.

[6] Petrovskiž, Marta R P, Matos N D, et al. Synthesis, characterization and anti-tumor activity of 1,2-disubstituted ferrocenes and cyclodextrin inclusion complexes [J]. Journal of Organometallic Chemistry, 2008, 693(4): 675-684.

[7] 金在云，韩龙雄，金光春，等. 关于消除引流熊胆粉兽臭及苦味的探讨 [J]. 延边农学院学报，1994，16(1)：59-64.

[8] 何 玲. 龙胆口服液的研究 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报，2000，12(3)：98-101.

[9] Hwang S J, Kim M S, Kim J S, et al. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex using supercritical anti-solvent (SAS) process [J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2007, 66(3): 413-421.

（责任编辑：冉明会）