



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102727482 B

(45) 授权公告日 2014.05.07

(21) 申请号 201110102556.8

(22) 申请日 2011.04.15

(73) 专利权人 香港理工大学深圳研究院

地址 518057 广东省深圳市南山区科技园南区深圳虚拟大学园 A216 室

(72) 发明人 李颖 杨大坚 周伟

(74) 专利代理机构 深圳市万商天勤知识产权事务所 (普通合伙) 44279

代理人 王志明

(51) Int. Cl.

A61K 31/352(2006.01)

(56) 对比文件

Nagesh Bandi, et al. Preparation of budesonide- and indomethacin-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPBCD) complexes using a single-step, organic-solvent-free supercritical fluid process. 《European

Journal of Pharmaceutical Sciences》. 2004, 第 23 卷 (第 2 期), 第 160 页右栏第 3 段 - 第 161 页左栏第 1 段.

葛月宾, 等. 大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的研究. 《中国中药杂志》. 2006, 第 31 卷 (第 24 期), 第 2039 页右栏 2. 1.

审查员 张慧艳

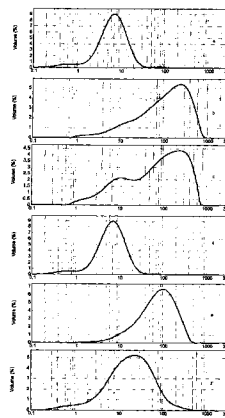
权利要求书 2 页 说明书 18 页 附图 8 页

(54) 发明名称

大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开一种大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物及其制备方法, 所述包合物的组成是: 羟丙基-β-环糊精、大豆苷元, 所述羟丙基-β-环糊精与大豆苷元的摩尔比是 1 : 1 ~ 0.1, 所述包合物由以下方法制备: 将羟丙基-β-环糊精与大豆苷元按 1 : 1 ~ 0.1 的摩尔比充分混合后, 置于 50℃ ~ 200℃ 的反应釜中, 再将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力达到 10MPa ~ 40MPa, 待所述大豆苷元与羟丙基-β-环糊精反应 3-24 小时后快速解压, 即得所述包合物. 本发明可以显著提高大豆苷元的溶解度, 制备的包合物包合率高、粒径大小可控、稳定性好、无有机溶剂残留, 易于进行口服或注射制剂的制备。



1. 一种大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物,其组成包括羟丙基-β-环糊精和大豆昔元;所述羟丙基-β-环糊精与大豆昔元的摩尔比是1:1~0.1;

其特征在于,该大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法包括如下步骤:

将所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精充分混合后置于180℃~200℃的反应釜中,再将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,加压,待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精反应一段时间后快速解压,即得所述包合物。

2. 根据权利要求1所述的大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物,其特征在于:所述超临界CO<sub>2</sub>流体的压力为10MPa~40MPa。

3. 根据权利要求1或2所述的大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物,其特征在于:所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中的反应时间为3~24小时。

4. 一种大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物,其组成包括羟丙基-β-环糊精和大豆昔元;所述羟丙基-β-环糊精与大豆昔元的摩尔比是1:1~0.1;

其特征在于,该大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法包括如下步骤:

将所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精充分混合后置于50℃~150℃的反应釜中并进一步在大豆昔元与羟丙基-β-环糊精混合物中加入有机酸或有机碱,所述有机酸为柠檬酸,所述有机碱为赖氨酸,所述有机酸或有机碱与所述大豆昔元的摩尔比为1:1,再将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,加压,所述超临界CO<sub>2</sub>流体的压力为10MPa~40MPa,待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精反应一段时间后快速解压,即得所述包合物。

5. 一种大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法,所述包合物包括羟丙基-β-环糊精和大豆昔元,所述羟丙基-β-环糊精与大豆昔元的摩尔比是1:1~0.1,其特征在于:所述包合物的制备方法包括如下步骤:

(1) 将所述的大豆昔元与羟丙基-β-环糊精充分混合后置于反应釜中,所述反应釜的温度被控制在180℃~200℃之间;

(2) 将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,加压;

(3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中反应一段时间后快速解压,即得所述包合物。

6. 根据权利要求5所述的大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法,其特征在于:所述加入超临界CO<sub>2</sub>流体的压力为10MPa~40MPa。

7. 根据权利要求5或6所述的大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法,其特征在于:所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中的反应时间为3~24小时。

8. 一种大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法,所述包合物包括羟丙基-β-环糊精和大豆昔元,所述羟丙基-β-环糊精与大豆昔元的摩尔比是1:1~0.1,其特征在于:所述包合物的制备方法包括如下步骤:

(1) 将所述的大豆昔元与羟丙基-β-环糊精充分混合后置于反应釜中,所述反应釜的温度被控制在50℃~150℃之间,并进一步加入有机酸或有机碱,所述有机酸为柠檬酸,所述有机碱为赖氨酸,所述有机酸或有机碱与所述大豆昔元的摩尔比为1:1;

(2) 将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,加压至10MPa~40MPa;

(3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中反应一段时间后快

速解压,即得所述包合物。

## 大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种包合物及其制备方法,尤其涉及一种采用超临界流体技术制备的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 大豆苷元(Daidzein),又名黄豆苷元,来源于天然植物大豆和野葛,分子式为 $C_{15}H_{10}O_4$ ,为异黄酮类化合物,是一种天然的植物雌激素。1972年由我国人工合成,其化学成分为8-β-D葡萄糖-4,7-二羟基异黄酮。大豆苷元的化学结构和天然或合成雌激素、抗雌激素化合物相近,研究表明其具有雌性激素样活性和弱的抗雌激素作用,因而在抗肿瘤、心脑血管、抗骨质疏松、抗氧化等方面表现出良好的治疗和预防作用(Bingham S A, Atkinson C, Liggins L, et al. Phyto-estrogens :where are we now. Brit J Nutr, 1998, 79 :393. ;Kurzer M S, Xu X. Dietary phytoestrogens. Annu Rev Nutr. 1999, 17 :353. ;Sotchell K D, Cassidy A. Dietary isoflavones :biological effects and relevance to human health. J Nutr, 1999, 129 :758S. ;Clarks On T B. Soy phytoestrogens :what will be their role in post-menopausal hormone replacement. Menopause, 2000, 7 :71.)。药理作用研究表明大豆苷元能扩张冠状动脉,降低心肌耗氧量,使冠脉脑血管血流量增加,对高血压病人的头痛、头晕、颈项强痛等症状有明显的改善作用,可明显缓解心绞痛抗心律失常,抗氧化,增强机体的免疫力,降血糖,可改善更年期症候群,强化钙质吸收,预防和治理神经感觉性耳聋和突发性耳聋。此外还能扩张心脑及外周血管,解除血管痉挛,改善微循环;降低TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub>,抑制血小板聚集,降低血液粘滞度;临床上治疗心绞痛、高血压疗效显著,是心血管疾病的良药(叶和杨,邱峰,曾靖等.大豆苷元抗心律失常作用的研究.中国中药杂志,2003,28(9):853.;周继,李玉白,唐明德.大豆苷元对大鼠骨代谢的影响探讨.南华大学学报医学版.2005,33(3):342.;Wang H Z, Zhang Y, Xie L P, et al. Effects of genistein and daidzein on the cell growth, cell cycle, and differentiation of human and routine melanoma cells. J Nutr Biochem. 2002, 13 :421.)。

[0003] 大豆苷元疗效确切,毒性很低,适合长期用药,具有开发价值。但由于其属异黄酮结构,水溶性相当差,脂溶性也不理想,因而生物利用度差,极大影响了该药物在制剂上的应用和人体内的吸收利用(黄绮红,胡容融.葛根黄豆苷元分散片的制备及其溶出度测定.广东药学院学报,2001,17(2):87.)。

[0004] 环糊精包合技术作为一种很好的增溶技术,已应用于大豆苷元的包合,文献(葛月宾,陈大为,谢莉萍,王洪钟,郑桂兰,张荣庆.大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的研究.中国中药杂志,2006,31(24):2039-2041.)采用溶液搅拌法制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物。试验表明羟丙基-β-环糊精能显著提高大豆苷元的溶解度,但是,该制备方法是在pH为12.0的溶液中进行,大豆苷元易产生氧化现象,易引起溶剂残留,该制备方法的另一缺陷是对大豆苷元的包合率不高,制得的包合物如用于注射,会因为制备时所处的高碱性环境而导致产物的pH范围不能满足要求。

[0005] 公开号为 CN1978509A 的中国专利公开了一种将大豆苷元与环糊精及其衍生物制备成包合物的技术,其发明是将环糊精与水混合,加入 1 ~ 0.1 摩尔比的大豆苷元加热至 50 ~ 80℃,滴加氢氧化钠或氢氧化钾碱溶液至体系全溶,热过滤,于 35 ~ 50℃下搅拌用盐酸或磷酸调 pH 值至中性析出固体物,冷却,过滤,干燥得固体包合物。该发明制备了包合态的大豆苷元 / 环糊精组合物,提高了大豆苷元的溶解度。但是该发明是加入无机碱使大豆苷元成盐后,将盐型大豆苷元包合后再酸化,使盐型包合物转化为大豆苷元包合物。其操作复杂繁琐,大豆苷元在成盐过程中易被氧化,制备过程中加热时间过长及加碱过量均会影响包合物的产品质量及产率。

[0006] 为解决上述制备工艺的缺陷,本发明引入超临界流体技术制备大豆苷元 - 羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精包合物。超临界流体技术,例如超临界溶液之快速膨胀 (RESS),气体饱和和溶液之沉淀 (PGSS),气体反溶剂 (GAS) 以及超临界流体强制分散法 (SEDS) 目前已被药物加工及制剂制备广泛应用,该技术适用性强、应用效果显著。近年来,超临界流体技术已成功应用于环糊精对药物的包合,该技术在载药系统中的应用受到研究者普遍关注。该包合方法的机制为:以具有优越传质能力及高溶剂化性能的超临界 CO<sub>2</sub> 为包合介质,当其通过药物与环糊精的混合物时,由于它具有降低某些有机化合物的熔点特性,将使包合材料与客体物质形成超临界溶液,从而促使包合过程的进行。与传统包合物制备方法相比,超临界流体包合法解决了溶剂残留问题,制备过程中不使用任何有机溶剂;另外操作步骤简便,可一步得到所需粒子的包合,同时可显著提高包合率。

## 发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题在于提供一种大豆苷元 - 羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精包合物及其制备方法,该大豆苷元 - 羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精包合物采用超临界流体技术制备,不仅制备方法简单,而且制得的包合物不存在溶剂残留。

[0008] 本发明要解决的另一个技术问题在于使制得的包合物在不含溶剂残留的基础上,进一步提高其包合率。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明采用以下技术方案:

[0010] 本发明提供一种大豆苷元 - 羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精包合物,其组成是:

[0011] 羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精和大豆苷元;

[0012] 所述羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精与大豆苷元的摩尔比是 1 : 1 ~ 0.1;

[0013] 所述包合物由下述方法制备:

[0014] 将所述的大豆苷元与羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精充分混合后置于 50℃ ~ 200℃ 的反应釜中,再将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中,加压,待所述大豆苷元与羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精反应一段时间后快速解压,干燥即得所述包合物。

[0015] 所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体的压力为 10MPa ~ 40MPa。

[0016] 本发明将所述大豆苷元与羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精充分混合后置于 50℃ ~ 150℃ 的反应釜时,进一步添加有机酸或有机碱可以提高所述包合物的包合率,所述有机酸为柠檬酸,所述有机碱为赖氨酸,并且所述有机酸或有机碱与所述大豆苷元的摩尔比为 1 : 1。

[0017] 所述大豆苷元与羟丙基 -  $\beta$  - 环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中的反应时间为 3 ~ 24 小时。

[0018] 本发明还公开一种大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备方法,其步骤是:

[0019] (1) 将所述的大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精充分混合后置于反应釜中,所述反应釜的温度被控制在 50°C~200°C 之间;

[0020] (2) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中,加压;

[0021] (3) 待所述大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应一段时间后快速解压,即得所述包合物。

[0022] 所述制备方法的步骤(2)中,所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体的压力为 10MPa~40MPa。

[0023] 进一步地,为提高所述包合物的包合率,所述步骤(1)中可以将所述大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精充分混合后置于 50°C~150°C 的反应釜中,并添加有机酸或有机碱,所述有机酸为柠檬酸,所述有机碱为赖氨酸,并且所述有机酸或有机碱与所述大豆苷元的摩尔比为 1:1。

[0024] 所述大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中的反应时间为 3~24 小时。

[0025] 本发明首先采用传统制备方法(研磨法、超声法、共沉淀法、溶液搅拌法)分别对大豆苷元进行羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备,以所制备的包合物的溶解度、包合率、包合物载药量及收率做评价指标选择优化的传统制备方法,并对传统制备方法进行制备工艺、条件参数优化,确定最佳条件。其次,对超临界流体技术制备大豆苷元包合物进行初试,然后进行各条件参数影响因素考察,得到超临界方法制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的最佳工艺参数。最后,将传统方法-溶液搅拌法与新技术-超临界流体得到的包合物进行系统的理化特性(粒径、存在形态、热力学、表面形态、溶解度等)考察,确定本发明的制备优势。

[0026] 本发明的超临界固体包埋过程可描述如下:将一定量的大豆苷元与 Hp- $\beta$ -CD 充分混合后置于一定温度的反应釜中,再导入一定压力的超临界 CO<sub>2</sub> 流体至反应釜,将大豆苷元与 Hp- $\beta$ -CD 在超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应一定时间后快速解压,得干燥包合物。

[0027] 与现有技术相比,本发明具有如下有益技术效果:1) 本发明主要用于制备大豆苷元的羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物,可以显著提高大豆苷元溶解度,易于进行口服或注射制剂的制备;2) 本发明的包合物制备方法简单易行,无环境污染,易于推广应用;3) 本发明所制备的包合物其包合率高,粒径大小可控,稳定性好,无有机溶剂残留,易与其他药用辅料配伍或进一步加工。

#### 附图说明

[0028] 图 1 是大豆苷元在 Agilent 高效液相色谱仪下的光谱图;

[0029] 图 2 是本发明用超临界流体技术于 150°C 条件下制得的包合物,在 Agilent 高效液相色谱仪下的光谱图;

[0030] 图 3 本发明用超临界流体技术于 180°C 条件下制得的包合物,在 Agilent 高效液相色谱仪下的光谱图;

[0031] 图 4 是本发明用超临界流体技术于 200°C 条件下制得的包合物,在 Agilent 高效液相色谱仪下的光谱图;

[0032] 图 5 是用红外光谱法鉴定的大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、超临

界处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制得的包合物、本发明超临界流体固体包埋技术制得的包合物之间的红外图谱对比图；

[0033] 图 6 是用电镜扫描 (200 倍) 的大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、超临界处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制得的包合物、本发明超临界流体固体包埋技术制备的包合物之间的微粒形态对比图；

[0034] 图 7 是用激光粒度分析仪测量的大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、超临界处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制得的包合物、本发明超临界流体固体包埋技术制备的包合物之间的粒径分布对比图；

[0035] 图 8 是大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、超临界处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制得的包合物、本发明超临界流体固体包埋技术制备的包合物之间的 X 射线衍射对比图；

[0036] 图 9 是大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精的 TGA 分析图；

[0037] 图 10 是大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、超临界处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制得的包合物、本发明超临界流体固体包埋技术制备的包合物之间的差示扫描量热分析对比图。

## 具体实施方式

[0038] 以下结合附图及实施例,对本发明做进一步详细说明。

[0039] 本发明采用超临界流体技术制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物,为便于与传统技术制备的大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物进行比较,现首先对传统技术进行实验和研究:

[0040] 1、传统技术制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的研究

[0041] 传统技术的制备方法包括:研磨法、超声法、共沉淀法、溶液搅拌法。现一一进行实验,然后分析传统技术制得的包合物的特性。

[0042] 1.1 研磨法制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物

[0043] 称取羟丙基- $\beta$ -环糊精适量,加去离子水 2.4ml,研磨至溶解,称取等摩尔比的大豆苷元粉末,分次加入羟丙基- $\beta$ -环糊精溶液中,研磨至糊状,糊状物于 40℃ 烘干后用无水乙醚冲洗 3 次,每次 10ml,再在 40℃ 下烘干,制得大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物。

[0044] 称取大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物约 2mg 于 10ml 容量瓶中,用 50% 乙醇溶液溶解定容,再精密吸取 2ml 该溶液于 10ml 容量瓶中,用无水乙醇定容,测定吸光值。

[0045] 1.2 超声法制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物

[0046] 称取适量羟丙基- $\beta$ -环糊精,加 10ml 去离子水溶解后加入等摩尔比的大豆苷元粉末,于超声仪中超声 5 小时 (100w),滤过,滤液于 40℃ 条件下烘干,制得大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物。

[0047] 称取大豆苷元包合物约 2mg 于 10ml 容量瓶中,用 50% 乙醇溶液溶解定容,再精密吸取 2ml 该溶液于 10ml 容量瓶中,用无水乙醇定容,测定吸光值。

[0048] 1.3 共沉淀法制备大豆苷元-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物

[0049] 称取适量羟丙基- $\beta$ -环糊精,加 15ml 去离子水溶解。再称取等摩尔比的大豆苷元粉末,加 60ml 无水乙醇使大豆苷元溶解,在 40℃ 水浴下搅拌大豆苷元溶液,同时慢速滴入

羟丙基-β-环糊精溶液,搅拌 30min 后保持室温再搅拌 24 小时。滤过,将滤液浓缩至适量,于 40℃ 条件下烘干,包合物用无水乙醚冲洗 3 次,每次 10ml,40℃ 烘干,制得大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物。

[0050] 称取大豆苷元包合物约 2mg 于 10ml 容量瓶中,用 50% 乙醇溶液溶解定容,再精密吸取 2ml 该溶液于 10ml 容量瓶中,用无水乙醇定容,测定吸光值。

[0051] 1.4 溶液搅拌法制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物

[0052] 称取与羟丙基-β-环糊精等摩尔比的大豆苷元粉末,置于 10ml 的羟丙基-β-环糊精水溶液 (pH 值为 12.0) 中,于 40℃ 条件下磁力搅拌 24h,自然降温后过滤,在 40℃ 条件下烘干,制得大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物。

[0053] 称取大豆苷元包合物约 2mg 于 10ml 量瓶中,用 50% 乙醇溶液定容,再精密吸取 2ml 该溶液于 10ml 容量瓶中,用无水乙醇定容,测定吸光值。

[0054] 1.5 制备方法的结果考察

[0055] 比较上述不同传统技术所制得的包合物的溶解度、包合率、包合物载药量及收率,选择制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的最佳传统技术。考察结果如表 1 所示:

[0056] 表 1 传统技术制得的包合物的考察结果

[0057]

	溶解度 (mg/ml)	包合率 (%)	包合物载药量 (%)	收率 (%)
研磨法	19.93	10.78	2.852	56.30
超声法	4.542	2.490	0.6900	52.86
共沉淀法	0.1604	102.5	17.83	85.20
溶液搅拌法	23.65	18.50	4.177	70.91

[0058] 从上述表 1 可知,共沉淀法的包合率、包合物载药量、收率虽然是最好的,但其溶解性却是最差的。而溶液搅拌法所制备的包合物的溶解性最好,且包合物的包合率、包合物含量及收率均优于研磨法及超声法,因此在传统技术中溶液搅拌法是制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的最佳方法。由溶液搅拌法制得的包合物其包合率可达 18.50%,这种传统技术能否进一步优化以得到更高的包合率? 以及优化效果如何? 本发明继续对传统技术的最佳方法 (溶液搅拌法) 进行了实验。

[0059] 1.6 溶液搅拌法制备工艺的单因素影响实验

[0060] 溶液搅拌法制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的影响因素较多,包括温度、搅拌时间、pH 值、羟丙基-β-环糊精与大豆苷元的摩尔比、羟丙基-β-环糊精浓度、搅拌速度以及干燥方法,本发明通过实验对上述因素分别进行考察。

[0061] 1.6.1 搅拌时间的影响

[0062] 设定羟丙基-β-环糊精与大豆苷元的摩尔比为 1:1,羟丙基-β-环糊精的浓度为 10%,水溶液 pH12.0,水浴温度为 40℃,磁力搅拌速度为 100rpm,平行三份样品,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察搅拌 4h、8h、24h 后制备的包合物,结果见表 2。



[0063] 表 2 不同搅拌时间的考察结果

[0064]

时间 (h)	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
4	16.33	3.98	62.07
8	18.46	4.34	64.45
24	12.11	2.93	62.44

[0065] 结果显示搅拌时间对包合物的包合率及载药量均有影响,而对收率的影响不大。搅拌时间过短或过长,包合率及包合物载药量均有不同程度的降低。

[0066] 1.6.2 水浴温度的影响

[0067] 如 1.6.1 所述,固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变水浴温度,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察水浴温度为 25℃、40℃、50℃、60℃时制备的包合物,结果见表 3。

[0068] 表 3 不同水浴温度的考察结果

[0069]

温度 (℃)	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
25	8.32	2.37	52.86
40	12.11	2.93	62.44
50	10.94	2.74	60.34
60	11.75	2.95	59.80

[0070] 结果显示水浴温度对包合物的包合率及包合物载药量均有影响,适当的水浴温度有利羟丙基-β-环糊精对大豆苷元的包合。

[0071] 1.6.3 羟丙基-β-环糊精浓度的影响

[0072] 如 1.6.1 所述,固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变羟丙基-β-环糊精的浓度,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察羟丙基-β-环糊精浓度为 10%、20%、30%时制备的包合物,结果见表 4。

[0073] 表 4 不同羟丙基-β-环糊精浓度的考察结果

[0074]

羟丙基-β-环糊精浓度 (%)	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
10	11.89	2.88	62.44
20	13.81	3.17	65.81
30	8.88	2.01	66.83

[0075] 结果显示羟丙基-β-环糊精的浓度对包合物的包合率及包合物载药量均有影响,适当的羟丙基-β-环糊精浓度有利于提高包合物的包合率及载药量。

[0076] 1.6.4 搅拌速度的影响

[0077] 如 1.6.1 所述,固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变搅拌速度,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察搅拌速度为 100rpm、200rpm、300rpm 制备的包合物,结果见表 5。

[0078] 表 5 不同搅拌速度的考察结果

[0079]

搅拌速度 (rpm)	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
100	12.11	2.93	62.44
200	10.67	2.72	59.46
300	14.80	3.78	59.38

[0080] 结果显示搅拌速度高时,包合物的包合率及载药量均较高。

[0081] 1.6.5 羟丙基-β-环糊精与大豆苷元摩尔比的影响

[0082] 如 1.6.1 所述固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变羟丙基-β-环糊精与大豆苷元的摩尔比,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察摩尔比为 1 : 1、1.5 : 1、2 : 1 时制备的包合物,结果见表 6。

[0083] 表 6 不同摩尔比的考察结果

[0084]

羟丙基-β-环糊精:大豆苷元	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
1 : 1	22.02	4.87	68.41
1.5 : 1	22.31	3.57	65.64
2 : 1	19.63	2.19	73.21

[0085] 结果显示不同摩尔比对包合物的包合率影响不大,但随着羟丙基-β-环糊精比重的增加,载药量有下降的趋势。

[0086] 1.6.6 羟丙基-β-环糊精水溶液 pH 值的影响

[0087] 如 1.6.1 所述,固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变羟丙基-β-环糊精水溶液的 pH 值,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察 pH 值为 7 和 12 时制备的包合物,结果见表 7。

[0088] 表 7 不同 pH 值的考察结果

[0089]

pH 值	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
7	12.11	2.93	62.44

12	16.33	3.98	62.07
----	-------	------	-------

[0090] 结果显示羟丙基- $\beta$ -环糊精在碱性条件下对大豆苷元的包合率及包合物载药量均较好。

[0091] 1.6.7 干燥方法的影响

[0092] 如 1.6.1 所述,固定其他处方工艺条件,搅拌时间设为 24 小时,改变搅拌方法,以包合物载药量、包合率、收率为评价指标,分别考察冻干法及烘干法干燥后的包合物,结果见表 8。

[0093] 表 8 不同干燥方法的考察结果

[0094]

	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
冻干法	11.42	2.58	66.89
烘干法	9.36	2.11	66.89

[0095] 结果显示冻干法干燥后的包合物的包合率及包合物载药量均高于烘干法干燥后的包合物,且冻干法干燥后的样品酥松,易成粉末,颜色均匀,而烘干法干燥后样品成块状,难成粉末,颜色偏黄。

[0096] 1.7 溶液搅拌法制备工艺的正交试验

[0097] 根据上述 1.6 中单因素考察的结果,羟丙基- $\beta$ -环糊精包合大豆苷元时的搅拌速度确定为 300rpm,羟丙基- $\beta$ -环糊精与大豆苷元的摩尔比为 1 : 1,羟丙基- $\beta$ -环糊精水溶液的 pH 值为 12,以冻干法干燥样品,确定水浴温度 (A)、搅拌时间 (B)、Hp- $\beta$ -CD 浓度 (C) 为正交试验的影响因素,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行正交试验,以包合率、包合物含量为评价指标,采用综合评分法,二者的权重系数分别为 0.7、0.3,对包合物综合评分结果进行统计分析。因素水平表,正交试验结果表和方差分析表见表 9-11。

[0098] 表 9 正交因素水平表

[0099]

水平	因素		
	A、水浴温度 (°C)	B、搅拌时间 (h)	C、Hp- $\beta$ -CD 浓度 (%)
1	25	4	10
2	35	8	20
3	45	16	30

[0100] 表 10 处方筛选正交试验设计及结果表

[0101]

试 验 号	因素				指标		综合指标
	A	B	C	D	A	B	V
	温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	搅拌时间 (h)	Hp- $\beta$ -CD 浓度 (%)		包 合 率 / %	包合物 载药量 / %	
1	1	1	1	1	7.03	1.73	5.44
2	1	2	2	2	4.71	1.37	3.71
3	1	3	3	3	6.60	1.60	5.10
4	2	1	2	3	2.46	1.26	2.10
5	2	2	3	1	6.91	1.65	5.33
6	2	3	1	2	14.72	3.43	11.33
7	3	1	3	2	10.41	2.34	7.99
8	3	2	1	3	17.94	3.63	13.65
9	3	3	2	1	11.33	2.19	8.59
I j	4.750	5.177	10.140	6.453			
II j	6.253	7.563	4.800	7.677			
III j	10.077	8.340	6.140	6.950			
R	5.327	3.163	5.340	1.224			

[0102] 表 11 方差分析表

	因素	偏差平方 和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
[0103]	A	45.251	2	19.926	19.000	*
	B	16.306	2	7.180	19.000	-
	C	46.311	2	20.392	19.000	*
	误差	2.27	2	-	-	-

[0104] 由表 10 直观分析可知,各考察因素对包合率和包合物载药量的影响程度不同,程度大小顺序为  $C > A > B$ ,由表 11 可知其中因素 A、C 为显著性影响因素,而因素 B 无显著性影响,因此选择  $A_3B_1C_1$  和  $A_3B_3C_1$  进行验证,结果如表 12:

[0105] 表 12 优化验证结果

[0106]

验证条件	包合率 (%)	载药量 (%)	收率 (%)
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	29.14	6.20	71.08
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	28.48	6.05	71.16

[0107] 从结果可知,搅拌 4 小时和 16 小时制备的包合物其载药量、包合率及收率相差不大,因此选择 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub> 为大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的最终制备工艺条件。

[0108] 以上介绍了传统技术制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的各种方法,并对其中的最佳方法溶液搅拌法进行了优化试验,优化试验得到的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的包合率、载药量及收率如表 12,可见传统技术中得到的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的包合率在最佳情况下为 29.14%。

[0109] 下面对本发明的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物的超临界流体制备工艺进行详细说明。本发明为制得包合率高、稳定性好、颗粒均匀的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物,经历了一系列的研究和实验,本发明是在对包合物的超临界流体制备工艺的影响因素分别进行研究的基础上,进一步进行优化试验和结果验证,从而制得优化的大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物。包合物的超临界流体制备工艺的影响因素介绍如下:

[0110] 2. 超临界流体技术制备大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物

[0111] 2.1 超临界固体包埋技术制备大豆苷元包合物的单因素考察

[0112] 参考相关文献,超临界流体的压力、反应釜温度、反应时间以及大豆苷元与羟丙基-β-环糊精的摩尔比均有可能影响包合物的形成及包合物的包合率、载药量。本发明对超临界流体制备工艺中的影响因素进行考察时,分别以适当的压力、反应时间、反应温度以及一定的大豆苷元与羟丙基-β-环糊精摩尔比进行预实验,考察羟丙基-β-环糊精是否已包合大豆苷元以及各包合物的包合率及载药量差异。

[0113] 实验方法为:将一定量的大豆苷元与羟丙基-β-环糊精充分混合后置于一定温度的反应釜中,再导入一定压力的超临界 CO<sub>2</sub> 流体至反应釜,将大豆苷元与羟丙基-β-环糊精在超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应一定时间后快速解压,得干燥包合物。

[0114] 2.1.1 包合物的包合率与载药量的测试方法

[0115] 称取 50mg 包合物,精密称定,加 25ml 去离子水溶解。滤过,将滤液置于 25ml 容量瓶中,用去离子水洗涤滤纸并定容。吸取 5ml 上述溶液于 10ml 容量瓶中,用无水乙醇定容,测定吸光值。

[0116] 2.1.2 反应时间的影响

[0117] 设定大豆苷元与羟丙基-β-环糊精的摩尔比为 1 : 2,超临界流体的压力为 30MPa,反应釜温度为 100℃,制备包合物,以包合物载药量、包合率、溶解度为评价指标,分别考察反应时间为 3h、8h、16h、24h 时制备的包合物,结果见表 13。

[0118] 表 13 不同反应时间的考察结果

[0119]

时间 (h)	载药量 (%)	包合率 (%)	溶解度 (mg/mL)
3	0.3486	4.25	0.0935

8	0.5094	6.21	0.1296
16	0.3097	3.80	0.1277
24	0.2609	3.18	0.1345

[0120] 结果显示反应时间对包合物的载药量、包合率及溶解度均有影响,反应时间过长或过短,载药量和包合率均有不同程度的降低,溶解度随着反应时间的增加而上升。

[0121] 2.1.3 超临界流体压力的影响

[0122] 设定大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精的摩尔比为1:2,反应釜温度为100℃,反应时间为24h,制备包合物,以包合物载药量、包合率、溶解度为评价指标,分别考察超临界流体压力为10MPa、20MPa、30MPa及40MPa时制备的包合物,结果见表14。

[0123] 表14 不同超临界流体压力的考察结果

[0124]

压力 (MPa)	载药量 (%)	包合率 (%)	溶解度 (mg/mL)
10	0.2296	2.81	0.1445
20	0.3846	4.70	0.1183
30	0.2609	3.18	0.1345
40	0.2457	2.99	0.2023

[0125] 结果显示,超临界流体压力对包合物的载药量、包合率及溶解度均有影响,压力过高或过低载药量和包合率均有不同程度的下降,溶解度随着压力的升高而上升。

[0126] 2.1.4 反应釜温度的影响

[0127] 设定大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精的摩尔比为1:2,超临界流体的压力为30MPa,反应时间为24h,制备包合物,以包合物载药量、包合率、溶解度为评价指标,分别考察反应釜温度为50℃、100℃和150℃时制备的包合物,结果见表15。

[0128] 表15 不同反应釜温度的考察结果

[0129]

温度 (°C)	载药量 (%)	包合率 (%)	溶解度 (mg/mL)
50	0.0305	0.37	0.1690
100	0.2609	3.18	0.1345
150	0.5297	6.47	0.3631

[0130] 结果显示,反应釜温度对包合物的载药量、包合率及溶解度均有影响,包合物的载药量和包合率随着温度的升高而上升。

[0131] 2.1.5 大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精摩尔比的影响

[0132] 设定超临界流体的压力为 30MPa, 反应釜温度为 100℃, 反应时间为 24h, 制备包合物, 以包合物载药量、包合率、溶解度为评价指标, 分别考察大豆苷元与羟丙基-β-环糊精摩尔比为 1:1、1:2、1:3 及 1:4 时制备的包合物, 结果见表 16。

[0133] 表 16 大豆苷元与羟丙基-β-环糊精摩尔比不同时的考察结果

[0134]

大豆苷元 :Hp-β-CD	载药量 (%)	包合率 (%)	溶解度 (mg/mL)
1 : 1	0.7802	9.51	0.1981
1 : 2	0.2609	3.18	0.1296
1 : 3	0.3904	4.79	0.4562
1 : 4	0.1393	1.70	0.8369

[0135] 结果显示, 大豆苷元与羟丙基-β-环糊精的摩尔比对包合物的载药量与包合率及溶解度均有影响。

[0136] 2.2 大豆苷元-羟丙基-β-环糊精包合物制备工艺的正交试验

[0137] 根据上述 2.1 中单因素考察的结果, 羟丙基-β-环糊精包合大豆苷元的反应时间确定为 8h, 确定反应釜温度 (A)、超临界流体的压力 (B)、大豆苷元和 Hp-β-CD 的摩尔比 (C) 为正交试验的影响因素, 采用 L9(3<sup>4</sup>) 正交表进行正交试验, 以载药量、包合率为评价指标, 采用综合评分法, 二者的权重系数分别为 0.3、0.7, 对包合物综合评分结果进行统计分析。因素水平表, 正交试验结果表和方差分析表见表 17-19。

[0138] 表 17 正交因素水平表

水平	因素		
	A	B	C
	温度 (℃)	压力 (MPa)	摩尔比
1	50	20	1:1
2	100	30	1:3
3	150	40	1:4

[0140] 表 18 正交试验设计及结果表

[0141]

试验 序号	因素				指标		综合指 标
	A	B	C	D	A	B	V
	温度 (℃)	压力 (MPa)	摩尔比		载药量 (%)	包合率 (%)	
1	1	1	1	1	0.2542	1.6862	1.2566
2	1	2	2	2	0.2974	5.2453	3.7609
3	1	3	3	3	0.2449	5.6643	4.0385
4	2	1	2	3	0.3949	6.9676	4.9958
5	2	2	3	1	0.3027	7.0283	5.0106
6	2	3	1	2	0.3011	1.9971	1.4883
7	3	1	3	2	1.0985	25.4193	18.1231
8	3	2	1	3	0.8801	9.8351	7.1486
9	3	3	2	1	1.0632	18.6992	13.4084
I j	3.019	8.124	3.298	6.559			
II j	3.832	5.307	7.388	7.790			
III j	12.892	6.312	9.057	5.394			
R	9.873	2.817	5.759	2.396			

[0142] 表 19 方差分析

[0143]

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	180.246	2	20.934	19.000	*
压力	12.232	2	1.421	19.000	-
摩尔比	52.678	2	6.118	19.000	-
误差	8.61	2	-	-	-



[0144] 由表 18 直观分析可知,各考察因素对包合率和包合物载药量的影响程度不同,程度大小顺序为  $A > C > B$ ,由表 19 方差分析可知因素 A 有显著性影响,综合直观分析及方差分析,选择  $A_3B_1C_3$  为最优处方进行验证,结果包合率为 25.07%,载药量 1.08%。

[0145] 2.3 超临界流体制备包合物的进一步实验

[0146] 通过单因素和正交试验,本发明研究得到了超临界流体制备大豆苷元包合物的较优化处方,根据较优化处方得出的包合物其包合率为 25.07%,和传统方法优化处方制得的包合物的包合率相当。也就是说,本发明根据超临界流体制备大豆苷元包合物的较优化处方,不仅可实现制得的包合物具有较高的包合率,同时还能解决传统技术制得的包合物存在的高 pH 值溶剂残留的问题。

[0147] 本发明为了进一步提高超临界流体制备包合物的包合率及载药量,本发明通过前期的正交试验,发现还可以从两方面进一步实验来提高包合物的包合率及载药量。首先,从正交试验中发现,温度对实验结果有显著性影响,2.1 的实验中考察的最高温度为 150℃,而大豆苷元的熔点为 315℃,羟丙基倍它环糊精的熔点 278℃,所以实验温度还可以进一步提高。其次,大豆苷元本身为酸性,可以尝试加入有机酸或有机碱以提高包合物的包合率及载药量。由此,本发明在得出最佳技术方案之前,又进行了以下的技术研究:

[0148] 2.3.1 有机酸和有机碱的影响

[0149] 在正交实验优化处方的基础上加入赖氨酸或柠檬酸,比例按与大豆苷元摩尔比 1 : 1 加入,其余条件不变,制备大豆苷元包合物,结果见表 20。

[0150] 表 20 有机酸和有机碱的影响

[0151]

温度	包合率 (%)	载药量 (%)
赖氨酸	45.18	1.95
柠檬酸	33.83	1.46

[0152] 从实验结果可知,有机酸及有机碱均能提高包合物的包合率及载药量,尤其是有机碱的加入,包合率提高更多,这与大豆苷元本身为酸性有关,碱的加入能促进羟丙基倍它环糊精进一步对大豆苷元的包合。

[0153] 2.3.2 高温度的考察

[0154] 设定温度为 180℃、200℃ 分别进行实验,其余条件按正交优化处方不变,制备大豆苷元包合物,结果见表 21。

[0155] 表 21 温度的进一步考察

[0156]

温度	包合率 (%)	载药量 (%)
180℃	57.89	2.49
200℃	85.18	3.67

[0157] 从实验结果可知,提高温度能显著提高包合物的包合率及载药量,尤其 200℃ 时的

包合率高达 85.18%，大大高于传统方法优化制备出的包合物的包合率。因在 200℃ 时制备出的包合物已出现少许焦状现象，且包合率也已高达 85.18%，故没有再进一步提高温度进行实验。

### [0158] 2.3.3 高温条件下包合物稳定性考察

[0159] 综合进一步实验的结果，温度的提高及加入有机碱和有机酸均能提高包合物的包合率及载药量，尤其是温度的提高，能显著提高包合物的包合率。因此，本发明选择从提高温度的角度进一步优化实验，选择在 200℃、大豆苷元与羟丙基倍它环糊精摩尔比 1 : 1、压力 20MPa 条件下制备包合物。而从实验现象发现，在 200℃ 时制备包合物时出现了少许焦状现象，为检测大豆苷元在制备温度时是否出现氧化现象，称取适量不同温度下制备的包合物，加去离子水溶解，滤过，吸取 5ml 至 10ml 量瓶中，加无水乙醇定容，HPLC 进行测定，实验条件如下：Agilent 高效液相色谱仪 (G1322A Degasser, G1311A Quatpump, G1313AALS, G1316ATCC, G1315B DAD, 美国 Agilent 公司)，Agilent C18 柱 (250mm×4.6mm, 5 μm)，检测波长：250nm，温度：30℃，流动相：甲醇 - 水 (55 : 45)，图谱如图 1 至图 4 所示：

[0160] 从图 1 至 4 可知，与大豆苷元对照品的图谱相比，各温度条件下制备的样品保留时间与对照品均一致，且在 30min 时间内均无其他色谱峰出现，说明在各温度条件下制得的包合物均为单一成分，无分解现象出现，在 200℃ 条件下制备的包合物稳定性很好。

[0161] 综合上述实验结果，确定超临界流体固体包埋技术制备大豆苷元 - 羟丙基 - β - 环糊精包合物的最优条件如下：温度：200℃、大豆苷元与羟丙基 - β - 环糊精摩尔比：1 : 1、压力：20MPa、反应时间：8 小时。

### [0162] 3. 大豆苷元及其包合物理化性质比较及包合物生成确证

[0163] 通过 IR、DSC、X-ray 对超临界流体包埋技术与传统方法制备的包合物进行包合鉴定，比较两种方法制备的包合物的粒径、表面形态、存在状态、热力学等。

#### [0164] 3.1 红外光谱分析

[0165] 采用红外光谱法对大豆苷元、羟丙基 - β - 环糊精、两者物理混合物、超临界流体处理后的大豆苷元、溶液搅拌法制备的包合物、超临界流体包埋技术制备的包合物进行鉴定，它们之间的红外图谱对比图请参考图 5。

[0166] 图 5 中，a 是大豆苷元，b 是羟丙基 - β - 环糊精，c 是大豆苷元和羟丙基 - β - 环糊精的物理混合物，d 是超临界流体处理后的大豆苷元，e 是溶液搅拌法制备的包合物，f 是超临界流体包埋技术制备的包合物；

[0167] 由图 5 可知，大豆苷元与羟丙基 - β - 环糊精的物理混合物与溶液搅拌法和超临界流体固体包埋技术制备的包合物的 IR 明显不同，物理混合物呈现出大豆苷元与羟丙基 - β - 环糊精的叠加峰特征，其 -CH<sub>2</sub> 不对称伸缩振动峰 (2929.7cm<sup>-1</sup>) 与羟丙基 - β - 环糊精的 -CH<sub>2</sub> 峰位 (2929.7cm<sup>-1</sup>) 一致，-C = O 振动峰位 (1631.7cm<sup>-1</sup>) 与大豆苷元的 -C = O 峰位一致；超临界流体处理后的大豆苷元与未处理的大豆苷元 IR 无差异，表明超临界过程对单一药物组分不发生作用；溶液搅拌法和超临界流体固体包埋技术制备的包合物主要呈现羟丙基 - β - 环糊精的 IR 特征，与大豆苷元 IR 图谱相比，-C = O 峰位 (1631cm<sup>-1</sup>)、苯环的特征吸收峰 (1595、1500、1460cm<sup>-1</sup>) 消失，这表明客体分子已完全进入羟丙基 - β - 环糊精的空腔中，说明在两种方法下大豆苷元与羟丙基 - β - 环糊精均产生了包合作用。

#### [0168] 3.2 包合物表观形态观察

[0169] 对大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、溶液搅拌法和超临界流体固体包埋技术制备的包合物、超临界流体处理后的大豆苷元原料药进行电镜扫描,它们之间的微粒形态对比图请参考图 6。

[0170] 图 6 中,a 是大豆苷元,b 是羟丙基- $\beta$ -环糊精,c 是大豆苷元和羟丙基- $\beta$ -环糊精的物理混合物,d 是超临界流体处理后的大豆苷元,e 是溶液搅拌法制备的包合物,f 是超临界流体包埋技术制备的包合物;

[0171] 从图 6 可知,大豆苷元呈细长棱柱体形态,羟丙基- $\beta$ -环糊精呈块状形态,经超临界处理后的大豆苷元表现形态不变。大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精的物理混合物与包合物的表现形态有明显区别,物理混合物图谱中显示存在细长棱柱体的大豆苷元及块状的羟丙基- $\beta$ -环糊精,而两种包合物形态基本一致,显示为块状形态,与羟丙基- $\beta$ -环糊精的形态一致,这进一步表明大豆苷元已完全进入羟丙基- $\beta$ -环糊精内腔中,故包合物主要表现出羟丙基- $\beta$ -环糊精形态,其中超临界流体固体包埋技术制备的包合物粒径更小粒子更均匀。

### [0172] 3.3 粒径测量

[0173] 对大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、溶液搅拌法和超临界流体固体包埋技术制备的包合物、超临界流体处理后的大豆苷元的粒径进行测量,使用 Malvern Mastersizer 2000 激光粒度分析仪,Scirocco 2000 干法进样器,它们之间的粒径对比图请参考图 7。

[0174] 图 7 中,a 是大豆苷元,b 是羟丙基- $\beta$ -环糊精,c 是大豆苷元和羟丙基- $\beta$ -环糊精的物理混合物,d 是超临界流体处理后的大豆苷元,e 是溶液搅拌法制备的包合物,f 是超临界流体包埋技术制备的包合物;

[0175] 图 7 的结果显示超临界流体处理后的大豆苷元的平均粒径 ( $8.202 \mu\text{m}$ ) 与未处理的大豆苷元平均粒径 ( $8.400 \mu\text{m}$ ) 基本一致,大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精的物理混合物与两种包合物的粒径呈现明显差异,前者表现为两种粒径分布叠加,而两种包合物粒径均表现为均一的正态分布,这也再次说明在两种方法下大豆苷元与羟丙基- $\beta$ -环糊精均产生了包合作用。其中超临界流体固体包埋技术制备的包合物平均粒径为  $32.591 \mu\text{m}$ ,溶液搅拌法制备的包合物平均粒径为  $173.212 \mu\text{m}$ ,超临界流体固体包埋技术制备的包合物粒径显著降低。

### [0176] 3.4X-射线衍射分析

[0177] 对大豆苷元、羟丙基- $\beta$ -环糊精、两者物理混合物、溶液搅拌法和超临界流体固体包埋技术制备的包合物、超临界流体处理后的大豆苷元进行 X-射线衍射分析,检测的条件为:Cu 靶  $K\alpha 1$  射线,电压 35KV,电流 25mA,发散狭缝 0.50,接收狭缝 0.3mm、0.3mm, $2\theta$  范围:30-600。它们之间的 X 射线衍射对比图请参考图 8。

[0178] 图 8 中,a 是大豆苷元,b 是羟丙基- $\beta$ -环糊精,c 是大豆苷元和羟丙基- $\beta$ -环糊精的物理混合物,d 是超临界流体处理后的大豆苷元,e 是溶液搅拌法制备的包合物,f 是超临界流体包埋技术制备的包合物;

[0179] 图 8 的结果显示,物理混合物的衍射图谱呈现为大豆苷元的晶体衍射图谱与羟丙基- $\beta$ -环糊精的无定形衍射图谱的叠加,溶液搅拌法和超临界流体所制备的包合物的衍射图谱与羟丙基- $\beta$ -环糊精的衍射图谱非常相似,表明大豆苷元被羟丙基- $\beta$ -环糊精包

合。

### [0180] 3.5 热分析法

[0181] 采用差示扫描量热分析和热重分析对样品进行分析。首先对大豆昔元及羟丙基-β-环糊精进行热重分析,测量大豆昔元及羟丙基-β-环糊精的分解温度,结果见图9。

[0182] 从图9可知,大豆昔元从340℃开始分解,而羟丙基-β-环糊精是从300℃开始分解直至380℃平衡。进一步验证了超临界流体包埋过程中的温度条件即使高温,但仍未达到上述两种物质的分解温度,可以进行包合物制备。做差示热扫描量热分析时,测试温度不能超过样品的分解温度,因此含羟丙基-β-环糊精的样品的测试温度均不能超过300℃。

[0183] 差示扫描量热分析检测条件:气氛:N<sub>2</sub>,20mL/min,扫描程序:从室温以10℃/min升温至300℃或350℃,记录升温曲线。

[0184] 请参考图10的差示扫描量热分析对比图,其中a是大豆昔元,b是羟丙基-β-环糊精,c是大豆昔元和羟丙基-β-环糊精的物理混合物,d是超临界流体处理后的大豆昔元,e是溶液搅拌法制备的包合物,f是超临界流体包埋技术制备的包合物。从图10可知,溶液搅拌法与超临界流体制备法制备的包合物的差示扫描量热分析图与羟丙基-β-环糊精的类似,推测包合物已形成。

### [0185] 4、本发明的大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物的制备方法举例

[0186] 通过上述超临界流体技术的实验研究和结果验证,表明本发明不仅可以制得大豆昔元-羟丙基-β-环糊精包合物,而且制得的包合物其包含率高,稳定性好,包合物粒径显著降低,与传统技术制得包合物相比具有显著的优势。

[0187] 下面列举本发明的若干实施例:

#### [0188] 实施例1:

[0189] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比1:1充分混合后置于200℃的反应釜中;

[0190] (2) 将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,压力为20MPa;

[0191] (3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中反应8小时后快速解压,即得所述包合物。

#### [0192] 实施例2:

[0193] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比0.1:1充分混合后置于150℃的反应釜中;

[0194] (2) 将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,压力为10MPa;

[0195] (3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中反应24小时后快速解压,即得所述包合物。

#### [0196] 实施例3:

[0197] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比0.5:1充分混合后置于180℃的反应釜中;

[0198] (2) 将超临界CO<sub>2</sub>流体导入所述反应釜中,压力为40MPa;

[0199] (3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界CO<sub>2</sub>流体中反应3小时后快速解压,即得所述包合物。

#### [0200] 实施例4:

[0201] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比 1 : 1 充分混合后置于 50℃ 的反应釜中；

[0202] (2) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力为 40MPa；

[0203] (3) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应 24 小时后快速解压, 即得所述包合物。

[0204] 实施例 5：

[0205] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比 1 : 1 充分混合后置于 150℃ 的反应釜中；

[0206] (2) 加入有机酸或有机碱, 该有机酸或有机碱与大豆昔元的摩尔比为 1 : 1；

[0207] (3) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力为 20MPa；

[0208] (4) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应 8 小时后快速解压, 即得所述包合物。

[0209] 实施例 6：

[0210] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比 0.1 : 1 充分混合后置于 150℃ 的反应釜中；

[0211] (2) 加入有机酸或有机碱, 该有机酸或有机碱与大豆昔元的摩尔比为 1 : 1；

[0212] (3) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力为 10MPa；

[0213] (4) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应 24 小时后快速解压, 即得所述包合物。

[0214] 实施例 7：

[0215] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比 0.5 : 1 充分混合后置于 120℃ 的反应釜中；

[0216] (2) 加入有机酸或有机碱, 该有机酸或有机碱与大豆昔元的摩尔比为 1 : 1；

[0217] (3) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力为 40MPa；

[0218] (4) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应 3 小时后快速解压, 即得所述包合物。

[0219] 实施例 8：

[0220] (1) 将大豆昔元与羟丙基-β-环糊精按摩尔比 1 : 1 充分混合后置于 50℃ 的反应釜中；

[0221] (2) 加入有机酸或有机碱, 该有机酸或有机碱与大豆昔元的摩尔比为 1 : 1；

[0222] (3) 将超临界 CO<sub>2</sub> 流体导入所述反应釜中, 压力为 40MPa；

[0223] (4) 待所述大豆昔元与羟丙基-β-环糊精在所述超临界 CO<sub>2</sub> 流体中反应 24 小时后快速解压, 即得所述包合物。

[0224] 上述实施例中, 所述的有机酸为柠檬酸, 所述的有机碱为赖氨酸。

[0225] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已, 并不用于限制本发明, 对于本领域的技术人员来说, 本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换、改进等, 均应包含在本发明的保护范围之内。

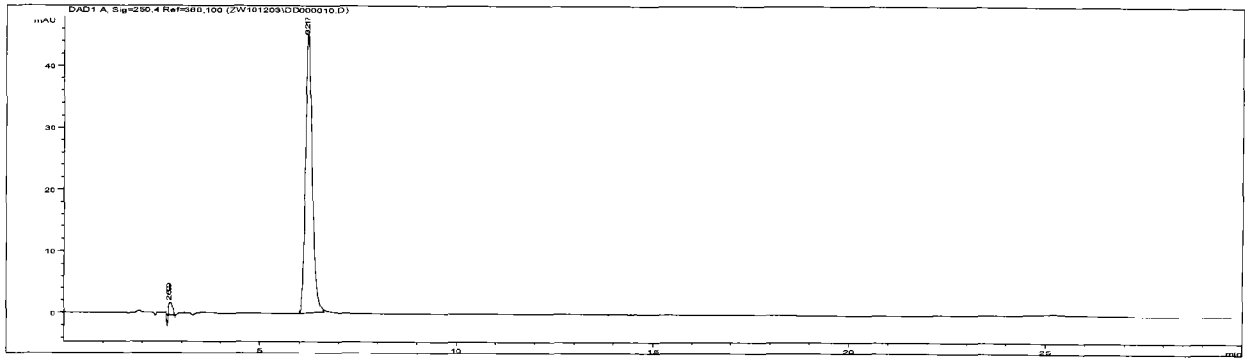


图 1

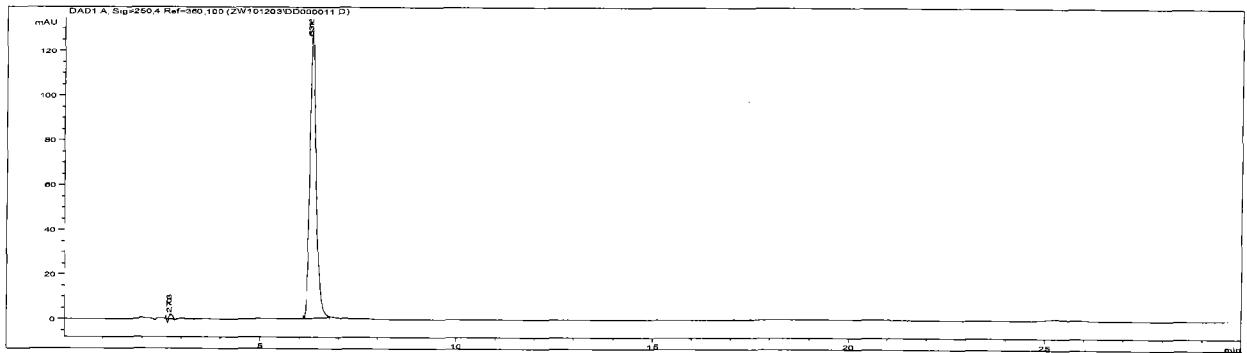


图 2

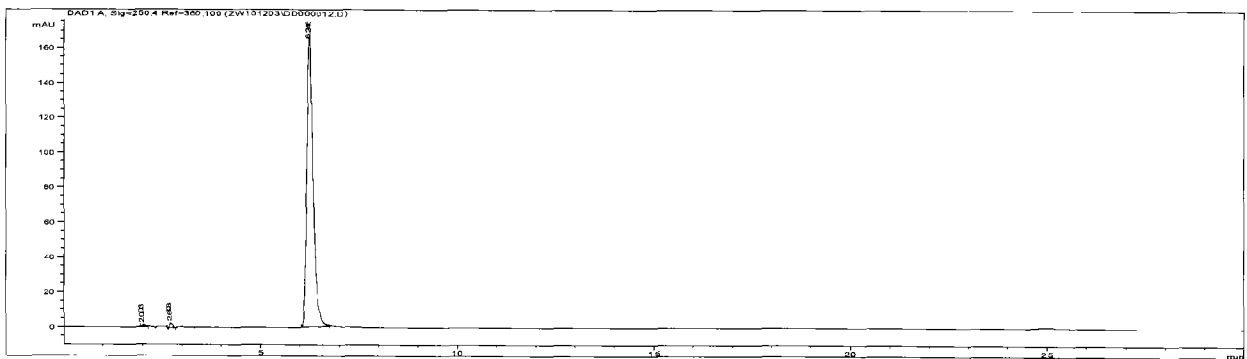


图 3

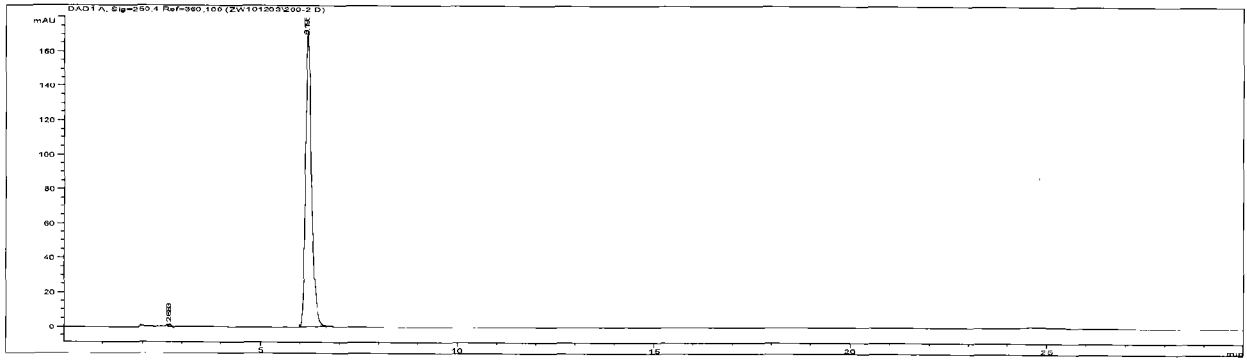


图 4

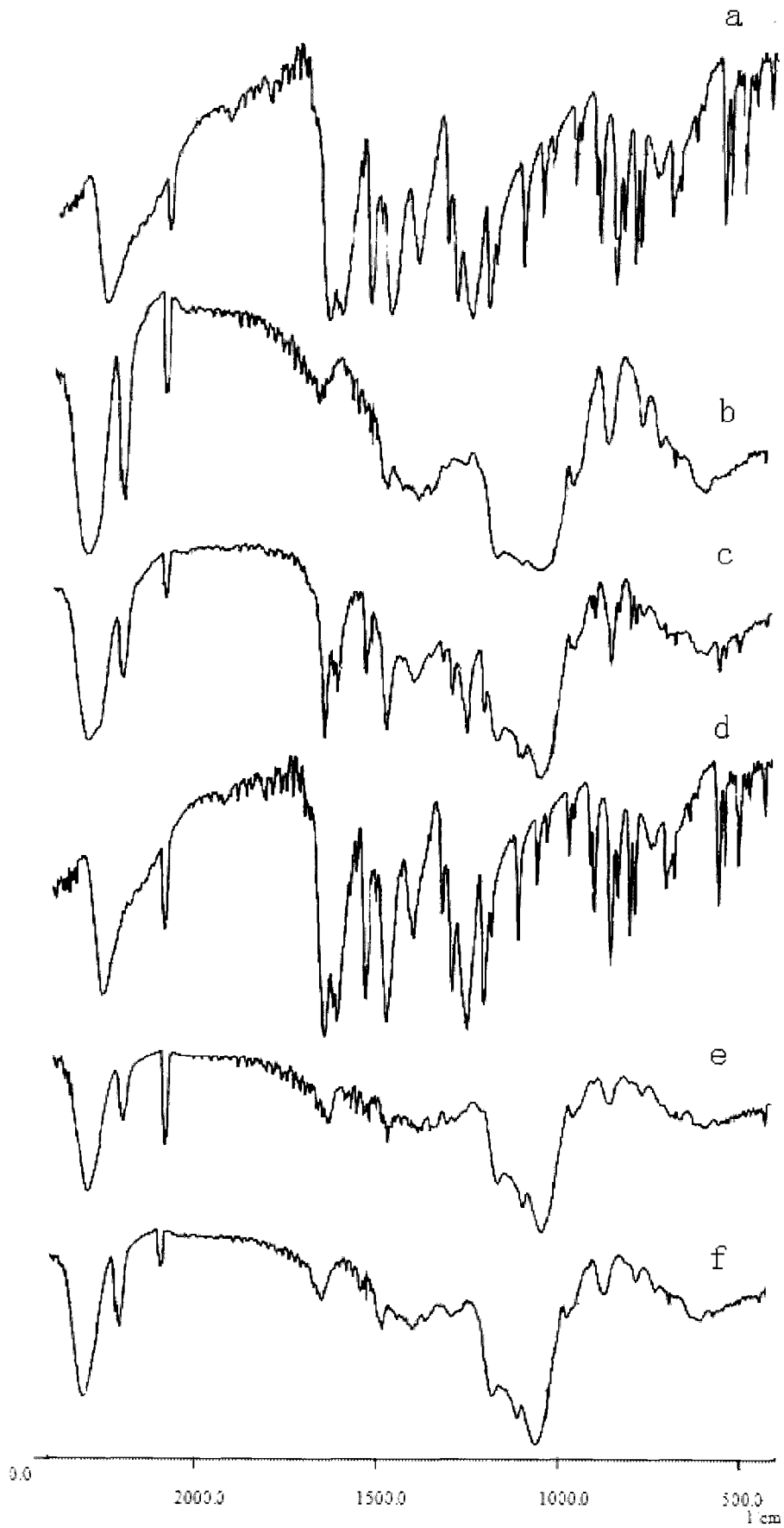


图 5



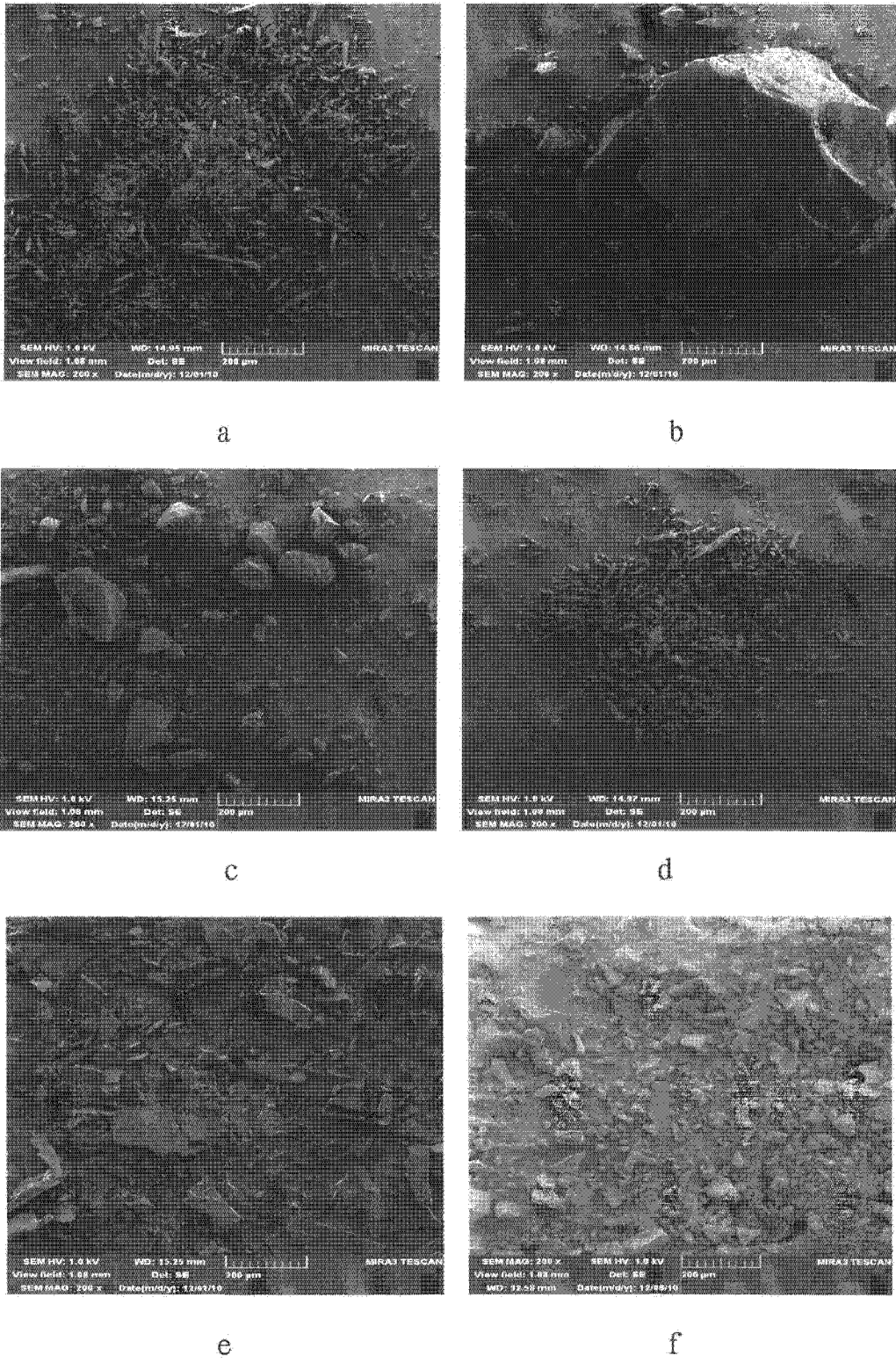


图 6

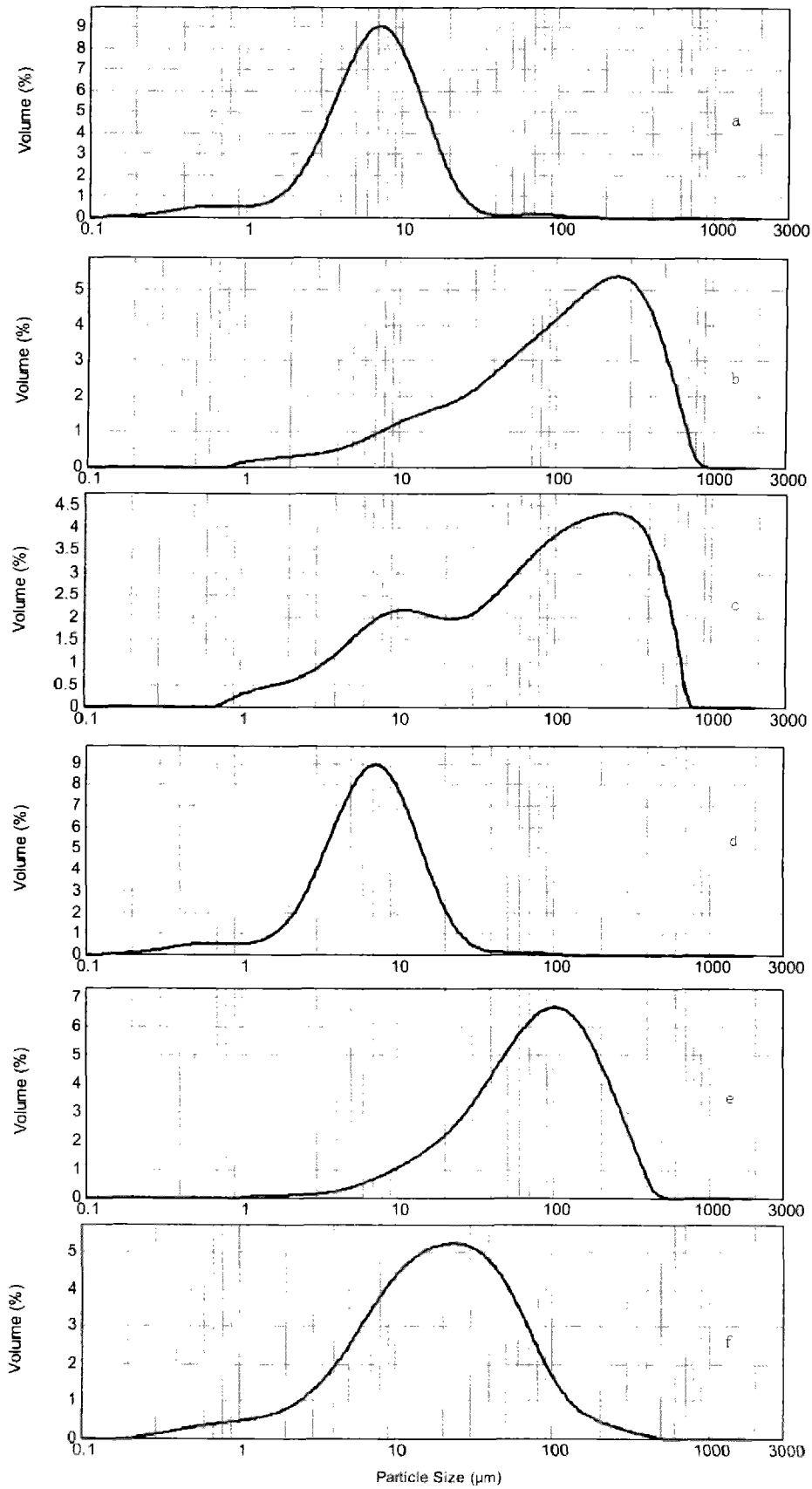


图 7

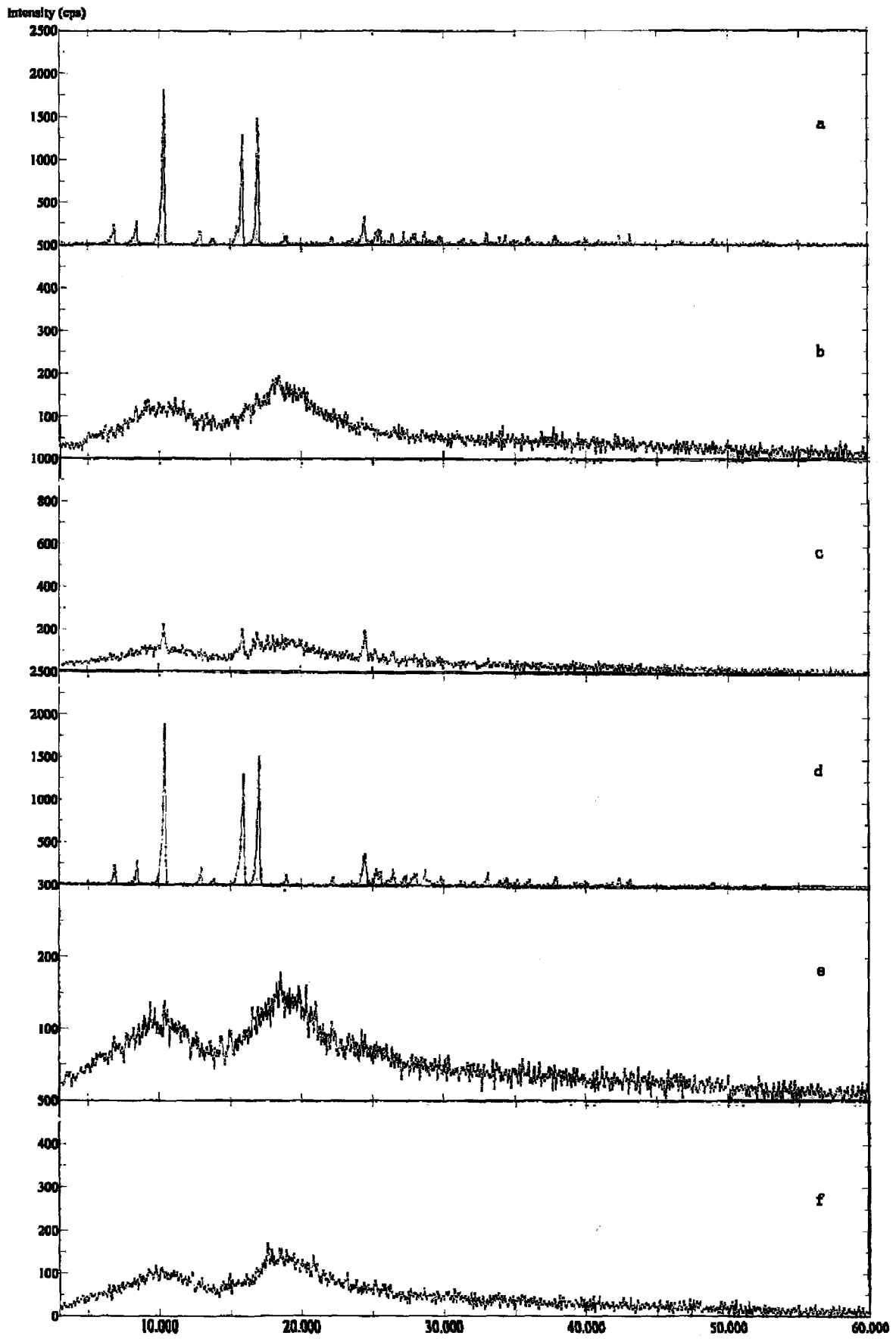


图 8

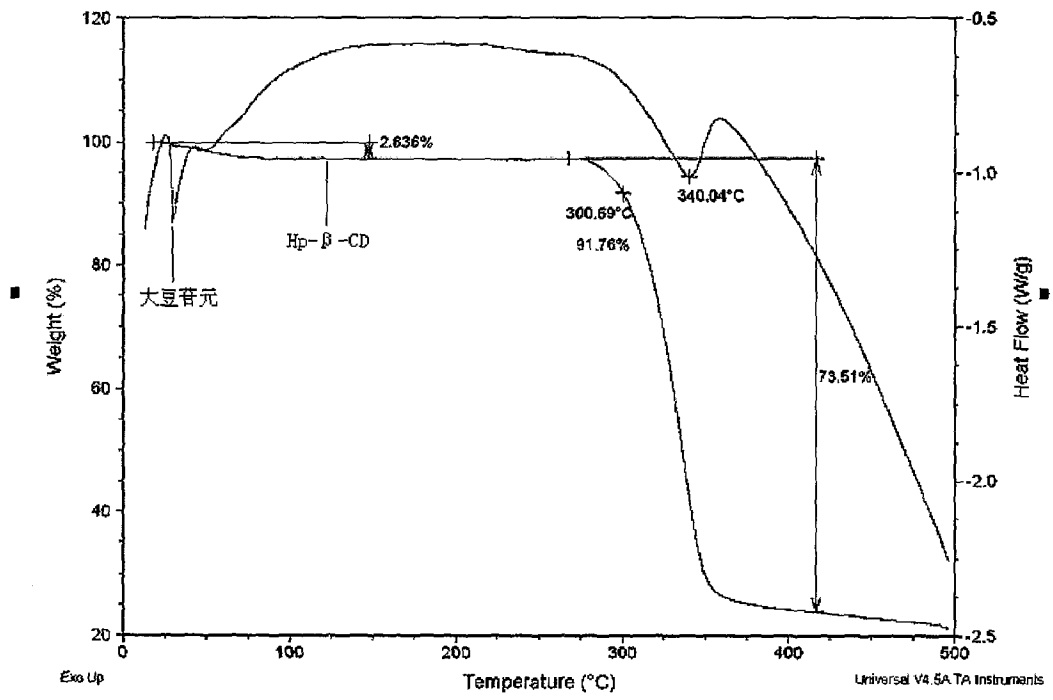


图 9

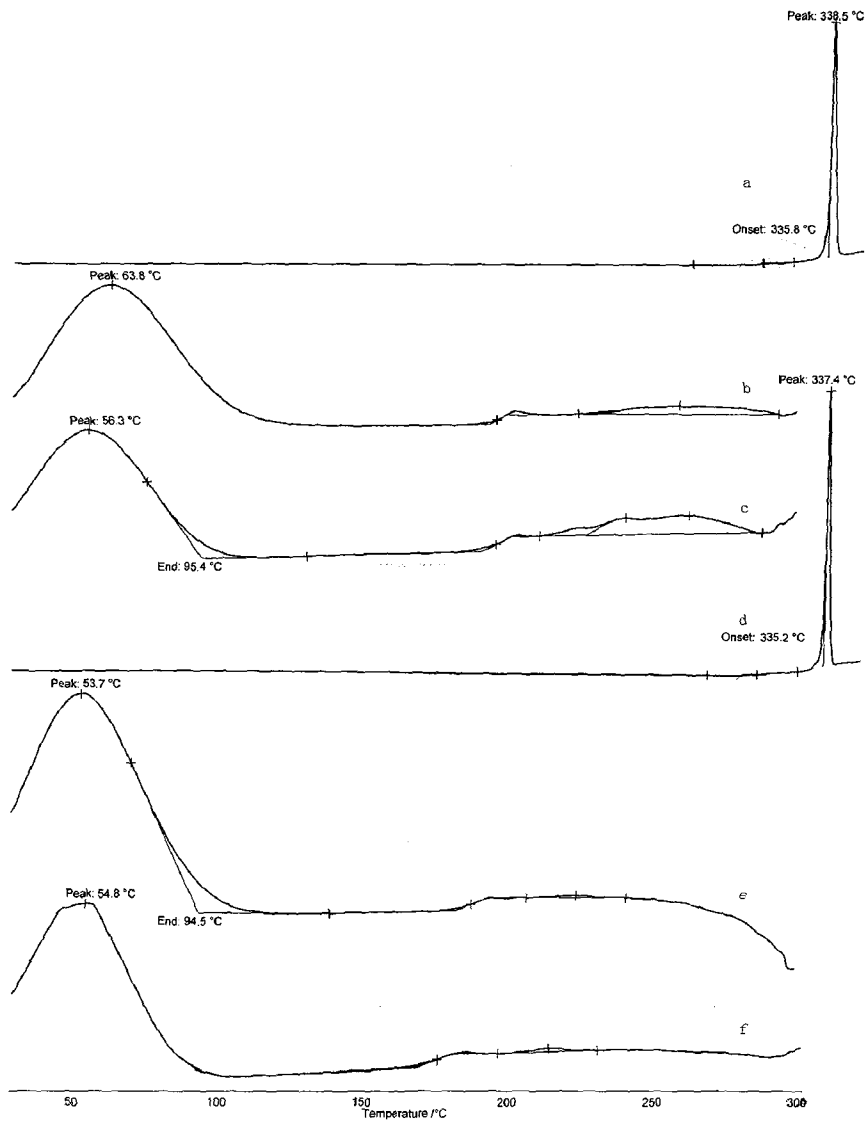


图 10