

DOI:CNKI:11-3495/R.20110301.1640.001

冰片 β -环糊精、羟丙基- β -环糊精包合物的制备及稳定性

郭丽蓉,周莉玲*

(广州中医药大学 中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:研究冰片的 β -环糊精和羟丙基- β -环糊精包合物的制备及稳定性。方法:冰片分别用 β -环糊精和羟丙基- β -环糊精研磨包合,采用气相色谱考察了包合物中冰片的稳定性。结果:冰片采用环糊精包合后可显著提高其稳定性,经羟丙基- β -环糊精包合后溶解度更好。结论:冰片经环糊精包合后可以提高其稳定性,且羟丙基- β -环糊精包合物溶液澄明度优于 β -环糊精包合物。

[关键词] 冰片; β -环糊精;羟丙基- β -环糊精;包合物

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0007-04

Study on Preparation and Stability of Borneol β -CD and HP- β -CD Inclusion Complex

GUO Li-rong, ZHOU Li-ling*

(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the preparation technology of the inclusion complex of borneol with β -CD and HP- β -CD, and to compare their stability. **Method:** The borneol was included with β -CD and HP- β -CD. GC method was used to investigate their stability. **Result:** Borneol that were included by β -CD and HP- β -CD could prevent the volatilization of borneol and promote the stability of the drug. **Conclusion:** The stability of borneol included with HP- β -CD and β -CD was improved.

[Key words] borneol; β -CD; HP- β -CD; inclusion

冰片 Borneolum Syntheticum 味辛、苦,微寒。《本草衍义》称龙脑“非常服之药,独行则势弱,佐使则有功”。冰片常作“引药及佐药”,能促进局部药物吸收,穿透血脑屏障^[1]。中成药有较多冰片的配伍应用,在心脑血管病治疗中尤为广泛。但由于其极易升华,致使其在制剂过程和贮存期内极不稳定。

为了提高其稳定性,已有文献报道采用 β -环糊精(β -CD)对其进行包合制备成包合物,但包合率较低,且对冰片溶解度改善不大。羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)是一种可供静脉注射的辅料^[2],具有无毒、刺激性小,溶血作用小的特点,用 HP- β -CD 对冰片进行包合可以增加冰片在水中的溶解度,防止其挥发,减少刺激性,为中药治疗心脑血管系统疾病提供更可靠、有效。毒副作用更小的制剂,特别是为冰片制成水溶性注射剂提供了方法^[3]。目前关于冰片 HP- β -CD 包合物的研究较少,本实验将冰片分别经 β -CD 和 HP- β -CD 包合后,比较二者稳定性差异。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 6890N 气相色谱仪及配套工作站(美国安捷伦),氢气发生器 GH-300(北京中兴汇利科技发展有限公司),DC-420D 恒温磁力搅拌器

[收稿日期] 20101207(013)

[基金项目] 国家自然科学基金(30672669)

[第一作者] 郭丽蓉,硕士研究生,研究方向:中药新剂型与新技术, Tel: 020-39356169, E-mail: guolirong@foxmail.com

[通讯作者] *周莉玲,教授,博士生导师,从事中药新剂型与新技术的研究, Tel: 020-39358040, E-mail: zhouliling717@sina.com

[网络出版时间] 2011-03-01 16:40

(美国 CORNING 公司), TDL-5000B 型低速冷冻多管离心机(上海安亭科学仪器厂), AU220 型电子天平(Shimadzu 公司), YG120 药物光照试验箱(上海恒谊制药有限公司)。

1.2 试剂 β -CD(上海伯奥生物科技有限公司, 070312), HP- β -CD(山东新大精细化工, 100302), 冰片对照品(中国药品生物制品检定所, 110743-200504), 联苯(中国药品生物制品检定所, 43-9501), 冰片(广州敬修堂药厂提供), 无水乙醇(天津百世化工有限公司, 批号 20090206), 均为分析纯, 水为蒸馏水。氮气、氢气、空气为色谱纯, 均购自广州气体厂有限公司。

2 方法与结果

2.1 冰片含量的测定

2.1.1 色谱条件 石英毛细管柱(Phenomenex ZB-WAX, 0.32 mm $\times$ 30 mm), 氢火焰离子化检测器(FID), 柱温 80 $^{\circ}\text{C}$, 维持 2 min, 升温速度按 30 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$, 维持 2 min, 气化室温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气 N_2 , 流速 1 mL $\cdot \text{min}^{-1}$, 尾气吹 45 mL, 进样量 1 μL 。

2.1.2 溶液的配制 内标溶液 精密称取联苯 50 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 无水乙醇溶解定容, 得联苯(2 g $\cdot \text{L}^{-1}$)内标液。

对照品溶液 精密称取冰片对照品 50 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 无水乙醇溶解定容, 得冰片对照品(2 g $\cdot \text{L}^{-1}$)储备液。

样品溶液 精密称取干燥包合物 0.2 g, 各加入无水乙醇 9 mL, 超声 15 min, 放置过夜, 次日离心 10 min(3 000 r $\cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液 2 mL, 加入内标液 0.4 mL, 加无水乙醇定容至 5 mL, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

阴性溶液 取相应量的 β -CD 和 HP- β -CD, 不加冰片, 同样品溶液的方法制备。

2.1.3 线性关系的考察 精密量取对照品储备液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2 mL, 各加入内标液 0.2 mL, 加无水乙醇定容至 10 mL, 得系列溶液, 按 2.1.1 条件测定冰片含量。以冰片峰面积值(A_1)/联苯峰面积(A_2)对冰片质量浓度(C)线性回归, 回归方程为(A_1/A_2) = 31.553C - 0.364 6 ($r = 0.999\ 8$)。冰片在 40.94 ~ 409.44 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.1.4 精密度考察 取同一样品溶液, 连续进样 6 次, 测定其中冰片含量, 得 RSD 1.82%, 精密度

良好。

2.1.5 重复性考察 平行制备 6 份样品溶液, 测定其中冰片含量, 得 RSD 1.79%, 重复性良好。

2.1.6 稳定性考察 取同一样品溶液, 分别于 2, 4, 6, 8, 10 h 测定其中冰片含量, 得 RSD 1.46%, 10 h 内稳定性良好。

2.1.7 回收率试验 取已知含量的样品溶液, 精密加入对照品适量, 测定其中冰片含量, 计算平均回收率为 99.74%。

2.2 冰片包合物的制备

2.2.1 冰片 β -CD 包合物的制备 按投料比(冰片: β -CD)1:6, 1:8, 1:10 称取冰片和 β -CD, 加入 3 倍量水研匀, 缓慢滴加冰片乙醇溶液, 室温研磨 1.5 h, 溶液冷藏 24 h, 抽滤, 包合物分别用水和乙酸乙酯洗涤 3 次, 真空干燥, 即得。结果见表 1。投料比为 1:8 时, 分别研磨包合 1.5, 2, 2.5 h, 溶液冷藏 24 h, 抽滤, 包合物分别用水和乙酸乙酯洗涤 3 次真空干燥, 即得。结果见表 2。

包合物收得率 = 干包合物质量(g) / [β -CD 加入量(g) + 冰片加入量(g)] $\times 100\%$

包合率 = 干包合物中冰片含量(g) / 冰片实际投量(g) $\times 100\%$

表 1 不同投料比包合物的包合率和收得率($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) %

冰片: β -CD	包合率	收得率
1:6	69.72 $\pm$ 0.31	82.43 $\pm$ 0.25
1:8	75.54 $\pm$ 0.28	85.77 $\pm$ 0.17
1:10	75.73 $\pm$ 0.36	83.56 $\pm$ 0.22

表 2 不同包合时间包合物的包合率和收得率($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) %

t/h	包合率	收得率
1.5	75.54 $\pm$ 0.21	85.77 $\pm$ 0.19
2.0	79.82 $\pm$ 0.27	87.63 $\pm$ 0.14
2.5	77.43 $\pm$ 0.18	88.94 $\pm$ 0.17

结果:投料比为 1:8 时收得率较高;投料比为 1:10 时包合与 1:8 相差不大, 故确定投料比为 1:8。包合时间为 2 h 时包合率较高, 2.5 h 时收得率较高, 但与 2 h 相差不大, 故确定最佳包合条件:投料比为冰片: β -CD(1:8), 包合时间 2 h。

2.2.2 冰片 HP- β -CD 包合物的制备 按投料比(冰片:HP- β -CD)4:0.3, 4:0.5, 4:0.7 的比例称取冰片和 HP- β -CD, 加入 3 倍量水研匀, 缓慢滴加冰片乙醇溶液, 室温研磨 1.5 h, 溶液冷藏 24 h, 乙酸乙酯洗

涤3次后,G5垂熔漏斗滤过,滤液真空干燥,即得。结果见表3。投料比为4:0.3时,分别研磨包合1,1.5,2 h,溶液冷藏24 h,乙酸乙酯洗涤3次后,G5垂熔漏斗滤过,滤液真空干燥,即得。结果见表4。

表3 不同投料比包合物的包合率和收得率($\bar{x} \pm s, n=3$) %

HP- β -CD: 冰片	包合率	收得率
4:0.3	64.89 $\pm$ 0.23	84.87 $\pm$ 0.24
4:0.5	65.27 $\pm$ 0.19	82.36 $\pm$ 0.22
4:0.7	65.42 $\pm$ 0.21	81.54 $\pm$ 0.27

表4 不同包合时间包合物的包合率和收得率($\bar{x} \pm s, n=3$) %

t/h	包合率	收得率
1.0	59.47 $\pm$ 0.29	83.92 $\pm$ 0.22
1.5	64.89 $\pm$ 0.26	84.87 $\pm$ 0.19
2.0	64.43 $\pm$ 0.32	84.24 $\pm$ 0.23

随着冰片的增多,包合率也在增加,投料比为4:0.3时收得率较高,而且与4:0.5,4:0.7时的包合率相差不大,故确定投料比为4:0.3。包合时间为1.5 h时包合率较高;时间为2.0 h时收得率较高,但与1.5 h的收得率相差不大,故确定最佳包合条件:投料比为冰片-HP- β -CD (4:0.3),包合时间1.5 h。

2.3 包合物的验证

2.3.1 薄层色谱法 取 β -CD包合物、HP- β -CD包合物各20 mg,加适量乙醚分3次洗涤,合并洗涤液,离心10 min(3 000 r $\cdot$ min $^{-1}$),取上清液挥去乙醚,残渣加无水乙醇1 mL使溶解,分别制成作为包合物乙醚洗涤液。取洗涤后的包合物各加无水乙醇10 mL,超声处理15 min,离心10 min(3 000 r $\cdot$ min $^{-1}$),取上清液为包合物提取液。另取冰片对照药材加无水乙醇制成1 L $\cdot$ g $^{-1}$ 的溶液最为对照品溶液。吸取上述3种溶液各4 μ L,分别点于同一硅胶G板上,以正己烷:乙酸乙酯(8:2)为展开剂展开,取出,晾干,喷以5%香草醛浓硫酸试液,105 $^{\circ}$ C加热至斑点清晰。日光下检视,冰片包合物乙醚洗涤液无斑点,冰片包合物乙醇提取液和冰片对照品溶液斑点完全一致,说明包合物确已形成,且包合前后主成分没有发生变化。

2.3.2 相溶解度法 精密称取冰片10 mg,溶于适量无水乙醇中,分别加入2.5,5,10,15,20,30,40,50 g $\cdot$ L $^{-1}$ 的 β -CD、HP- β -CD溶液各10 mL,于40 $^{\circ}$ C磁力搅拌1.5 h,冷藏静置24 h,0.45 μ m微孔滤膜滤过,

取续滤液0.2 mL置1 mL量瓶中,加内标0.2 mL,无水乙醇定容,按2.2.1条件测定冰片含量,以冰片质量浓度对 β -CD、HP- β -CD质量浓度做图,得到相溶解度曲线。见图1。

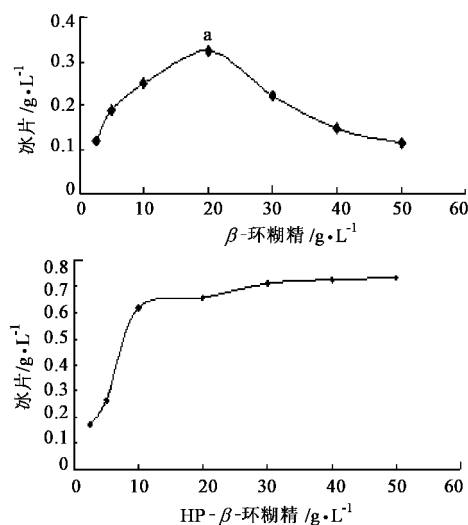


图1 冰片相溶解度曲线

结果:随着 β -CD质量浓度的增加,冰片在水中的溶解度也增加,但在一个固定的比时(图中a点),冰片的质量浓度达到最大水平。随着HP- β -CD质量浓度的增加,冰片在水中质量浓度也增加;但当HP- β -CD含量足以包合全部投入的冰片时,增加HP- β -CD的量,冰片的含量不增加,说明冰片包合已经达到平衡。

2.4 包合物稳定性试验

2.4.1 暴露于空气中的影响 分别称取包合物及按投料比所制得的混合物适量,置烧杯中,使其暴露于空气中,于1,3,5,7,10 d取样,按2.1.1项下的条件测定。结果暴露于空气中时,包合物中冰片几乎没有损失,而混合物中冰片含量显著降低,说明包合有助于增加冰片对空气的稳定性。见表5。

2.4.2 温度的影响 分别称取包合物及按投料比所制得的混合物适量,置烧杯中,放置于60 $^{\circ}$ C恒温箱中,于1,3,5,7,10 d取样,按2.2.1项下的条件测定。结果60 $^{\circ}$ C时,包合物中冰片几乎没有损失,而混合物中冰片含量显著降低,10 d后冰片几乎损失80%以上,说明包合有助于增加冰片的热稳定性。见表6。

2.4.3 湿度的影响 分别称取包合物及按投料比所制得的混合物适量,置烧杯中,放置相对湿度

表 5 空气对包合物和混合物中冰片质量浓度稳定性影响($\bar{x} \pm s, n=3$) g·L⁻¹

样品	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d
β -CD 包合物	22.46 ± 0.15	22.46 ± 0.05	22.45 ± 0.24	22.44 ± 0.06	22.43 ± 0.04	22.43 ± 0.04
β -CD 混合物	14.67 ± 0.22	12.53 ± 0.05	11.84 ± 0.07	9.86 ± 0.15	8.12 ± 0.34	6.46 ± 0.16
HP- β -CD 包合物	15.66 ± 0.27	15.66 ± 0.16	15.65 ± 0.24	15.65 ± 0.04	15.65 ± 0.36	15.64 ± 0.31
HP- β -CD 混合物	12.34 ± 0.14	10.46 ± 0.36	9.28 ± 0.15	7.47 ± 0.17	5.96 ± 0.22	4.69 ± 0.14

表 6 温度对包合物和混合物中冰片质量浓度稳定性影响($\bar{x} \pm s, n=3$) g·L⁻¹

样品	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d
β -CD 包合物	22.46 ± 0.17	22.43 ± 0.25	22.42 ± 0.04	22.41 ± 0.16	22.40 ± 0.12	22.40 ± 0.04
β -CD 混合物	14.67 ± 0.17	11.87 ± 0.15	9.64 ± 0.27	7.58 ± 0.35	4.12 ± 0.34	2.36 ± 0.16
HP- β -CD 包合物	15.66 ± 0.33	15.65 ± 0.24	15.63 ± 0.17	15.63 ± 0.11	15.63 ± 0.25	15.63 ± 0.06
HP- β -CD 混合物	12.34 ± 0.23	10.63 ± 0.17	8.57 ± 0.25	5.06 ± 0.05	3.62 ± 0.12	1.37 ± 0.36

75% (饱和 NaCl 溶液)密闭容器中,于 1,3,5,7,10 d 取样,按 2.2.1 项下的条件测定。结果相对湿度 75% 时,包合物中冰片几乎没有损失,而混合物中冰片含量逐渐降低,说明包合有助于增加冰片的湿稳定性。见表 7。

表 7 湿度对包合物和混合物中冰片质量浓度稳定性影响($\bar{x} \pm s, n=3$) g·L⁻¹

样品	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d
β -CD 包合物	22.46 ± 0.23	22.46 ± 0.12	22.45 ± 0.04	22.44 ± 0.33	22.43 ± 0.05	22.43 ± 0.22
β -CD 混合物	14.67 ± 0.13	12.34 ± 0.35	10.67 ± 0.24	7.54 ± 0.05	5.82 ± 0.17	3.79 ± 0.06
HP- β -CD 包合物	15.66 ± 0.22	15.65 ± 0.25	15.64 ± 0.17	15.64 ± 0.13	15.64 ± 0.31	15.64 ± 0.26
HP- β -CD 混合物	12.34 ± 0.16	10.63 ± 0.17	9.71 ± 0.07	6.34 ± 0.04	4.67 ± 0.25	2.87 ± 0.16

2.5 外观比较 取等量的冰片 2 份,按照各自最佳工艺分别制备成 β -CD、HP- β -CD 包合物,溶于等量水中。结果显示冰片 HP- β -CD 包合物溶液澄明,而冰片 β -CD 包合物溶液呈白色浑浊状,表明冰片用 HP- β -CD 包合后可以明显改善其溶解度。

3 讨论

天然冰片水溶性较差,无法直接置 β -CD 水溶液中进行包合,故应选择合适的有机溶剂。天然冰片易溶于甲醇、乙醇、乙醚、乙酸乙酯、丙酮等有机溶剂,考虑到制剂和生产操作过程的安全性,选择乙醇作为冰片的溶媒。

由稳定性试验可以看出,温度对冰片稳定性影响最大。冰片经 β -CD 包合后可以显著提高稳定,但对冰片溶解度改善并不理想;HP- β -CD 除了可以提

高冰片稳定性外,也可以提高冰片在水中的溶解度,冰片的 HP- β -CD 包合物水溶液澄清,增溶冰片效果理想。

HP- β -CD 水溶性较大,所以不能用饱和水溶液法制备^[4]。

〔参考文献〕

[1] 唐海涛,李力仙,张健,等. 冰片开放血脑屏障的研究进展[J]. 中国神经肿瘤杂志, 2005, 3(2):124.
[2] 中国药典. 一部[S]. 2005:98.
[3] 王靖,张铁军,廖茂梁,等. 冰片-羟丙基- β -环糊精包合物的研究[J]. 天津中医药, 2007;24(2):150.
[4] 徐春红,谢梅,徐力. 布洛芬-羟丙基- β -环糊精包合物的制备及处方优化[J]. 中国药师, 2009, 12(11):1585.

〔责任编辑 全燕〕