

# 大黄酚微囊的制备及其体外释药的研究

严春临, 张季, 张丹参\*, 张力, 薛贵平, 王树  
(河北北方学院药学系, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 研究大黄酚微囊的制备工艺。方法: 以包封率为指标, 用正交设计法对大黄酚的制备工艺进行研究, 对制备的微囊进行体外释药、形态、稳定性研究。结果: 用复凝聚法制备的大黄酚微囊, 其囊心囊材比、搅拌速度及成囊温度均有显著性差异, 当囊心囊材比为 1:4, 搅拌速度为  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 成囊温度为  $60^\circ\text{C}$  时, 包封率最高, 囊径最小。结论: 该法制备工艺简单、可靠, 产品稳定性好, 具有一定的缓释效果。

[关键词] 大黄酚; 微囊; 正交设计; 制备工艺; 体外释放

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0007-04

## Study on Preparation of Chrysophanol Microcapsule and its *in vitro* Release Behavior

YAN Chun-lin, ZHANG Ji, ZHANG Dan-shen\*, ZHANG Li, XUE Gui-ping, WANG Shu  
(Pharmaceutical Department of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the preparation technique of chrysophanol microcapsules. **Method:** The preparation technique of chrysophanol microcapsules was optimized by orthogonal design; *in vitro* release of chrysophanol microcapsules, morphology and its stability were studied. **Result:** With the complex agglutination method, the encapsulation rate was significantly related to the ratio of coating material, the encapsulation temperature and the stirring speed. The highest rate of production and minimum diameter of microcapsule were obtained when the ratio of coating material to chrysophanol was 1:4, the temperature of encapsulation was at  $60^\circ\text{C}$  and the stirring speed was  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ . **Conclusion:** The process was simple and reliable. The chrysophanol microcapsules were very stable and could be used as sustained-release preparation.

**[Key words]** chrysophanol; microcapsule; orthogonal design; preparation technique; *in vitro* release

大黄酚(chrysophanol, Chry), 化学名为 1,8-二羟基-3-甲基蒽醌, 为中药大黄的主要有效成分之一, 具有抗菌、缩短血液凝固时间、兴奋神经、麻痹肌肉、止咳、利尿、抗癌作用<sup>[1]</sup>。近年来研究表明, 大黄酚能延缓衰老,

能清除氧自由基, 增强抗氧化能力和改善学习记忆障碍等作用<sup>[2]</sup>。但大黄酚具有味苦、对胃有刺激性, 难溶于水、理化性质不稳定, 见光易氧化等不利因素。

微囊除具有掩盖药物不良口味气味、提高药物稳定性、防止药物在胃内失活和减少其对胃的刺激等特点外, 更具有缓释作用, 可长时间维持稳定的血药浓度, 而提高药物生物利用度。本实验采用复凝聚法将大黄酚制成微囊, 可提高大黄酚稳定性, 掩盖其苦味, 减少其对胃的刺激性, 同时, 对其体外释放特性、形态及稳定性进行研究, 为进一步研究相关的缓释制剂提供参考, 具有较重要的意义。

### 1 仪器与试药

大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号

[收稿日期] 20100904(006)

[基金项目] 河北省卫生厅医学科学研究重点课题指导项目(08348)

[第一作者] 严春临, 硕士, 讲师, 从事中药药剂与药物动力学研究, Tel: 18931316002, E-mail: yanchulinycl@163.com

[通讯作者] \* 张丹参, 教授, 博士生导师, 研究神经药理学, Tel: 0313-4029290, E-mail: dszhang-cn@yahoo.com.cn

0796-200310, ) ; 大黄酚(含量 98%, 南京青泽医药有限公司); 阿拉伯胶(天津市福晨化学试剂厂); 明胶(天津市瑞金化学有限公司); 其他化学试剂均为分析纯。

LabTech-紫外-可见分光光度计(LabTech 公司); ME235P 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司); OLYMPUS-CX31 型显微镜(日本奥林巴斯株式会社); D-800 智能药物溶出仪(天津市天大天发科技有限公司), YP-250B 药品稳定性试验箱(上海领德仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 大黄酚的测定

**2.1.1 测定波长的选择** 取大黄酚对照品适量, 用无水乙醇成  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的大黄酚溶液。以无水乙醇为空白, 于 200 ~600 nm 扫描。见大黄酚在 255 nm 和 430 nm 处有最大吸收, 并且 255 nm 吸收信号较强, 同时, 取试验中空白无水乙醇溶液(明胶、阿拉伯胶、甘油及吐温四种物质的无水乙醇溶液), 以无水乙醇为空白, 在 200 ~600 nm 扫描。见空白醇溶液在 250 ~600 nm 无吸收, 因此选择 255 nm 为含量测定的检测波长。

**2.1.2 标准曲线制备** 精密吸取  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 10.0 mL, 至 10 mL 量瓶中, 分别用无水乙醇稀释至刻度。以无水乙醇为空白, 在 255 nm 波长处分别测定溶液吸收度  $A_0$ 。以吸收度对浓度进行线性回归, 得回归方程为  $A = 35.715C + 1.665.7 (r = 0.9963)$ , 结果表明大黄酚在  $0.10 \sim 10.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  与吸收度有良好的线性关系。

**2.1.3 精密度试验** 取  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的大黄酚对照品溶液连续测定 6 次吸光度, RSD 1.22%。

**2.1.4 加样回收率试验** 精密称取大黄酚微囊 4.0, 5.0, 6.0 mg 于 100 mL 量瓶中, 分别精密加入大黄酚对照品 1.0 mg, 用无水乙醇定容, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 用无水乙醇稀释至 10 mL。于 255 nm 测定吸光度值, 计算加样回收率分别为 98.8%, 99.3%, 100.5%, 平均回收率为 99.53%。

**2.2 载药量和包封率的测定** 精密称取大黄酚微囊 10 mg 于 100 mL 量瓶中, 用无水乙醇溶解定容, 过滤, 精密量取续滤液 1 mL, 用无水乙醇稀释至 10 mL。以无水乙醇为空白, 在 255 nm 波长处测定吸收度, 代入标准曲线方程求出质量浓度, 换算出微囊

中药物含量。计算载药量和包封率。

$$\text{载药量} = \frac{\text{微囊中药物的质量}}{\text{微囊的质量}} \times 100\%$$

$$\text{包封率} = \frac{\text{微囊中药物的质量}}{\text{投入的总药量}} \times 100\%$$

## 2.3 微囊的制备工艺

**2.3.1 微囊的制备** 称取阿拉伯胶、明胶适量, 加水溶胀后, 分别配成 5% 的溶液, 备用。称取大黄酚细粉适量, 加入适量吐温溶液中, 然后在一定温度和搅拌速度下分别缓缓加入阿拉伯胶 40 mL 及 25 mL 明胶浆液, 再加入甘油 3 mL, 待甘油与乳浊液混匀后, 用 10% 乙酸调 pH 3.8 ~4.2, 成囊 30 min, 再加入 15 mL 明胶液, 用乙酸调 pH 3.8 ~4.2, 继续搅拌 30 min, 使大黄酚第 2 次成囊。加入同温蒸馏水 300 mL 稀释, 搅拌 1 h, 冰浴冷却 10 以下, 继续搅拌 30 min。再将微囊用 2.5% 戊二醛溶液固化 1h, 抽滤, 用水洗涤 4 ~6 次, 50 真空干燥, 得黄色的粉末状微囊。整个试验过程保持避光。

**2.3.2 正交设计确定最佳制备工艺** 为了优化制备工艺, 根据预试验结果, 以直接影响成囊的囊心囊材比、温度及搅拌速度为试验因素, 每个因素分为 3 个水平, 见表 1。同时确定明胶质量浓度为 5%, 阿拉伯胶质量浓度为 5%。

表 1 大黄酚微囊制备工艺因素水平

水平	A 药物囊 材比	B 搅拌速度 /r·min <sup>-1</sup>	C 成囊温度 /
1	1 1	100	40
2	1 2	200	50
3	1 4	400	60

根据表 1 选择  $L_9(3^4)$  正交表进行实验, 以包封率为判断指标。结果见表 2 ~3。

表 2 大黄酚微囊制备工艺正交试验与结果

No.	A	B	C	D	载药量 /%	包封率 /%
1	1	1	1	1	13.36	26.73
2	1	2	2	2	21.35	42.71
3	1	3	3	3	20.77	41.54
4	2	1	2	3	6.64	19.92
5	2	2	3	1	17.09	51.27
6	2	3	1	2	9.86	29.57
7	3	1	3	2	11.11	55.59
8	3	2	1	3	13.06	65.33
9	3	3	2	1	8.24	41.22
$K_1$	36.99	34.08	40.54	39.74		
$K_2$	33.59	53.10	34.62	42.62		
$K_3$	54.05	37.44	49.47	42.26		
R	20.46	19.02	14.85	2.88		

表 3 包封率方差分析结果

误差来源	SS	df	MS	F	P
A	721.03	2	360.52	48.68	<0.05
B	618.43	2	309.22	41.76	<0.05
C	335.27	2	167.64	22.64	<0.05
D(误差)	14.81	2	7.41		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由表 2 可见, 试验设计的 A、B、C 3 因素均影响微囊的包封率, 其极差 R 分别是 20.46, 19.02, 14.85, 即  $A > B > C$ 。某因素的极差大, 就表明该因素对试验的指标影响大。因此由包封率确定的最佳工艺为  $A_3B_2C_3$ , 即囊心物囊材比宜选 1:4, 搅拌速度  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 成囊温度为  $60^\circ\text{C}$ 。

由表 3 可知 A、B、C 3 因素的 F 值分别是 48.68, 41.76, 22.64, 均比  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$  大, 表明 A、B、C 3 因素对微囊包封率影响较大, 存在显著性差异, 并且 3 因素影响包封率的顺序是  $A > B > C$ , 与直观分析结果一致。

**2.4 验证试验** 按确定的最佳工艺制备 3 批微囊, 测定包封率, 载药量, 结果见表 4, 表明按照最佳工艺制备的微囊质量稳定, 包封率和载药量均较高。

表 4 最佳工艺的验证

批号	载药量	包封率
090801	14.55	80.1
090802	15.35	82.5
090803	16.21	85.1

**2.5 微囊的体外释药特性** 按《中国药典》2005 年版溶出度测定第三法测定微囊的体外释药特性<sup>[4-5]</sup>。取 900 mL 人工肠液 (0.5% 十二烷基硫酸钠液) 置于溶出杯中, 加热, 待人工肠液的温度恒定在  $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  后, 分别精密称取大黄酚 5 mg 和相当含量的大黄酚微囊置溶出杯中, 调节转速为  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。分别于 10, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min 吸取溶出液 10 mL, 并立即补充等体积的人工肠液, 溶出液用  $0.22 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 在 255 nm 波长处测定吸光度, 计算出不同时间大黄酚的累积释药率。结果见图 1。

**2.6 微囊的形态与分布** 用带有标尺的光学显微镜观察微囊的形态, 并测定 600 个微囊的粒径分布<sup>[6]</sup>, 见图 2-3。按公式  $D_v = (\sum nd_i^3 / \sum n)^{1/3}$  式中 n 为个数, d 为体积径, 取每组段中值, 小于 4 组段取  $4 \mu\text{m}$  计算得到大黄酚微囊平均粒径 ( $D_v$ ) 为  $9.00 \mu\text{m}$ 。

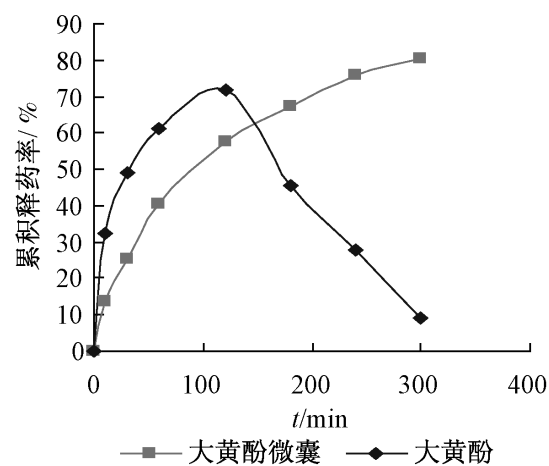


图 1 大黄酚及其微囊的体外释药曲线

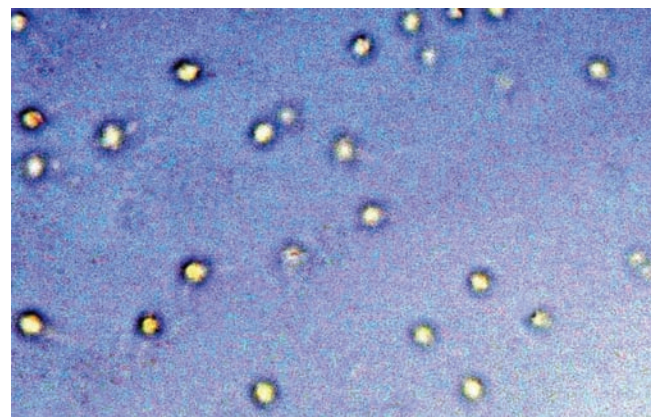


图 2 大黄酚微囊光学显微镜下形态

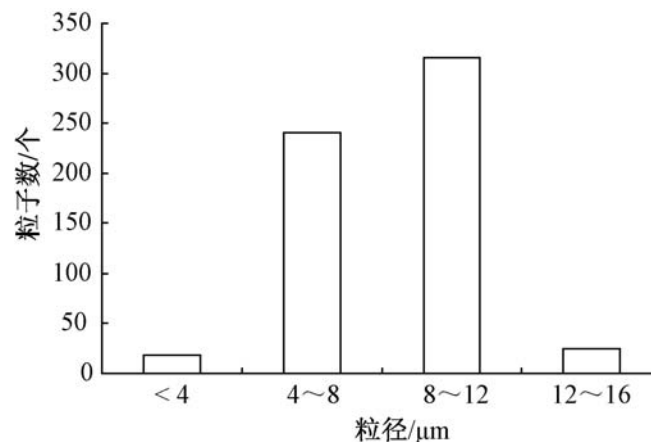


图 3 微囊的粒径分布

**2.7 稳定性试验** 在  $40^\circ\text{C}$ , 75% 相对湿度条件下对大黄酚微囊及大黄酚与明胶、阿拉伯胶的物理混合物进行稳定性加速试验, 分别于第 0, 1, 2, 3 月时取样测定大黄酚含量, 以 0 月时含量为 100%, 考察大黄酚微囊的稳定性。结果见表 5。

表 5 大黄酚微囊稳定性试验结果 (柳 $\pm$ s, n=3)

样品	含量 / %			
	0 月	1 月	2 月	3 月
大黄酚	100	94.5 $\pm$ 3.5	84.2 $\pm$ 4.3	72.3 $\pm$ 5.7
大黄酚微囊	100	98.3 $\pm$ 3.9	94.6 $\pm$ 5.1	90.7 $\pm$ 4.6

结果表明, 大黄酚微囊的稳定性较 大黄酚 有显著提高, 3 个月内大黄酚微囊中大黄酚含量在 90% 以上, 而大黄酚含量在 3 个月时降到 75% 以下。

### 3 讨论

**3.1 微囊制备试验方法的选择** 本试验采用正交试验设计, 以载药量、包封率为指标考察了药物囊材

比、温度及搅拌速度 3 因素对大黄酚微囊制备工艺的影响, 确定了大黄酚微囊的最佳制备工艺, 该方法操作简单, 所得微囊呈圆球形, 表面光滑, 无粘连, 粒径大多分布在 4 ~12  $\mu\text{m}$ , 且微囊性质稳定。体外实验表明, 大黄酚制备成微囊后释放速度减慢, 延长了药物作用时间, 并且可以进一步制成片剂、胶囊剂等缓释制剂。

由于大黄酚难溶于水, 为了得到满意的微囊, 必须使药物表面被囊材凝聚相所润湿, 从而使药物混悬或乳化于该凝聚相中, 才能随凝聚相分散而成囊, 甘油是短链醇, 可增加界面膜的流动性, 调节表面活性剂的 HLB 值, 降低界面张力起到助乳化的作用<sup>[7]</sup>。因此将 2.25% 的甘油作为润湿剂, 增加分散性, 以防止微囊的粘连。

欲制得不变形的微囊, 必须加入交联剂固化, 通常使用甲醛做交联剂。若药物在碱性环境中不稳定, 可改用戊二醛代替甲醛, 在中性介质中使明胶交联固化。实验证明, 大黄酚在碱性环境中氧化, 使溶液由黄色变为红色。因此采用 2.5% 戊二醛 10 mL 做交联剂, 当用量不足微囊易粘连, 用量过大, 所得微囊脆性太大。同时微囊固化时间为 30 min, 时间太长影响药物溶出, 反之交联不足, 容易产生粘连。

**3.2 微囊含量测定方法的确定** 紫外-可见分光光度法测定药物的含量具有操作简单、方便、迅速、灵敏度高优点, 适用于在紫外区有吸收的药物测定。实验证实, 大黄酚微囊在 200 ~600 nm 有紫外最大吸收峰, 分别为 255, 430 nm, 并且峰形良好, 吸收强度以 255 nm 为最高, 并且空白在 200 ~600 nm 无吸收。因此选用在 255 nm 处测定大黄酚微囊的吸收度, 从而测定出微囊的含量。

**3.3 微囊溶出度方法的确定** 分别以水、人工胃液

及人工肠液作为溶出介质对大黄酚微囊和大黄酚溶出度测定, 结果表明, 在水及人工胃液中, 大黄酚和大黄酚微囊的溶出效果不佳, 而在人工肠液中, 大黄酚及其微囊的溶出度较好, 微囊显示出明显的缓释作用。为了改善大黄酚及其微囊溶出效果, 提高与体内动力学的相关性, 加入 0.5% 十二烷基硫酸钠<sup>[8]</sup>。

加速试验是在超常的条件下进行, 以在短期内预测药物的稳定性, 本试验通过加速试验法来考察微囊化后能否提高大黄酚的稳定性。结果表明, 微囊化后其稳定性有了明显提高。

#### [参考文献]

- [1] 陈琼华, 戴汉松, 苏学良. 中药大黄的综合研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(3): 581.
- [2] 李淑娟, 李春更, 侯勇. 大黄酚抗衰老作用研究进展[J]. 河北北方学院学报: 医学版, 2009, 26(1): 69.
- [3] Elkheshen S. Simplex lattices design for the optimization of the microencapsulation of a water-soluble drug using poly(lactic-acid) and poly(latide-co-glycolide) copolymer[J]. J Microencapsul, 1996, 13(4): 447.
- [4] 中国药典. 二部[S]. 2005: 附录 174.
- [5] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 357.
- [6] 刘倩, 高玮, 尚北城. 单、复凝聚法制备酮康唑微囊的性状和包封率比较[J]. 药学实践杂志, 2005, 23(3): 150.
- [7] 尚北城, 徐贵丽, 张青, 等. 酮康唑微囊的制备与含量测定[J]. 广东药学院学报, 2001, 17(4): 276.
- [8] 解军波, 张彦青, 戚务勤, 等. 灯盏花素壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备[J]. 中草药, 2007, 38(11): 1638.

[责任编辑 仝燕]