

白头翁总皂苷结肠靶向微丸的制备

王勇^{1*}, 岳国超², 朱婉婷², 严霞¹, 王红军¹

(1. 湖北中医药大学附属襄阳市中医医院, 湖北 襄阳 441000;

2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 优选白头翁总皂苷结肠靶向微丸的制备工艺。方法: 采用 HPLC 测定白头翁总皂苷含量, 色谱条件为 Hypersil ODS-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (39:61), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 203 nm, 进样量 20 μL。利用挤出滚圆法制备白头翁结肠靶向微丸载药丸心, 以微丸得率、圆整度、堆密度、脆碎度的综合评分为指标, 通过正交试验优选白头翁结肠靶向微丸载药丸心的制备工艺; 以累积释放率为指标, 通过单因素试验考察增塑剂用量、抗黏剂用量、包衣增重对包衣工艺的影响。结果: 载药丸心的最佳制备工艺为微晶纤维素用量 60%, 甘露醇用量 10%, 挤出频率 20 Hz, 滚圆频率 45 Hz, 滚圆时间 5~8 min; 最佳包衣工艺为以 Eudragit S100 为包衣材料, 15% 柠檬酸三乙酯为增塑剂, 50% 滑石粉为抗黏剂, 包衣增重 20%。结论: 优选的工艺稳定可行, 制备的微丸成型性高、靶向效果好。

[关键词] 白头翁; 结肠靶向微丸; 正交试验; 流化床包衣; 单因素试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0053-05

[doi] 10.11653/syjf2013190053

Preparation of Pulsatilla Total Saponins Colon-Targeted Pellets

WANG Yong^{1*}, YUE Guo-chao², ZHU Wan-ting², YAN Xia¹, WANG Hong-jun¹

(1. Xiangyang Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Hubei University of Chinese Medicine, Xiangyang 441000, China; 2. Key Laboratory for Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of pulsatilla total saponins colon-targeted pellets. **Method:** HPLC was adopted to determined the content of total saponins from Pulsatillae Radix, chromatographic conditions were as follows: Hypersil ODS-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (39:61), flow rate 1.0 mL·min⁻¹, column temperature 30 °C, detection wavelength 203 nm, injection volume 20 μL. Pellets core was prepared by extrusion

[收稿日期] 20130514(005)

[基金项目] 江西省教育厅科技落地计划项目(赣财教[2011]243号)

[通讯作者] *王勇, 主管药师, 从事中药制剂工艺研究, Tel:13339827308, E-mail:1136542013@qq.com

- [8] 朱盛山, 袁旭江, 李苑新. 复方丹参缓释片中水溶性成分体外释放度研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1):37.
- [9] 李安平, 杨锡, 丁辉, 等. 一测多评 HPLC 法测定丹参注射液中 7 个水溶性成分含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9):1534.
- [10] 李献玉. HPLC 同时测定丹酚酸 B 和阿魏酸的含量[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(13):1355.
- [11] 陈恒冲, 马彬峡, 吴春高, 等. RP-HPLC 同时测定乐脉颗粒中阿魏酸和丹酚酸 B 含量[J]. 中成药, 2009, 31(4):554.
- [12] 李晓莉, 李晓蓉, 王丽娟, 等. RP-HPLC 测定丹芍方中丹参素、阿魏酸、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1):77.
- [13] 黄媛平. 血塞通分散片溶出度的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):36.
- [14] 国家药典委员会. 国家药品标准工作手册[M]. 3 版. 北京: 国家药典委员会出版社, 1998:68.

[责任编辑 仝燕]

spheronization method, with pellets yield, roundness, bulk density, friability as comprehensive evaluation index, orthogonal test was adopted to optimize preparation technology of pulsatilla total saponins colon-targeted pellets; With cumulative release rate as index, effects of plasticizer amount, anti-adhesion agent dosage and coating weight on coating process were investigated by single factor tests. **Result:** The best preparation technology of pellets core was as following: dosage of MCC 60%, mannitol amount 10%, extrusion frequency 20 Hz, rolling frequency 45 Hz, rolling time 5-8 min; Optimum coating process was: with Eudragit S100 as coating material, 15% triethyl citrate as plasticizer, 50% talcum powder as anti-adhesion agent, coating weight of 20%. **Conclusion:** Optimized process was stable and feasible, prepared pellets had good molding and colon-targeted effect.

[**Key words**] Pulsatillae Radix; colon-targeted pellets; orthogonal test; fluidized bed coating; single factor test

白头翁为毛茛科植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel 的干燥根,具有清热解毒、凉血治痢的功效,主要用于治疗热毒血痢、阴痒带下、阿米巴痢疾^[1]。白头翁作为“治痢要药”,具有抗菌、抗病毒、杀虫、修复肠黏膜的作用^[2],还可干预多耐药菌株的产生,避免肠道疾病治疗中滥用抗生素而产生的耐药性和其他不良反应^[3],达到“邪去而正自安”的作用,临床广泛用于治疗细菌性痢疾和溃疡性结肠炎。近年从白头翁地上部分分离得到的齐墩果烷型五环三萜皂苷常春藤皂苷具有良好的抗菌、抗病毒药理活性^[4],治疗溃疡性结肠炎疗效显著。

口服结肠定位释药系统是一种可避免药物口服后在胃、十二指肠、空肠和回肠前端释放,到达回盲部位再释药,从而发挥局部或全身治疗作用的一种新型释药系统^[5],如微丸等^[6]。本实验将白头翁地上部分提取物进行羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)包合后制成结肠靶向微丸,利用 HP-β-CD 的增溶作用提高药物的稳定性,克服白头翁地上部分活性成分水溶性差、药物释放缓慢的问题,增大药物与结肠黏膜接触面积,显著提高病变部位的药物浓度和生物利用度,降低不良反应,为白头翁药用资源的开发提供理论依据。

1 材料

1200 型高相液相色谱仪(美国安捷伦公司), JW-50 型挤出滚圆机(常州佳发制粒干燥设备有限公司), Mini Glat5 型流化床(德国 Binzen 公司), ZRS-8G 型智能溶出仪(天津大天发科技有限公司), BT-1600 型图像颗粒分析系统(丹东百特科技有限公司), 78X-2 型片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器厂)。

白头翁总皂苷提取物和白头翁总皂苷 HP-β-CD 包合物(自制),常春藤皂苷元 3-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-[β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)]-L-吡喃阿拉伯

糖苷对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,纯度 ≥ 98%,批号 20111108),羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD,一鸣精细化工有限公司),微晶纤维素 PH101(MCC)、乳糖、甘露醇、滑石粉(山河辅料有限公司),聚丙烯酸树脂 Eudragit S100(德国罗姆公司),柠檬酸三乙酯(TEC,上海邦成化工有限公司),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 白头翁总皂苷的含量测定

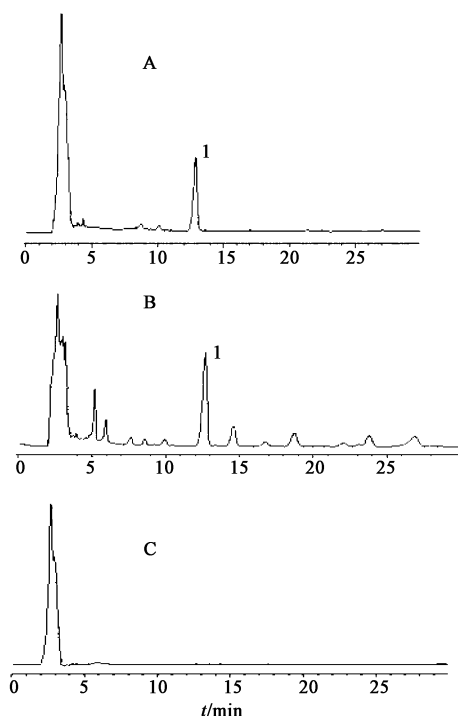
2.1.1 色谱条件 Hypersil ODS-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 大连依利特有限公司),流动相 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(39:61),流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 203 nm,进样量 20 μL。理论塔板数按常春藤皂苷元 3-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-[β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷峰计不低于 5 000,见图 1。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取常春藤皂苷元 3-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-[β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷对照品约 20.0 mg,加甲醇定容至 10 mL,作为储备液。精密吸取该储备液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.5 mL,分别用甲醇定容至 5 mL,进样,记录色谱峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 4\ 888.1X + 49.188$ ($r = 0.999\ 3$),线性范围 0.1 ~ 1 g · L⁻¹。

2.1.3 精密度试验 取同一对照品溶液,按上述色谱条件测定 3 次,并连续测定 3 d,计算日内与日间精密度 RSD 分别为 0.028%, 0.72%。

2.1.4 加样回收率试验 精密量取已知含量的样品溶液 1 mL,加入对照品约 10.0 mg,用甲醇定容至 25 mL,平行 6 份,按上述色谱条件测定,计算平均回收率 98.34%, RSD 1.06%。

2.2 白头翁总皂苷-HP-β-CD 包合物的制备 按质量比(1:4)称取白头翁总皂苷和 HP-β-CD 适量,加



A. 对照品; B. 供试品; C. 空白样品;

1. 常春藤皂苷元 3-O- α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)-
[β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷

图1 白头翁总皂苷提取物 HPLC

3 倍量水将 HP- β -CD 搅拌溶解,将白头翁总皂苷提取物用少量水磨匀,分次在磁搅拌下加至 HP- β -CD 溶液中,继续搅拌 3 h,冷冻干燥,收集粉末,即得。

2.3 载药丸心的制备 取白头翁总皂苷-HP- β -CD 包合物适量,加入稀释剂混匀,以 70% 乙醇为润湿剂,制成适宜软材,挤出滚圆,于 50 $^{\circ}$ C 干燥 3 h,筛分 18~24 目微丸,制得载药丸心。

2.3.1 赋形剂用量考察 分别以 MCC 和淀粉为稀释剂制备微丸,发现 MCC 可塑性强,润湿性好,微丸得率较高,MCC 加入量越多,素丸成丸性越好,为控制微丸的载药量,选择 MCC 用量 40%~60%。

2.3.2 水溶性填充剂考察 分别考察乳糖、甘露醇、可溶性淀粉、蔗糖等水溶性填充剂对素丸制备成型和崩解的影响,发现甘露醇对丸心的成型影响小,促进崩解效果明显。

2.3.3 制备工艺优选 在单因素试验基础上,选取 MCC 用量、甘露醇用量、挤出频率、滚圆频率为考察因素,微丸得率(18~24 目的微丸所占比例)、圆整度(以微丸长短径比在 0.95~1 的微丸所占比例)、堆密度(称取 18~24 目微丸,置于 100 mL 量筒中至 70~80 mL,轻轻摇平表面,读取体积,堆密度=微丸质量/体积)、脆碎度[称取 18~30 目的微丸适量(约 10 g, W_1),置于片剂四用测定仪中,加入 4 个小球,震荡 5 min,取出,过 40 目筛后称重(W_2),脆碎度=($W_1 - W_2$)/ $W_1 \times 100\%$]的综合评分为指标,权重系数均为 0.25,优选载药丸心的制备工艺条件,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表1 白头翁总皂苷结肠靶向微丸素丸制备工艺正交试验因素水平

水平	A MCC 用量/%	B 甘露醇 用量/%	C 挤出频率 /Hz	D 滚圆频率 /Hz
1	40	5	20	25
2	50	10	30	35
3	60	15	40	45

表2 白头翁总皂苷结肠靶向微丸素丸制备工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	得率/%	圆整度/%	堆密度/ $g \cdot cm^{-3}$	脆碎度/%	综合评分
1	1	1	1	1	50.2	48.7	0.502	1.362	56.200
2	1	2	2	2	52.8	56.3	0.548	1.201	63.925
3	1	3	3	3	57.2	58.3	0.582	1.108	68.700
4	2	1	2	3	73.8	80.6	0.597	0.792	86.700
5	2	2	3	1	78.6	70.1	0.624	1.021	80.225
6	2	3	1	2	71.2	75.6	0.562	0.935	80.350
7	3	1	3	2	87.5	82.9	0.645	0.621	96.125
8	3	2	1	3	82.8	88.7	0.604	0.526	97.800
9	3	3	2	1	84.3	79.4	0.622	0.895	87.075
K_1	62.942	79.682	78.117	74.500					
K_2	82.425	80.650	79.233	80.150					
K_3	93.683	78.708	81.700	84.400					
R	30.741	1.942	3.583	3.900					

表 3 素丸制备工艺方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	1 451.400	2	256.658	<0.05
B(误差)	5.655	2	1.00	
C	20.172	2	3.567	>0.05
D	147.995	2	26.171	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对载药丸心制备工艺的影响顺序为 $A > D > C > B$ 。以极值最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果表明 A, D 因素对丸心的成型具有显著影响,因素 C 影响不显著,确定最佳制备工艺为 $A_3B_2C_1D_3$,即 MCC 用量 60%,甘露醇用量 10%,挤出频率 20 Hz,滚圆频率 45 Hz,滚圆时间 5~8 min。

2.4 含药丸心的溶出度测定 按 2010 年版《中国药典》中溶出度测定第三法,溶出介质 200 mL 蒸馏水,转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,水温 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 。分别于 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min 取样 1 mL,立即经 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤器滤过,同时补加等量新鲜介质,取续滤液进样测定,计算累积溶出度,见图 2,表明白头翁总皂苷-HP- β -CD 包合物素丸的溶出度较白头翁总皂苷提取物素丸显著提高。

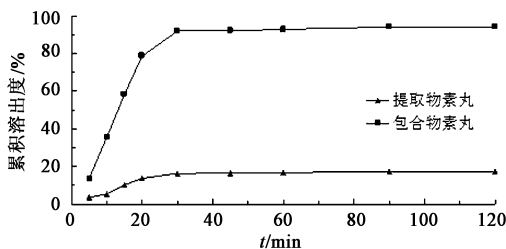


图 2 白头翁总皂苷载药丸心的溶出度比较

2.5 微丸的包衣 采用流化床底喷包衣法,工艺条件为物料温度 $30 \text{ }^\circ\text{C}$,进液速度 $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,流化压力 0.05 MPa,雾化压力 0.1 MPa,包衣后于 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干 3 h。

2.6 包衣微丸的释放度测定 参照《中国药典》2010 年版二部附录 XD 中第二法。称取包衣微丸 2 g,释放介质分别为人工胃液(700 mL)、人工小肠液(1 L)和人工结肠液(900 mL),溶出介质体积满足漏槽条件。取样时间为人工胃液 2 h,人工小肠液 4 h,人工结肠液 2 h,每次取样 1 mL(同时补加等量的溶出介质),过 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜,HPLC 测定,计算微丸的累积释放率。

2.7 微丸的包衣工艺考察 以 Eudragit S100 为成

膜材料,TEC 为增缩剂,加入少量滑石粉作为抗黏剂,95% 乙醇为溶剂配置包衣液。

2.7.1 增缩剂用量 适量增塑剂有助于喷雾液滴在丸面铺展和相互结合,可提高薄膜的柔韧性和致密性,降低聚合物的成膜温度^[7]。取 Eudragit S100 溶于适量 95% 乙醇中,静置使充分溶胀;将 Eudragit S100 用量 50% 的滑石粉和 10%,15%,20% 的 TEC 倒入适量 95% 乙醇中,搅拌后倒入 Eudragit S100 的 95% 乙醇溶液中,充分搅匀,过 80 目筛网,按 2.5 项下方法进行包衣,包衣增重 20%,测定各组包衣微丸的体外释放度,结果见表 4,包衣过程中发现 TEC 用量过大,微丸的黏结现象严重,故选择 TEC 用量 15%。

表 4 不同增塑剂用量制备的白头翁总皂苷包衣微丸

释放介质	累积释放率测定			%
	10% TEC	15% TEC	20% TEC	
人工胃液 2 h	0	0	0	
人工小肠液 4 h	20.6	15.3	14.6	
人工结肠液 1 h	70.2	65.5	63.4	
人工结肠液 2 h	93.2	92.3	90.3	

2.7.2 抗黏剂用量 选用滑石粉为抗黏剂,用量分别选取 Eudragit S100 用量的 30%,50%,70%,90% 进行考察,结果前者黏结严重,后三者基本无黏结现象,微丸能均匀的喷散开,但后二者有轻微的堵塞喷枪或易堵塞喷枪,故选择滑石粉用量为 Eudragit S100 用量的 50%。

2.7.3 包衣增重 按上述筛选条件配置包衣液,按 2.5 项下方法进行包衣,使微丸增重分别为 10%,15%,20%,30%,测定包衣微丸的体外释放度,见图 3。结果发现 2 h 时微丸在人工胃液中未见释放药物,在人工小肠液中才开始释放药物,说明各包衣增重下衣膜完整。包衣增重 10%,15% 的微丸在人工小肠液中释放率 $>30\%$,药物提前泄露较多;包衣增重 30% 的微丸在人工结肠液中释放度仅 60%,靶向部位释药不完全。包衣增重 20% 的微丸在人工小肠液 4 h 后累积释药率约 10%,在人工结肠液中 2 h 累积释药率 $>90\%$,结肠靶向效果好,故选择包衣增重 20%。

2.7.4 包衣工艺验证试验 按优选的包衣处方制备 3 批白头翁总皂苷结肠靶向微丸,按 2.6 项下方法对其体外释药性能进行评价,结果在人工胃液 2 h 的累积释放率均为 0,在人工小肠 4 h 的累积释放率分别为 11.5%,10.8%,11.6%,在人工结肠液 1 h

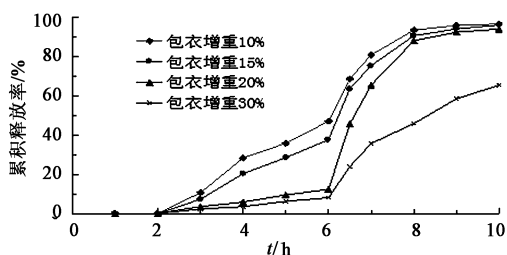


图3 不同包衣增重对白头翁总皂苷结肠靶向微丸体外释放度的影响

则分别为 65.7%, 65.5%, 64.7%, 人工结肠液 2 h 分别为 93.2%, 95.6%, 92.8%, 表明 3 批微丸结肠靶向释药性能良好。

3 讨论

白头翁总皂苷提取物水溶性差,制成固体制剂后溶出困难,分别采用固体分散技术和环糊精包合技术对白头翁总皂苷的增溶作用进行比较,将药物与 PEG-4000 混合后熔融法制备固体分散体和将药物制 HP- β -CD 包合物,通过 IR, DSC, NMR 技术对固体分散体进行结构分析,结果证实 PEG-4000 与白头翁总皂苷发生氢键作用而形成固体分散体,但对白头翁总皂苷的增溶作用不明显;而制成的 HP- β -CD 包合物增容效果明显,可能是常春藤皂苷的糖苷键镶嵌进入 HP- β -CD 的空腔,提高了白头翁总皂苷的水溶性。

白头翁提取物和 HP- β -CD 均为亲水性物质,吸湿性强,黏性大,可塑性差。挤出滚圆法制备素丸时软材的黏附性对微丸的成型影响较大,对于引湿性强浸膏类物料,由于含有大量糖类、树胶等黏性物质在受到摩擦、挤压等力的作用下失去水份形成固体桥^[8],导致微丸的制备和包衣过程中相互黏结、黏壁现象严重,微丸圆整度降低。试验发现选取 MCC 为稀释剂,70% 乙醇为润湿剂,制备过程中根据实际情况喷洒适量 95% 乙醇,效果满意。在素丸的包衣过程中采用与微丸运动方向一致的流化床底喷包衣,使包衣液中水分迅速干燥,包衣液损失少、微丸不黏结,包衣效率高。

预试验发现挤出速度和滚圆频率对白头翁提取物载药丸心质量的影响较大,挤出太快,条状物粗糙,不易成型;滚圆频率过高,黏结现象严重,微丸圆整度不高;初步确定挤出速度水平为 20, 30, 40 Hz,

滚圆频率水平为 25, 35, 45 Hz。在考察滚圆时间过程中,发现在各滚圆频率下滚圆 5 min 后圆整度即能满足要求,滚圆时间过长,反而会出现黏结现象。

Eudragit 系列材料被广泛用作胃溶包衣、肠溶包衣、隔离包衣等缓控释包衣材料^[9],成膜和释药性能好。预试验比较了 Eudragit S100 和 Eudragit FS30D 包衣后白头翁微丸的释药性能,结果发现在相同包衣增重条件下,Eudragit S100 包衣微丸在人工小肠液中泄露少,靶向效果优于 Eudragit FS30D 包衣微丸。文献报道 Eudragit S100 用于普通肠溶包衣时,膜厚约 30 ~ 50 μm ,聚合物包覆量约 6 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$,根据丸重和表面积计算达到肠溶包衣理论增重应 > 15%^[10],与本试验结果相符。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大词典. 上册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1977: 704.
- [2] 汪远平. 白头翁汤治疗溃疡性结肠炎 48 例[J]. 实用中医内科杂志, 2007, 21(5): 49.
- [3] 余日霞. 白头翁汤治疗细菌性痢疾的观察与护理[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(2): 285.
- [4] 石宝俊, 李茜, 张晓琦, 等. 中药白头翁地上部分的三萜皂苷成分[J]. 药学学报, 2007, 42(8): 862.
- [5] 许海玉, 张铁军, 赵平, 等. 中药缓控释制剂的研究现状及研发思路[J]. 药物评价研究, 2010, 33(1): 30.
- [6] YANG L B, CHU J S, Fix J A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation [J]. Int J Pharm, 2002, 235(1/2): 1.
- [7] 李小芳, 王娇, 李珂, 等. pH-时滞型苦参结肠靶向微丸包衣工艺研究及体外评价[J]. 中成药, 2009, 31(12): 1841.
- [8] 黄洋, 贾晓斌, 朱静, 等. 物料粉体学性质与中药微丸成型性相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3136.
- [9] 范新华, 屠永锐. 丙烯酸树脂水分散体及其在药物制剂薄膜包衣中的应用[J]. 国外医药: 合成药. 生化药. 制剂分册, 2002, 23(4): 228.
- [10] 谢兴亮, 杨明, 韩丽, 等. pH 敏感型苦参结肠靶向微丸的处方筛选及其释药性能评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 1.

[责任编辑 仝燕]