

典 2000 年版中测定 DH 原料药、颗粒剂、缓释片及胶囊中药物含量均采用高效液相法, 但该法较为费时, 成本较高, 且对样品前处理要求较高, 操作相对复杂。故本研究对直接紫外分光光度法测定 DH 进行了方法学考察, 结果表明, 该法简便迅速, 结果可靠, 可用于测定 DH 的体外释放。

参考文献:

- [1] 黄胜炎. 咀嚼胶释药系统[J]. 上海医药, 2006, 2(27): 68-72.
- [2] Biradar SS, Bhagavti ST, Hukkeri VI, *et al.* Chewing gum as a drug delivery system [J]. J Pharmaceutics, 2005, 17 (2): 112-114.
- [3] 袁成, 于燕莉, 张卫星, 等. 高效液相色谱法用于褪黑素香口胶的含量测定[J]. 中国生化药物杂志, 2005, 26(4): 232-234.
- [4] Kvist C, Andersson SB, Fors S, *et al.* Apparatus for studying *in vitro* drug release from medicated chewing gums [J]. Int J Pharm, 1999, 189(1): 57-65.
- [5] Kvist LC, Andersson SB, Berglund J, *et al.* Equipment for drug release testing of medicated chewing gums [J]. J Pharm Biomed Anal, 2000, 22(3): 405-411.
- [6] Rider JN. Development and Evaluation of a novel dissolution apparatus for medicated chewing gum products [J]. Pharm Res, 1992, 9(2): 255-259.
- [7] Maggi L, Segale L, Conti S, *et al.* Preparation and evaluation of release characteristics of 3TabGum, a novel chewing device [J]. Eur J Pharm Sci, 2005, 24(5): 487-493.
- [8] Jayachandar G, Johannes K, Stig RK. Product Performance Test for Medicated Chewing Gums [J]. Pharmacopeial Forum, 2008, 34(3): 842-847.
- [9] 中国药典. 二部[S]. 2005: 附录 D.
- [10] Ozkan Y, Atay T, Dikmen N, *et al.* Improvement of water solubility and *in vitro* dissolution rate of gliclazide by complexation with β -cyclodextrin[J]. Pharm Acta Helv, 2000, 74(4): 365-370.
- [11] Pose-Vilarnovo B, Perdomo-Lopez I, Echezarreta-Lopez M, *et al.* Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state[J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 13(3): 325-331.
- [12] 颜耀东. 缓释控释剂的设计和开发[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 46.

[收稿日期] 2010-06-08

聚酰胺树脂分离纯化芦荟蒽醌苷元的研究

谭志坚, 李芬芳, 刘太平 (中南大学化学化工学院, 湖南 长沙, 410083)

[摘要] 目的: 研究聚酰胺树脂分离纯化芦荟蒽醌苷元的最佳工艺条件。方法: 以芦荟蒽醌苷元的吸附量及洗脱率为指标, 研究树脂吸附的最佳工艺条件、洗脱溶媒用量, 并对树脂再生进行考察。结果: 聚酰胺树脂对芦荟蒽醌苷元的适宜交换吸附条件: 药液质量浓度 $0.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$ 及 pH 5 时, 其动态饱和吸附量达到 $10.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。然后以 2 倍体积 10% 乙醇、4 倍体积 80% 乙醇为洗脱溶媒洗脱, 芦荟蒽醌苷元洗脱率为 94.5%。经过再生的树脂, 吸附量相对稳定。结论: 建立了一种蒽醌苷元的纯化工艺, 为蒽醌苷元的工业化生产提供依据。通过高效液相色谱测定芦荟大黄素纯化前后的变化, 证明该方法的有效性。

[关键词] 聚酰胺树脂; 芦荟; 蒽醌苷元; 紫外-可见分光光度法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-5213(2011)11-0872-04

Study on the separation and purification of anthraquinone aglycone by polyamide resin

TAN Zhijian, LI Fenfang, LIU Taiping (College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Hunan Changsha 410083, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the method of separation and purification of total anthraquinone aglycone in aloe using polyamide resin. **METHODS** Using the adsorption ratio and desorption rate of anthraquinone aglycone as the evaluating quotas, orthogonal experimental designs and variance analysis were applied to optimize the manipulation parameters of polyamide resin, meanwhile the resin regeneration was studied. **RESULTS** The optimal exchange adsorption condition of polyamide resin was as follows: the flow velocity was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$, solution concentration was $0.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ at pH 5.0, the dynamic saturated adsorption capacity reached to $10.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. After being eluted with twice as much 10% ethanol and quadruple as much 80% ethanol, the desorption rate was 94.5%. **CONCLUSION** A technique for purification of anthraquinone aglycone was established, which provided the supporting for the industrialized production of aloe anthraquinone aglycone. The efficiency was demonstrated by analysis of aloe-emodin before and after purification using polyamide resin.

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号: 20956001) **[作者简介]** 谭志坚, 男, 在读博士研究生, 电话: 15111335465, E-mail: tanzhijiantgy@csu.edu.cn **[通讯作者]** 李芬芳, 女, 博士, 教授, 电话: 0731-88836961, E-mail: lflfq@mail.csu.edu.cn.

KEY WORDS: polyamide resin; aloe; anthraquinone aglycone; UV-spectrometry; HPLC

芦荟属植物隶属于百合科(*Liliaceal family*)^[1]。该属植物叶内含有多种药用成分,其中主要是芦荟大黄素等蒽醌类物质。近年来的药理和临床研究表明,蒽醌苷元具有抗炎、抗紫外线辐射、抗病毒、提高人体免疫功能等功能,并对肿瘤细胞和艾滋病病毒有抑制作用^[2-3]。聚酰胺树脂具有良好的网状结构和较高的比表面积,可以快速、高效、有选择性地从水溶液中吸附有机物质,从而达到分离提纯的目的^[4]。用聚酰胺树脂吸附法分离纯化芦荟蒽醌苷元的研究目前尚未见报道。本实验旨在通过对聚酰胺树脂分离纯化芦荟蒽醌苷元的工艺条件及再生等方面进行系统的研究,为工业化生产提供理论依据。

1 材料

70- 1800SPC 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); LC- 20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司, SPD- 20A 紫外检测器, LG-solution 色谱工作站); 芦荟大黄素对照品(纯度 98%, 北京天和安业科技有限公司); 聚酰胺树脂(100~ 150 目, 岳阳石化厂); 1, 8- 二羟基蒽醌(中国药品生物制品检定所, 批号 0829-9702); 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 标准曲线的绘制^[5] 以 0.5% 醋酸镁- 甲醇溶液配成 0.006 6~ 0.034 g·L⁻¹ 的 1, 8- 二羟基蒽醌溶液, 以 0.5% 醋酸镁- 甲醇溶液作空白, 在 508 nm 波长处测量其吸光度, 以吸光度(*Y*)对质量浓度(*X*)作线性回归, 得回归方程为 *Y*= 27.71*X*+ 0.005 7, *r*= 0.999 6, 可见该浓度范围内线性关系良好。

2.2 上柱液的制备 称取已粉碎芦荟皮以 60% 乙醇在 30 ℃情况下浸泡 6 h, 浸提 3 次, 料液比为 1: 10, 合并提取液, 减压回收乙醇至糖浆状, 得乙醇总提取物。加入 20% 硫酸水溶液(注射用水), 水浴加热 4 h, 使蒽醌苷水解为蒽醌苷元, 以氯仿萃取蒽醌苷元, 减压蒸馏除去氯仿, 得蒽醌苷元粗品。将蒽醌苷元粗品溶于 60% 乙醇溶液, 过滤, 即得上柱液。

2.3 动态法分离芦荟蒽醌苷元 精密称取预处理好的树脂 2.5 g 装柱, 量取上柱液 100 mL(总蒽醌苷元含量为 0.275 g·L⁻¹), 以流速 1 mL·s⁻¹ 上柱, 待吸附完全后再用注射用水洗脱至无色, 得液体样品。以 80% 乙醇 100 mL 为洗脱液, 洗脱流速为 1 mL·s⁻¹, 洗脱得液体样品。测定芦荟蒽醌苷元含量, 按下式计算聚酰胺树脂对芦荟蒽醌苷元的动态饱和吸附量, 动态洗脱率, 总蒽醌苷元得率: 动态饱和吸附

量(mg·g⁻¹ 树脂) = (样品蒽醌苷元量 - 吸附后滤液中蒽醌苷元量) / 树脂量;

洗脱率= (洗脱液含量 × 洗脱液体积) / 饱和吸附量 × 100%; 总蒽醌苷元收率= 纯化前总蒽醌苷元质量/ 纯化后总蒽醌苷元质量。

2.4 芦荟大黄素的含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱: VP-ODS C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇- 水(60: 40); 检测波长: 429 nm; 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃。

2.4.2 标准曲线的绘制 精密称取芦荟大黄素对照品 2.5 mg, 用甲醇定容于 25 mL 量瓶。取一定量溶液稀释到 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg·L⁻¹。按上述色谱条件进样 5 μL, 测量峰面积, 以质量浓度和峰面积进行回归, 得标准曲线的回归方程。即: *A* = 23 299.95*C* - 2 596.3。 *r* = 0.999 0, 线性范围 0.5~ 8 mg·L⁻¹。

3 结果

3.1 正交试验及结果分析^[6-7] 根据单因素试验结果得出蒽醌苷元含量(*A*)、上柱吸附流速(*B*)、药液 pH 值(*C*) 3 个因素对本品的吸附影响较大。因此, 采用 L₉(3⁴) 正交表安排试验, 见表 1, 测定聚酰胺树脂对芦荟蒽醌苷元吸附率为考察指标, 结果及方差分析见表 2 和表 3。

表 1 正交试验因素及水平表

Tab 1 Factors and levels			
水平	A 蒽醌苷元含量/g·L ⁻¹	B 吸附流速/mL·s ⁻¹	C pH 值
1	0.22	1	5
2	0.38	2	6
3	0.59	3	7

表 2 正交试验结果

Tab 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

编号	芦荟蒽醌苷元 吸附率/%	蒽醌苷元 吸附量/mg·g ⁻¹
1	85.1	10.5
2	48.7	5.0
3	34.3	3.0
4	55.1	5.6
5	35.1	4.6
6	70.4	7.6
7	37.9	4.4
8	78.8	9.2
9	36.7	6.2

表 3 方差分析

Tab 3 Analysis of variance

变异来源	差方和	自由度	<i>F</i> 值	显著性
A	0.004	2	0.050	不显著
B	0.023	2	0.288	不显著
C	0.289	2	3.624	显著
D(误差)	0.322	8		

从表 2, 3 看出, 药液含量及吸附流速对蒽醌苷

元吸附影响不显著, 但 pH 值影响显著。根据药液含量及吸附流速单因素试验得优化工艺条件为, 药液含量为 $0.22\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$, pH 5 时蒽醌苷元的吸附量为 $10.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3.2 洗脱剂浓度的选择 按照最佳吸附工艺条件吸附后, 用注射用水洗至流出液不含蒽醌苷元, 然后依次用 10%, 40%, 60%, 80%, 95% 乙醇梯度洗脱, 控制流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右, 60% 乙醇洗脱 6 个柱体积, 其余每个梯度洗脱 4 个柱体积, 共收集 22 份, 对每份样品液制成干浸膏并测定蒽醌苷元的含量, 绘制洗脱曲线, 见图 1 和表 4。从表 4 和图 1 可以看出, 蒽醌苷元主要集中在 40% 和 60% 醇洗脱液中, 但 80% 乙醇洗脱液仍占有 15.5% 蒽醌苷元未洗脱, 同时低梯度的乙醇也能洗脱出一定量的蒽醌苷元, 并随着梯度的增大而增大。为尽量使洗脱完全, 故选择 10% 和 80% 的乙醇作为洗脱液。

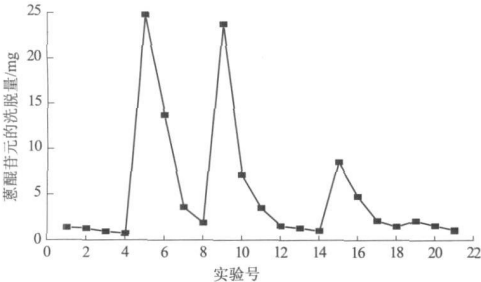


图 1 聚酰胺树脂吸附蒽醌苷元的梯度洗脱曲线
1~ 4 号-10% 的乙醇; 5~ 8 号-40% 的乙醇; 9~ 12 号-60% 的乙醇; 13~ 18 号-80% 的乙醇; 19~ 22 号-95% 的乙醇。
Fig 1 Elution curve of total anthraquinone aglycone using difference alcohol in polyamide resin
number 1~ 4 10% ethanol; number 5~ 8 40% ethanol; number 9~ 12 60% ethanol; number 13~ 18 80% ethanol; number 19~ 22 95% ethanol

表 4 不同梯度醇洗脱效率的比较

Tab 4 Comparison of elution efficiency among ethanol at different concentrations

乙醇 / %	干浸膏量 / mg	占总干浸膏率 / %	蒽醌苷元量 / %	占总蒽醌苷元率 / %
10	131.2	38.9	4.197	3.9
40	83.5	24.8	43.933	40.4
60	68.4	20.3	38.247	35.2
80	35.2	10.4	16.846	15.5
95	18.7	5.6	5.418	5.0
总和	337.0	100.0	108.64	100.0

3.3 洗脱溶媒的用量 聚酰胺树脂吸附后经注射用水洗, 然后依次用 2 个柱体积 10% 的乙醇和 5 个柱体积 80% 的乙醇洗脱。每个柱体积收集 1 次, 进行浸膏量测定和芦荟蒽醌苷元含量测定, 结果见表 5。

从表 5 可以看出, 10% 乙醇能洗脱出一定量的浸膏, 浸膏中蒽醌苷元的含量很少, 可以达到一定的

表 5 不同体积的洗脱溶媒洗脱效率的比较

Tab 5 Comparison of elution efficiency among ethanol at different volume

溶媒	编号	浸膏 / mg	浸膏洗脱率 / %	蒽醌苷元洗脱量 / %	蒽醌苷元洗脱率 / %
10% 乙醇	1	41.5	—	5.4	—
	2	25.2	—	3.4	—
80% 乙醇	1	48.3	50.3	22.66	47.9
	2	23.1	24.1	10.72	22.7
	3	12.7	13.2	6.57	13.9
	4	7.4	7.7	4.73	10.0
	5	4.5	4.7	2.59	5.5
总和		96.0	100.0	47.27	100.0

除杂纯化的目的, 但用量不能大。80% 乙醇洗脱液中, 前 4 个柱体积洗脱浸膏率为 95.3%, 蒽醌苷元洗脱率为 94.5%, 因此确定 80% 乙醇洗脱用量为 4 个柱体积。

3.4 蒽醌苷元中芦荟大黄素样品测定 取芦荟大黄素对照品、纯化前样品、纯化后样品稀释一定倍数, 进样 $5\text{ }\mu\text{L}$ 进行测定。结果见图 2, 芦荟大黄素出峰位置在 7.6 min 左右。通过拟合后的标准曲线计算, 聚酰胺树脂纯化后芦荟大黄素的含量是纯化前的 92.56%, 表明该纯化方法效果良好。

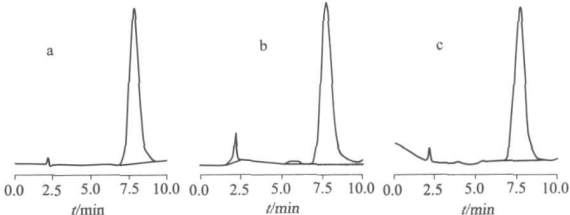


图 2 芦荟大黄素高效液相色谱图谱
a. 对照品; b. 纯化前芦荟蒽醌苷元中的芦荟大黄素; c. 纯化后芦荟蒽醌苷元中的芦荟大黄素
Fig 2 HPLC of aloë emodin
a. reference substance; b. aloë emodin in total anthraquinone aglycone before hydrolysis; c. aloë emodin in total anthraquinone aglycone after hydrolysis

3.5 吸附-洗脱周期及再生 重复使用至第 6 周期时, 发现树脂颜色变深(为暗黑色), 残留在树脂上的杂质较多, 使吸附能力明显减弱, 需要进行再生处理。再生后, 该树脂芦荟蒽醌苷元总吸附率仍可以达到 75% 以上。经过 4 次再生后, 树脂不可再用。

4 讨论

本实验证实了聚酰胺树脂富集蒽醌苷元不仅具有吸附快、解吸率高等特点, 而且具有吸附容量较大, 洗脱率高, 树脂再生简单等优点, 在分离纯化蒽醌苷元工艺中具有一定的推广应用价值。聚酰胺树脂对芦荟蒽醌苷元有良好的吸附性能, 其工艺条件为药液质量浓度为 $0.22\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ 及 pH 5 时, 其动态饱和吸附量达到 $10.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 然后以 2 倍体积, 10% 的乙醇、4 倍体积 80% 乙醇为洗

脱溶媒洗脱, 总蒽醌苷元洗脱率为 94.5%。实验通过分析芦荟蒽醌苷元中的芦荟大黄素在聚酰胺树脂纯化前后的变化, 证明了该纯化方法的有效性。

参考文献:

[1] Aysan E, Bektas H, Ersoz F. A new approach to postoperative peritoneal adhesions: Prevention of peritoneal trauma by aloe vera gel[J]. Eur J Obstet Gyn RB, 2010, 149(2): 195-198.
[2] 黄丽英, 林新华, 赖丽雯, 等. 等吸收双波长分光光度法同时测定芦荟中芦荟大黄素和芦荟苷[J]. 福建医科大学学报, 2005, 39(1): 58-64.
[3] Sirdeart AJ, Cock IE. Effect of aloe barbadensis miller juice on

oxidative stress biomarkers in aerobic cells using artemia franciscana as a model[J]. Phytother Res, 2010, 24(3): 360-364.
[4] 柯仲成, 桂双英, 周亚球. 聚酰胺树脂吸附纯化贯叶金丝桃中
金丝桃苷的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(11): 9-11.
[5] 关璟, 王春兰, 郭顺星, 等. 福建金线莲总黄酮提取工艺的研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(21): 1615-1617.
[6] 张晓路, 宋元英, 孟祥颖, 等. 决明子中总蒽醌苷元的大孔吸附树脂纯化工艺的研究[J]. 中草药, 2006, 37(10): 1482-1486.
[7] 陈勇, 柳伟, 戈宝莹, 等. 大孔树脂对川射干异黄酮的分离纯化工艺研究[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(1): 40-43.

[收稿日期] 2010-09-02

一种聚乳酸聚乙醇酸缓释微球的制备工艺

罗宇燕¹, 张永明², 吴传斌¹ (1. 中山大学药学院, 广东 广州 510006; 2. 中山大学附属第三医院, 广东 广州 510630)

[摘要] 目的: 研究一种制备聚乳酸聚乙醇酸(PLGA)微球的新工艺, 即将海藻酸钠与钙离子螯合形成缓释凝胶的原理与复乳法制备微球的工艺相结合。方法: 以牛血清白蛋白(BSA)为模型药, 以包封率、载药量、产率作为评价指标, 研究 PLGA 黏度、海藻酸钠浓度及外水相 1 中氯化钙浓度对微球性质的影响, 并通过 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优选微球制备的工艺条件。结果: 优选的制备工艺重现性好, 微球形态圆整, 结构致密, 平均粒径为 67.5 μm , 载药量、包封率和产率分别为 0.669%、53.38% 和 80.08%。结论: 本研究获得了较为满意的制备 PLGA 微球的新工艺, 微球的理化性质良好。

[关键词] 缓释微球; 复乳法; 海藻酸钠; 聚乳酸聚乙醇酸微球

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2011)11-0875-04

A method to prepare PLGA sustained-release microspheres

LUO Yu-yan¹, ZHANG Yong-ming², WU Chuan-bin¹ (1. School of pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangdong Guangzhou 510006, China; 2. The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong Guangzhou 510630, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres with a modified double-emulsion method. Based on the normal double-emulsion method, sodium alginate was added into the internal aqueous phase with protein together; meanwhile calcium chloride was put into the external aqueous phase. while the microspheres were forming, sodium alginate produced ionic interaction with calcium ion to form sustained-release gel. **METHODS** Three influential factors of bovine serum albumin (BSA) microspheres including the viscosity of PLGA, concentration of sodium alginate and the concentration of calcium chloride in the outer water phase 1 were investigated. Encapsulation efficiency, drug loading and yield were used as the evaluation index. The formulation was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal test. **RESULTS** The pharmaceutical technology of optimized microspheres was stable and reproducible. The optimized microspheres were spherical with compact structure in their morphology. The average size was 67.5 μm and the drug loading, the encapsulation efficiency and the yield were 0.669%, 53.38%, 80.08% respectively. **CONCLUSION** This paper describes a modified double-emulsion method, and the optimized preparation conditions of BSA PLGA microspheres.

KEY WORDS: sustained-release microspheres; double-emulsion method; sodium alginate; PLGA

随着生物科技领域的发展, 越来越多的蛋白多肽类药物被广泛地应用^[1]。但这类药物存在半衰期短、稳定性差、为达到疗效需要频繁、大剂量及长时

间给药等问题, 导致临床应用受到限制。将这类药物制成缓释微球制剂, 可达到延长药物作用时间, 提高药效等目的。其中使用聚乳酸聚乙醇酸(PLGA)

[基金项目] 广东省科技计划资助项目(编号: 2008B030301339) [作者简介] 罗宇燕, 女, 硕士, 电话: 13632403820, E-mail: angelaluo-jelly@163.com [通讯作者] 张永明, 男, 博士, 主任药师, 电话: 020-85253112, E-mail: zhangym@tom.com