

三七总皂苷肠溶微囊的制备及体外释放度

陆仕华¹, 刘华钢^{1*}, 赖玲¹, 秦艳娥¹, 文丽², 陈明³, 刘冠萍³

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 广西中医学院, 南宁 530001;
3. 广西梧州制药(集团)股份有限公司, 广西 梧州 543000)

[摘要] 目的: 探讨三七总皂苷(PNS)肠溶微囊的制备方法, 并对其进行体外释放度研究。方法: 以聚丙烯酸树脂 II 为囊材, 采用溶剂-非溶剂法制备 PNS 肠溶微囊, 并考察其包封率、载药量及其体外释放性能。结果: 3 批 PNS 肠溶微囊的包封率分别为 90.85%、90.15%、89.06%; 载药量分别为 26.05%、25.04%、25.16%; R_1 , R_{g1} , R_{b1} 在人工胃液中释放量 < 10%, 人工肠液中 45 min 累积释放率分别达到 86.08%、88.76%、84.98%。结论: 溶剂-非溶剂法制备 PNS 肠溶微囊方法简单, 体外释放符合药典对肠溶制剂的要求。

[关键词] 三七总皂苷; 肠溶微囊; 溶剂-非溶剂法; 释放度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0011-04

Preparation and *in vitro* Release of *Panax notoginseng* Saponins Enteric Microcapsules

LU Shi-hua¹, LIU Hua-gang^{1*}, LAI Ling¹, QIN Yan-e¹, WEN Li², CHEN Ming³, LIU Guan-ping³

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;

3. Guangxi Wuzhou Pharmaceutical Group Co. Ltd, Wuzhou 543000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the preparation method of PNS enteric microcapsules and to investigate the release properties *in vitro*. **Method:** The solvent-non-solvent extraction was used to prepare enteric microcapsule of PNS with the polyacrylic acid resin II as the pouch material. The encapsulation efficacy and loading efficiency as

[收稿日期] 20110126(008)

[基金项目] 广西企业科技特派员专项(桂科攻 09321049), 广西自然科学基金项目(2010GXNSFB013068)

[第一作者] 陆仕华, 药师, 硕士生, E-mail: lushihua2318@163.com

[通讯作者] * 刘华钢, 教授、博士生导师, 从事中药药理学、中药新制剂的开发研究, Tel: 0771-5358272, E-mail: hgliu@263.net

3 讨论

处方中艾片和人工麝香均为挥发性成分, 通过环糊精包合, 能够增加其稳定性。本实验采用球磨法同时包合艾片中龙脑和人工麝香中麝香酮, 能达到既节约原料又节约时间的目的, 更适合于工业化生产。

本实验采用 Box-Behnken 实验设计优化龙脑-麝香酮- β -环糊精包合工艺, 其充分考虑到各因素的交互作用, 设计方法简单, 采用非线性模型拟合, 复相关系数较高, 验证试验结果表明, 该工艺稳定可行。

[参考文献]

[1] 秦彦彦, 宋洪涛, 郭涛, 等. 冰片 β -环糊精包合物的稳定

性考察[J]. 中草药, 2000, 31(4): 255.

[2] 李娟, 陆洋, 王广基. Box-Behnken 效应面法优化甘草次酸长循环脂质体的处方[J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(2): 120.

[3] 邹国省, 关浩彬, 秦凌浩. Box-Behnken 响应面设计法优化替硝唑环糊精包合物的制备工艺[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 444.

[4] 吴大章, 吴品江, 杨明. Box-Behnken 设计-效应面法优化紫苏叶挥发油- β -环糊精包合物制备工艺[J]. 成都中医药大学学报, 2009, 32(1): 81.

[责任编辑 全燕]

well as the properties *in vitro* release of PNS enteric microcapsules were investigated. **Result:** Encapsulation efficiency was 90.85%, 90.15%, and 89.06%, loading efficiency was 26.05%, 25.04%, and 25.16% respectively. The release of R_1 , R_{g1} and R_{b1} was less than 10% in the artificial gastric juices, and up to 86.08%, 88.76%, and 84.98% in the artificial intestinal juices after 45 min. **Conclusion:** The microcapsules meet the requirements of pharmacopoeia *in vitro* release.

[**Key words**] *Panax notoginseng* saponins (PNS); enteric microcapsules; solvent-non-solvent method; release

微胶囊 (microencapsulation) 是一种通过成膜物质将囊内空间与囊外空间隔离开来, 形成特定几何结构的微型容器, 直径一般为 $1 \sim 1\,000 \mu\text{m}$ ^[1]。微胶囊 (microencapsulation) 过程是用壳材料在芯材料层形成一层薄而连续的包裹层的过程^[2]。

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根, 具有活血化瘀、通脉活络之功效。其主要成分三七总皂苷 (PNS) 在血液系统、心血管系统以及抗炎、抗衰老等方面均具有较强的生理活性。在临床上多用于治疗心血管系统疾病, 可以保护心功能、抗脑缺血、保护脑损伤、阻滞钙通道、抗自由基、抗休克等^[3,4]。

丙烯酸树脂类系由丙烯酸、甲基丙烯酸及其醋类分别搭配相互共聚而成。聚丙烯酸树脂 II (Eudragit L100) 是以二甲胺基甲基丙烯酸酯和其他中性甲基丙烯酸酯类共聚而成。聚丙烯酸树脂 II 是一类肠溶性材料, 聚丙烯酸树脂 II 微囊可以通过胃液而不被破坏, 增加药物在肠道的吸收, 充分发挥药效。

微囊内的药量水溶性较好, 但其普通口服制剂存在着口服吸收较差, 生物利用度低等缺点。研究发现 PNS 主要成分 (R_1 , R_{g1}) 在肠道吸收速率大于胃, 肠道中十二指肠吸收速率又快于空肠和回肠, 证实 R_1 和 R_{g1} 可由全肠道吸收, 吸收速率最高是在十二指肠, 最低在胃^[5]。本文选用聚丙烯酸树脂 II 作为载体材料制备三七总皂苷肠溶微囊, 避免了药物在胃液中的破坏, 增加药物在肠道的吸收, 减少用药频率, 对心脑血管疾病有临床应用价值。

1 材料

1.1 仪器 岛津高效液相色谱仪 (LC-10AT 泵, SPd-10A 紫外检测器), ZNCL-S 型智能数显磁力搅拌器 (联州长城科工贸有限公司), DL-720 型超声仪 (上海之信仪器有限公司), ZRJ-8G 型智能溶出实验仪 (天津市天大天发科技有限公司), 1/万 BS224S

电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司], 101AS-2 型数显电热恒温干燥箱 (上海圣欣科学仪器有限公司), XSZ-0900 型生物显微镜 (东莞市兴万电子厂)。

1.2 试剂 聚丙烯酸树脂 II (安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号 100207), PNS [广西梧州制药 (集团) 股份有限公司, 批号 090805], 司盘 80 (天津市博迪化工有限公司), 硬脂酸镁 (成都科龙化工试剂厂), 甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher Scientific 公司), 乙腈 (色谱纯, 美国 TEDIA 公司)

2 方法与结果

2.1 微囊的制备 选用溶剂-非溶剂法制备微囊^[6]。称取一定量聚丙烯酸树脂 II, 溶解于适量的无水乙醇溶液, 待完全溶解后加入 PNS 粉末, 在磁力搅拌器中搅拌至完全溶解。将含有 PNS 的聚丙烯酸树脂 II 无水乙醇溶液加入到混匀的液体石蜡、司盘 80 和硬脂酸镁中, 迅速搅拌使之成为稳定的乳化体系。加入适量的乙酸乙酯, 反应完全后, 微囊沉淀, 抽滤, 水洗, 干燥即得含药微囊。

2.2 微囊的形态 取微囊少量, 置载玻片上, 于 10 倍电子显微镜下观察, 可观察到微囊形态圆整、表面光洁、大小均匀。

2.3 测定波长的选择 称取对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 以人工肠液为溶剂, 配成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 以人工肠液为空白, 于 190 ~ 300 nm 波长扫描, 可见在 203 nm 波长处有最大吸收。故采用 203 nm 波长进行含量测定。

2.4 微囊载药量及包封率的测定

2.4.1 标准曲线的绘制 准确称取干燥至恒重的含 R_1 , R_{b1} , R_{g1} 对照品 (PNS) 9.61, 37.34, 55.19 mg, 置 100 mL 量瓶中配成含混合对照品 $103.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的人工肠液溶液, 分别取出 10, 3.2, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 mL 溶液, 置 10 mL 量瓶中, 加人工肠液至刻度, 配成一系列浓度的标准溶液, R_1 ,

R_{b_1} , R_{g_1} 质量浓度分别为 (1) 9.61, 37.34, 55.19 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (2) 3.07, 11.95, 17.66 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (3) 1.54, 5.97, 8.83 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (4) 0.77, 2.29, 4.42 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (5) 0.38, 1.49, 2.21 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (6) 0.19, 0.75, 1.10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (7) 0.10, 0.37, 0.55 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。各取 20 μL 注入高效液相色谱仪中,记录色谱图与 3 种皂苷的峰面积。以峰面积 A 为纵坐标,质量浓度 C ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 为横坐标进行回归,结果见表 1。

表 1 三七皂苷标准曲线 ($n=7$)

成分	回归方程	r	线性范围 $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
R_1	$A = 6.2 \times 10^3 C - 4.2 \times 10^2$	0.999 5	0.10 ~ 9.61
R_{b_1}	$A = 1.6 \times 10^3 C - 5.8 \times 10^2$	0.999 8	0.37 ~ 37.34
R_{g_1}	$A = 6.1 \times 10^3 C - 2.2 \times 10^2$	1	0.55 ~ 55.19

表 2 三七总皂苷加样回收率 ($n=3$)

成分	含药量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	测定量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			回收率/%			平均值/%	RSD/%
R_1	3.56	3.43	3.51	3.45	96.21	98.61	97.00	97.27	1.25
	3.96	3.88	3.80	3.84	97.86	95.92	97.05	96.94	1.00
	4.36	4.29	4.35	4.37	98.34	99.73	100.32	99.46	1.02
R_{g_1}	25.72	25.90	26.14	25.66	100.71	101.63	99.76	100.70	0.93
	28.03	27.92	28.36	28.44	99.59	101.19	101.48	100.75	1.01
	30.35	31.26	30.57	31.21	102.99	100.74	102.85	102.19	1.24
R_{b_1}	14.47	14.12	13.98	14.06	97.60	96.64	97.17	97.14	0.49
	16.04	15.83	16.12	15.96	98.66	96.86	95.90	97.14	1.44
	17.61	16.81	16.87	16.88	95.44	95.81	95.85	95.70	0.24

微囊包封率 = 微囊内的药量 / (微囊内的药量 + 介质中的药量) $\times 100\%$

微囊载药量 = 微囊内的药量 / 微囊的总质量 $\times 100\%$

微囊内的药量即水洗后微囊中 PNS 的量,介质中的药量即水洗去 PNS 的量,即:

微囊包封率 = 水洗后微囊中 PNS 的量 / 水洗前微囊中 PNS 的量 $\times 100\%$

微囊载药量 = 水洗后微囊中 PNS 的量 / 微囊总质量 $\times 100\%$

通过外标法计算,测定了 3 批三七总皂苷肠溶微囊,结果见表 3。

2.5 药物释放度的测定 按照《中国药典》2010 年版溶出度测定法规定采用第二法,转速为 75 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$,分别以人工胃液 (pH 1.0) 和人工肠液 (pH 6.8) 为溶出介质。称取空白微囊、三七总皂苷肠溶微囊适量 (含三七总皂苷约

2.4.2 加样回收率 精密称取 PNS 微囊 0.200 4 g 于 100 mL 量瓶中,人工肠液定容至刻度,分别取 1 mL 于 9 支 25 mL 量瓶中,加入 0.108 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PNS 对照品 4, 5, 6 mL,人工肠液定容至刻度。取 20 μL 进样,计算加样回收率。结果见表 2,回收率及 RSD 均符合要求,说明该测定方法的准确度良好。

2.4.3 三七总皂苷肠溶微囊的载药量及包封率测定^[7] 精密称取水洗前三七总皂苷肠溶微囊 50 mg 于 10 mL 量瓶中,同时精密称取水洗后三七总皂苷肠溶微囊 50 mg 于 10 mL 量瓶中,分别用甲醇定容至刻度,作为供试品溶液。另精密称取三七总皂苷对照品适量,制成 5.1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。分别取 20 μL 注入高效液相色谱仪中,通过外标法求出浓度,按下列公式计算药物载药量和包封率:

表 3 三七总皂苷肠溶微囊中 PNS 包封率及载药量

批号	质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		PNS 包封率/%	PNS 载药量/%
	水洗前	水洗后		
1	5.04	5.04	90.85	26.05
2	5.02	5.01	90.15	25.04
3	5.05	5.06	89.06	25.16

50 mg) 分别投入杯中,自样品与溶出介质接触时开始计时,分别于 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min 采样 3 mL, 0.45 μm 微孔滤膜过滤,得到溶出液样品,并立刻补充同体积等温新鲜人工胃液和人工肠液介质,每个取样操作在 25 s 内完成,以空白微囊的溶出液为空白溶液。依法测定,计算其溶出度,结果见图 1。

由图 1 可见,在 2 h 时三七总皂苷肠溶微囊中 R_1 , R_{g_1} , R_{b_1} 在人工胃液介质中累积溶出率分别为

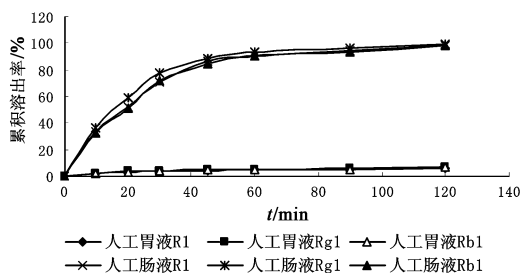


图 1 PNS 肠溶微囊体外溶出度曲线

6.19% , 6.52% , 6.43%。而在 2 h 时三七总皂苷肠溶微囊中 R_1 , R_{g1} , R_{b1} 在人工肠液介质中累积溶出率分别为 98.46% , 99.83% , 98.05% , 释放接近完全,且在 45 min 后三七总皂苷肠溶微囊中 R_1 , R_{g1} , R_{b1} 累积溶出率分别达到 86.08% , 88.76% , 84.98% , 符合 2010 年版《中国药典》规定。

3 讨论

根据文献报道^[8],抗黏剂对微囊成形的影响较大。硬脂酸镁是硬脂酸金属盐类,是一种抗黏剂,它具有分散作用,使微囊表面光滑圆整,粘连现象明显减少。试验给予对比,无抗黏剂时微囊发生粘连,成囊后微囊分散性差,微囊颗粒流动性差。加入抗黏剂后,微囊大小分散较好,成囊后微囊分散性较好,微囊颗粒有一定的流动性。

在把聚丙烯酸树脂 II 与三七总皂苷乙醇混合溶液加入到液体石蜡时要用注射器逐滴加入,注射器逐滴加入的方法比滴管加入得到的微囊均匀;另在加入乙酸乙酯使微囊沉淀后,要立即进行抽滤,时间过长或久置微囊会发生粘连,这一步是抽滤过程中能否得到微囊的关键因素。

在三七总皂苷肠溶微囊的制备过程中,聚丙烯酸树脂 II 与三七总皂苷的比例,对三七总皂苷肠溶微囊的载药量及包封率影响较大,当聚丙烯酸树脂 II 用量为 0.30 g 时,微囊大小分散不是很均匀,微囊成囊后分散性较好,成囊后微囊颗粒有一定的流动性,载药量及包封率较低。当聚丙烯酸树脂 II 用量为 0.60 g 时,微囊大小分散较均匀,微囊成囊后分散性好,颗粒流动性较好,载药量及包封率提高。

当聚丙烯酸树脂 II 用量为 0.90 g 时,微囊大小分散均匀,微囊成囊后分散性好,颗粒流动性好,载药量及包封率高。所以在制备微囊过程中找到聚丙烯酸树脂 II 与三七总皂苷适合的比例是提高微囊载药量及包封率的关键。

聚丙烯酸树脂 II 是一类肠溶性材料,本文利用其在肠液中溶解的特性,制备三七总皂苷肠溶微囊。从体外溶出结果显示,三七总皂苷肠溶微囊在人工胃液介质中溶出释放较少,低于 10% ,而在人工肠液介质中溶出释放完全。从而使患者在服用此药物时避免药物在胃液中溶出,使其顺利进入肠道,发挥药物肠溶的特点,促进药物的吸收,充分发挥药物的疗效。本文只进行了体外溶出度研究,但在实际应用中,体内环境远比体外环境复杂,药物是否能达到满意的肠溶效果,还需对三七总皂苷肠溶微囊的体内溶出特性进行深入研究。

[参考文献]

- [1] Krober H, Teipel U. Microencapsulation of particles using supercritical carbon dioxide [J]. Chemical engineering and processing, 2005, 44(2): 215.
- [2] 乔吉超, 胡小玲, 张团红, 等. 溶剂蒸发法制备药物微胶囊研究进展 [J]. 化工进展, 2006, 25(8): 885.
- [3] 张继, 赵朝伟, 赵睿. 三七的药理作用研究进展 [J]. 中国药业, 2003, 12(11): 76.
- [4] 张喜平, 齐丽丽, 刘达人, 等. 三七及其有效成分的药理作用研究现状 [J]. 医学研究杂志, 2007, 36(4): 96.
- [5] 冯亮, 蒋学华, 周静, 等. 三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g1} 的大鼠在体肠吸收动力学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(14): 1097.
- [6] 崔福德. 药剂学 [M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 402.
- [7] 张洪, 黄徐英. 三七总皂苷壳聚糖缓释微球的制备及体外释放特性研究 [J]. 广东药学院学报, 2006, 22(5): 479.
- [8] 汪丽芬. 盐酸小檗碱肠溶微囊的制备及体外评价 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2007.

[责任编辑 仝燕]