



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102631377 A

(43) 申请公布日 2012.08.15

(21) 申请号 201210128486.8

A61P 11/00(2006.01)

(22) 申请日 2012.04.28

A23L 1/29(2006.01)

(71) 申请人 三普药业股份有限公司

地址 810007 青海省西宁市德令哈路 58 号

(72) 发明人 张国清 邹存生 薛洪发

(74) 专利代理机构 南京君陶专利商标代理有限

公司 32215

代理人 奚胜元

(51) Int. Cl.

A61K 36/068(2006.01)

A61K 9/20(2006.01)

A61K 9/28(2006.01)

A61P 1/14(2006.01)

A61P 15/10(2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 16 页

(54) 发明名称

冬虫夏草冻干纳米粉片及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及的是一种冬虫夏草纳米粉、冬虫夏草冻干纳米粉片及其制备方法,属于医药及保健品领域。它是仅包含冬虫夏草全成分的冬虫夏草纳米粉,经冷冻干燥制成片剂,或将冻干品粉碎成粗粉后再压制成片剂,其中冬虫夏草纳米粉粒径为  $10^{\sim}800\text{nm}$ 。是在具有夹套冷却装置保护的条件下采用高能纳米球磨机将冬虫夏草粉碎成纳米级的微粉,粉碎后的粒径在  $10^{\sim}800\text{nm}$ ,将粉碎后的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,直接进行真空冷冻干燥制成冻干片,或制成不同含水量的冻干品后,再加冬虫夏草纳米粉,压制成片,包装即得。本发明制得的片剂补益成分无流失或破坏,口感好,产品质量均一、稳定,能迅速崩解,人体生物利用度高,且便于携带和使用。

1. 一种冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于:它是仅包含冬虫夏草全成分的冬虫夏草纳米粉,经冷冻干燥制成片剂,或将冻干品粉碎成粗粉后再压制成片剂,其中冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ 。

2. 根据权利要求1所述的冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于:所述的冬虫夏草冻干纳米粉片成品中含水量 $\leq 9\%$ 。

3. 根据权利要求1所述的冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于:所述的冬虫夏草纳米粉粒径范围为 $10\sim 230\text{nm}$ 、 $210\sim 425\text{nm}$ 、 $410\sim 615\text{nm}$ 、 $575\sim 800\text{nm}$ 中的一种或几种的混合物。

4. 权利要求1所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:步骤如下:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙杂质;

2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制烘干温度 $\leq 60^\circ\text{C}$ ,烘干后冬虫夏草含水量 $\leq 9\%$ ;

3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过10目筛;

4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于 $30^\circ\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为 $3\sim 10$ 小时,冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ ;在粉碎过程中,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎温度始终保持在 $30^\circ\text{C}$ 以下;

5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为 $1:2\sim 6$ ;

6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至制片剂的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^\circ\text{C}$ 以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^\circ\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^\circ\text{C}$ 升华干燥 $6\sim 18$ 小时,再在 $35^\circ\text{C}$ 解析干燥 $2\sim 10$ 小时,即得冬虫夏草冻干纳米粉片;

7)、将步骤6)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

5. 权利要求1所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:步骤如下:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙杂质;

2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制烘干温度 $\leq 60^\circ\text{C}$ ,烘干后冬虫夏草含水量 $\leq 9\%$ ;

3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过10目筛;

4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于 $30^\circ\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为 $3\sim 10$ 小时,冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ ;在粉碎过程中,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎温度始终保持在 $30^\circ\text{C}$ 以下;

5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为1:2~6;

6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至-40℃以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在-50℃以下,真空度<30Pa,在0℃升华干燥6~18小时,再在35℃解析干燥2~10小时,得到冬虫夏草纳米粉冻干品,其中含水量≤9%;

7)、将步骤6)所得到的冻干品粉碎成粗粉,过18~25目筛;

8)、采用浅凹冲模压片,制成冬虫夏草冻干纳米粉片;

9)、将步骤8)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

6. 权利要求1所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:步骤如下:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙杂质;

2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制烘干温度≤60℃,烘干后冬虫夏草含水量≤9%;

3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过10目筛;

4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于30℃,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为3~10小时,冬虫夏草纳米粉粒径为10~800nm;在粉碎过程中,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎温度始终保持在30℃以下;

5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为1:2~6;

6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至-40℃以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在-50℃以下,真空度<30Pa,在0℃升华干燥6~18小时,再在35℃解析干燥2~10小时,得到冬虫夏草纳米粉冻干品,其中含水量为9~35%;

7)、将步骤6)所得到的含水量9~35%的冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过18~25目筛,再与适量冬虫夏草纳米粉混匀,再过18~25目筛,其中冬虫夏草纳米粉加入量不大于冬虫夏草纳米粉冻干品的3倍;

8)、采用浅凹冲模压片,制成冬虫夏草冻干纳米粉片;

9)、将步骤8)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

7. 根据权利要求4、5或6所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:所述的冬虫夏草冻干纳米粉片成品中含水量≤9%。

8. 根据权利要求4、5或6所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:所述冬虫夏草包括虫体和子座在内的冬虫夏草全成分。

9. 根据权利要求4、5或6所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:可

将步骤 3) 省去, 直接将步骤 2) 所得的经预处理并干燥后的冬虫夏草药材放入高能纳米球磨机中粉碎得冬虫夏草纳米粉。

10. 根据权利要求 4、5 或 6 所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法, 其特征在于: 所述冻干或压制成型的冬虫夏草冻干纳米粉片可进行包薄膜衣处理。

## 冬虫夏草冻干纳米粉片及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及的是一种冬虫夏草纳米粉、冬虫夏草冻干纳米粉片及其制备方法,属于医药及保健品领域。

### 背景技术

[0002] 冬虫夏草为麦角科(肉座菌科)虫草属植物冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 寄生在鳞翅目蝙蝠蛾科昆虫蝙蝠蛾 *Hepialus armoricanus* Oberthur 幼虫上的子座和幼虫尸体的复合体,是我国传统的名贵中药材,多生于高寒山区、草原、河谷、草丛中,分布于甘肃、青海、四川、云南、西藏等省区。中医认为,冬虫夏草入肺肾二经,既能补肺阴,又能补肾阳,主治肾虚,阳痿遗精,腰膝酸痛,病后虚弱,久咳虚弱,劳咳痰血,自汗盗汗等,是唯一的一种能同时平衡、调节阴阳的中药。现代科学发现了冬虫夏草越来越多的神奇功效。总体而言,冬虫夏草不但对人体各种脏器功能具有调节作用,还存在某些直接抗病功能。

[0003] 冬虫夏草为名贵中药材,如何提高名贵珍稀中药材的利用效率,使其利用效率发挥到最大而又可以持续利用开发,一直是医药工作者研究的热点,提高冬虫夏草的生物利用率,不仅可以最大效率的发挥名贵中药材的补益和治疗作用,并能使有限的药材资源得到很好的保护,便于可持续利用开发。冬虫夏草中含有多种对人体有益的氨基酸、蛋白质、甘露醇、虫草素及微量元素等,传统的使用方法如煎煮、酒浸及常规粉碎后制成的片剂、胶囊、散剂、丸剂等均不能使冬虫夏草中的有效成分被人体完全吸收利用,且造成资源的浪费。如中国专利申请(公开号 CN102304457A)冬虫夏草酒的制备方法,该专利文献公开了冬虫夏草酒的制备方法为:43~53度的食用白酒100质量份加1质量份的冬虫夏草水提取液和1质量份的冬虫夏草酒提取液,混合均匀而成,该酒剂中腺苷含量大于0.00003%,多糖含量大于0.005%。中国专利申请(公开号 CN102187923A)和中国专利申请(公开号 CN101336665B)中均公开了一种含北冬虫夏草的饮用茶。中国专利申请(公开号 CN101019899A)和中国专利申请(公开号 CN1439423A)中均公开了一种虫草或虫草提取物含片的制备方法,主要采用冬虫夏草粉碎物或提取物与适量辅料组成。中国专利申请(公开号 CN101019898A)和中国专利申请(公开号 CN101332212A)中公开了一种冬虫夏草的微粉碎方法和微粉片的制备方法,其将冬虫夏草的虫体和子座分别粉碎,其粉碎后的虫体和子座可过40~2500目筛或更细,粒径为5~425微米或更细,选用小于150微米的微粉,控制水分含量在8~18%之间直接或多次压片后而得微粉片。目前,未见将冬虫夏草在低温粉碎至纳米级细度及制备成纳米粉片的报道。

[0004] 另外,在人体内,载药微粒主要被网状上皮细胞丰富的肝、脾、骨髓等吸收,作为异物被巨噬细胞吞噬,有些颗粒能被溶酶体中的酶系攻击,导致其裂解并释放出药物。颗粒的粒径直接影响其体内分布,比如粒径 $< 5\mu\text{m}$ 的微粒可以通过肺,粒径 $< 300\text{nm}$ 的微粒可以进入血液循环,粒径 $< 100\text{nm}$ 的微粒能进入骨髓,因此纳米粒系统更容易通过胃、肠粘膜和鼻腔粘膜,甚至皮肤的角质层,使口服、鼻腔给药和透皮吸收的生物利用度得以提高。纳米

粒的组成也能影响其体内分布和吸收,如脑硫酯的脂质体,包封葡萄糖氧化酶后能够克服血脑屏障而进入脑组织。现代对冬虫夏草的应用,主要将其煎煮炖汤,或制成药酒饮用,或者制为茶剂饮用,或者常规粉碎后与适宜辅料或单独制为片剂、丸剂、胶囊服用,或者提取为浸膏后与其他中药材配伍使用。常规的煎煮、酒浸和茶饮均不能使冬虫夏草中的有益成分完全释出或释出缓慢,生物利用效率低且造成名贵中药材的资源浪费,因此,将冬虫夏草进行微粉化或超微粉化后,不仅能够提高其在体内的释药速率,还能提高生物利用度,节约资源。

[0005] 中药是中华名族的宝贵遗产,已经和正在为维护我们名族的繁荣昌盛发挥重要作用,中药材中对人体有益成分、微量元素、化合物众多,结构复杂,传统中药炮制工艺或制剂技术对有限的中药材资源造成较大浪费,且中药材中的许多热敏性成分、易氧化成分、芳香具挥发性活性物质或活性酶容易受到炙烤、煎煮、高温、常规粉碎等的破坏而发生劣变,使得中药材的保健和治疗作用大大降低。虽然我国药用动植物资源丰富,但是盲目的采挖开发及生态破坏,不少名贵、珍稀中药品种濒临灭绝,成为稀缺资源。目前,大部分中药材仍采用传统制剂工艺制备为传统剂型入药,如丸剂、片剂、胶囊、汀剂等,剂型单一、服用量过大,且我国传统的中药提取工艺主要为水提或醇提两种,均分别只能提取水溶性或醇溶性成分而不能使有效成分完全溶出,提取过程中加热还使生物活性物质受到破坏。

[0006] 生物体对药物的吸收、代谢是一个极其复杂的过程,特别对于含有众多具有药理药效作用物质的中药材来说,其药效的发挥不能单一的归功于该药特有的活性化学成分或活性部位,中药材药效作用的发挥应该是中药材中的物质群,且与中药材的存在状态有关,而非单一某成分或者某部位。改变药物单元尺寸大小,不仅可以改变药物的物理状态,还可改变药物的生物利用度,并可能产生新的药理作用。纳米技术的诞生,为传统中药产业的改造创造了前所未有的契机,纳米中药已完全达到细胞破壁,以其高溶解度、高吸收度、高生物利用度、高释放度、高渗透力的高效、长效及靶向治疗等特点,对中药产业的现代化具有重要意义。纳米中药不仅具有中药材纯天然、全成分本质,不需煎煮或者提取即可直接发挥药理药效,还可大大减少服药量,对于降低中药材价格,加大中药材的可持续利用开发具有重要意义。

[0007] 将冬虫夏草采用适当方法粉碎成纳米粉后,制成片剂,方便携带和使用。冬虫夏草粉碎至纳米级细度后,可以完全达到细胞破壁、破膜,服用后药材中的有效成分释放完全,被身体完全吸收利用,吸收迅速,药材利用率高。特别是在低温条件下进行粉碎,对药材中的补益成分几无影响,在此条件下药材中的有益成分可以完整无劣变的保留下来,可以减少服药量,节约药材,达到中药材,特别是名贵、珍稀、濒危中药材的可持续利用发展要求。

[0008] 总之,目前尚未见在低温条件下将冬虫夏草粉碎成纳米级细度,且采用冬虫夏草纳米粉纯粉制备成常规口服固体制剂(如片剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、丸剂、颗粒剂、散剂、分散片、缓释片)的报道。

## 发明内容

[0009] 本发明的目的之一在于提供一种冬虫夏草纳米粉及其制备方法,所述纳米粉为一种含有冬虫夏草全成分的纳米级微粉,所述制备方法为在较低温度( $\leq 30^{\circ}\text{C}$ )条件下采用高能纳米球磨机将冬虫夏草全药材粉碎至纳米级细度。所述纳米粉能达到细胞破壁、破

膜,与未粉碎的冬虫夏草全药材相比补益成分无损耗、无劣变,且能加速有效成分的溶出,提高人体生物利用度。与中国专利申请(公开号 CN101019898A)和中国专利申请(公开号 CN1362059)相比,本发明在循环冷却水或循环冷却液保护条件下采用球磨纳米制备技术将冬虫夏草全药材粉碎至纳米级微粉,在此条件下通过外部冷却剂循环将粉碎过程中产生的大量热量带走,始终保持粉碎在较低温度下进行,避免了高温对药材中热性有效成分的破坏,且无需将虫体和子座分开粉碎即可保证对有效成分无影响,且由于虫草和子座中的有效成分有所不同,全药材粉碎方法比将子座和虫体分开粉碎方法更有利于有效成分的均匀分散,保证产品质量的均一、稳定,保证了纳米粉中冬虫夏草的全天然、全成分本质,发挥药效的物质群与全药材一致且能提高生物利用度、减少服用量。

[0010] 本发明的目的之二在于提供一种由冬虫夏草纳米粉纯粉制备而成的口服制剂,所述制剂为片剂,即冬虫夏草纳米粉片。本品为采用冬虫夏草纳米粉纯粉制备而成的片剂,不添加任何辅料,可有效避免辅料对有效成分吸收的影响。

[0011] 本发明的目的之三在于提供一种冬虫夏草纳米粉片的制备方法,所述制备方法为采用冷冻干燥法制备冬虫夏草纳米粉片,解决了由于冬虫夏草纳米粉纯粉水分含量较低、流动性差、质轻易飞散而较难直接压制成片剂或需要反复多次压制、粉碎才能制成片剂的困难,且能避免按常规湿法制粒压片工艺与适宜辅料混合制粒后干燥操作对冬虫夏草中有效成分可能造成的破坏。按所述方法制备冬虫夏草纳米片对冬虫夏草有效成分无损耗、无劣变,制备的片剂无裂片、松片,硬度好,崩解迅速,其外观性状、释药速率等均符合要求。根据需要,为提高消费者服用本品的顺应性,也可对制备好的片剂进行包衣,避免虫草本身的腥气味给对异味较敏感人群的使用带来困难。按所述制备方法制备冬虫夏草纳米片可避免常规纯粉制片工艺过程中的反复粉碎、压片,操作简单,且可有效避免反复粉碎对有效成分可能造成的破坏和多次反复操作对物料造成的浪费和产品质量不均。

[0012] 解决本发明技术问题是通过以下技术方案实现的:

一种冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于:它是仅包含冬虫夏草全成分的冬虫夏草纳米粉,经冷冻干燥制成片剂,或将冻干品粉碎成粗粉后再压制成片剂,其中冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ 。

[0013] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片,其他名称亦可叫冬虫夏草纳米粉冻干片、冬虫夏草纳米冻干片、虫草冻干纳米片、虫草纳米冻干片、冬虫夏草冻干片、虫草冻干片、冬虫夏草纳米粉片、虫草纳米粉片、冬虫夏草纳米片或虫草纳米片。

[0014] 所述冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于只包含冬虫夏草纳米粉,采用冷冻干燥技术制备而得的口服片剂,规格为 $0.25\text{g}/\text{片}$ 、 $0.5\text{g}/\text{片}$ 、 $0.75\text{g}/\text{片}$ 。

[0015] 所述的冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 230\text{nm}$ 。

[0016] 所述的冬虫夏草纳米粉粒径为 $210\sim 425\text{nm}$ 。

[0017] 所述的冬虫夏草纳米粉粒径为 $410\sim 615\text{nm}$ 。

[0018] 所述的冬虫夏草纳米粉粒径为 $575\sim 800\text{nm}$ 。

[0019] 所述的冬虫夏草冻干纳米粉片,其特征在于:按冬虫夏草中药饮片炮制规定,成品中含水量 $\leq 9\%$ 。

[0020] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法:包括中药材预处理,低温粉碎,制备均质浆液,冷冻干燥,粉碎过筛,压片和包装等工艺。

[0021] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,步骤如下:

1)、将冬虫夏草(冬虫夏草全药材)进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0022] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制干燥温度 $\leq 60^{\circ}\text{C}$ ,烘干后冬虫夏草含水量 $\leq 9\%$ 。

[0023] 3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过10目筛。

[0024] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于 $30^{\circ}\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为 $3\sim 10$ 小时,冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ 。在粉碎过程中,如被粉碎物料有特殊要求或粉碎时间较长,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎时的温度始终保持 $30^{\circ}\text{C}$ 以下。

[0025] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为 $1:2\sim 6$ 。

[0026] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至制片剂的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥 $6\sim 18$ 小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥 $2\sim 10$ 小时,即得冬虫夏草冻干纳米粉片。

[0027] 7)、将步骤6)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0028] 所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,可将上述步骤3)省去,直接将步骤2)所得的经预处理并干燥后的冬虫夏草药材放入高能纳米球磨机中粉碎得冬虫夏草纳米粉。

[0029] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,步骤如下:

1)、将冬虫夏草(冬虫夏草全药材)进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0030] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制干燥温度 $\leq 60^{\circ}\text{C}$ ,烘干后冬虫夏草含水量 $\leq 9\%$ 。

[0031] 3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过10目筛。

[0032] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于 $30^{\circ}\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为 $3\sim 10$ 小时,冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ 。在粉碎过程中,如被粉碎物料有特殊要求或粉碎时间较长,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎时的温度始终保持 $30^{\circ}\text{C}$ 以下。

[0033] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为 $1:2\sim 6$ 。

[0034] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入

冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥 $6\sim 18$ 小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥 $2\sim 10$ 小时,得到冬虫夏草纳米粉冻干品,其含水量 $\leq 9\%$ 。

[0035] 7)、将步骤6)所得到的冻干品粉碎成粗粉,过 $18\sim 25$ 目筛。

[0036] 8)、采用浅凹冲模压片,制成冬虫夏草冻干纳米粉片;

9)、将步骤8)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0037] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,步骤如下:

1)、将冬虫夏草(冬虫夏草全药材)进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0038] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草烘干,控制干燥温度 $\leq 60^{\circ}\text{C}$ ,烘干后冬虫夏草含水量 $\leq 9\%$ 。

[0039] 3)、将烘干后冬虫夏草粉碎成粗粉,过 $10$ 目筛。

[0040] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内的温度小于 $30^{\circ}\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉,振动研磨时间为 $3\sim 10$ 小时,冬虫夏草纳米粉粒径为 $10\sim 800\text{nm}$ 。在粉碎过程中,如被粉碎物料有特殊要求或粉碎时间较长,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎时的温度始终保持 $30^{\circ}\text{C}$ 以下。

[0041] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉加入适量纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液,其中冬虫夏草纳米粉与纯化水质量配比为 $1:2\sim 6$ 。

[0042] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥 $6\sim 18$ 小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥 $2\sim 10$ 小时,得到冬虫夏草纳米粉冻干品,其含水量为 $9\sim 35\%$ 。

[0043] 7)、将步骤6)所得到的含水量 $9\sim 35\%$ 的冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 $18\sim 25$ 目筛,再与适量冬虫夏草纳米粉混匀,再过 $18\sim 25$ 目筛,其中冬虫夏草纳米粉加入量不大于冬虫夏草纳米粉冻干品的 $3$ 倍。

[0044] 8)、采用浅凹冲模压片,制成冬虫夏草冻干纳米粉片。

[0045] 9)、将步骤8)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0046] 所述的冬虫夏草冻干纳米粉片的制备方法,其特征在于:所述冻干或压制成型的冬虫夏草冻干纳米粉片可进行包薄膜衣处理,增加口服顺应性、增加药片机械强度、防止吸潮等。

[0047] 所述的冬虫夏草纳米粉为冬虫夏草全成分的纳米粉,包括虫体和子座在内的冬虫夏草全成分,在冷却水或冷却液循环冷却保护的条件下粉碎而得。

[0048] 所述的冬虫夏草纳米粉为冬虫夏草全成分的纳米粉,包括虫体和子座在内的冬虫夏草全成分,在冷却水或冷却液循环冷却保护的条件下采用高能纳米球磨机粉碎而得。

[0049] 所述的冬虫夏草纳米粉为冬虫夏草全成分的纳米粉,包括虫体和子座在内的冬虫夏草全成分,根据制备时的特殊要求或粉碎时间较长,可在已有冷却水或冷却液循环冷却保护的条件下,再向纳米球磨机罐体内不时通入惰性气体或液氮进一步保护。

[0050] 所述冷却水或冷却液循环,冷却水为自来水或井水,冷却液为 $< 0^{\circ}\text{C}$ 的可循环流动的冷却液。

[0051] 冬虫夏草为名贵珍稀中药材,自然资源有限,为使其利用价值更大化,应尽量节约使用。本发明所产出的高能纳米球磨机还可将筛选去杂预处理并干燥后的冬虫夏草药材直接放入高能纳米球磨机罐体内粉碎得纳米级的微粉。此粉碎方法较从粗粉开始粉碎的粉碎时间稍长,但减少了操作步骤,可提高粉碎收率,节约了资源。

[0052] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片是将冬虫夏草全药材在较低温条件下采用球磨纳米粉碎技术粉碎成粒径 $10\sim 800\text{nm}$ 的纳米粉,接着将冬虫夏草纳米粉与适量水制成均质浆液后迅速冷冻成固体,再于真空条件下,采用冷冻干燥方法从冻结状态不经液态而直接升华除去水分而得。也可将冬虫夏草纳米粉采用冷冻干燥法制备成冻干品,再粉碎成粗粉,采用适宜压片模具压片而得;或者先将冬虫夏草纳米粉采用冷冻干燥法制备成含水量在 $9\sim 35\%$ 的冻干品,粉碎过筛后再与适量未冷冻干燥处理的冬虫夏草纳米粉混匀,过筛,采用适宜压片模具压制而得。

[0053] 所述的冬虫夏草纳米粉片为采用冷冻干燥技术制备的片剂。

[0054] 所述的冬虫夏草全药材为天然采挖的冬虫夏草药材,粉碎前需进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0055] 所述冬虫夏草全药材在较低温度下采用球磨纳米粉碎技术粉碎成粒径 $10\sim 800\text{nm}$ 的纳米粉是指将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入冷却水或冷却液循环,控制罐体内温度小于 $30^{\circ}\text{C}$ ,开启球磨机,使罐体作快速的多维摆动式运动,磨介在罐体多维式摆动式运动过程中在罐内作不规则运动,延长运动轨迹,产生巨大冲击力和冲击能,使冬虫夏草颗粒达到纳米级细粉。在粉碎过程中,如被粉碎物料有特殊要求或粉碎时间较长,夹套的冷却效果不能满足粉碎的温度要求时,可通过加气塞或加料塞不时向球磨机罐体内加入惰性气体或液氮进行保护,使粉碎时的物料温度始终保持在 $30^{\circ}\text{C}$ 以下。经过 $3\sim 10$ 小时的振动研磨,将冬虫夏草粗粉研磨成冬虫夏草纳米粉,研磨后的冬虫夏草冻干纳米粉粒径在 $10\sim 800\text{nm}$ 。

[0056] 所述冷冻干燥方法为:将冬虫夏草纳米粉与适量水制备成均质混悬液后,通过加料机加入准备好的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,当所有配制液完全冻实后,开启干燥程序,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥 $6\sim 18$ 小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥 $2\sim 10$ 小时,得到冬虫夏草纳米粉冻干品或冬虫夏草冻干纳米粉片。

[0057] 所述片剂的制备方法为:将冬虫夏草纳米粉与适量水制备成均质浆液,直接加入适宜制片模具中冷冻干燥而得;或者将冬虫夏草纳米粉与适量水制备成均质浆液,采用冷冻干燥法得到冻干品,再粉碎过筛后直接采用浅凹冲模压片;或者将粉碎过筛后的冻干品与适量未冷冻干燥的冬虫夏草纳米粉混合后再过筛、压片而得。

[0058] 研究发现,当冻干品中的水分含量超过 $35\%$ ,或者冬虫夏草纳米粉与冻干品的质量配比大于 $3$ 时,有粘冲、裂片、花片现象,成品率低。所以冻干品的水分不能超过 $35\%$ ,冬虫夏

草纳米粉与冻干品的质量配比不大于 3。

[0059] 本发明冬虫夏草冻干纳米粉片及其制备方法优点：

通过上述技术方案制得的冬虫夏草冻干纳米粉片，达到了冬虫夏草中药材细胞破壁、破膜，在粉碎过程中通过外部循环冷却水或冷却液将粉碎过程中产生的大量热量带走，或者向粉碎时的罐体内加入惰性气体或液氮进一步降低粉碎时的温度，使粉碎始终在较低温度下进行，这样就完全保存了冬虫夏草中有效成分的活性作用，保全了冬虫夏草纯天然、全成分的本质。采用高能纳米球磨机制备冬虫夏草纳米粉，通过罐体快速的多维摆动式运动，使磨介在罐体内不规则运动，从而产生巨大的冲击力，延长磨介的运动轨迹，提高冲击能，减少撞击盲点，可显著提高罐内磨介的冲击能量和运动次数，工作效率是传统球磨机的几十倍，同时大大提高了粉体颗粒的均匀度。采用冷冻干燥技术制备的冬虫夏草纳米粉片，解决了由于冬虫夏草纳米粉纯粉水分含量较低、流动性差、质轻易飞散而较难直接压制成片剂或需要反复多次压制、粉碎、再压制才能制成片剂的困难，且能避免按常规湿法制粒压片工艺与适宜辅料混合制粒后干燥操作对冬虫夏草中有效成分可能造成的破坏，片剂外观色泽均匀，硬度好，无裂片、松片，崩解迅速，完全符合国家相关部门的标准要求。本发明的冬虫夏草纳米片与常规提取物压片或全药材粗粉碎后压片相比，服用量可大大减少，且提高了人体生物利用度，补益成分无损耗、无劣变，使名贵珍稀中药材的资源利用效率最大化，对于资源的可持续利用和临床使用意义重大。本发明方法制得的冬虫夏草冻干纳米粉片剂补益成分无流失或破坏，口感好，产品质量均一、稳定，能迅速崩解，人体生物利用度高，且便于携带和使用。

### 具体实施方式

[0060] 以下通过实施例，结合实施例研究结果，进一步说明本发明，下述实施例仅用于说明本发明而对本发明没有限制。

[0061] 本发明中，发明人在研究过程中发现，冬虫夏草粉的颗粒越细，其主要补益成分溶出得越多，溶出速度越快，且冬虫夏草中的部分补益成分对温度比较敏感，高温容易对物质产生破坏作用，使其效能较低。以下通过对冬虫夏草不同粉碎级别及粉碎方法对有效物质的溶出及制剂后有效物质的溶出的影响试验说明本发明的选择依据。

[0062] 1、不同粉碎方法对冬虫夏草中有效成分的影响：

分别采用不加冷却装置的粉碎方法（常规粉碎）和夹套冷却水冷却保护的粉碎方法（低温粉碎）将同一批冬虫夏草粉碎成纳米粉（粒径  $10^{\sim}800 \mu\text{m}$ ），两种粉碎方法粉碎成的粉末中的主要有效成分的测定结果见下表。

	腺苷含量 (%)	虫草素含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	多糖含量 (%)	甘露醇含量 (%)
常规粉碎	0.043	5.98	4.41	0.435
低温粉碎	0.057	7.31	4.38	0.440

[0063] 从表中数据可以看出，低温粉碎的粉末中腺苷和虫草素含量明显比常温粉碎的粉末中的含量要高。这主要是因为常温粉碎过程中温度不断升高使得腺苷和虫草素被部分破坏的结果，低温粉碎中粉末一直处于低温环境下，对有效成分起到保护作用而无破坏。多

糖和甘露醇由于受温度影响较小,所以两种粉末中的含量无明显区别。

[0064] 2、不同粉碎级别对冬虫夏草中有效成分溶出的影响

采用低温粉碎方法将冬虫夏草粉碎成不同级别的粉末,测定各粉末和全草中有效成分在不同时间段的溶出量。粉末级别分为粗粉(250~850 μm)、细粉(10~80 μm)、纳米粉(10~800nm)。不同粉碎级别的冬虫夏草中有效成分随时间的溶出量见下表。

[0065] 不同粉碎级别的冬虫夏草中总溶出物的溶出量(g)

粉碎级别	溶出时间 (min)				
	1	8	15	35	60
全草	0.02133	0.09867	0.10215	0.12031	0.14721
粗粉	0.05234	0.12124	0.13578	0.14654	0.16623
细粉	0.15217	0.18327	0.22013	0.24625	0.27835
纳米粉	0.30894	0.36988	0.38849	0.40591	0.41637

不同粉碎级别的冬虫夏草中腺苷的溶出度(%)

粉碎级别	溶出时间 (min)				
	1	8	15	35	60
全草	0.00	0.48	1.21	1.69	1.71
粗粉	0.57	1.54	1.75	2.02	2.76
细粉	2.63	3.85	4.01	5.78	9.48
纳米粉	5.01	6.32	8.57	12.14	15.21

不同粉碎级别的冬虫夏草中虫草素的溶出度(%)

粉碎级别	溶出时间 (min)				
	1	8	15	35	60
全草	—	—	—	—	—
粗粉	—	—	—	—	—
细粉	0.19	0.32	0.35	0.88	0.87
纳米粉	0.37	0.54	0.65	1.13	1.09

不同粉碎级别的冬虫夏草中多糖的溶出度(%)

粉碎级别	溶出时间 (min)			
	1	10	20	30
全草	--	0.67	0.89	1.10
粗粉	0.45	0.86	1.53	1.98
细粉	2.85	3.31	3.55	3.62
纳米粉	5.01	5.21	5.11	4.89

不同粉碎级别的冬虫夏草中甘露醇的溶出度(%)

粉碎级别	溶出时间 (min)				
	1	8	15	35	60
全草	0.23	1.12	1.17	1.17	1.20
粗粉	0.95	1.01	1.14	1.21	1.28
细粉	1.62	1.65	1.68	1.72	1.74
纳米粉	2.12	2.07	2.11	2.24	2.35

从实验结果汇总表中可以看出,随着粉末粉碎粒径越细,在同一时间有效成分的溶出量逐渐增加,有效成分的总溶出量也越多,其中纳米粉中溶出的有效成分是细粉的2~3倍左右,是粗粉中溶出的有效成分的2~7倍,是全草中溶出的有效成分的2~10倍。

#### [0066] 3、冬虫夏草纳米片与全药材中有效成分的溶出速率比较

将冬虫夏草纳米粉采用冷冻干燥法制成口服片剂,并与等量的全药材比较其在不同时间段的溶出速率,以腺苷为测定指标。

#### [0067] 冬虫夏草纳米片与全药材中腺苷的溶出度(%)

粉碎级别	溶出时间 (min)				
	1	8	15	35	60
全药材	0.00	0.48	1.21	1.69	1.71
冻干片	2.45	3.01	3.35	3.12	3.42

从表中试验数据可以看出,冬虫夏草纳米片中腺苷的总溶出量是全药材的3倍,且崩解迅速,腺苷迅速溶出。

#### [0068] 4、总溶出物的测定

精密称取冬虫夏草全草或粉末(每组至少三个平行样),用小杯法测定溶出度,以100ml纯化水做溶出介质,温度为37℃±1度,浆法,转速为50转每分钟,分别于1、8、15、35、60分钟取样,取30ml滤液检测。

#### [0069] 5、虫草素含量测定

### 色谱条件

色谱柱：Alltima C18 色谱柱 (4.6mm×250mm, 5 μm) ;流动相：甲醇-水 (15 :85), 用 0.45 μm 滤膜过滤 ;柱温为 30℃, 流速 :1.0 ml / min ;检测波长 :260nm。

[0070] 理论板数按虫草素计算大于 6000, 外标法测定。

[0071] 对照品溶液的制备 :精密称取干燥至恒重的腺苷对照品 2.52mg, 虫草素 1.03mg, 置 50ml 容量瓶中, 加 90% 甲醇溶解并定容, 即得混合对照品溶液。

[0072] 供试品溶液的制备 :取干燥至恒重的供试品, 研成细粉, 取 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 90% 甲醇 10ml, 密塞, 摇匀, 称定重量, 加热回流 30min, 放冷, 再称定重量, 用 90% 甲醇补足失去的重量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 或取上述溶出液用 0.45 μm 的滤膜滤过即为供试品溶液。

[0073] 标准曲线的制备 :分别精密吸取混合对照品溶液 2.0, 6.0, 10.0, 14.0, 18.0ml, 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行测定峰面积, 以峰面积为横坐标, 进样量为纵坐标求回归方程, 虫草素的回归方程为 : $Y=2.9423 \times 10^6 X - 2.0001 \times 10^4$ ,  $r=0.9998$ , 线性范围 0.0412~0.3708 μg。

### [0074] 6、腺苷含量测定

#### 色谱条件

色谱柱：Alltima C18 色谱柱 (4.6mm×250mm, 5 μm) ;流动相：甲醇-水 (15 :85), 用 0.45 μm 滤膜过滤 ;柱温为 30℃, 流速 :1.0 mL/min ;检测波长 :260nm。

[0075] 理论板数按腺苷计算大于 5000, 外标法测定。

[0076] 对照品溶液的制备 :精密称取干燥至恒重的腺苷对照品 2.52mg, 虫草素 1.03mg, 置 50ml 容量瓶中, 加 90% 甲醇溶解并定容, 即得混合对照品溶液。

[0077] 供试品溶液的制备 :取干燥至恒重的供试品, 研成细粉, 取 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 90% 甲醇 10ml, 密塞, 摇匀, 称定重量, 加热回流 30min, 放冷, 再称定重量, 用 90% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 或取上述溶出液即为供试品溶液。

[0078] 标准曲线的制备 :分别精密吸取混合对照品溶液 2.0, 6.0, 10.0, 14.0, 18.0ml, 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行测定峰面积, 以峰面积为横坐标, 进样量为纵坐标求回归方程, 腺苷的回归方程为 : $Y=3.3617 \times 10^6 X - 5.7013 \times 10^3$ ,  $r=0.9997$ , 线性范围 0.1080~0.9072 μg。

### [0079] 7、甘露醇含量测定

溶液配制 :高碘酸钠溶液 [ 硫酸溶液 (98% 浓硫酸 1 mL+ 蒸馏水 19 mL) 90 mL 与高碘酸钠溶液 (高碘酸钠 2.3 g+ 蒸馏水至 1000 mL) NASH 试剂 (150 g 醋酸铵 +2 mL 冰醋酸 +2 mL 乙酰丙酮, 用蒸馏水定容至 1000 mL)

供试品溶液的制备 :取上述溶出液即为供试品溶液。

[0080] 测定方法 :供试品溶液适量于试管中, 补水至 1mL, 分别加入 1mL 高碘酸钠溶液 [ 硫酸溶液 (98% 浓硫酸 1 mL+ 蒸馏水 19 mL) 90 mL 与高碘酸钠溶液 (高碘酸钠 2.3 g+ 蒸馏水至 1000 mL) 110 mL 混合制成 ], 混匀, 室温放置 10min, 加 2mL 0.1% 鼠李糖溶液, 以除去过多的高碘酸钠, 混合后, 加入 4mL 新鲜的 NASH 试剂 (150 g 醋酸铵 +2 mL 冰醋酸 +2 mL 乙酰丙酮, 用蒸馏水定容至 1000 mL), 53℃ 水浴 15min, 使其呈色, 冷却, 在 413nm 处测吸光

度。

[0081] 标准曲线:称取100mg甘露醇加水定容于100mL容量瓶中,吸取2.5mL于25mL的容量瓶中,定容,得0.1mg/mL的甘露醇溶液,分别吸取0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9mL于不同的试管中,补水至1mL,分别加入1mL高碘酸钠溶液[硫酸溶液(98%浓硫酸1mL+蒸馏水19mL)90mL与高碘酸钠溶液(高碘酸钠2.3g+蒸馏水至1000mL)110mL混合制成],混匀,室温放置10min,加2mL0.1%鼠李糖溶液,以除去过多的高碘酸钠,混合后,加入4mL新鲜的NASH试剂(150g醋酸铵+2mL冰醋酸+2mL乙酰丙酮,用蒸馏水定容至1000mL),53℃水浴15min,使其呈色,冷却,在413nm处测吸光度。以同样处理的1mL蒸馏水作空白对照。线性方程为 $Y=0.07595+10.101X$ , ( $X$ 为浓度, $Y$ 为吸光度值), $R=0.9997$ 。 $X$ 在0.01~0.06mg/mL之间有良好的线性关系。

#### [0082] 8、多糖含量测定

溶液配制:0.2%的蒽酮—硫酸溶液

测定方法:取样品适量于不同的试管中,补水至1mL,并分别加入0.2%的蒽酮—硫酸4mL,(先加的浸入冰水中,各管加完后一起沸水浴),管口用硅胶试管塞塞住,沸水浴10min,用自来水冷却,室温放置10min,于620nm处测吸光度。

[0083] 供试品溶液的制备:取上述溶出液即为供试品溶液。

[0084] 葡萄糖标准曲线:将葡萄糖在干燥箱中于80℃下烘至恒重,精确称取100mg,定容至100mL,吸取2.5mL于25mL的容量瓶中,定容,即得0.1mg/mL的葡萄糖液,分别吸取0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9mL于不同的试管中,补水至1mL,并分别加入0.2%的蒽酮—硫酸4mL,(先加的浸入冰水中,各管加完后一起沸水浴),管口用硅胶试管塞塞住,沸水浴10min,用自来水冷却,室温放置10min,于620nm处测吸光度。以同样处理的1mL蒸馏水作空白对照。线性方程为 $Y=0.02099+9.7012\times X$ , ( $X$ 为浓度, $Y$ 为吸光度值), $R=0.9989$ 。 $X$ 在0.01~0.09mg/mL之间有良好的线性关系。

#### [0085] 9、实施例

实施例1

规格:0.25g/片

处方:

冬虫夏草纳米粉	2.5kg
纯化水	5kg
制成	10000粒

制法:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0086] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草在50℃烘干,烘干后冬虫夏草含水量为3.4%。

[0087] 3)、将干燥后的冬虫夏草药材放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入自来水循环冷却,开启球磨机研磨,研磨时间为5小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为575~800nm。

[0088] 4)、将步骤3)所得的冬虫夏草纳米粉2.5kg加入5kg纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0089] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至制片剂的模具(孔直径

Φ10mm)中,每个模孔 $0.75\pm 0.05\text{g}$ ,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,预冻2小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥6小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥4小时,即得冬虫夏草冻干纳米粉片,其含水量为3.5%。

[0090] 6)、将步骤5)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0091] 实施例2

规格:0.25g/片

处方:

冬虫夏草纳米粉	2.5kg
纯化水	10kg
制成	10000粒

制法:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0092] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草在 $60^{\circ}\text{C}$ 烘干,烘干后冬虫夏草含水量为4.2%。

[0093] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过10目筛。

[0094] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入自来水循环冷却,开启球磨机,振动研磨时间为3小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为 $410\sim 615\text{nm}$ 。

[0095] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉2.5kg加入10kg纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0096] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 $-40^{\circ}\text{C}$ 以下,预冻2小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下,真空度 $< 30\text{Pa}$ ,在 $0^{\circ}\text{C}$ 升华干燥8小时,再在 $35^{\circ}\text{C}$ 解析干燥6小时,得冻干品,含水量7.2%。

[0097] 7)、将步骤6)所得的冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过18~25目筛。

[0098] 8)、采用 $\Phi 7\text{mm}$ 浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,其含水量为7.2%。

[0099] 9)、将步骤8)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0100] 实施例3

规格:0.5g/片

处方:

冬虫夏草纳米粉	2.5kg
纯化水	15kg
制成	10000粒

制法:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0101] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草在 $50^{\circ}\text{C}$ 烘干,烘干后冬虫夏草含水量为9%。

[0102] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过10目筛。

[0103] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入  $-5^{\circ}\text{C}$  的冷却液循环,开启球磨机,振动研磨时间为 7 小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为  $10\sim 230\text{nm}$ 。在研磨过程中,不时向罐体内加入液氮冷却。

[0104] 5)、将步骤 4) 所得的冬虫夏草纳米粉 2.5kg 加入 15kg 纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0105] 6)、将步骤 5) 所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至  $-40^{\circ}\text{C}$  以下,预冻 3 小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在  $-50^{\circ}\text{C}$  以下,真空度  $< 30\text{Pa}$ ,在  $0^{\circ}\text{C}$  升华干燥 10 小时,再在  $35^{\circ}\text{C}$  解析干燥 6 小时,得冻干品,含水量为 12.8%。

[0106] 7)、将步骤 6) 所得冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 18 目筛。

[0107] 8)、另取 2.5kg 冬虫夏草纳米粉,与步骤 7) 过筛后的冬虫夏草纳米粉冻干品混匀。

[0108] 9)、将步骤 8) 所得的冬虫夏草纳米粉与冻干品混合物过 18 目筛。

[0109] 10)、采用  $\Phi 11\text{mm}$  浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,含水量 7.1%。

[0110] 11)、将步骤 10) 所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

#### [0111] 实施例 4

规格 :0.75g/ 片

处方 :

冬虫夏草纳米粉	7.5kg
纯化水	30kg
制成	10000 粒

制法 :

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0112] 2)、将步骤 1) 所得的经预处理的冬虫夏草在  $60^{\circ}\text{C}$  烘干,烘干后冬虫夏草含水量为 5.2%。

[0113] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过 10 目筛。

[0114] 4)、将冬虫夏草粗粉放入已注入氮气的高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入  $-5^{\circ}\text{C}$  的冷却液循环,开启球磨机,振动研磨时间为 10 小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为  $210\sim 425\text{nm}$ 。在研磨过程中,不时向罐体内加入液氮冷却。

[0115] 5)、将步骤 4) 所得的冬虫夏草纳米粉 7.5kg 加入 30kg 纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0116] 6)、将步骤 5) 所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至  $-40^{\circ}\text{C}$  以下,预冻 4 小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在  $-50^{\circ}\text{C}$  以下,真空度  $< 30\text{Pa}$ ,在  $0^{\circ}\text{C}$  升华干燥 18 小时,再在  $35^{\circ}\text{C}$  解析干燥 10 小时,得冻干品,含水量 6.2%。

[0117] 7)、将步骤 6) 所得冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 25 目筛。

[0118] 8)、采用  $\Phi 13.5\text{mm}$  浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,其含水量为 6.2%。

[0119] 9)、将步骤 8) 所得的冬虫夏草冻干纳米粉片放入包衣机中,用 0.9kg18% 的薄膜包衣预混剂水溶液在  $40^{\circ}\text{C}$  包薄膜衣,得冬虫夏草冻干纳米粉包衣片。

[0120] 10)、将步骤 9)所得冬虫夏草冻干纳米粉包衣片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0121] 实施例 5

规格:0.5g/片

处方:

冬虫夏草纳米粉	5kg
纯化水	20kg
制成	10000 粒

制法:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0122] 2)、将步骤 1)所得的经预处理的冬虫夏草在 60℃烘干,烘干后冬虫夏草含水量为 4.6%。

[0123] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过 10 目筛。

[0124] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入 -5℃的冷却液循环,开启球磨机,振动研磨时间为 6 小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为 235~395nm。在研磨过程中,不时向罐体内加入液氮冷却。

[0125] 5)、将步骤 4)所得的冬虫夏草纳米粉 5kg 加入 20kg 纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0126] 6)、将步骤 5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 -40℃以下,预冻 3 小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 -50℃以下,真空度 < 30Pa,在 0℃升华干燥 12 小时,再在 35℃解析干燥 2 小时,得冻干品,含水量 35.0%。

[0127] 7)、将步骤 6)所得冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 20 目筛。

[0128] 8)、另取 15kg 冬虫夏草纳米粉,与步骤 7)过筛后的冬虫夏草纳米粉冻干品混匀。

[0129] 9)、将步骤 8)所得的冬虫夏草纳米粉与冻干品混合物过 20 目筛。

[0130] 10)、采用 Φ11mm 浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,含水量 9%。

[0131] 11)、将步骤 10)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0132] 实施例 6

规格:0.25g/片

处方:

冬虫夏草纳米粉	2.5kg
纯化水	10kg
制成	10000 粒

制法:

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0133] 2)、将步骤 1)所得的经预处理的冬虫夏草在 50℃烘干,烘干后冬虫夏草含水量为 3.9%。

[0134] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过 10 目筛。

[0135] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入自来水循环,开启球磨机,振动研磨时间为 3 小时,得到冬虫夏草纳

米粉,粒径为 465~605nm。

[0136] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉 2.5kg 加入 10kg 纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0137] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 -40℃ 以下,预冻 3 小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 -50℃ 以下,真空度 < 30Pa,在 0℃ 升华干燥 6 小时,得冻干品,含水量 42.3%。

[0138] 7)、将步骤6)所得冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 25 目筛。

[0139] 8)、另取 10kg 冬虫夏草纳米粉,与步骤7)过筛后的冬虫夏草纳米粉冻干品混匀。

[0140] 9)、将步骤8)所得的冬虫夏草纳米粉与冻干品混合物过 25 目筛。

[0141] 10)、采用  $\Phi 7\text{mm}$  浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,含水量 8.6%。

[0142] 11)、将步骤10)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0143] 实施例 7

规格 :0.25g/ 片

处方 :

冬虫夏草纳米粉	2.5kg
纯化水	10kg
制成	10000 粒

制法 :

1)、将冬虫夏草进行筛选、去杂等预处理,去除杂草、泥沙等杂质。

[0144] 2)、将步骤1)所得的经预处理的冬虫夏草在 50℃ 烘干,烘干后冬虫夏草含水量为 4.5%。

[0145] 3)、将烘干后冬虫夏草放入粉碎机中粉碎成冬虫夏草粗粉,过 10 目筛。

[0146] 4)、将冬虫夏草粗粉放入高能纳米球磨机罐体内,放入氧化锆球,关闭进料口,在罐体周围的夹套中通入自来水循环,开启球磨机,振动研磨时间为 4 小时,得到冬虫夏草纳米粉,粒径为 253~385nm。

[0147] 5)、将步骤4)所得的冬虫夏草纳米粉 2.5kg 加入 10kg 纯化水中,在均质机中混匀,制成冬虫夏草纳米粉均质浆液。

[0148] 6)、将步骤5)所得的冬虫夏草纳米粉均质浆液,分装至合适体积的模具中,送入冷冻干燥设备中,迅速降温至 -40℃ 以下,预冻 3 小时,至样品完全冻实,开启干燥程序,进行真空冷冻干燥,维持冷阱温度在 -50℃ 以下,真空度 < 30Pa,在 0℃ 升华干燥 6 小时,再在 35℃ 解析干燥 4 小时,得冻干品,含水量 21.2%。

[0149] 7)、将步骤6)所得冬虫夏草纳米粉冻干品粉碎成粗粉,过 20 目筛。

[0150] 8)、另取 10kg 冬虫夏草纳米粉,与步骤7)过筛后的冬虫夏草纳米粉冻干品混匀。

[0151] 9)、将步骤8)所得的冬虫夏草纳米粉与冻干品混合物过 20 目筛。

[0152] 10)、采用  $\Phi 7\text{mm}$  浅凹冲模压片,得到冬虫夏草冻干纳米粉片,含水量 4.6%。

[0153] 11)、将步骤10)所得冬虫夏草冻干纳米粉片采用铝塑泡罩包装,即得冬虫夏草冻干纳米粉片成品。

[0154] 本发明在实施过程中的一些检测数据汇总如下 :

	纳米粉			纳米粉片					
	粒径范围 mm	粉碎收率	片重	成品率	外观	硬度	脆碎度	水分	腺苷含量
实施例 1	575-800	99.1%	0.25g	97%	淡黄色, 色泽均匀	2.82kg	0.76%	3.5%	0.043%
实施例 2	410-615	97.8%	0.25g	93%	淡黄褐色, 色泽均匀	3.61kg	0.53%	7.2%	0.037%
实施例 3	10-230	97.4%	0.5g	95%	淡黄褐色, 色泽均匀	4.16kg	0.48%	7.1%	0.041%
实施例 4	210-425	98.3%	0.75g	94%	片芯淡黄褐色, 色泽均匀	5.68kg	0.52%	6.2%	0.038%
实施例 5	235-395	97.7%	0.5g	95%	淡黄褐色, 色泽均匀	5.02kg	0.69%	9%	0.040%
实施例 6	465-605	98.5%	0.25g	82%	部分有花片、麻片、粘冲	4.22kg	0.61%	8.6%	0.041%
实施例 7	253-385	98.2%	0.25g	86%	部分有裂片	3.14kg	0.88%	4.6%	0.039%