

pH 依赖型黄连总生物碱结肠靶向微丸的 制备及其体内外释放性能评价

凌霄, 胡元利, 陈飞龙, 谭晓梅*

(南方医科大学 中医药学院, 广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

[摘要] 目的:制备用于治疗溃疡性结肠炎的 pH 依赖型黄连总生物碱靶向微丸并对其体内外释放性能进行评价。方法:采用丙烯酸树脂(eudragit)S100 和 eudragit L100-55 双层包衣制备 pH 依赖型黄连总生物碱结肠靶向微丸。以盐酸小檗碱为指标进行了体外释放度和大鼠体内释放的初步评价。结果:体外释放度试验表明盐酸小檗碱在人工胃液中 2 h 累计释放度 <0.1%,在人工小肠液中 4 h 累计释放度 <10%,在人工结肠液中 3 h 累计释放度 >90%;体内试验表明在大鼠体内包衣微丸大部分能完整到达盲肠或结肠部,并在上述部位开始崩解释放。结论:pH 依赖型黄连总生物碱靶向微丸能够实现结肠的定向释放。

[关键词] 结肠靶向微丸;黄连;总生物碱;体外释放度;盐酸小檗碱

[中图分类号] R283.6;R287;R285.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0024-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140915.1117.009.html>

[网络出版时间] 2014-09-15 11:17

Preparation of Total Alkaloids from Coptidis Rhizoma Colon Targeted Pellets and Evaluation of Its *in vivo* and *in vitro* Release Characteristics

LING Xiao, HU Yuan-li, CHEN Fei-long, TAN Xiao-mei*

(Key Laboratory of Chinese Drugs Pharmaceutics of Guangdong Province, College of Chinese Traditional Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare pH-dependent total alkaloids from Coptidis Rhizoma colon targeted pellets for treatment of ulcerative colitis and finish its *in vitro* and *in vivo* release performance evaluation. **Method:**

[收稿日期] 20140326(007)

[基金项目] 广州市白云区科技计划项目(2011-kz-64);广州市科技计划重大专项(2012Y2-00018-3)

[第一作者] 凌霄,在读硕士,从事中药药剂研究,Tel:020-62789112,E-mail:tanglima@126.com

[通讯作者] *谭晓梅,博士,研究员,从事中药新制剂研究,Tel/Fax:020-61648265,E-mail:txm@fimmu.com

- [2] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(维吾尔药分册)[S]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:189.
- [3] Yang W J, Luo Y Q, Aisa H A, et al. Hepatoprotective activities of a sesquiterpene-rich fraction from the aerial part of *Cichorium glandulosum* [J]. Chin Med, 2012, 7(1):21.
- [4] 周雅琴,陈燕军,冯青然. 中药滴丸剂的研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(2):101.
- [5] 王贞佐,呼海涛,孟庆繁,等. 当归丹参滴丸的制备工艺研究[J]. 中成药,2006,28(3):436.
- [6] 杨伟俊,薛桂蓬,邢建国,等. 秋水仙风湿滴丸的成型工艺研究及体外溶出度测定[J]. 中成药,2007,29(8):1240.
- [7] 罗玉琴,杨伟俊,徐建国,等. 复方雪莲滴丸中羌活、独活的纯化工艺考察[J]. 中国中药杂志,2008,33(21):2478.
- [8] 任秀华,李高. 固体分散体在药剂学中的应用及进展[J]. 医药导报,2003,22(2):110.

[责任编辑 刘德文]

Acrylic resin S100 (eudragit S100) and eudragit L100-55 double-coated was adopted to prepare colon targeted pellets of total alkaloids from *Coptidis Rhizoma*. *In vitro* release and *in vivo* site-specific drug release of this preparation were evaluated with berberine hydrochloride as index. **Result:** *In vitro* release test showed that cumulative release rate of berberine hydrochloride was less than 0.1% in artificial gastric juice after 2 h and less than 10% in artificial intestinal fluid after 4 h, but cumulative release rate in artificial colon juice after 3 h was more than 90%. *In vivo* test showed that coated pellets could complete arrive to the cecum or colon in rats, and began to disintegrate and release. **Conclusion:** Colon targeted pellets of total alkaloids from *Coptidis Rhizoma* can achieve targeted release in the colon.

[**Key words**] colon targeted pellets; *Coptidis Rhizoma*; total alkaloids; *in vitro* release; berberine hydrochloride

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种多因素导致的肠道疾病,以直肠和结肠黏膜下层的非特异性炎症病变为主要症状^[1]。UC病因复杂,与多种因素有关^[2],其中感染因素被认为是溃疡性结肠炎发病的原因之一^[3]。黄连是一种常用清热解毒药,对湿热泻痢疗效显著,其主治病症与UC的临床病症相似,临床报道采用单味黄连煎汤保留灌肠法治疗慢性UC,疗效满意^[4]。黄连的主要有效成分为生物碱类,包括小檗碱、巴马丁、药根碱、黄连碱等。舒德忠等^[5]研究了单体盐酸小檗碱对UC的治疗作用,发现盐酸小檗碱对实验性UC具有显著防治作用。胡元利等^[6]对比了黄连总生物碱和盐酸小檗碱对UC的治疗效果,结果显示黄连总生物碱优于盐酸小檗碱。结肠靶向给药系统是通过药剂学手段控制药物在回盲肠或结肠释放的给药方法,可使药物在结肠起局部或全身治疗作用,尤其适合结肠局部疾病的治疗^[7]。本实验拟制备黄连总生物碱结肠靶向微丸并评价其体内外释放效果,为UC的临床治疗提供新选择。

1 材料

BY300A型小型包衣机(上海精宏药检仪器厂),HP8453型紫外-可见分光光度计(美国惠普),RCZ-5A型智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂),CP324S型1/1万和CP225D型1/10万电子分析天平(德国Sartorius公司)。黄连提取物(总生物碱64.3%,盐酸小檗碱30.5%)、黄连总生物碱微丸(总生物碱4.45%)均为实验室自制,丙烯酸树脂(eudragit)L100-55和S100(德国罗姆公司),盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号110713-200910),试剂均为市售分析纯。Wistar大鼠,21只,雌雄各半,体重180~220g,购自南方医科大学实验动物中心,合格证号SCXK(粤)2011-0015。

2 方法与结果

2.1 pH依赖型黄连总生物碱结肠靶向微丸的制备

2.1.1 素丸 取70%微晶纤维素,20%糊精,10%黄连总生物碱提取物,以95%乙醇为黏合剂,制备成软硬适度的软材,过16目筛制粒,将颗粒投入包衣锅,包衣锅转速40~60 r·min⁻¹。将成型的微丸置于60℃烘箱中干燥,过筛,收集16~24目的素丸。

2.1.2 肠溶微丸 称取适量素丸,按照内层包衣选用eudragit S100,增重20%;外层包衣选用eudragit L100-55-eudragit S100(1:9),增重10%。包衣液均用95%乙醇制成5%丙烯酸树脂溶液。将素丸置于包衣锅中,在滚动下喷入包衣液,即得。

2.2 黄连总生物碱的含量测定

2.2.1 溶液配制 称取盐酸小檗碱7.76 mg,置于100 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,作为对照品储备液。称取黄连提取物4.50 mg,置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,精密吸取0.5 mL至10 mL量瓶中,加甲醇定容,作为黄连总生物碱溶液。精密称取微丸约0.05 g,置于10 mL量瓶中,加甲醇超声溶解,冷却至室温,加甲醇定容;精密吸取0.5 mL至10 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,得供试品溶液。精密称取不含黄连总生物碱提取物的包衣微丸0.05 g,按供试品溶液制备方法配制空白溶液。

2.2.2 检测波长的确定 以甲醇为空白,取对照品储备液和黄连总生物碱溶液在200~500 nm进行扫描,结果显示二者均在350 nm处有较大吸收峰且峰形良好,见图1,故选择检测波长350 nm。

2.2.3 标准曲线 精密吸取对照品储备液0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,于350 nm处测定吸光度(A)。利用SPSS 13.0软件对质量浓度(C)和A进行线性回归分析,得回归方程 $C = 15.002A$ ($R^2 = 0.9999$),线性

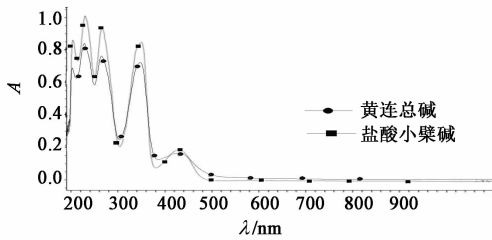


图 1 黄连总生物碱溶液和盐酸小檗碱对照品 UV

范围 3.88 ~ 19.40 mg · L⁻¹。

2.2.4 方法学考察 取同一供试品溶液,于 350 nm 处连续测定 5 次 A,计算 RSD 0.03%,表明仪器精密程度良好。取供试品溶液适量,分别于 0,0.5,1,2,4,6,8 h 于 350 nm 处测定 A,计算 RSD 0.95%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。取同一批微丸,按 **2.2.1** 项下方法制备 6 份供试品溶液,以空白溶液为对照,于 350 nm 处测定 A,微丸中黄连总生物碱含量以盐酸小檗碱计,结果盐酸小檗碱平均质量分数 4.45%,RSD 4.38%,表明该方法重复性良好。精密称定研碎后的包衣微丸 5 份,每份约 0.5 g,各加入一定量盐酸小檗碱对照品,按 **2.2.1** 项下方法制备供试品溶液,于 350 nm 处测定 A,计算回收率,结果见表 1,表明该方法稳定可靠。

表 1 黄连总生物碱靶向微丸含量测定的加样回收率试验

样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
2.34	1.53	3.82	96.7		
2.31	1.50	3.79	98.7		
2.25	1.51	3.71	96.7	97.0	1.2
2.42	1.54	3.92	97.4		
2.26	1.51	3.70	95.4		

2.3 体外释放度试验 按 2010 年版《中国药典》

二部附录 XC 溶出度测定第一法,将包衣微丸置于转篮中,转速 100 r · min⁻¹,转篮先在盐酸溶液置 2 h,将吊篮取出,置于 pH < 6.8 的磷酸盐缓冲液 4 h,再将吊篮取出放置于 pH 7.8 ~ 8.0 的磷酸盐缓冲液中 3 h。每次更换释放介质在 3 min 内完成。每隔 1 h 取样 1 次,每次 5 mL,用相应介质补足,经 0.8 μm 滤膜滤过,于 350 nm 处测定 A。释放介质体积均为 500 mL,使用前超声除气泡。以盐酸小檗碱含量为指标,计算包衣微丸的累积释放度,评估药物体外释放性能,结果见表 2。表明 3 批包衣微丸在人工胃液中几乎不释放,在 6 h 内累积释放度均 < 10%,在人工结肠液中能迅速释放,最终释放度达 90%,释放效果较理想,基本达到结肠靶向制剂体外释放要求。

2.4 体内释放评价研究^[8-9] 取 21 只 Wistar 大鼠,分为 7 组,每个时间点为 1 组,每组 3 只,包括空白组 3 只。大鼠给药前禁食不禁水 24 h,将大鼠乙醚轻度麻醉,聚乙烯管灌胃给予微丸,在相应时间点腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉,将胃肠道分为胃、小肠前端、小肠末端、盲肠、结肠 5 段,分别取出。检查各段有无完整微丸,若有则将其取出,用生理盐水-甲醇(1:1)冲洗,收集冲洗液,除盲肠段外,其余各段冲洗液及肠内容物定容至 25 mL,盲肠部分定容至 100 mL,混匀,于 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,于 350 nm 处测定 A;同法测定空白大鼠各部位的 A。灌胃包衣微丸 0.1 g,分别在 2,3,5,7,9,11 h 取材测定 A,扣除空白后计算各部位黄连总生物碱含量,结果见表 3。表明黄连总生物碱结肠靶向微丸在胃及小肠前端基本不释放,当药丸推进到小肠远端时,开始释放药物,在盲肠及结肠处大量释放生物碱类成分。

表 2 黄连总生物碱靶向微丸体外释放度试验($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	累积释放度									%
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	
1	0.43 ± 0.03	0.69 ± 0.02	0.85 ± 0.05	1.67 ± 0.06	4.32 ± 0.04	8.72 ± 0.31	76.71 ± 0.47	95.33 ± 0.90	96.91 ± 0.13	
2	0.13 ± 0.03	0.49 ± 0.05	0.82 ± 0.03	1.51 ± 0.10	2.93 ± 0.07	5.43 ± 0.08	75.02 ± 0.22	90.37 ± 0.22	92.85 ± 0.24	
3	0.02 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.47 ± 0.10	1.37 ± 0.09	4.27 ± 0.10	8.46 ± 0.07	88.67 ± 0.44	94.59 ± 0.38	96.27 ± 0.25	

3 讨论

Eudragit L100-55 为甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯(1:1)共聚物,在 pH > 5.5 时开始溶解;eudragit S100 为甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯(1:2)共聚物,在 pH > 7 时开始溶解。研究发现 eudragit L100-55

的成膜性较好,eudragit S100 反之,两者单独使用均不能达到结肠靶向释放的效果,而将两者分层包衣,内层用 eudragit S100,增重 20%,外层用 eudragit L100-55-eudragit S100(1:9),增重 10%,可达到结肠释放的要求。

表3 黄连总生物碱靶向微丸在大鼠各肠段的分布情况($\bar{x} \pm s, n=3$)

t/h	累积释放度/%				
	胃	小肠前段	小肠末段	盲肠	结肠
2	-	-	2.97 ± 1.61	3.27 ± 1.87	-
3	-	-	1.44 ± 1.71	11.78 ± 3.54	-
5	-	-	5.68 ± 5.39	14.52 ± 8.62	-
7	-	-	9.44 ± 2.90	34.51 ± 9.82	-
9	-	-	9.93 ± 5.54	47.54 ± 6.40	-
11	-	1.68 ± 1.77	9.71 ± 4.80	46.84 ± 16.00	4.94 ± 6.70

注：“-”表示未检出。

包衣微丸在 11 h 时可能由于少量微丸长期停留在小肠前段,药物略有释放,但 9 h 内在胃及小肠前段基本不释放,只在小肠末段开始有少量药物释放,释放最多部位在盲肠,这也与大鼠消化系统解剖特征有关。大鼠结肠短小,内容物极少;盲肠长度为结肠 4 倍,造成药物在此聚集,且盲肠 pH 与结肠接近,说明该微丸可达到结肠释放药物的效果。体外 8 h 已经基本完成药物释放,而体内 9 h,释药总量大约 63%,这可能有部分包衣微丸尚未释放,或还有部分药物被吸收入血,有待后期研究证实。

[参考文献]

- [1] Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients[J]. J Gastroenterol Hepatol,2007,22(9):1450.
- [2] 宋璐,夏冰. 溃疡性结肠炎发病机制及其诊断[J]. 中国实用内科杂志,2010,30(11):1056.

- [3] 赵曼,高峰. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J]. 现代生物学进展,2010,10(16):3160.
- [4] 刘芳,冷炎,逯玉芝. 中药灌肠治疗慢性溃疡性结肠炎[J]. 长春中医药大学学报,2002,18(4):22.
- [5] 舒德忠,万先惠,刘华蓉,等. 黄连总碱对实验性溃疡性结肠炎的作用研究[J]. 儿科药学杂志,2005,11(3):7.
- [6] 胡元利,谭晓梅,张文新. 黄连总生物碱与盐酸小檗碱对小鼠溃疡性结肠炎治疗作用的比较[J]. 中药药理与临床,2011,27(5):45.
- [7] 郑尚辉. 国内结肠靶向给药系统研究进展[J]. 宜春学院学报,2010,32(4):76.
- [8] 王玉蓉,邹海艳,周洪伟,等. 复方小檗碱结肠定位片制备工艺和体内外释放评价研究[J]. 中医药信息,2010,27(4):71.
- [9] 张勇钢,揭晶. 苦参碱双敏感结肠定位小丸的制备及体外释放研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(9):1603.

[责任编辑 刘德文]