

左金胃漂浮-生物黏附小丸的制备及体外释放度考察

许锋^{1,2}, 王洛临³, 施之琪³, 陈鹏¹, 孙冬梅^{1,3*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 广东食品药品职业学院, 广州 510520;
3. 广东省中医药工程技术研究院, 广州 510095)

[摘要] **目的:**优选左金胃漂浮-生物黏附小丸的制备工艺并考察其体外释放度。**方法:**以盐酸小檗碱释放度为考察指标,采用单因素试验优选左金胃漂浮-生物黏附小丸丸芯的处方组成,以丸芯的圆整度和收率为评价指标,利用正交试验优化挤出滚圆的工艺参数,丸芯用卡波姆和碳酸氢钠的混合溶液包衣。**结果:**以羟丙甲纤维素(HPMC K4M)为骨架材料,微晶纤维素(MCC PH301)为成球材料和崩解剂,碳酸氢钠为助漂材料,以挤出速度 $30 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,滚圆速度 $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 和滚圆时间 20 min制备丸芯,包衣后的左金胃漂浮-生物黏附小丸均能在 1 min 内起漂,10 h 时持续漂浮率约 80%,生物黏附率 83.7% ~ 86.8%,主要成分盐酸小檗碱在 12 h 的累积释放率 >90%。**结论:**制备的左金胃漂浮-生物黏附小丸外观均匀,具有良好的释放性能,且工艺简单易行、生产成本低。

[关键词] 左金丸; 胃漂浮; 生物黏附性; 挤出滚圆法; 滚转包衣法; 盐酸小檗碱

[中图分类号] R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0188-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015220188

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1401.024.html>

[网络出版时间] 2015-10-22 14:01

Preparation and *in Vitro* Release of Zuojin Gastric Floating-bioadhesive Pellets XU Feng^{1,2}, WANG Luo-lin³, SHI Zhi-qi³, CHEN Peng¹, SUN Dong-mei^{1,3*} (1. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China*; 2. *Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China*; 3. *Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangzhou 510095, China*)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation process of Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets and investigate its *in vitro* release characteristics. **Method:** With release of berberine hydrochloride as indicator to evaluate and optimize formulation. Prescription composition for pellet core of Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets was optimized by single factor tests, process parameters of extrusion spheronization were investigated by orthogonal design while pellets circularity and yield of pill core were used as evaluation index. Pellet core were coated by mixed solution of carbomer and sodium bicarbonate. **Result:** Optimum preparation process was as follows: extrusion speed of $30 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, rounding speed of $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, spheronization time of 20 min. All coated pellets which were drifted in 1 min were prepared with HPMC K4M as matrix, MCC PH301 as ball material and disintegrating agent, sodium bicarbonate as drift material. About 80% of pellets were continuous floated within 10 hours, biological adhesion rate was 83.7%~86.8%. Cumulative release rate of berberine hydrochloride in 12 hours was more than 90%. **Conclusion:** Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets has good release properties with uniform appearance, its preparation technology is simple with low production cost.

[Key words] Zuojin Wan; gastric floating; bioadhesive; extrusion spheronization method; turnadle pan coating; berberine hydrochloride

[收稿日期] 20150828(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873369)

[第一作者] 许锋,讲师,在读博士,从事中药制剂研究,Tel:13724844291,E-mail:xfon2002@163.com

[通讯作者] *孙冬梅,教授,博士生导师,从事中药新药研发与工艺研究,Tel:020-83501292,E-mail:temgdp@163.com

左金丸出自《丹溪心法》^[1],由黄连和吴茱萸按6:1的比例组成,功效泄火疏肝、和胃止痛,疗效确切。临床常使用左金丸治疗由幽门螺杆菌引起的胃炎、消化性溃疡等^[1-3]。左金丸系一般的口服制剂,给药量大,不方便患者长期服用。拟将其开发成缓释制剂,以减少服用剂量,提高患者的依从性,同时保持平稳的血药浓度,克服其他剂型的不足。左金胃漂浮-生物黏附小丸是在左金丸处方基础上,根据流体动力学平衡控释系统原理设计的,服用后在胃内环境中与胃壁黏膜产生生物黏附,同时在胃液作用下体积膨胀形成凝胶,使其表观密度小于胃内容物密度(约 $1.004\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$),从而在胃液中呈漂浮状态^[4],延长药物在胃内滞留时间,使释出的药物在胃部或缓缓经过十二指肠时有充分的局部作用或吸收时间,有利于充分发挥药效,提高生物利用度。本实验通过单因素试验考察了丸芯的处方,通过正交试验优化左金胃漂浮-生物黏附小丸的制备工艺,利用生物黏附材料进行包衣,并考察成型小丸的体外释药机制,为左金丸的二次开发提供参考。

1 材料

HJ-400-P型挤出滚圆制丸机(重庆荣凯机械制造有限公司),RC-806型智能溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司),UV-2550型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),BY400型糖衣机(江苏泰兴制药机械设备厂)。

黄连、吴茱萸均购自广州市药材公司,经广东省中医药工程技术研究院王洛临主任中药师鉴定,分别为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎,芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecrpa* 的干燥近成熟果实,符合2010年版《中国药典》的规定;黄连、吴茱萸混合提取物(自制),盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,纯度86.8%,批号110713-200911),卡波姆934(广州杰辅贸易有限公司),羟丙甲纤维素(HPMC K100M,E5,K4M,上海卡乐康包衣技术有限公司),微晶纤维素(MCC PH101,PH102,PH301,日本旭化成公司),试剂均为分析纯。

雄性SD大鼠,体重(250 ± 20)g,购自广东省医学实验动物中心,动物生产许可证号SCXK(粤)2003-0002,使用许可证号SYXK(粤)2010-0059。

2 方法和结果

2.1 丸芯的制备 按处方比例分别称取一定量提取物和辅料,混匀,用水作润湿剂不断捏合,制成软材。经挤出机筛板(孔径1.2 mm)挤成光滑致密的条状物;在一定滚圆转速下,将条状物料滚圆至成

丸,取出,适度干燥,筛分,取20~30目的丸芯,即得。

2.2 丸芯处方因素研究

2.2.1 不同组方选择^[5-7] 固定载药量40%,选取4组处方。①HPMC E5 25%,MCC PH301 20%,十六醇5%,碳酸氢钠10%。②HPMC E5 25%,MCC PH301 25%,碳酸氢钠10%。③HPMC E5 22.2%,卡波姆2.8%,MCC PH301 30%,碳酸氢钠5%。④HPMC E5 22.2%,羧甲基纤维素钠(CMC-Na)2.8%,十六醇25%,聚乙二醇6000 10%。照2.1项下方法,在挤出速度 $30\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,滚圆速度 $800\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,滚圆时间20 min条件下制备丸芯。取各处方制备的丸芯1.0 g,分别置于 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸中测得起漂时间分别为(25.3 ± 0.6),(29.7 ± 0.6),(59.0 ± 1.0),(47.3 ± 0.6)s,10 h持续漂浮率分别为(45.5 ± 0.6)%,(71.4 ± 0.7)%,0,(1.3 ± 0.1)%,说明处方②效果较好。

2.2.2 骨架材料选择 固定其他条件,选择不同型号的HPMC(K100M,E5,K4M)制备丸芯,在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸中测得起漂时间分别为(25.3 ± 0.6),(30.0 ± 1.0),(21.7 ± 0.6)s,10 h持续漂浮率依次为(44.6 ± 0.8)%,(72.0 ± 0.4)%,(84.9 ± 0.5)%。故确定选用HPMC K4M为骨架材料。

2.2.3 成球材料选择 固定其他条件,选择不同型号的MCC(PH101,PH102,PH301)制备丸芯,在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸中测得起漂时间分别为(24.3 ± 0.6),(75.7 ± 0.6),(29.7 ± 0.6)s,10 h持续漂浮率依次为(49.7 ± 0.4)%,(14.0 ± 0.2)%,(70.9 ± 0.6)%。故确定选用MCC PH301为成球材料。

2.2.4 助漂材料选择 固定载药量40%,HPMC K4M-MCC PH301(1:1),选择不同用量(5%,10%,15%)的碳酸氢钠制备丸芯,在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸中测得起漂时间分别为(35.7 ± 0.6),(30.3 ± 0.6),(17.7 ± 0.6)s,10 h持续漂浮率依次为(51.0 ± 0.3)%,(87.6 ± 0.6)%,(90.5 ± 0.5)%。结果显示碳酸氢钠用量为15%时,起漂时间较短且10 h持续漂浮率较高,但在体外释放度试验中观察到突释现象,故选择碳酸氢钠用量10%。

2.3 丸芯粉体学性质的评价指标

2.3.1 圆整度 圆整度反映了丸芯成型或成球的质量。将丸芯1.0 g置平板上,将平板一侧抬起,测量丸芯开始滚动时倾斜平面与水平面所形成的夹角。角度越小,表明丸芯圆整度越好。

2.3.2 堆密度 称取丸芯1.0 g,置10 mL量筒中,

振动 10 次,振幅 2 cm,测定体积,计算堆密度。

2.3.3 脆碎度 称取丸芯 1.0 g,加入 25 粒直径 7 mm 的玻璃珠一起置脆碎仪中旋转 10 min,收集并称定通过 80 目筛的细粉量,计算失重率。

2.4 丸芯制备工艺优化 预试验表明制丸芯制备工艺的主要影响因素有挤出转速、滚圆转速和滚圆时间,按 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验方案,采用 2.2 项下的优化处方组成制备丸芯 100 g,共 9 份,以圆整

度(p)和收率(f)为评价指标。考虑到本品圆整度须 < 25 度,收率应 $> 50\%$,故以 $f-2p$ 的结果为综合评分进行评价。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对丸芯性质影响程度为 $C > B > A$ 。方差分析表明因素 B, C 对丸芯性质有显著影响,因素 A 则无显著影响,确定最优工艺条件为 $A_2B_2C_3$,即挤出速度 $30 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,滚圆转速 $800 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,滚圆时间 20 min。

表 1 左金胃漂浮·生物黏附小丸的制备工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of preparation technology of Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets

No.	A 挤出转速/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	B 滚圆转速/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	C 滚圆时间/min	D(空白)	收率(f)/%	圆整度(p)/度	$f-2p$
1	20	600	10	1	83	17	49
2	20	800	15	2	72	15	42
3	20	1 000	20	3	76	14	48
4	30	600	15	3	80	18	44
5	30	800	20	1	93	12	69
6	30	1 000	10	2	73	16	41
7	40	600	20	2	81	12	57
8	40	800	10	3	81	14	53
9	40	1 000	15	1	64	18	28

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	MS	F	P
A	53.556	26.778	7.774	> 0.05
B	388.222	194.111	56.355	< 0.05
C	600.222	300.111	87.129	< 0.05
D(误差)	6.889	3.444	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.5 验证试验 取左金丸提取物 40 g,共 3 份,按优选的工艺条件制备丸芯 100 g,共 3 批,考察其粉体学性质,并测定丸芯在 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸中的起漂时间和 10 h 持续漂浮率,见表 3。结果表明丸芯的圆整度均较好,硬度适宜,粒度分布较窄,漂浮性能良好,收率均 $> 80\%$ 。

2.6 包衣小丸的制备 预试验得到的包衣液配制方法为搅拌下向水中缓慢加入卡波姆 934-碳酸氢钠(10:1)的混合物,搅拌约 30 min,使包衣液质量分数至 0.4%。将优化丸芯置滚转包衣锅中,控制滚圆速度 $20 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,吹风温度 $50 \text{ }^\circ\text{C}$,制备包衣增重 4% 的小丸。将包衣小丸用显微镜进行观察,测量粒

径,除以放大倍数得到包衣小丸粒径,计数 > 500 个。计算包衣小丸算数平均粒径 $969 \mu\text{m}$ 。根据测定,3 批包衣小丸的圆整度均 < 30 度,流动性较好^[8]。

2.7 体外释放度试验

2.7.1 标准曲线的绘制 精密称取干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 28.6 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,作为对照品贮备液。精密量取该贮备液 0.5,1,2,3,4,5 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,在 347 nm 处测定吸光度 $A^{[3]}$ 。以质量浓度(C)为横坐标, A 为纵坐标,得回归方程 $A = 0.03291C + 0.00275 (r = 0.9998)$,线性范围 $5.72 \sim 57.2 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.7.2 累积释放度试验 采用 2010 年版《中国药典》二部 X D 第一法。以 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸为释放介质,在 $(37 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$,转速 $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下试验。取包衣小丸适量,置转篮中,分别于 0.5,1,2,4,6,12 h 时取样 10 mL(立即补充同温等量介质),经 $0.8 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液在 347 nm 处测定

表 3 丸芯制备工艺的验证试验($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Verification test of preparation process of pellet core ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

批号	收率/%	圆整度/度	堆密度/ $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	脆碎度/%	起漂时间/s	10 h 持续漂浮率/%
20141008	82.5 ± 0.4	10.4 ± 0.4	0.71 ± 0.03	0.63 ± 0.21	38.7 ± 0.6	82.1 ± 0.3
20141009	81.2 ± 1.3	11.6 ± 1.2	0.74 ± 0.01	0.64 ± 0.18	33.3 ± 0.6	80.3 ± 0.2
20141010	83.0 ± 0.9	11.2 ± 0.4	0.73 ± 0.02	0.53 ± 0.34	36.3 ± 0.6	81.2 ± 0.1

A, 计算各采样点的累积释放率(Q), 结果见图 1。说明 3 批包衣小丸的体外释放情况较类似, 盐酸小檗碱 2 h 时累积释放率约 20%, 6 h 累积释放率 60%, 12 h 时累积释放率达 >90%。表明小丸的制备工艺合格且效果稳定。

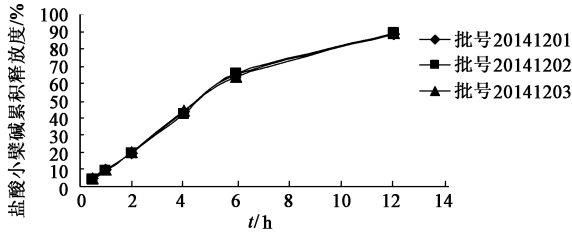


图 1 3 批左金胃漂浮-生物黏附小丸的体外释放曲线(n=3)
Fig.1 In vitro release curves of three batches of Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets (n=3)

2.7.3 包衣小丸的释药机制 小丸的释放具有缓释特性。分别用零级, 一级, Higuchi, Hixson-Crowell 和 Ritger-Peppas 模型对 3 批小丸中的平均释放数据进行拟合, 得方程分别为 $Q = 9.323t + 4.734$ ($r = 0.9933$), $\ln(100 - Q) = -0.275t + 4.865$ ($r = 0.9735$), $Q = 36.374t^{1/2} - 23.82$ ($r = 0.9952$), $(100 - Q)^{1/3} = -0.280t + 4.783$ ($r = 0.9932$), $\ln Q = 0.948\ln t + 2.463$ ($r = 0.9935$)。由 Ritger-Peppas 方程可知, 包衣小丸中的释放机制为骨架溶蚀作用, 这与使用 HPMC 亲水凝胶骨架材料相吻合。

2.8 包衣小丸的体外漂浮和黏附试验 取包衣小丸 1 g 浸入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 900 mL 中, 记录其全部起漂所需时间, 并每隔一段时间观察其漂浮情况, 10 h 后将漂浮的小丸捞起, 烘干后称重, 计算漂浮率。结果见表 4。取雄性 SD 大鼠的胃, 处理后切成 $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$, 固定在载玻片上, 放置包衣小丸 100 mg, 转移至含有饱和盐水的密闭容器中, 润湿水化 20 min 后取出。载玻片倾斜 45 度放置, 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸在 $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度下淋洗 5 min。取下大鼠胃壁上剩余的小丸, 烘干后称重, 计算生物黏附率(即剩余小丸量与投料量之比)^[9]。

3 讨论

中药提取物都具有一定黏性, 为降低小丸的内聚力, 便于挤出的条形物料打断滚圆, 加入一定量碳酸氢钠为分散剂, 并起到助漂作用。为保证小丸中有效成分的顺利溶出, 在处方中使用了亲水凝胶材料 HPMC, 亦可作为黏合剂和崩解剂。滚转包衣工艺简单、衣膜均匀、释放稳定。使用卡波姆和碳酸氢

表 4 3 批左金胃漂浮-生物黏附小丸的体外胃漂浮和生物黏附性能 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 In vitro gastric floating and bioadhesive characteristics of three batches of Zuojin gastric floating-bioadhesive pellets ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	起漂时间 /s	10 h 持续漂浮率 /%	生物黏附率 /%
20141201	47.7 ± 0.6	83.8 ± 0.7	86.0 ± 0.7
20141202	39.7 ± 1.5	79.6 ± 0.8	83.7 ± 0.4
20141203	43.0 ± 1.0	80.8 ± 0.4	86.8 ± 0.3

钠的混合溶液进行包衣一方面可增强小丸的生物黏附作用, 另一方面还有助于增加小丸在胃液中的漂浮时间, 从而延长小丸在胃内的停留时间。

结合胃漂浮制剂和生物黏附制剂的特点来制备起协同作用的缓释小丸是在中药制剂领域的尝试, 虽然体外黏附、起漂和释放性能均能满足基本要求, 但改进体外胃漂浮和生物黏附的评定方法一直困扰着科研工作者, 而且提高中药小丸制剂的载药量也存在一定的技术障碍, 体内的胃漂浮和生物黏附性能评定等问题还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 左金丸的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 73-77.
- [2] 吴施国, 蒋通荣. 左金丸对幽门螺杆菌所致胃炎模型大鼠作用机制的实验研究[J]. 山东中医药大学学报, 2010, 34(3): 275-277.
- [3] 汤庆丰, 季青, 周文超, 等. 左金丸及其加味药在消化系统疾病防治中的研究进展[J]. 重庆医学, 2014, 43(5): 615-617.
- [4] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 29.
- [5] 宋维红, 卢颢炜, 朱康杰. 壳聚糖胃漂浮小丸的制备[J]. 中国医药工业杂志, 2003, 34(11): 558-563.
- [6] 陈红霞, 贾晓斌, 陈彦, 等. 挤出滚圆法制备复方杞芪微丸的处方及工艺优化[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1862-1865.
- [7] 洪燕龙, 冯怡, 徐德生, 等. 挤出滚圆法制备大川芎方速释微丸的处方工艺研究[J]. 中药材, 2007, 30(12): 1596-1600.
- [8] 陈红霞, 贾晓斌, 陈彦, 等. 挤出滚圆法制备中药复方当归补血微丸及其性质考察[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(8): 625-628.
- [9] 刘陶世, 赵新慧, 狄留庆, 等. 黄连总碱-卡波姆复合物的制备、体外释药特性及其胃生物粘附性能评价[J]. 中国医药科学, 2013, 3(22): 14-17.

[责任编辑 刘德文]