

## 芦丁微囊的制备及其质量评价

艾凤伟<sup>1</sup>, 王佳瑜<sup>2</sup>, 李艳凤<sup>2\*</sup>, 李岩<sup>1</sup>, 周志慧<sup>1</sup>

(1. 徐州医学院药学院, 江苏 徐州 221004; 2. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究芦丁微囊的制备工艺, 并对其质量评价。方法: 以明胶为囊材, 采用单凝聚法制备芦丁微囊, 通过正交设计优化其制备工艺, 并对包封率、载药量、微囊的粒径分布、体外释放进行研究。结果: 用本方法制备芦丁微囊的最佳工艺是明胶质量浓度为 3%, 囊心囊材比为 1:2, 成囊温度为 60℃, 搅拌速度为 400 r·min<sup>-1</sup>。此工艺所制得芦丁微囊的平均包封率为 75.24%, 有 76.40% 的微囊粒径分布在 20~35 μm, 平均载药量为 32.04%, 体外释放在 0.5 h 达到 30.48%, 12 h 累积释放达到 90% 以上。结论: 以最佳工艺条件制备的含药微囊, 重复性好, 工艺稳定, 同时体外释放试验表明, 该微囊具有较好的缓释作用。

[关键词] 芦丁; 微囊; 正交设计; 包封率

[中图分类号] 283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0032-04

## Preparation of Rutin Microcapsules and Its Quality Evaluation

AI Feng-wei<sup>1</sup>, WANG Jia-yu<sup>2</sup>, LI Yan-feng<sup>2\*</sup>, LI Yan<sup>1</sup>, ZHOU Zhi-hui<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, China;

2. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** Preparation of microcapsules of rutin and its quality evaluation. **Method:** Gelatin was used as capsule material and the rutin microcapsules were prepared by a single pool method. Optimization was performed by orthogonal design. Its preparation, encapsulation efficiency and microcapsule particle size, drug loading, *in vitro* release were also studied. **Result:** The optimum condition of rutin microcapsules prepared by this method was as follows: 3% gelatin was used with capsule material and heart sac ratio of 1:2; sacculation temperature was at 60℃ with stirring speed of 400 r·min<sup>-1</sup>. The average encapsulation efficiency of rutin microcapsules obtained by the method was 75.24%. The particle size distribution was 76.40% in 25-35 μm, with an average drug loading of 32.04%. *In vitro* release of 30.48% reached in 0.5 h and the cumulative release *in vitro* reached 90% in 12 h. **Conclusion:** Microcapsules containing drugs prepared by the optimum conditions had shown good reproducibility, process stability, and good sustained action by *in vitro* release test.

**[Key words]** rutin; microcapsules; orthogonal design; encapsulation efficiency

芦丁是一种生物活性很强、临床应用广泛的中  
药单体化合物, 具有舒张血管、抗自由基活性、抗脂

质过氧化、抗病毒、抗急性胰腺炎等多种药理活性,  
可用于多种疾病的治疗<sup>[1]</sup>。但芦丁在水中的溶解度  
小(在冷水中为 0.000 1 g·mL<sup>-1</sup>, 沸水也仅达 0.005  
g·mL<sup>-1</sup>), 且由于胃内特殊的酸性环境使芦丁容易  
被破坏掉, 同时胃黏膜较小的吸收面积, 使芦丁吸收  
较差<sup>[2]</sup>。

作为近年来发展起来的新型制剂, 微囊具有提  
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, 芦丁主要在回肠去糖基后吸收<sup>[3]</sup>, 作

[收稿日期] 20100707(004)

[第一作者] 艾凤伟, 硕士, 试验师, 从事中药靶向及缓控释制  
剂的研究, Tel: 0516-83262141, E-mail: afew@163.  
com

[通讯作者] \* 李艳凤, 博士, 副教授, 从事中药质量标准化研  
究, Tel: 0451-82195994, E-mail: anna79204@126.  
com

者采用单凝聚法制备明胶芦丁微囊具有肠溶性,可以使芦丁在胃内的酸性环境中得到保护,同时具有缓释作用,可以延长有效成分的释放时间,维持均衡稳定的血药浓度,减少服药次数,对提高其生物利用度,进而提高其疗效,具有重要的意义。

## 1 材料

**1.1 仪器** OLYMPUS-CX21FS1 显微镜, FA1004 上皿电子天平(上海精科仪器公司), GY-5000 生物显微镜(南京广友光电仪器有限公司), UV-2450 紫外-可见分光光度计(日本岛津仪器公司), ZRS-8 智能溶出试验仪(天津无线电厂)。

**1.2 试剂** 芦丁(郑州荔诺生物制品有限公司,含量 95%), 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所提供), 明胶(CR, 中国医药上海化学试剂站, pH 5.5 ~ 7), 无水硫酸钠(AR, 国药集团化学试剂有限公司), 亚硝酸钠(AR, 淮安化工综合厂), 氢氧化钠(AR, 上海苏懿化学试剂有限公司), 甲醇(AR, 国药集团化学试剂有限公司), 甲醛(AR, 汕头市西陇化工厂有限公司), 硝酸铝(AR, 上海展云化工有限公司), 无水乙醇(AR, 上海申翔化学试剂有限公司)等。

## 2 方法与结果

**2.1 微囊的制备方法**<sup>[4-5]</sup> 芦丁粉末过 150 目筛, 精密称取 0.5 g 芦丁置于研钵中, 按正交设计表量取明胶溶液, 少量多次的加入研钵中充分研磨至成乳状, 转移至烧杯中, 恒温搅拌下逐滴加入 20% 硫酸钠溶液, 并用显微镜观察, 至清晰的微囊出现。记录硫酸钠溶液的加入量, 并计算其在囊液中的浓度为 a, 按(a+1.5)% 浓度配制硫酸钠稀释液并使其降温在 15℃ 以下。冷水浴, 保持温度不高于 15℃, 将微囊混悬液与其溶液 3 倍量稀释液混合, 搅拌使分散均匀, 搅拌 15 min 后停止搅拌待囊沉降, 除去上层液, 冰浴降温至 10℃ 以下, 加入适量 37% 甲醛固化 12 h, 抽滤, 用蒸馏水无水乙醇交替洗涤, 放于干燥箱内 60℃ 干燥 3 h, 称重, 测含量。

**2.2 正交试验设计** 通过单因素考察确定明胶浓度、囊心囊材比、成囊温度、搅拌速度为影响微囊的主要因素, 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验表, 以包封率为主要考察指标, 结果经方差分析得出最佳工艺条件。因素水平见表 1。

### 2.3 芦丁微囊包封率及载药量的测定

**2.3.1 标准曲线的绘制**<sup>[6]</sup> 精密称取在 105℃ 下常压干燥至恒重的芦丁对照品 50 mg, 置 25 mL 量瓶

表 1 芦丁微囊制备工艺因素水平

水平	A 明胶质量浓度/%	B 囊心囊材比	C 成囊温度/°C	D 搅拌速度/r·min <sup>-1</sup>
1	3	1 2	40	400
2	4	1 3	50	600
3	5	1 4	60	800

中, 加甲醇 15 mL, 超声溶解, 放至室温, 加入甲醇定容。精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加入人工肠液定容, 摇匀, 得对照品溶液。精密量取该溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 加入人工肠液至 8 mL, 各加 5% NaNO<sub>2</sub> 溶液 1 mL, 依次每隔 6 min 加入 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 1 mL、4.3% NaOH 溶液 10 mL, 最后用人工肠液稀释定容, 摇匀, 放置 15 min。取标准溶液在 500 nm 处测定吸光度, 以吸光度与标准溶液浓度回归得到标准曲线为  $A=10.595C-0.0044$  ( $R=0.9997$ ), 表明芦丁在 0.008 ~ 0.06 g·L<sup>-1</sup> 线性良好。

**2.3.2 芦丁微囊包封率的及载药量的测定**<sup>[7]</sup> 取芦丁微囊研磨后精密称取适量, 加入甲醇于 60℃ 水浴超声溶解, 冷却至室温后甲醇定容到 25 mL, 精密移取 2 mL 溶液, 加入人工肠液 6 mL, 加 5% NaNO<sub>2</sub> 溶液 1 mL, 依次每隔 6 min 加入 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 1 mL、4.3% NaOH 溶液 10 mL 用人工肠液稀释定容, 摇匀, 放置 15 min 后, 过滤于 500 nm 处测吸光度, 根据标准曲线计算药物含量。并根据公式(1)计算包封率, 公式(2)计算载药量。

$$\text{包封率} = \frac{\text{芦丁含量} \times \text{微囊量}}{\text{投药量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{载药量} = \frac{\text{微囊中含药量}}{\text{微囊的总质量}} \times 100\% \quad (2)$$

**2.4 正交试验结果** 按表 1 的因素水平设计, 9 次试验的结果见表 2。根据表 2 中的包封率试验结果, 进行方差分析, 结果见表 3。

表 2 芦丁微囊制备工艺正交试验结果

No	A	B	C	D	平均包封率/%
1	1	1	1	1	68.19
2	1	2	2	2	55.85
3	1	3	3	3	53.15
4	2	1	2	3	71.33
5	2	2	3	1	63.15
6	2	3	1	2	41.88
7	3	1	3	2	58.83
8	3	2	1	3	36.48
9	3	3	2	1	38.42
K <sub>1</sub>	59.063	66.117	48.85	56.587	
K <sub>2</sub>	58.787	51.827	55.2	52.187	
K <sub>3</sub>	44.577	44.483	58.377	53.653	
R	14.486	21.634	9.527	4.4	

表 3 芦丁微囊制备工艺包封率方差分析

因素	SS	f	F	P
A	411.864	2	13.676	> 0.05
B	726.13	2	24.111	< 0.05
C	141.171	2	4.688	> 0.05
D(误差)	30.116	2	1	

表 3 说明: 以极差最小的 D 因素为误差项, 进行方差估算, 因素 B 即囊心囊材比对包封率有显著性影响, 正交试验结果最佳工艺为  $A_1 B_3 C_3 D_1$ , 即条件为明胶浓度 3%, 囊心囊材比为 1:2, 成囊温度 60℃, 搅拌速度  $400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

**2.5 验证性试验** 为了验证试验结果的准确性, 重复最佳工艺 3 次, 制备 3 批微囊, 得平均包封率 75.24%, 平均载药量 32.04%, 结果见表 4。

表 4 最佳工艺验证试验结果 (n=3)

批号	包封率 / %	载药量 / %
1	71.81	30.57
2	78.26	33.33
3	75.66	32.22

## 2.6 芦丁微囊质量评价

**2.6.1 芦丁微囊形态学考察** 取少量芦丁微囊置于白纸上, 观察成黄色粉末; 光学显微镜下微囊的形态见图 1。由图可见药物清晰的包裹于明胶囊内, 囊外无游离药物, 微囊外观形态圆整, 粒径较均匀。

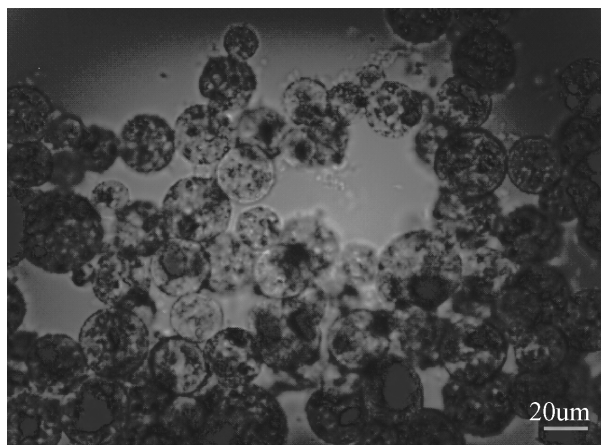


图 1 芦丁微囊形态 (10 × 40)

**2.6.2 芦丁微囊粒径分布** 用光学显微镜观察微囊的形态, 并用软件 ScopePhoto3.0 计数 500 个微囊粒径, 统计粒径分布情况<sup>[9]</sup>, 结果见图 2, 平均粒径为  $26.98 \mu\text{m}$  (n=500), 最小粒径为  $8.44 \mu\text{m}$ , 最大粒径为  $56.81 \mu\text{m}$ , 20~35  $\mu\text{m}$  的微囊占 76.40%。

**2.7 芦丁微囊体外释药性试验**<sup>[10-12]</sup> 按《中国药典》2005 年版二部溶出度测定方法第二法浆法进行试验, 释放介质为人工肠液 900 mL。精密称取适量微囊, 撒于溶出杯内, ( $37 \pm 0.5$ )℃ 下, 以  $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度进行搅拌。分别于 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 h 取样 10 mL, 并补充同体积新鲜溶出液, 样品液经微孔滤膜滤过, 测定各时间点样品溶液的吸收度, 代入其标准曲线回归方程中计算 C, 按公式 (3) 求累积释放率。

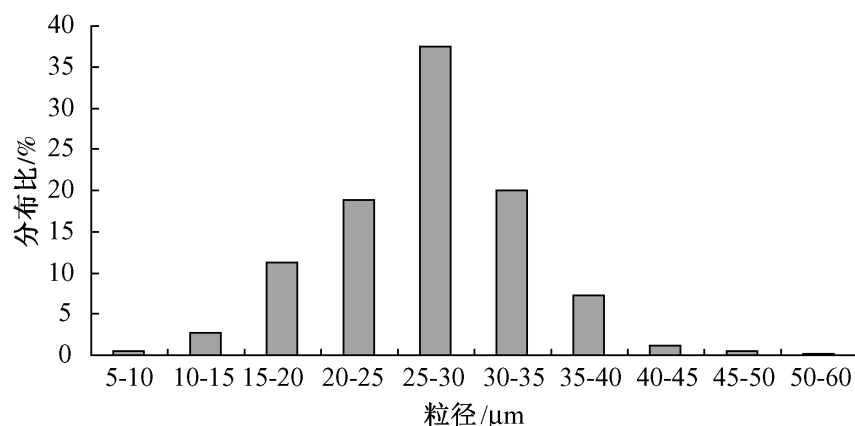


图 2 芦丁微囊粒径分布

累积释放率 =  $\frac{2.5 \times C \times 900 + W}{M \times R \times 1000} \times 100\%$  (3)

C 为样品中药物质量浓度 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); W 为取样累积消耗药量 (mg); M 为称取的微囊质量 (mg); R 为微囊中药物质量分数。计算芦丁微囊的累积释药率, 芦丁微囊释放曲线见图 3。

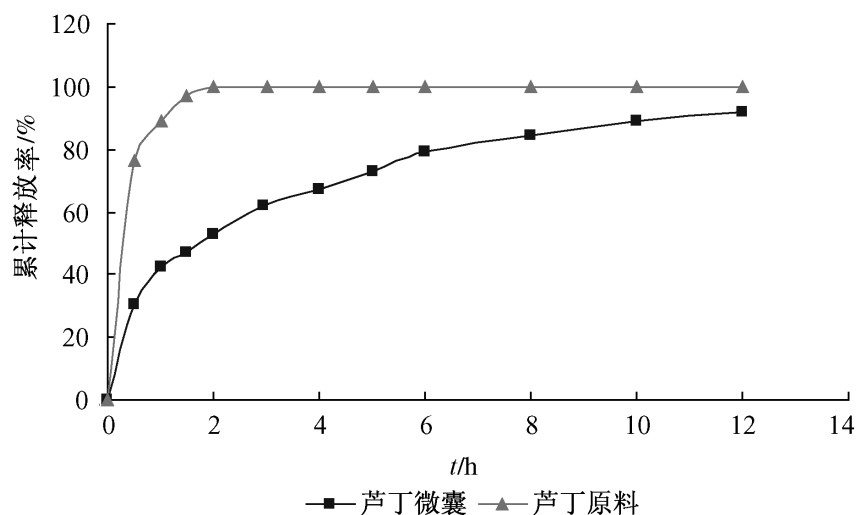


图 3 芦丁微囊体外累积释放曲线 (n=6)

由芦丁微囊体外累积释放曲线可以看出, 微囊在 30 min 左右有一突释效应, 且突释量为 30.48%, 符合《中国药典》规定在开始 0.5 h 内释放量低于 40% 的要求。微囊在 1.5 h 后释放较缓慢, 在 12 h 后累积释放达到 90% 以上, 与芦丁原料药相比其微囊制剂有一定的缓释作用。

**2.8 芦丁微囊体外释药模型拟合** 分别按零级、一级、Higuchi 方程对芦丁微囊体外释药行为进行拟合, 得到拟合方程及相关系数, 见表 5。

表 5 芦丁微囊体外释药模型拟合表

模型	拟合方程	$R^2$
零级	$Q=0.0608t+0.3305$	0.7724
一级	$\ln(1-Q)=-0.1945t-0.2936$	0.9796
Higuchi	$Q=0.254t^{1/2}+0.1289$	0.9540

相关系数越大,拟合度越好,由表 5 得出芦丁微囊体外释药按一级方程拟合最好。零级方程表示药物恒量释放即控释释放,一级方程表示恒速释放,Higuchi 方程常用来衡量制剂的缓释性能。由表 5 零级方程拟合的相关系数为 0.7724,一级方程拟合的相关系数为 0.9796,Higuchi 方程的相关系数为 0.954,可以得出芦丁微囊的体外释放主要为恒速释放,并具有较好的缓释作用。

### 3 讨论

本研究主要考察了明胶浓度、囊心囊材比、成囊温度、搅拌速度对微囊形成的影响,同囊心囊材比及明胶浓度比,搅拌速度对包封率和载药量的影响并不显著,但其对微囊粒径大小有影响,转速越高粒径越小,但转速过高明胶溶液易产生泡沫,将药包含在其中,降低了包封率。综合考虑转速选择  $400\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。温度对包封率载药量无显著性影响,对囊形影响也较小,温度越高成囊所需凝聚剂越少,综合考虑温度选择  $60\text{ }^\circ\text{C}$ 。

除此之外还考察了明胶的冻力对成囊的影响,证明了冻力小的明胶不能形成微囊或者形成的囊形不好。除试验中考察的各因素外,硫酸钠的浓度及其滴加的速度、固化加入甲醛的量对微囊的黏黏现象有一定的影响,有待进一步考察。

本研究制备的芦丁微囊在人工肠液中释放性良好,可以证实芦丁微囊主要为肠溶型。胃内的酸性环境会使芦丁被破坏,从而丧失其生物活性,而肠溶微囊可以减少药物在胃内的释放,提高其生物利用度。芦丁微囊还具有缓释作用能延长其在体内的释

放时间,在体内达到稳定的血药浓度,可以减少服药次数,也符合心脑血管疾病长期服药的要求,为扩大芦丁的临床应用有重大意义。

### [参考文献]

- [1] 刘诗平,陈尚猛,朱卫东.槲皮素及其衍生物活性的研究进展[J].中草药,1991,22(4):182.
- [2] 吕鹏,黄晓舞,吕秋军.黄酮类化合物吸收、分布和代谢的研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(19):1961.
- [3] Vanessa Crespy, Christine Morand, Catherine Bessone. Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(3):618.
- [4] 何晓燕,朱宁,刘毅,等.番茄红素油树脂微囊制备工艺研究及稳定性初步考察[J].时珍国医国药,2006,17(11):2259.
- [5] 王会娟,李馨儒,袁泉,等.番茄红素微囊的制备及稳定性考察[J].中国新药杂志,2004,13(5):411.
- [6] 马英丽,孙志国,崔明宇.金莲花微囊制备工艺研究[J].中成药,2008,30(3):368.
- [7] Senem Sirin Deveci, Guldemet Basal. Preparation of PCM microcapsules by complex coacervation of silk fibroin and chitosan[J]. Colloid Polym Sci, 2009, 287:1455.
- [8] 胡连栋,赵吉强,杨更亮.克拉霉素微囊的制备及其质量评价[J].中国药房,2009,20(13):1000.
- [9] Satoshi Iwamoto, Kei Nakagawa, Shinji Sugiura, et al. Preparation of gelatin microbeads with a narrow size distribution using microchannel emulsification[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2002, 3(3):1-2.
- [10] 甄振生.叶黄素微囊的制备[D].石家庄:河北医科大学,2009.
- [11] 李小伟,鲁传华,谢俊俊.白芍总苷微囊的制备及其体外释药机制的研究[J].中草药,2009,40(11):1740.
- [12] 中国药典.二部[S].2005:附录179.

[责任编辑 仝燕]