

表1 部分药用大黄样品及其伪品的 NIRDRS - 褶合变换相似系数(一阶)

样品 ¹⁾	gs001	gs002	gs003	sx001	sx002	sx003	qh001	qh002	qh003	wp001
gs001	1									
gs002	0.937	1								
gs003	0.949	0.940	1							
sx001	0.908	0.912	0.903	1						
sx002	0.887	0.899	0.900	0.954	1					
sx003	0.891	0.903	0.895	0.960	0.949	1				
qh001	0.819	0.814	0.821	0.845	0.856	0.829	1			
qh002	0.823	0.826	0.818	0.851	0.839	0.844	0.938	1		
qh003	0.827	0.830	0.819	0.855	0.848	0.859	0.940	0.951	1	
wp001	0.607	0.618	0.632	0.593	0.619	0.601	0.661	0.643	0.626	1

注: ¹⁾gs001~003为甘肃产大黄,sx001~003为陕西产大黄,qh001~003为青海产大黄,wp001为伪品。

的异细微差就可以显露出来,从而达到准确鉴别的目的,该法为客观评价中药材的来源提供了一种新的方法。

参考文献:

- [1] 杨成英. 大黄及其混伪品的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(12): 747.
 [2] 周群, 李静, 刘军, 等. 真伪大黄的二维相关红外光谱

[J]. 分析化学, 2003, 31(9): 1058.

- [3] 朱斌, 单磊, 刘荔荔, 等. 近红外光谱技术及其在天然产物分析中的应用[J]. 药学实践杂志, 2002, 20(3): 176.
 [4] 朱斌, 郑清明, 秦路平, 等. 20种金丝桃属植物的近红外漫反射光谱法鉴别[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(4): 455.
 [5] 肖杰, 吴玉田, 雷长海, 等. 中药近红外光谱的褶合变换与信息可视化技术[J]. 分析化学, 2003, 31(11): 1295.

收稿日期: 2005-04-04

单、复凝聚法制备酮康唑微囊的性状和包封率比较

刘倩¹, 高玮², 尚北城³ (1. 解放军总医院药材处, 北京 100853; 2. 北京市药品检验所, 北京 100035; 3. 解放军昆明总医院药剂科, 云南昆明 650032)

摘要 目的: 比较单、复凝聚法制备微囊的外观性状和包封率, 为进一步研究微囊的制备工艺打下基础。方法: 以酮康唑作为囊芯物, 用明胶和阿拉伯胶作囊材, 采用常规的单、复凝聚法分别制备酮康唑微囊, 并在光学显微镜下比较其外观性状; 采用单波长紫外分光光度法建立微囊中酮康唑含量测定方法, 在此基础上计算其药物包封率。结果: 2种方法所得的微囊均为白色粉末, 采用单凝聚法得到的微囊平均粒径为 32.20 μm, 相对包封率为 56.11%; 复凝聚法制备的微囊则分别为 7.99 μm 和 83.42%。结论: 采用相分离-凝聚法制备微囊时, 复凝聚法所得结果较好。

关键词 微囊; 单凝聚法; 复凝聚法; 酮康唑

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2005)03-0150-05

Comparing the shape, diameter and microencapsulation rate of the microcapsules produced by single coacervation and by complex coacervation

LIU Qian, GAO Wei, SHANG Bei-cheng (Pharmacy Department of General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

ABSTRACT Objective: To compare the microcapsules produced by single coacervation with that produced by complex coacervation, to sure which method was better. **Methods:** Using ketoconazole as core, and the gelatin-acacia gum as the sealing material, microcapsules were produced by single coacervation and complex coacervation respectively. Their shape and diameter were observed under the microscope, and the concentration of ketoconazole was measured by

作者简介: 刘倩(1975-), 女, 药师, E-mail: gwbidc@sina.com.

UV spectrophotometry, their microencapsulating rates were also determined. **Results:** Microcapsules were white powder either produced by single coacervation or complex one. The diameter and microencapsulating rate of microcapsules produced by single coacervation were 32.20 μm and 56.11% respectively, while 7.99 μm and 83.42% were detected among the microcapsules produced by complex coacervation. **Conclusion:** When microcapsules are prepared by the phase separation-coacervation, the complex coacervation is better.

KEY WORDS microcapsules; single coacervation; complex coacervation; ketoconazole

微囊(microcapsule, MC)是利用高分子天然或合成材料(囊材, membrane wall)将固体或液体药物(囊心物, core)包裹而成的药库型(reservoir type)微型小囊。发展至今已有 30 多年的历史,是受到国内外广泛关注的制剂方法之一。根据直径大小的不同,MC 可分为一般 MC(直径以微米计)和毫微囊(nanocapsule, 直径以纳米计)。

制备 MC,可根据药物、囊材的理化性质,以及所需粒度与释放性能的不同选择不同的方法。为此,我们选择常用的、原材料易得的单凝聚法和复凝聚法分别制备酮康唑 MC,并比较单、复凝聚法制备的 MC 在外观性状、粒径及包封率等方面的差异,为相关研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 pH5-3C 精密酸度计(上海雷磁仪器厂),GS12 型电子恒速搅拌器(上海医械专机厂),Olympus-BX50 光学显微镜(日本)。

1.2 材料 酮康唑(南京制药二厂,批号:20000601),酮康唑对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0294-9801),明胶(上海明胶厂),阿拉伯胶(进口分装,英国药典级),胰蛋白酶(吉泰科技有限公司进口分装,活性比例 1:250,其余试剂均符合药用标准,水为重蒸馏水)。

2 方法和结果

2.1 单凝聚法制备酮康唑微囊

2.1.1 方法^[1] 取处方量明胶用适量蒸馏水溶胀 5h,制成溶胶;加入处方量的酮康唑粉末混合研匀,制成混悬液。50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下,滴加 0.1mol/L 盐酸溶液调 pH 至 3.5~3.8,加入 40% 硫酸钠溶液,显微镜下观察成囊;70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下加入体系 3 倍量的蒸馏水,冰水浴条件下搅拌至 15 $^{\circ}\text{C}$ 以下,加入适量 37% 甲醛溶液使其固化,匀速搅拌 1h,滴加 20% 氢氧化钠溶液,调 pH 8.0~9.0。静置分层,去上清液,抽滤,洗涤,真空冷冻干燥,即得。

2.1.2 正交设计确定制备工艺^[2]

2.1.2.1 正交因素的确定 根据预试验结果将直接影响成囊的明胶:硫酸钠、成囊时 pH 值、成囊温

度以及搅拌速度定为实验因素,每个因素分为 3 个水平,见表 1。

表 1 单凝聚法制备酮康唑微囊正交试验的因素与水平

水平	A 明胶-硫酸钠比	B 成囊 pH 值	C 成囊温度 $^{\circ}\text{C}$	D 搅速 r/min
1	3:1	3.5~4.0	45~50	100
2	1:1	4.0~4.5	50~55	300
3	1:3	4.5~5.0	55~60	500

2.1.2.2 正交试验结果及方差分析 根据实验的因素与水平用 L9(3⁴)正交表实施实验^[2],实验重复一次。结果见表 2。

根据表 2 的实验与结果进行方差分析,见表 3。

根据方差分析的结果,4 个因素都有显著性差异,说明明胶-硫酸钠比、成囊 pH 值、成囊温度、搅拌速度对微囊的包封率均有显著性影响,根据极差分析结果应选择工艺为 A₂B₂C₂D₂,重复最佳实验条件 2 次,其平均包封率为 56.11%,与正交表中实验 5 相应,均高于其它实验结果。所以制备工艺定为:明胶-硫酸钠比为 1:1,成囊 pH 4.0~4.5,成囊温度 50~55 $^{\circ}\text{C}$,搅拌速度为 300r/min。

2.2 复凝聚法制备酮康唑微囊

2.2.1 方法^[1] 取明胶、阿拉伯胶分别用适量蒸馏水溶胀 5h,制成溶胶加入处方量的酮康唑粉末混合研匀,制成阿拉伯胶酮康唑混悬液。55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下,将明胶溶胶与阿拉伯胶混悬液混匀,滴加 0.1 mol/L 盐酸溶液,边加边搅拌, pH 4.1~4.2,显微镜下观察成囊,加入 30 $^{\circ}\text{C}$ 蒸馏水,搅拌至室温。冰水浴条件下加入适量 37% 甲醛溶液使其固化,匀速搅拌 1h,滴加 20% 氢氧化钠溶液,调 pH 8.0~9.0。静置分层,去上清液,抽滤,洗涤,真空冷冻干燥,即得。

2.2.2 正交设计确定制备工艺^[2]

2.2.2.1 正交因素的确定 根据预试验结果将直接影响成囊的囊心囊材比、成囊时 pH 值、成囊温度以及搅拌速度定为实验因素,每个因素分为 3 个水平,见表 4。

表2 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	包封率(%)		
					第1次	第2次	小计
1	1	1	1	1	31.22	30.89	62.11
2	1	2	2	2	30.24	31.08	61.32
3	1	3	3	3	22.61	22.77	45.38
4	2	1	2	3	44.53	45.02	89.55
5	2	2	3	1	57.63	58.01	115.64
6	2	3	1	2	49.55	50.12	99.67
7	3	1	3	2	17.89	18.02	35.91
8	3	2	1	3	30.52	30.69	61.21
9	3	3	2	1	36.74	35.95	72.69
I	168.81	187.57	222.99	250.44			
II	304.86	238.17	223.56	196.90		$\Sigma y = 643.48$	
III	169.81	217.74	196.93	196.14		L总 = 1826.06	
I/3	56.27	62.52	74.33	83.48		$L_e = L_{总} - \Sigma Li$	
II/3	101.62	79.39	74.52	65.63			
III/3	56.60	72.58	65.64	65.38			
R	45.35	16.87	8.88	18.10			
L	1361.17	99.24	150.71	214.94			

表3 正交试验结果的方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	P值
A	1361.17	2	680.58	409.99	<0.01
B	99.24	2	49.62	29.89	<0.01
C	150.71	2	75.36	45.40	<0.01
D	214.94	2	107.47	53.74	<0.01
误差	14.90	9	1.66		
总计	1840.96	17			

表4 复凝聚法制备酮康唑微囊正交试验的因素与水平

水平	A	B	C	D
	囊心-囊材比	成囊 pH 值	成囊温度 $^{\circ}\text{C}$	搅速 r/min
1	2:20	3.5~4.0	45~50	100
2	3:20	4.0~4.5	50~55	300
3	5:20	4.5~5.0	55~60	500

2.2.2.2 正交试验结果及方差分析 根据实验的因素与水平用 $L_9(3^4)$ 正交表实施实验^[2], 实验重复一次。结果见表5。

根据表2的实验与结果进行方差分析, 见表6。

根据方差分析的结果, 4个因素都有显著性差异, 说明囊心囊材比、成囊 pH 值、成囊温度、搅拌速度对微囊的包封率均有显著性影响, 根据极差分析结果应选择工艺为 $A_3B_1C_1D_2$, 重复最佳实验条件2次, 其平均包封率为 83.42%, 与正交表中实验6相应, 均高于其它实验结果。所以制备工艺定为: 囊心囊材比 5:20, 成囊 pH 3.5~4.0, 成囊温度 45~50 $^{\circ}\text{C}$, 搅拌速度为 300r/min。

2.3 单、复凝聚法制得的微囊比较

2.3.1 外观性状比较 单、复凝聚法制得的微囊均

为白色混悬液, 冷冻真空干燥后为白色粉末, 显微镜下观察呈球形。

2.3.2 平均粒径比较 显微镜下测量酮康唑微囊的囊径, 转换不同的视野, 共观测计数 600 个微囊的粒径(见表7、表8)。

按公式 $D_v = (\Sigma nd_i^3 / \Sigma n)^{1/3}$ (式中 n = 个数, d_i = 体积径, 取每组段中值, <4 组段或 <10 组段分别取 4 和 10 μm) 计算得到单、复凝聚法制备的微囊平均粒径(D_v)分别为 32.20 μm 、7.99 μm 。

2.3.3 单、复凝聚法所得微囊平均相对包封率比较^[2]

2.3.3.1 测定波长的选择 取酮康唑对照品, 用 0.1mol/L 盐酸溶解、滤过, 以同浓度盐酸为空白对照, 取滤液在波长 190~400nm 范围内进行扫描, 可见其在 200~220nm 有最大吸收, 269nm 处有次吸收峰。再分别取明胶、阿拉伯胶及胰蛋白酶, 按上法进行扫描, 结果发现, 在 200~220nm 波长处, 辅料具有一定的吸收, 而在 269nm 波长处, 溶剂和辅料对酮康唑的吸收峰无明显影响, 故选择 269nm 为测定波长。

2.3.3.2 标准曲线的绘制 精密称取 65 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的酮康唑对照品约 50mg 置于 100mL 容量瓶中, 加入 0.1mol/L 盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mL 置于 10mL 容量瓶中, 加入 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度, 摇匀。于 269nm 波长处分别测定吸收度 A 。以 A 值对浓度 C 回归, 得回归方程: $A = 2.7049C + 0.0413$ ($r = 0.9998, n = 5$)。表明酮康唑在 0.05~0.15mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3.3.3 含量测定 精密称取经真空干燥的酮康唑微囊约 0.2g, 用 1.0% 的胰蛋白酶溶液 3.0mL, 加蒸馏水 3.0mL 进行消化。将盛有样品的培养皿置于 37℃ 的恒温培养箱中 24h, 以 0.1mol/L 盐酸做为溶媒, 在 50mL 容量瓶中溶解、定容、滤过。取滤液作为供试品溶液, 精密量取 1mL 以 0.1 mol/L 盐酸稀释至 10mL。在 269nm 波长处测定其吸光度 A 值, 代入标准曲线回归方程, 得浓度 C_1 , 按式 $C =$

$[(C_1 \times 10 \times 50/L)/M] \times 100\%$ 即得百分含量(式中 M 为称取微囊的重量)。

2.3.3.4 包封率计算 精密称取理论含量为 C_0 的酮康唑微囊约 0.5g, 按前述方法测定其实际含量 C_1 , 按方程: $S = C_1 / C_0 \times 100\%$, 计算平均相对包封率。得到单、复凝聚法制备微囊的相对包封率分别为 56.11%、83.42%。

表 5 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	包封率(%)		
					第 1 次	第 2 次	小计
1	1	1	1	1	76.03	79.67	155.70
2	1	2	2	2	61.10	65.88	126.98
3	1	3	3	3	58.77	60.94	119.71
4	2	1	2	3	74.35	71.60	145.95
5	2	2	3	1	57.81	59.64	117.45
6	2	3	1	2	82.64	81.93	164.57
7	3	1	3	2	81.45	81.00	162.45
8	3	2	1	3	70.48	69.18	139.66
9	3	3	2	1	75.74	74.12	149.86
I	402.39	464.10	459.93	423.01			
II	427.97	384.09	422.91	454.00		$\Sigma y = 1282.33$	
III	451.97	434.14	399.61	405.32		L 总 = 1287.15	
I/3	134.13	154.70	153.31	141.00		Le = L 总 - ΣLi	
II/3	142.66	128.03	140.97	151.33			
III/3	150.66	144.71	133.20	135.1			
R	16.53	26.04	20.11	16.23			
L	204.92	544.68	325.54	202.39			

表 6 正交试验结果的方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	204.92	2	102.46	95.76	<0.01
B	544.68	2	272.34	254.52	<0.01
C	325.54	2	162.77	152.12	<0.01
D	202.39	2	101.19	94.57	<0.05
误差	9.62	9	1.07		
总计	1287.15	17			

表 7 单凝聚法酮康唑微囊的体积径 (μm , 总个数 600)

	70~50	50~30	30~10	<10
数目(个)	19	204	357	20
频率(%)	3.17	34.00	59.50	3.33

表 8 复凝聚法酮康唑微囊的体积径 (μm , 总个数 600)

	10~8	8~6	6~4	<4
数目(个)	332	146	101	21
频率(%)	55.33	24.33	16.83	3.50

3 讨论

单凝聚法是以一种高分子材料为囊材, 加入一

种亲水电解质, 使胶体凝聚成囊膜包裹药物而成囊。这种凝聚是可逆的, 解除成囊条件, 就可发生解凝聚, 使形成的微囊消失。影响囊材单凝聚的主要因素是浓度、温度和电解质, 一般情况是: 浓度越高越易成囊; 温度越低越易胶凝; 浓度越高, 可胶凝的温度上限越高。

复凝聚法是通过 2 种带有不同电荷的囊材在适宜的 pH 条件下相互交联凝聚成囊, 在制备过程中除了 pH 和物料的浓度外, 某些离子的存在也会对微囊的形成产生影响, 因此, 对于制备使用的容器应用去离子水清洗干净。

研究单、复凝聚法制备酮康唑微囊的制备条件, 是分别采用正交试验, 以包封率和粒径为评价指标, 以囊材比例、pH、搅拌速度和温度为考察条件, 所得到的最适合的制备工艺条件, 此条件下, 所得包封率最高, 粒径较小且均匀。

通过实验证实, 在最佳制备条件下, 用复凝聚法制备微囊, 相对于单凝聚法, 方法更易于掌握, 成功率高, 产品粒径较小且均匀, 药物相对包封率亦较高。

参考文献

[1] 陆彬主编. 药剂学实验[M], 北京: 人民卫生出版社. 1994: 101.

[2] 尚北城, 徐贵丽, 唐冰, 等. 酮康唑微囊的制备与含量测定[J]. 广东药学院学报. 2001; 17(4): 276.

收稿日期: 2005-04-25

构树叶、花序及果实的氨基酸分析

周峰(浙江省中医院中药房, 浙江 杭州 310006)

摘要 目的: 对构树地上不同部位的氨基酸成分进行分析。方法: 采用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪分析氨基酸组分。结果: 构树各部分包括果实、叶或花序、聚合果至少含有 16 种以上的氨基酸, 以天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、缬氨酸、脯氨酸、赖氨酸等为主, 其中 7 种为人体必需氨基酸。以 100g 干燥样品粉末计, 楮实子、构树叶、雄花序、聚合果总氨基酸含量分别为 12.44g、24.35g、15.88g、11.94g, 人体必需氨基酸总量分别为 3.92g、9.95g、9.7g、3.27g。不同生长时期构树叶及果实的氨基酸含量存在显著差别。结论: 构树叶及聚合果中含有丰富的氨基酸, 具有进一步开发利用价值。

关键词 构树; 叶; 果实; 氨基酸

中图分类号: R931 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2005)03-0154-03

Amino acids analysis of the leaves, flowers and fruits of *Broussonetia papyrifera*

ZHOU Feng (Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT Objective: To determine constituents of amino acids in the aerial parts of *Broussonetia papyrifera*. **Methods:** The constituents composition of the amino acid of the aerial parts of *Broussonetia papyrifera* were analysed by Hitachi 835-50 automatic amino acid analyzer (Hitachi 835-50). **Results:** All the aerial parts of *Broussonetia papyrifera* contain at least 16 kinds of amino acid, the main amino acids are aspartate, glutamic acid, arginine, valine, proline and lysine, and seven of them are essential amino acids for human body. The fruits, leaves, male inflorescences and the aggregate fruits of *Broussonetia papyrifera* contain 12.44, 24.35, 15.88, 11.94 gram total Amino acids and 3.92, 9.95, 9.7, 3.27 gram essential amino acids in 100 gram of sample powder respectively. The content of amino acids of leaves and fruits of *Broussonetia papyrifera* varies with different growing stages. **Conclusion:** The leaves and aggregate fruits of *Broussonetia papyrifera* contain rich amino acids, which reserved to be further exploited.

KEY WORDS *Broussonetia papyrifera*; leaf; fruit; amino acid

构树 *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. 为桑科构树属植物, 其成熟果实可以入药, 中药名称“楮实子”, 中华人民共和国药典历版均有收载, 具有补肾清肝, 明目利尿的功效, 具有促进记忆的作用, 并可用作强壮剂^[1,2]。构树的叶、枝、皮、根皮、乳汁、果实都可以作药用或食用。构树还是一种优良的环保植物, 其吸尘、除污、固沙固水能力都较强, 其叶含有丰富的蛋白质, 可以作为饲料, 也可以用作养蚕。其皮或枝干含优质的纤维, 可以用于造纸张。迄今为止有关构树及中药楮实子的化学成分研究报道不多, 本文对构树的叶、花序及果实进行了氨基酸的比较分析, 以期开发丰富的构树资源提供参考依据。

1 实验材料

作者简介: 周峰(1966-), 男, 主管药师。

构树雄花序于 4 月花已长完全花粉未弹出时采收, 40℃ 低温干燥备用。构树未成熟聚花果于 8 月采收, 红色成熟聚花果于 8 月下旬采收, 水洗取小瘦果, 晒干, 即为药材楮实子。构树叶于近果熟期 7 月采收(雌株), 低温烘干。动态分析用构树聚合果及叶, 采集时间分别从幼果期至果熟期, 每隔 20d 采集一次。所有样品均采自上海杨浦地区, 原植物均经鉴定为桑科构树。

2 仪器条件及方法

2.1 实验条件 日立 835-50 型氨基酸自动分析仪; 分析柱: 2619 型阳离子交换树脂柱(2.6mm × 150mm), 柱温 55℃, 水浴温度 100℃, 脱氨柱(4mm × 50mm), 日立 2650 树脂; 层析柱: 0.26cm。缓冲液泵压力 4.134~4.479MPa; 流动相: 4 种不同 pH 值柠檬酸钠缓冲液, 流速 0.225mL/min。