

正交试验优选刺五加提取物缓释微球的制备工艺

汪洋^{1,2}, 焦海胜^{3*}

(1. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 2. 兰州市卫生学校, 兰州 730399;
3. 兰州大学第二医院药剂科, 兰州 730030)

[摘要] 目的: 优选刺五加提取物缓释微球的制备工艺。方法: 以载药量和包封率的综合评分为指标, 采用正交试验法考察海藻酸钠质量分数、刺五加提取物与海藻酸钠的质量比、氯化钙质量分数和交联时间对制备工艺的影响。结果: 最佳制备工艺为海藻酸钠质量分数 3.5%, 刺五加提取物与海藻酸钠的质量比 1:1, 氯化钙质量分数 4.0%, 交联时间 2 h, 载药量和包封率分别为 10.11%, 21.74%。制备的刺五加提取物缓释微球呈黑褐色、外观形态较圆整, 粒径约 0.45 mm, 12 h 累积释放率达 96.12%。结论: 优选的制备工艺简单易行。

[关键词] 刺五加提取物缓释微球; 海藻酸钠; 正交试验; 制备工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0032-03

Optimization of Preparation Technology of *Acanthopanax senticosus* Extract Sustained-Release Microsphere by Orthogonal Test

WANG Yang^{1,2}, JIAO Hai-sheng^{3*}

(1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;
2. Lanzhou Health School, Lanzhou 730399, China;
3. Department of Pharmacy, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of *Acanthopanax senticosus* extract sustained-release microsphere. **Method:** With comprehensive scoring of drug-loading and entrapment efficiency as index, orthogonal test was used to investigate influence of four main factors on preparation technology, including the mass fraction of sodium alginate and CaCl₂, *A. senticosus* extract-sodium alginate and cross-linking time. **Result:** Optimum Preparation technology was: the mass fraction of sodium alginate 3.5%, *A. senticosus* extract-sodium alginate 1:1, cross-linking time 2 h, the mass fraction of CaCl₂ 4.0%, drug loading and entrapment efficiency of prepared microsphere were 10.11%, 21.74%, respectively. Prepared *A. senticosus* extract sustained-release microsphere was dark brown and roundness, particle size was about 0.45 mm, cumulative release was up to 96.12% in 12 h. **Conclusion:** Optimized preparation technology was simple and reliable.

[Key words] *Acanthopanax senticosus* extract sustained-release microsphere; sodium alginate; orthogonal test; preparation technology

刺五加提取物具有抗肝脏毒性、调节免疫功能、

抗失眠等药理学活性^[1-2], 主要有效成分为刺五加苷 B 和 E(二者质量分数约占总苷的 80%)^[3]。研究表明刺五加苷 B 具有抗肝毒、保肝利胆、增强免疫功能等作用, 适用于急慢性肝损伤的治疗。目前对刺五加提取物剂型的研究报道较少, 已上市的剂型主要有胶囊^[4]、糖浆^[5]、口服液^[6]和注射剂^[7]等, 传统的给药剂型存在较多问题, 如口服制剂易受到首过消除和胃肠道中酸碱等理化环境和酶的影响,

[收稿日期] 20120920(026)

[第一作者] 汪洋, 硕士, 助理讲师, 从事药物新制剂和新剂型的研究与开发, Tel: 18919989910, E-mail: yangvast@sohu.com

[通讯作者] * 焦海胜, 教授, 主任药师, 硕士生导师, 从事药物新制剂和新剂型的研究与开发, Tel: 0931-8942571, E-mail: jiaohaiheng123@yahoo.com.cn

生物利用度不高;注射剂虽起效迅速,但由于起效后不能很快停止其药理作用,存在着较大的安全隐患,故拟将其制备成缓释微球。

海藻酸钠有天然无毒、生物相容性良好、在酸性介质中几乎不溶胀而在碱性介质中溶胀等特性,可用来保护药物免受胃酸的影响,且制成微球后粒径适宜,可防治药物出现突释现象,在口服缓释剂中具有较好的应用前景^[8-9]。本试验采用正交试验法,对以海藻酸钠为封装材料的刺五加提取物缓释微球的制备工艺进行优选,并考察其体外释药特征。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技股份有限公司),202A-00 型恒温干燥箱(上海新正机械仪器制造有限公司),ME2325S 型电子分析天平(德国塞多利斯仪器系统有限公司),RC-6 型溶出度测试仪(天津市光学仪器厂)。

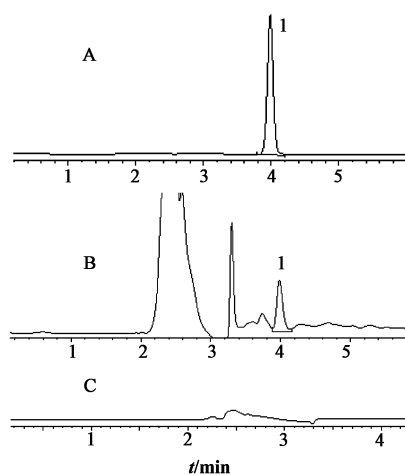
刺五加提取物[西安旭煌生物技术有限公司,按干燥品计算,含刺五加苷 B + E > 0.8%,批号 20120212,经甘肃省兽药饲料监察所李树刚药师鉴定为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim) Harms 的干燥根茎或茎],刺五加苷 B 对照品(北京恒元启天化工技术研究院,批号 MUST-11082414),海藻酸钠(SA,天津市北联精细化学品开发有限公司),刺五加提取物缓释微球(实验室自制,批号分别为 20120626,20120627,20120628),无水氯化钙(天津市北联精细化学品开发有限公司),甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 海藻酸钠微球的制备 精密称取 SA 适量,溶于 100 mL 水中,备用;精密称取氯化钙适量,配置一定质量分数的氯化钙溶液,置冰浴中;采用滴头为医用 8 号针头的注射器将海藻酸钠溶液匀速滴入氯化钙溶液中,静置数小时,待微球形成后用水反复冲洗,50 ℃ 烘干,重复多次,即得空白微球。将一定量刺五加提取物加入氯化钙溶液中,磁力搅拌,混匀,置冰浴中;其余制备方法同空白微球,即得刺五加提取物缓释微球。

2.2 色谱条件 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(17:83),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 220 nm,进样量 20 μL。见图 1。

2.3 包封率和载药量的测定 将干燥的刺五加提取物缓释微球用研钵研碎,精密称定,置具塞锥形瓶



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性供试品;1. 刺五加苷 B

图 1 刺五加提取物缓释微球 HPLC

中,精密加入甲醇溶解,称定质量,超声 60 min,放冷,再称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,静止 10 min,过滤,精密量取续滤液 1 mL,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,按 2.2 项下色谱条件进行测定,计算刺五加苷 B 含量,分别按下式计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (\text{微球中包封的药量} / \text{总投药量}) \times 100\%$$

$$\text{载药量} = (\text{微球中包封的药量} / \text{干燥微球的质量}) \times 100\%$$

2.4 正交试验设计 在预试验基础上,选取 SA 质量分数、刺五加提取物与海藻酸钠的质量比、氯化钙质量分数和交联时间为考察因素。每个因素选取 3 个水平,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,以载药量和包封率的综合评分为指标,综合评分(Y) = 包封率(Y₁) × 0.4 + 载药量(Y₂) × 0.6。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 刺五加提取物缓释微球的制备工艺正交试验因素水平

水平	A 海藻酸钠 质量分数/%	B 刺五加提取物- 海藻酸钠	C 氯化钙 质量分数/%	D 交联时间 /h
1	2.5	1:2.5	2.0	2
2	3.0	1:1	3.0	3
3	3.5	2.5:1	4.0	4

由表 2 结果可知,各因素对制备工艺的影响顺序为 A > C > D > B,即 SA 质量分数 > 氯化钙质量分数 > 交联时间 > 刺五加提取物与海藻酸钠质量比。确定最佳制备工艺为 A₃B₂C₃D₁,即 SA 质量分数 3.5%,刺五加提取物-海藻酸钠 1:1,氯化钙质量分数 4.0%,交联时间 2 h。

2.5 验证试验 按上述优选的制备工艺进行 3 次

表 2 刺五加提取物缓释微球的制备工艺正交试验安排 %

No.	A	B	C	D	Y_1	Y_2	Y
1	1	1	1	1	16.00	7.47	10.88
2	1	2	2	2	10.12	6.18	7.76
3	1	3	3	3	9.38	13.45	11.82
4	2	1	2	3	10.19	4.74	6.92
5	2	2	3	2	20.48	10.28	14.36
6	2	3	1	2	6.59	6.64	6.62
7	3	1	3	2	21.41	10.19	14.68
8	3	2	1	3	22.31	10.39	15.16
9	3	3	2	1	10.12	16.00	13.65
K_1	10.153	10.827	10.887	12.963			
K_2	9.300	12.427	9.443	9.687			
K_3	14.497	10.697	13.620	11.300			
R	5.197	1.730	4.177	3.276			

重复试验,结果制备的刺五加提取物缓释微球的载药量和包封率均值分别为 10.11%,21.74%,表明该方法稳定可行。

2.6 外观形态的观察 取 2.1 项下制备的刺五加提取物缓释微球数粒,以白纸作为背衬,观察其外观形态。发现制得的刺五加提取物缓释微球呈黑褐色,外观形态较圆整规则,粒径约 0.45 mm(图 2)。



图 2 刺五加提取物缓释微球的外观形态

2.7 体外释放特性考察 称取刺五加提取物缓释微球约 0.5 g,精密称定,按 2010 年版《中国药典》二部附录 X C 第一法测定累积释放度,以 pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液 300 mL 为释放介质,转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,温度 $(37 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$,分别于 0.5,1.5,3,5,8,12 h 精密量取释放介质 2 mL,同时补充等温度等体积的新鲜空白 pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液 2 mL,经 $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,取续滤液,按 2.2 项下条件进行测定,计算刺五加提取物的体外释放量,绘制体外释放曲线(图 3)。

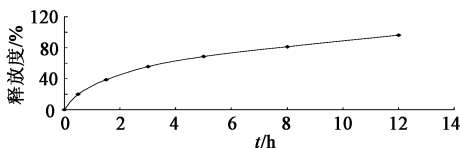


图 3 刺五加提取物缓释微球体外释放曲线

由图 3 可知,刺五加提取物缓释微球于 0.5 h 可累积释放 20.10%,于 12 h 可累积释放 96.12%,说明刺五加提取物缓释微球具有较好的缓释特性。

将刺五加提取物缓释微球的累积释放率(Y)与时间(t)分别按零级、一级和 Higuchi 方程数学模型拟合,结果见表 3。

表 3 刺五加提取物缓释微球释药模型拟合

方程类型	方程式	r
零级	$Y = 0.0976t$	0.8141
一级	$\ln(1 - Y) = -0.2519t$	0.9868
Higuchi	$Y = 0.2919t^{1/2}$	0.9947

由表 3 可知,刺五加提取物缓释微球的释药行为较符合 Higuchi 方程规律。说明刺五加提取物主要通过 SA 骨架溶蚀和扩散而缓慢释放。

3 讨论

本试验将中药刺五加提取物采用相凝聚法制成海藻酸钠缓释微球,主药刺五加提取物在热水中可溶,但在冷水中微溶,由于采用相凝聚法制备的微球包封率和载药量相对较低,所以在相凝聚过程中改进传统工艺,将其置于冰浴中,有效地提高了微球的包封率和载药量,试验结果表明该方法简单可行。

[参考文献]

- [1] 刘起华,朱礼,李文兰. 刺五加主要活性成分化学与药理研究[J]. 时珍国医国药,1999,10(4):305.
- [2] 朱蕾,张茹,李廷利. 刺五加对睡眠剥夺大鼠学习记忆及海马单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):219.
- [3] Sandra A, Tania N, Sabine V M, et al. Quality control of roots of eleutherococcus senticosus by HPLC [J]. Phytochem Ana,2005,16(1):55.
- [4] 牟洪,刘树民,杨补科,等. 刺五加胶囊成型工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):4.
- [5] 张旭东,王蕊,张淑慧. 复方刺五加糖浆的制备及临床应用[J]. 河北医药,2009,31(20):2822.
- [6] 金焱,姚会敏. 刺五加口服液总皂苷的含量测定[J]. 黑龙江医药,2011,24(1):25.
- [7] 孙国祥,于秀明,王佳庆. 刺五加注射液 HPLC 数字化指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志,2009,29(3):356.
- [8] 马萍,孙淑英. 一种新的缓释载体-海藻酸钙凝胶微球的研究概况[J]. 国外医药——合成生化药制剂分册,1988,19(3):190.
- [9] Toshihisa, Yotsuyangagi. Calcium-induced gelation of alginic acid and pH-sensitive reswelling of dried gels[J]. Chem Pharm Bull,1987,35(4):1555.

[责任编辑 全燕]