

喷雾干燥法制备水溶性白藜芦醇/ HP- β -CD 微胶囊

Preparation of water-soluble resveratrol/HP- β -CD
microcapsule by spray drying method

唐宏伟 旷春桃 向舒

TANG Hong-wei KUANG Chun-tao XIANG Shu

李湘洲 杨婷 易祥光

LI Xiang-zhou YANG Ting YI Xiang-guang

(中南林业科技大学材料科学与工程学院, 湖南 长沙 410004)

(College of Material Science and Engineering, Central South University of Forestry and
Technology, Changsha, Hunan 410004, China)

摘要:利用羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)改善 Res 的水溶性,优化了喷雾干燥法制备 Res/HP- β -CD 微胶囊的工艺,采用 UV、IR 和 SEM 对 Res/HP- β -CD 微胶囊进行结构表征。结果表明,Res/HP- β -CD 微胶囊的优化制备工艺为 $w_{\text{Res}} : w_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} 1 : 5$ (g/g), 搅拌温度 30 $^{\circ}\text{C}$, 进料流量 2.1 mL/min, 进风温度 140 $^{\circ}\text{C}$, 载药量 15.18%, 溶解度 12.75 g/L。UV、IR 和 SEM 结果表明,Res 与 HP- β -CD 通过氢键、疏水作用力等作用力形成 Res/HP- β -CD 微胶囊,并且粒径减少,提高了 Res 的水溶性。

关键词:白藜芦醇;羟丙基- β -环糊精;水溶性;微胶囊;喷雾干燥法

Abstract: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) was used to improve water solubility of Res. The preparation conditions of Res/HP- β -CD microcapsule by spray drying method were optimized, and Res/HP- β -CD microcapsule was confirmed by UV, IR and SEM. The results showed that optimum preparation conditions of Res/HP- β -CD microcapsule were mass ratio of Res to HP- β -CD for 1 : 5, stirring at 30 $^{\circ}\text{C}$, feed flow rate for 2.1 mL/min and inlet-air temperature for 140 $^{\circ}\text{C}$. The rate of drug-loading and the solubility of Res were 15.18% and 12.75 g/L, respectively, under the optimum conditions. UV, IR and SEM tests of Res/HP- β -CD microcapsule demonstrated that

the aqueous solubility of Res increased due to the microcapsule formation between Res and HP- β -CD by hydrogen bond and hydrophobic forces, and the decrease of particle size.

Keywords: resveratrol; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; aqueous solubility; microcapsule; spray drying method

β -环糊精(β -CD)是淀粉生物降解得到的由 7 个 D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1,4 糖苷键形成的环状低聚糖^[1]。 β -CD 可通过羟基的化学反应,选择性地化学修饰制备各种衍生物,提高其性能,其中羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)是应用最为广泛的 β -CD 衍生物之一。由于 β -CD 及其衍生物的“内腔疏水、外腔亲水”锥形空腔结构,具有提高脂溶性物质的稳定性、生物利用度以及控制药物释放等作用,常用作脂溶性物质的增溶剂,稳定剂以及靶向制剂的载体等^[2]。Duarte 等^[3]采用甲基化- β -CD 包埋白藜芦醇,白藜芦醇水溶性提高 400 倍;Hsu 等^[4]研究表明,HP- β -CD 包埋大黄乙醇提取物可提高其水溶性和生物利用度。

白藜芦醇(Resveratrol, Res)是广泛存在于虎杖、葡萄、花生、桑葚^[5-7]等植物中的多酚类化合物,被喻为继紫杉醇之后的又一天然抗癌药物。Res 具有抗癌^[8-9]、抗氧化^[10]、促进伤口愈合^[11]和减轻神经痛^[12]等生物活性。然而,Res 水溶性和稳定性差,见光易分解等缺点限制了它的应用^[13-14]。Zhang 等^[15]将抗溶剂沉淀法制备的 Res 纳米分散体和 Res 原料直接暴露于阳光下,Res 纳米分散体中 Res 仅减少的质量分数为 14%,而 Res 原料减少的质量分数 80%;高欣等^[16]研究表明,采用共研磨技术制

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(编号:2016YFD0600805-04)

作者简介:唐宏伟,男,中南林业科技大学在读硕士研究生。

通信作者:旷春桃(1973—),男,中南林业科技大学教授,博士。

E-mail: hnkct@163.com

收稿日期:2018-09-25

备的纳米级 Res 的水溶性显著增加,吸收速率和生物利用度也明显提高。但是,采用喷雾干燥法制备水溶性 Res/HP- β -CD 微胶囊尚未有文献报道。

本研究拟采用喷雾干燥法制备水溶性 Res/HP- β -CD 微胶囊,优化其制备工艺,并采用紫外光谱(UV)、红外光谱(IR)、扫描电镜(SEM)对微胶囊进行结构表征,以期获得水溶性白藜芦醇,拓宽其应用领域。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

白藜芦醇(Res):花垣恒远植物生化有限公司;

羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD):生物试剂(BR),美国 Sigma-aldrich 公司;

无水乙醇:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

小型喷雾干燥仪:B-290 型,瑞士 BUCHI 实验室仪器公司;

扫描电镜:JSM-6380LV 型,日本电子株式会社;

傅立叶红外光谱仪:Affinity-I 型,日本岛津有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-2600 型,上海天美科学仪器有限公司;

化学合成反应仪:PPS-1511-CE 型,日本东京理化器械株式会社。

1.2 方法

1.2.1 Res 标准曲线的测定 准确移取 10.8 mg/L 的 Res 贮备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 加入 10 mL 的棕色容量瓶内,用蒸馏水定容至 10 mL,以蒸馏水为参比于 307 nm 处测其吸光度,以吸光度对 Res 浓度进行线性回归,得标准曲线方程。

1.2.2 喷雾干燥法制备水溶性 Res/HP- β -CD 微胶囊

准确称取一定量的 HP- β -CD,加 30 mL 蒸馏水溶解,转移至化学合成反应仪中,然后缓慢滴加用 5 mL 无水乙醇溶解的 Res,在设定温度下搅拌,最后将溶液在试验设定条件下喷雾干燥,得到水溶性 Res/HP- β -CD 微胶囊。

1.2.3 Res/HP- β -CD 微胶囊溶解度的测定 在离心管中加入 2.0 mL 蒸馏水,加入过量的 Res/HP- β -CD 微胶囊,25 °C 超声震荡 24 h 后,5 000 r/min 离心 10 min,过滤,取滤液用蒸馏水稀释,于 307 nm 处测定吸光度,计算 Res 的溶解度^[17]。

1.2.4 Res/HP- β -CD 微胶囊载药量的测定 准确称取 Res/HP- β -CD 微胶囊一定量(m_2),用蒸馏水充分溶解,5 000 r/min 离心 10 min,过滤,取滤液用蒸馏水稀释,于 307 nm 处测定吸光度,计算样品中 Res 的质量(m_1),Res/HP- β -CD 微胶囊中载药量按式(1)计算:

$$L = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

L ——微胶囊中 Res 载药量,%;

m_1 ——样品中 Res 的质量,g;

m_2 ——样品的质量,g。

1.2.5 紫外吸收光谱(UV)的测定 准确称取一定量 Res 和 Res/HP- β -CD 微胶囊,用蒸馏水充分溶解,5 000 r/min 离心 10 min,过滤,取滤液用蒸馏水稀释,以蒸馏水为参比在 250~400 nm 进行扫描。

1.2.6 红外光谱(IR)的测定 分别取 Res、HP- β -CD、Res 和 HP- β -CD 的物理混合物,以及 Res/HP- β -CD 微胶囊, KBr 压片后进行 IR 测定,扫描范围 400~4 000 cm^{-1} 。

1.2.7 扫描电镜(SEM)的测定 取适量 Res 和 HP- β -CD 的物理混合物以及 Res/HP- β -CD 微胶囊,对其表面观形貌进行观测。金/钼合金为镀靶,真空喷金镀膜,电压:15 kV。

1.2.8 正交试验优化 Res/HP- β -CD 微胶囊的制备工艺

在预试验考察了芯壁比、搅拌温度、进料流量和进风温度的基础上,采用四因素三水平正交试验设计优化 Res/HP- β -CD 微胶囊的制备工艺。

1.2.9 综合评分的确定 采用综合评分法对 Res/HP- β -CD 微胶囊的制备工艺进行综合评定,将多指标转化为单指标,综合考虑载药量和溶解度在 Res/HP- β -CD 微胶囊中的重要性,将试验组中最大 Res 载药量设定为 100 分,权重系数 40,最大 Res 溶解度设定为 100 分,权重系数 60,综合评分按式(2)计算^[18]。

$$Y = \frac{L}{L_{\max}} \times 40 + \frac{S}{S_{\max}} \times 60, \quad (2)$$

式中:

Y ——综合评分;

L ——试验组的 Res 载药量,%;

$L_{\max}$ ——试验组中最大 Res 载药量,%;

S ——试验组的 Res 溶解度,g/L;

$S_{\max}$ ——试验组中最大 Res 溶解度,g/L。

1.3 数据处理

每个试验重复 3 次试验,取平均值。采用 Excel 2010 进行统计分析,Origin 8.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 Res 的标准曲线

Res 的标准曲线见图 1。线性回归方程为 $A = 0.2856C_{\text{Res}} + 0.0188$ ($R^2 = 0.9998$),结果表明,在 0.54~5.40 mg/L 时线性关系良好。

2.2 预试验结果

Res/HP- β -CD 微胶囊的化学计量比为 1:1^[19],HP- β -CD 作为 Res 增溶剂的同时,HP- β -CD 可对进入其空腔的 Res 起到保护作用,提高 Res 的稳定性,因此,试验中

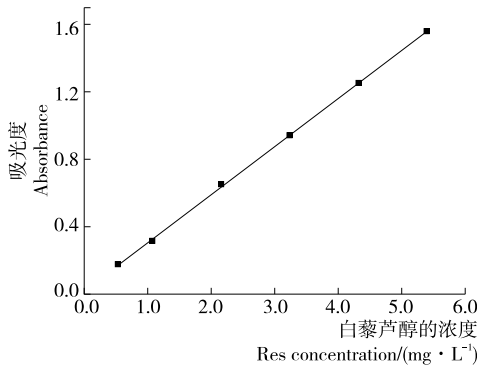


图 1 Res 的标准曲线

Figure 1 The standard curve of Res

物料摩尔比 $n_{\text{Res}} : n_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ 为 1 : 1 左右,即质量比 $w_{\text{Res}} : w_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ 为 1 : 4~1 : 6。预试验表明,进料流量过大,料液雾化后不能完全干燥,出现粘壁现象以及一部分料液以液滴形式进入喷雾圆筒,因此进料流量在 3.0 mL/min 左右;此外,由于 Res 的热不稳定性,进风温度过低,干燥速率太慢,甚至干燥不完全,进风温度太高,不利于 Res 的稳定,因此,进风温度选择 150 ℃ 左右。

2.3 Res/HP-β-CD 微胶囊制备工艺的优化

在预试验的基础上,确定正交试验的因素和水平取值见表 1,结果见表 2。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	A $w_{\text{Res}} : w_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ (g/g)	B 搅拌 温度/℃	C 进料流量/ (mL · min ⁻¹)	D 进风 温度/℃
1	1 : 4	30	2.1	140
2	1 : 5	40	3.0	150
3	1 : 6	50	3.9	160

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	载药量/%	溶解度/(g · L ⁻¹)	综合评分
1	1	1	1	1	15.59	12.31	97.66
2	1	2	2	2	14.00	8.00	73.39
3	1	3	3	3	15.01	7.58	74.02
4	2	1	2	3	11.56	12.13	86.48
5	2	2	3	1	13.80	12.75	95.13
6	2	3	1	2	13.44	8.13	72.56
7	3	1	3	2	12.87	10.75	83.37
8	3	2	1	3	11.06	12.81	88.38
9	3	3	2	1	10.74	9.44	71.77
k_1	81.69	89.17	86.20	87.99			
k_2	84.72	85.63	77.01	76.44			
k_3	80.97	72.58	84.17	82.96			
R	3.75	16.59	9.19	11.55			

表 2 极差分析表明,搅拌温度对综合评分影响最大,因为 HP-β-CD 与 Res 的包合作用为放热反应,随温度的升高,包合形成常数减少,包合物趋向于解离,因此,适当降低温度有利于微胶囊的形成^[20],其次为进风温度,进风温度太高,会导致 Res 降解,再次为进料流量和物料比,进料流量太大,容易出现粘壁现象。因此,优化工艺条件为 A₂B₁C₁D₁,即 $w_{\text{Res}} : w_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ 1 : 5 (g/g),搅拌温度 30 ℃,进料流量 2.1 mL/min,进风温度 140 ℃。在优化工艺条件下进行 3 次重复验证实验,所得 Res/HP-β-CD 微胶囊的载药量为 15.18%,溶解度为 12.75 g/L。

2.4 Res/HP-β-CD 微胶囊的 UV 分析

Res 和 Res/HP-β-CD 微胶囊的 UV 光谱图见图 2。

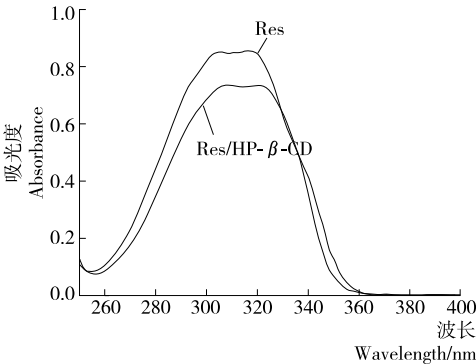


图 2 Res, and Res/HP-β-CD 微胶囊的紫外吸收光谱

Figure 2 UV spectra of Res, and Res/HP-β-CD microcapsule

从图 2 可知,Res 的最大吸收峰位于 305 nm,而 Res/HP-β-CD 的最大吸收波长从 305 nm 红移到 307 nm,因为 Res 进入 HP-β-CD 及其衍生物空腔后,HP-β-CD 内部高能水分子移出,Res 进入 HP-β-CD 分子空腔内,Res 与 HP-β-CD 存在氢键、疏水作用力、范德华力等多种作用力,对白藜芦醇的电子云产生干扰,从而使得最大吸收波长发生红移^[21-23]。

2.5 Res/HP-β-CD 微胶囊的 IR 分析

Res、HP-β-CD、Res 和 HP-β-CD 物理混合物及 Res/HP-β-CD 微胶囊的红外光谱图见图 3。

从图 3 可知,Res 和 HP-β-CD 的物理混合物[图 3(c)]的 IR 谱图是 Res 的 IR 谱图[图 3(a)]和 HP-β-CD 的 IR 谱图[图 3(b)]的叠加,出现了 Res 和 HP-β-CD 的特征吸收峰,波数没有明显变化。

在 Res/HP-β-CD 微胶囊的 IR 谱图[图 3(d)]中,HP-β-CD 的 O—H 伸缩振动吸收峰 3 383 cm⁻¹ 覆盖了 Res [图 3(a)]的 O—H 伸缩振动峰,并且红移到 3 338 cm⁻¹,可能是 Res 苯环上酚羟基与 HP-β-CD 端口的 OH 形成氢键所致^[23]。Res 的 IR 谱图[图 3(a)]中位于 1 585 ,

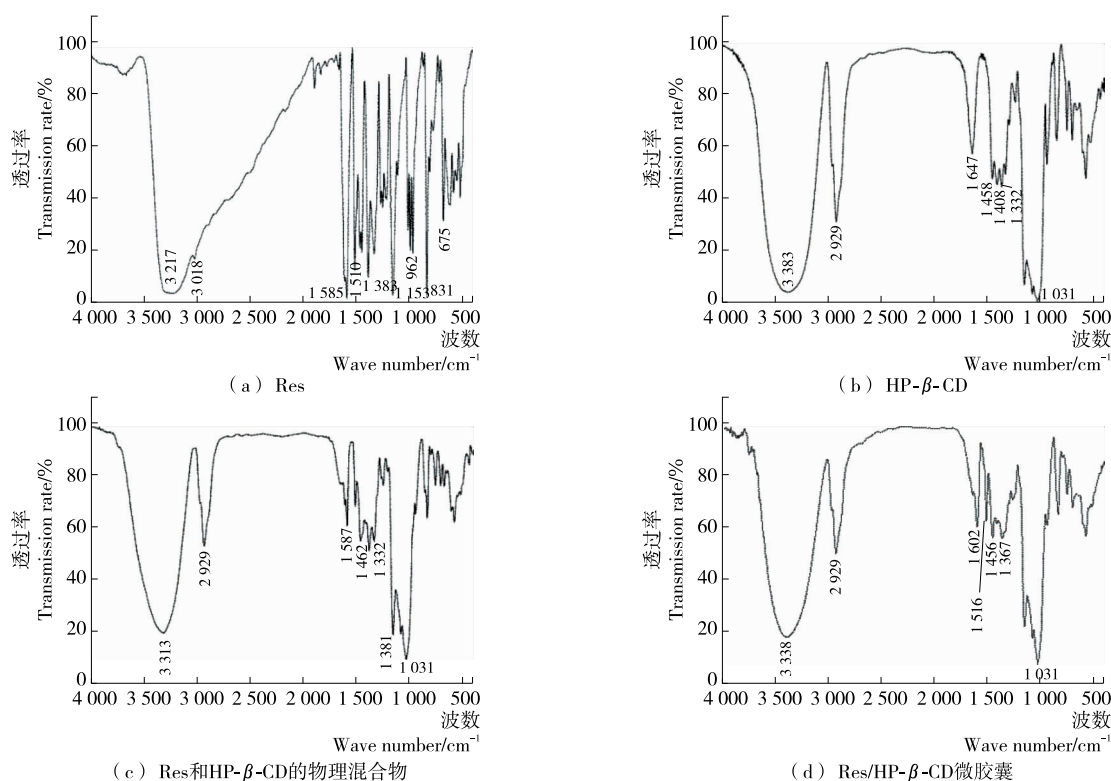


图3 Res、HP- β -CD、Res和HP- β -CD物理混合物及Res/HP- β -CD微胶囊的红外光谱图

Figure 3 Infrared spectra of Res, HP- β -CD, physical mixture of Res and HP- β -CD, and Res/HP- β -CD microcapsules

1 510, 1 443 cm^{-1} 处的苯基骨架振动峰,在Res/HP- β -CD微胶囊的IR谱图中分别移到1 602, 1 516, 1 456 cm^{-1} ,并且吸收强度减弱,因为Res苯环进入了HP- β -CD的疏水空腔,与HP- β -CD的疏水空腔发生疏水作用,起到保护Res的作用,说明Res/HP- β -CD微胶囊可以提高Res的稳定性。Res的IR谱图[图3(a)]的烯烃面外C—H弯曲振动吸收峰(962 cm^{-1}) 在Res/HP- β -CD微胶囊的IR谱图中消失,说明Res分子进入了HP- β -CD的空腔,形成了微胶囊^[24]。

2.6 Res/HP- β -CD微胶囊的SEM分析

Res和HP- β -CD的物理混合物以及Res/HP- β -CD微胶囊的SEM图见图4。

从图4可知,Res和HP- β -CD物理混合物的SEM图[图4(a)]中可见2种形态特征,球形的HP- β -CD和片状的Res,球表面有凹陷、缺损、小孔和褶皱等,而Res/HP- β -CD微胶囊[图4(b)]为外形饱满、表面光滑的球形,无裂纹和凹陷,大小比较均匀,粒径大约为1~10 μm ,远小于物理混合物中球形状态的HP- β -CD。HP- β -CD本身对难溶药物具有增溶效果,并且粒径减少,比表面积增加,增加了Res的水溶性^[25-26],此外,Res与HP- β -CD形成微胶囊后,可以很好地将Res隔离,增强其稳定性。

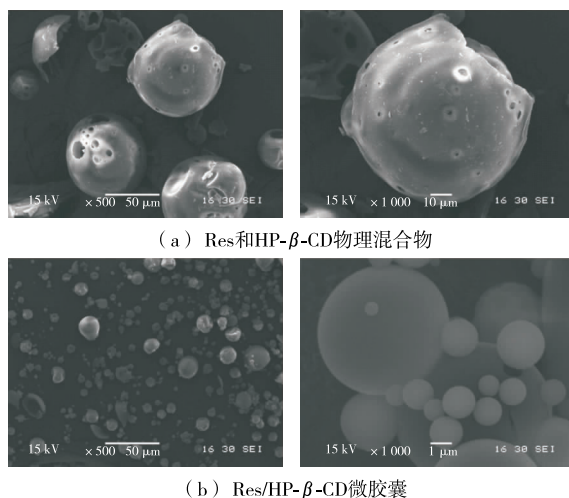


图4 Res和HP- β -CD物理混合物及Res/HP- β -CD微胶囊的SEM图

Figure 4 SEM of physical mixture of Res and HP- β -CD, and Res/HP- β -CD microcapsule

3 结论

(1) HP- β -CD对Res具有良好的增溶效应,喷雾干燥法制备Res/HP- β -CD微胶囊的优化工艺为 $w_{\text{Res}} : w_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} = 1 : 5 (\text{g/g})$,搅拌温度30 $^{\circ}\text{C}$,进料流量2.1 mL/min,进风温度140 $^{\circ}\text{C}$,该条件下,载药量为15.18%,溶解度为

12.75 g/L。

(2) Res 与 HP- β -CD 通过氢键、疏水作用力等作用力形成 Res/ HP- β -CD 微胶囊,通过喷雾干燥制备的 Res/ HP- β -CD 微胶囊粒径减少,比表面积增大,提高了 Res 的溶解度。

将来可对 Res/ HP- β -CD 微胶囊的稳定性、释放性能以及生物活性进行研究。

参考文献

- [1] 沈海民, 纪红兵, 武宏科, 等. β -环糊精的固载及其应用最新研究进展[J]. 有机化学, 2014, 34(8): 1 549-1 572.
- [2] 王冠群, 曲静然, 丁烽, 等. Mal- β -CD 对黑胡椒精油的包合作用研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 22-25.
- [3] DUARTE A, MARTINHO A, ÂNGELO LUÍS, et al. Resveratrol encapsulation with methyl- β -cyclodextrin for antibacterial and antioxidant delivery applications[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(2): 1 254-1 260.
- [4] HSU C M, YU S C, TSAI F J, et al. Enhancement of rhubarb extract solubility and bioactivity by 2-hydroxy-propyl- β -cyclodextrin[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(2): 1 422-1 429.
- [5] 孔祥珍, 黄飞, 周治彤, 等. 小麦醇溶蛋白自组装纳米粒子负载白藜芦醇的性质研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(11): 21-25.
- [6] CHEN Bao-yuan, KUO Chia-Hung, LIU Yung-chuan, et al. Ultrasonic-assisted extraction of the botanical dietary supplement resveratrol and other constituents of polygonum cuspidatum[J]. Journal of Natural Products, 2012, 75(10): 1 810-1 813.
- [7] SURGULADZE M A, BEZHUASHVILI M G. Impact of wine technology on the variability of resveratrol and piceids in Saperavi (Vitis vinifera, L.)[J]. Annals of Agrarian Science, 2016, 15(1): 137-140.
- [8] MA Li-jie, LI Wang-ping, WANG Rui-xuan, et al. Resveratrol enhanced anticancer effects of cisplatin on non-small cell lung cancer cell lines by inducing mitochondrial dysfunction and cell apoptosis[J]. International Journal of Oncology, 2015, 47(4): 1 460-1 468.
- [9] VANCAUWENBERGHE E, NOYER L, DEROUCHE S, et al. Activation of mutated TRPA1 ion channel by resveratrol in human prostate cancer associated fibroblasts (CAF)[J]. Molecular Carcinogenesis, 2017, 56(8): 1 851-1 867.
- [10] SELVARAJ S, MOHAN A, NARAYANAN S, et al. Dose-dependent interaction of trans-resveratrol with biomembranes: effects on antioxidant property[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 56(3): 970-981.
- [11] GOKCE E H, TUNCAY T S, EROGLU I, et al. Wound healing effects of collagen-laminin dermal matrix impregnated with resveratrol loaded hyaluronic acid-DPPC microparticles in diabetic rats[J]. European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics, 2017, 119: 17-27.
- [12] YANG Yan-jing, HU Liang, XIA Ye-peng, et al. Resveratrol suppresses glial activation and alleviates trigeminal neuralgia via activation of AMPK[J]. Journal of Neuroinflammation, 2016, 13(1): 1-11.
- [13] DAVIDOV-PARDO G, MCCLEMENTS D J. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues[J]. Trends in Food Science & Technology, 2014, 38(2): 88-103.
- [14] LU Zhong, CHENG Bo, HU Ye-li, et al. Complexation of resveratrol with cyclodextrins: solubility and antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 17-20.
- [15] ZHANG Xiao-ping, LE Yuan, WANG Jie-xin, et al. Resveratrol nanodispersion with high stability and dissolution rate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 50(2): 622-628.
- [16] 高欣, 谢文利, 朱江, 等. 纳米级白藜芦醇和白藜芦醇 β -环糊精包合物生物利用度的比较研究[J]. 中草药, 2011, 42(5): 966-968.
- [17] 孙希岚. 白藜芦醇的分离纯化和溶解度的测定与关联[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 44-45.
- [18] 施永清, 郁莉萍, 潘王盈, 等. 改性柚皮纤维大豆分离蛋白复合膜的制备[J]. 中国食品学报, 2018, 18(2): 102-111.
- [19] 安伟娟. 白藜芦醇分子环糊精包合物的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009: 31-33.
- [20] KAUR K, UPPAL S, KAUR R, et al. Energy efficient, facile and cost effective methodology for formation of an inclusion complex of resveratrol with hp- β -CD [J]. New Journal of Chemistry, 2015, 39(11): 8 855-8 865.
- [21] TROCHESQUEIRA E, PÉREZJUSTE I, NAVARRO-VÁZQUEZ A, et al. A β -cyclodextrin-resveratrol inclusion complex and the role of geometrical and electronic effects on its electronic induced circular dichroism [J]. Rsc Advances, 2013, 3(26): 10 242-10 250.
- [22] TANG Bo, MA Li, WANG Huai-you, et al. Study on the supramolecular interaction of curcumin and beta-cyclodextrin by spectrophotometry and its analytical application[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1 355-1 361.
- [23] 张伟锋, 罗新, 王建辉, 等. 一种简便的环糊精超分子包结比测算新方法[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 5-8.
- [24] 曾张福, 方岩雄, 纪红兵, 等. 喷雾干燥法制备 β -环糊精/香兰素微胶囊[J]. 精细化工, 2012, 29(7): 59-63.
- [25] DIZAJ S M, VAZIFEHASL Z, SALATIN S, et al. Nanosizing of drugs: Effect on dissolution rate[J]. Research in Pharmaceutical Sciences, 2015, 10(2): 95-108.
- [26] 康秋红. 难溶性药物 STVNa 混合溶剂增溶技术及制剂产品的开发[D]. 广州: 华南理工大学, 2015: 5.