

· 工艺与制剂 ·

## 钩藤碱缓释微球的体外释放考察

游绍雪<sup>1</sup>, 李江<sup>1\*</sup>, 李珊<sup>1</sup>, 黄文荣<sup>2</sup>

(1. 贵阳中医学院药学院, 贵阳 550002; 2. 贵州百花医药股份有限公司, 贵州 遵义 563000)

**[摘要]** 目的: 优选钩藤碱海藻酸钠凝胶微球的处方工艺并考察其体外释放情况。方法: 采用滴制法制备钩藤碱海藻酸钠凝胶微球, 通过单因素试验考察海藻酸钠质量分数、海藻酸钠与钩藤碱质量比、氯化钙摩尔浓度及交联时间对药物释放的影响, 并拟合其体外释放曲线。结果: 优选的处方为海藻酸钠质量分数 1.5%, 海藻酸钠-钩藤碱 1:1, 氯化钙摩尔浓度 0.18 mol·L<sup>-1</sup>, 制备的凝胶微球外观较好, 载药量 3.71%, 包封率 92.45%; 在 pH 6.8 磷酸缓冲盐中 2 h 释放 33.14%, 6 h 释放 62.11%, 12 h 释放 94.70%, 体外释放符合零级释放模型  $F = 6.1147t + 23.47$ 。结论: 制得的缓释凝胶微球在 pH 6.8 磷酸缓冲盐中具有较好的体外释放行为, 优选的处方工艺简单、稳定、重复性好。

**[关键词]** 钩藤碱; 凝胶微球; 释放模型; 海藻酸钠; 滴制法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0001-03

## Investigation of *in vitro* Release of Rhynchophylline Sustained Release Microspheres

YOU Shao-xue<sup>1</sup>, LI Jiang<sup>1\*</sup>, LI Shan<sup>1</sup>, HUANG Wen-rong<sup>2</sup>

(1. College of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;  
2. Guizhou Baihua Medical & Pharmaceutical Co. Ltd, Zunyi 563000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize prescription technology of rhynchophylline sodium alginate gel microspheres, and investigate its *in vitro* release. **Method:** Rhynchophylline sodium alginate gel microspheres were prepared by dropping method, effects of the mass fraction of sodium alginate, CaCl<sub>2</sub> concentration, ratio of sodium alginate and rhynchophylline, crosslinking time on drug release were investigated by single factor test, then its *in vitro* release curve was fitted. **Result:** Optimal formulation was as following: sodium alginate concentration 1.5%, ratio of sodium alginate sodium to rhynchophylline 1:1, CaCl<sub>2</sub> concentration 0.18 mol·L<sup>-1</sup>; These prepared gel microspheres had a good appearance, encapsulation efficiency 92.45%, drug loading 3.71%; Drug released 33.14% in pH 6.8 phosphate buffer solution during 2 hours, released 62.11% during 6 hours, released 94.70% during 12 hours, *in vitro* drug release behavior of Zero order release model was  $F = 6.1147t + 23.47$ . **Conclusion:** These prepared gel microspheres had a good release behavior in pH 6.8 phosphate buffer solution, this optimized preparation technology was simple, feasible and repeatable.

**[Key words]** rhynchophylline; gel microspheres; release model; sodium alginate; dropping method

**[收稿日期]** 20120915(004)

**[基金项目]** 国家科技重大新药创制项目(2009ZX09103-417)

**[第一作者]** 游绍雪, 在读硕士, 从事中药新剂型与新制剂研究, Tel: 18786702823, E-mail: 568056750@qq.com

**[通讯作者]** \*李江, 博士, 教授, 从事中药新剂型研究与新制剂研究, Tel: 13984044866, E-mail: 13984044866@139.com

钩藤系茜草科钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil.、大叶钩藤 *U. macrophylla* Wall.、毛钩藤 *U. hirsuta* Havil.、华钩藤 *U. sinensis* (Oliv.) Havil. 或无柄果钩藤 *U. sessilfructus* Roxb. 的干燥带钩茎枝<sup>[1]</sup>。钩藤碱是其有效部位, 现代药理试验证实, 钩藤碱能降低血压、舒张血管、降低血管平滑肌细胞的钙离子浓度<sup>[2-3]</sup>。而高血压治疗需

平稳降压,因此,拟将钩藤碱制成缓释制剂,以维持血药浓度的稳定。海藻酸钠具有良好的生物相容性和生物可降解性,《中国药典》2010 年版已将海藻酸钠作为药用辅料列入正文。海藻酸钠分子链上有大量的羧基,故其水溶液与无水氯化钙水溶液可通过正、负电荷吸引形成海藻酸钠凝胶微球,从而提高制剂稳定性,同时可调节药物释放速度<sup>[4-6]</sup>。本实验通过滴制法制备海藻酸钠凝胶微球,并对其处方因素及体外释放情况进行考察,为钩藤碱缓释胶囊的研制提供参考。

### 1 材料

20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津),AU200 型分析天平(日本岛津),AE/240 型 1/10 万电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),DKZ-1 型电热恒温振荡水槽(上海精宏实验设备有限公司),XMTD 型数显温控仪(上海贺德实验设备有限公司),HJ-6A 型数显恒温磁力搅拌器(常州国华电器有限公司)。钩藤碱原料药(广西中医药研究院惠赠,纯度 >96%,批号 081101),钩藤碱对照品(天津马克生物技术有限公司,批号 PCM-GT20110304-1),海藻酸钠(ALG,青岛聚大洋海藻工业有限公司惠赠,批号 0003440),无水氯化钙(西陇化工股份有限公司),其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

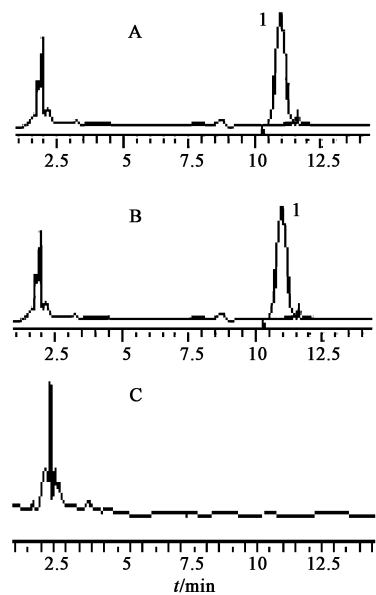
#### 2.1 钩藤碱的含量测定

**2.1.1 色谱条件** VP-ODS 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.05% 三乙胺水溶液(69:31),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL。见图 1。

**2.1.2 标准曲线制备** 精密称取钩藤碱对照品约 1 mg,置于 10 mL 量瓶中,加缓冲液溶解(pH 6.8)溶解并定容至刻度,作为贮备液;分别精密量取贮备液 0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.2 mL 置于 10 mL 量瓶中,配制成系列质量浓度的对照品溶液,进样,记录峰面积,以峰面积对药物质量浓度进行线性回归,得回归方程  $Y = 151.77X + 1516.8$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 1 ~ 12 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.2 钩藤碱海藻酸钠凝胶微球的制备**<sup>[4]</sup> 称取适量钩藤碱粉末与海藻酸钠按一定比例混合均匀,用注射器(7 号针头)吸取混悬液向 CaCl<sub>2</sub> 溶液中滴加(40 d·min<sup>-1</sup>),交联反应 1 h,取出微球,抽滤,用水冲洗 3 遍,置于 40 °C 烘箱干燥 12 h,即得。

**2.3 载药量和包封率的测定** 称取一定量钩藤碱海藻酸钠凝胶微球,加入 2 mL 缓冲液(pH 6.8)超



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 钩藤碱

图 1 钩藤碱凝胶微球 HPLC

声 30 min,用玻璃棒捣碎,转移至 50 mL 量瓶中,定容,测定钩藤碱的含量,计算包封率及载药量。

$$\text{包封率} = \frac{\text{微球中药物质量}}{\text{加入药物质量}} \times 100\%$$

$$\text{载药量} = \frac{\text{微球中药物质量}}{\text{小球质量}} \times 100\% \quad [7]$$

**2.4 体外释放度的测定** 精密称取钩藤碱凝胶微球约 5 mg,置于装有 500 mL PBS 缓冲液的烧杯中,将烧杯放入(37 ± 0.4) °C 恒温振荡槽以 60 r·min<sup>-1</sup> 振荡。分别于 1,2,4,6,8,10,12 h 各取出 1 mL 释放液,同时立即补加等体积等温度新鲜释放介质。取出释放液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液进样,计算累积释放率。

#### 2.5 不同处方因素对钩藤碱凝胶微球释放度的影响

**2.5.1 ALG 质量分数考察** 分别配制 1.0%, 1.5%, 2.0% 3 种不同质量分数的海藻酸钠水溶液,按 2.2 项下方法制备凝胶微球,分别测定其累积释放度。结果见图 2。

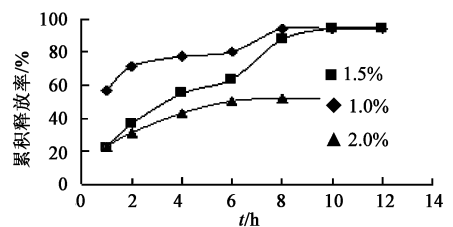


图 2 不同质量分数海藻酸钠水溶液对钩藤碱凝胶微球释放度的影响

由图 2 可知,当海藻酸钠质量分数过低时,黏度下降,导致释放过快。增加海藻酸钠质量分数,可使

黏度增加,释放减慢。但当海藻酸钠质量分数增加到 2.0% 时,反而导致释放不完全。

**2.5.2 氯化钙摩尔浓度考察** 在确定海藻酸钠溶液质量分数的基础上制备凝胶小球,分别测定 0.09, 0.14, 0.18, 0.21 mol·L<sup>-1</sup> 氯化钙水溶液的累积释放率,见图 3。故选择 0.18 mol·L<sup>-1</sup>。

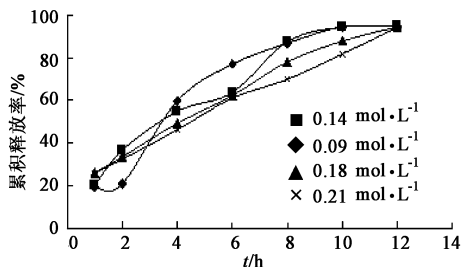


图 3 氯化钙水溶液对钩藤碱凝胶微球释放度的影响

**2.5.3 海藻酸钠与药物比例考察** 按 2.2 项下方法制备凝胶微球,分别测定海藻酸钠溶液与药物质量比为 2:1, 1:1, 1:2 对释放度的影响,见图 4。说明当海藻酸钠-钩藤碱 1:1 时,可达到良好的释放,而当比例为 1:2 或 2:1 时均不符合释放要求。

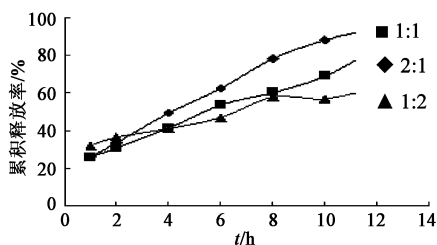


图 4 海藻酸钠与钩藤碱质量比对钩藤碱凝胶微球释放度的影响

**2.5.4 验证试验** 按单因素试验优选的处方制备 3 批钩藤碱海藻酸钠凝胶微球,测得粒径分别为 1.08, 1.10, 1.06 mm; 包封率分别为 92.11%, 92.47%, 92.76%; 载药量分别为 3.86%, 3.67%, 3.59%; 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 的体外平均释放度分别为 26.95%, 33.14%, 50.54%, 62.11%, 76.95%, 85.44%, 94.70%, 6 种释药模型拟合见表 1。

表 1 钩藤碱海藻酸钠凝胶微球 6 种释药模型拟合方程

模型	拟合方程	r
单指数	$\ln(1-F) = -0.2165t + 4.7111$	0.9560
零级	$F = 6.1147t + 23.474$	0.9954
Higuchi	$F = 27.568t^{1/2} - 3.2249$	0.9950
Weibull	$\ln \ln [1/(1-F)] = 0.8408 \ln t - 1.3474$	0.9629
Hixson-Crowell	$(100-F)^{1/3} = -0.2097t + 4.4951$	0.9855
Ritger-Peppas	$\ln F = 0.5065 \ln t + 3.2494$	0.9908

由表 1 可知,零级和 Higuchi 模型优于其他模型,释放度和时间均有较好的相关性。对于圆球形

制剂,Ritger-Peppas 指出,时间的指数( $n$ )可用来描述海藻酸钠缓释凝胶微球的制剂学研究释放机制。

①当  $n \leq 0.45$  时,药物的释放机制为 Fick's 扩散;②当  $0.45 < n < 0.85$  时,药物释放机制为 non-Fickian 扩散;③当  $n \geq 0.85$  时,药物释放机制为骨架溶蚀。释药曲线拟合的 Ritger-Peppas 方程的  $n = 0.5065$ ,推测 non-Fickian 扩散控制药物释放,即药物扩散和骨架溶蚀的协同作用,本实验中缓释凝胶微球释放 12 h 后骨架基本溶蚀,同时结合零级释放模型拟合线性关系良好,可见骨架的溶蚀机制起主导作用。

### 3 讨论

钩藤碱为吲哚类生物碱,属弱碱性药物,难溶于水且遇高温不稳定,这是本实验选用该制剂的基础,如药物为水溶性,当海藻酸钠与氯化钙水溶液进行交联时,会有一部分药物遗漏在氯化钙水溶液中,导致包封率和载药量降低。另外,钩藤碱对热不稳定,本实验全过程均在较低温度下便可进行。

目前关于钩藤碱的制剂较少,如钩藤碱缓释滴丸<sup>[8]</sup>,但选用海藻酸钠作为辅料的制剂还未见报道。其他药物以海藻酸钠作为辅料的例子也充分说明了该制剂具有良好的可行性和重复性<sup>[4,9]</sup>。本实验主要采用单因素试验考察,还有不完善的地方。

### [参考文献]

- [1] 康廷国. 中药鉴定学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:254.
- [2] 张丽心,孙涛,曹永孝. 钩藤碱的降压及舒张血管作用[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5):39.
- [3] 李运伦. 钩藤碱和异钩藤碱对血管紧张素 II 致血管平滑肌细胞凋亡的响及其机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(9):682.
- [4] 张彦青,解军波,戚务勤,等. 灯盏花素海藻酸钠凝胶小球的制备[J]. 中草药, 2006, 37(9):1333.
- [5] 刘丽英,王圣洁. 海藻酸钠凝胶微球的制备和 pH 敏感释放[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(42):8304.
- [6] 刘文. 药用高分子材料学[M]. 北京:高等教育出版社, 2010:109.
- [7] 崔明宇,王艳,孙志伟,等. 黄芩苷微囊的制备及体外评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):34.
- [8] 周方勇,马静,骆科回. 钩藤碱缓释滴丸的研制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):47.
- [9] 张彦青,解军波,张明春,等. 酮康唑海藻酸钠凝胶小球的制备工艺研究[J]. 中国药房, 2007, 18(28):2196.

[责任编辑 全燕]