

· 工艺与制剂 ·

苦豆子总碱瓜尔胶水凝胶骨架片体外释放行为的研究

赵文昌^{1*}, 宋丽军¹, 邓虹珠²

(1. 广东医学院药学院, 广东 东莞 523808; 2. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

[摘要] 目的: 制备苦豆子总碱结肠定位水凝胶骨架片。方法: 以瓜尔胶为骨架材料, 采用湿法制粒压片法, 通过片在模拟胃液、小肠液、结肠液中的体外释放度评价不同比例瓜尔胶配方对槐定碱的释放影响。结果: 骨架片配方 A, B, C, D, E 所制的颗粒色泽均匀一致, 有较好的流动性。苦豆子总碱定位释放片在模拟胃液、小肠液、结肠液中的释放结果表明, 瓜尔胶骨架片在 6 h 内槐定碱释放为 13.5% ~ 25.6%, 在结肠液中最初 6 h 释放明显加快, 达 55.4% ~ 75.1%, 至 24 h 或 26 h 完全释放。为进一步延缓其最初 6 h 内释放, 作者在配方 C 的基础上直压瓜尔胶阻止层 100 mg 制备双层片, 体外释放表明双层片在胃液中不释放, 在小肠液中释放仅为 6.78%, 24 h 内完全释放, 显示了较好的定位释放特性。采用 Higuchi 方程、一级方程、零级方程模型拟合, 配方 A, B, C, D, E 接近 Higuchi 释药模型, 一级方程模型拟合最差。用 Korsmeyer-Peppas equation 分析其释药机制为骨架溶蚀释药。结论: 苦豆子总碱水凝胶骨架片工艺合理, 能够达到结肠定位释放的目的。

[关键词] 苦豆子总碱; 槐定碱; 结肠定位释放; 瓜尔胶

[中图分类号] R 283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0001-05

Research on Preparation of Guar-based Hydrophilic Matrix Tablets Containing Total Alkaloids of *Sophora alopecuroides* and Its *in-vitro* Sophoridine Release

ZHAO Wen-chang^{1*}, SONG Li-jun¹, DENG Hong-zhu²

(1. School of Pharmacy, Guangdong Medical Science College, Dongguan 523808, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare colon-targetting tablets containing total alkaloids of *Sophora alopecuroides* and evaluate sophoridine release profiles *in vitro*. **Method:** Wet granulation technique was employed to prepare guar-based matrix tablets, optimizing the formula by drug release studies in successive different mimicking media *in vitro*. **Result:** These results indicated that the granulations of various formulations showed good flow characteristics, hence, good compressibility. The granulation of formulation A was more fragile, with the increase of the amount of guar, while the granulations of formulation B-D became less fragile. At compression force of 25 kN, the hardness of formulation C was maximal, probably due to better proportion of the fine fraction and coarse fraction of the granula. The guar-based matrix tablets released 13.5% to 25.6% of sophoridine in the first 6 h, and released rapidly 55.4% ~ 75.1% in SCF for the first 6 h. Bilayer matrix tablet met required physical properties, its initial release was lagging. Within first 6 h, there was only 6.78% released from matrix tablet, and almost no drug released within 2 h, and the guar matrix completely dissolved in 24 h. Dissolution data of various formulations was fit best to Higuchi model, and its release mechanism belonged to bulk erosion. **Conclusion:** Total alkaloids of *S. alopecuroides* colon-site targetting tablets could deliver total alkaloids of *S. alopecuroides* to desire site and its preparation is reasonable.

[Key words] total alkaloids of *Sophora alopecuroides*; sophoridine; colon-specific drug delivery; guar gum

[收稿日期] 20100106(002)

[基金项目] 广州市科技局科技攻关项目(2006Z3-E5051-2)

[通讯作者] * 赵文昌, 高级工程师, 博士, 研究方向: 中药新药研发, Tel: 13688915769, E-mail: zhaowenchang@126.com

苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 为豆科槐属多年生草本植物,主要分布于我国西北荒漠地区,生态适应性强,资源丰富,其药用部位为可再生的地上部分,味苦性寒,具有清热解毒、祛风燥湿、止痛杀虫等作用,在民间广泛用于痢疾、肠炎等疾病,1977 年版《中国药典》首次收载。苦豆子总碱是苦豆子的干燥全草或种子提取而得的总生物碱,槐定碱为其主要的生物碱之一。文献表明,苦豆子总碱具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等作用,其抗炎机制是通过对炎症过程的直接干预而发挥作用^[1-3]。本课题组前期研究表明,苦豆子总生物碱能显著改善三硝基苯磺酸(TNBS)致溃疡性结肠炎的大鼠一般体征,抑制患鼠体重下降,减轻结肠病理学改变;初步作用机制可能通过抗氧化以及调节炎症因子 CD4⁺, CD25⁺, CD8⁺, CD28-Tregs 比例及 IL-10, ICAM-1, MIF, TFF3 等蛋白表达而实现;并取得国家专利“苦豆子总生物碱在制备治疗溃疡性结肠炎药物中的应用及结肠靶向制剂的制备方法”^[4-7],为更好的发挥苦豆子总碱治疗溃疡性结肠炎的作用,使药物以较高浓度分散于整段结肠,发挥其直接、局部的抗炎作用,避免对胃的刺激,减少对非病变区的毒副作用,有必要研发苦豆子总碱结肠定位释放制剂。本实验采用靶向性强的细菌触发型结肠释药系统、以瓜尔胶为骨架材料制备了苦豆子总碱结肠定位释放瓜尔胶水凝胶骨架片。

1 仪器和试剂

德国 SartoriusCP225D 型 1/万天平;80, 20, 16 目不锈钢筛;RC-6 溶出度测定仪(天津市国铭医药设备有限公司);ZDY-8 重型单冲压片机(上海远东制药机械总厂);YD-20 片剂硬度测定仪,FT-2500 型脆碎度测定仪(天津市天大天发科技有限公司)。

苦豆子总碱(槐定碱质量分数 42.7%,由宁夏盐池制药有限公司提供,批号 070212);瓜尔胶 印度 H. B. Gum. Ind. Pvt. 公司,国内分装;糊精,可溶性淀粉均为药用级。清洁级 SD 雄性大鼠 280~320 g(南方医科大学动物实验中心提供,合格证号 SCXK-(粤)2002-009, 2006A047)。

2 方法

2.1 槐定碱含量测定 依据苦豆子总碱 WS-10001 (HD-1391)-2003 标准检测槐定碱质量分数并进行适当条件优化,色谱柱 Kromasil 100-5NH₂ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-磷酸水溶

液(pH2)-无水乙醇(80:8:10);检测波长 205 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,外标法定量。

专属性试验:HPLC 色谱峰(见图 1)表明槐定碱出峰时间无干扰峰。

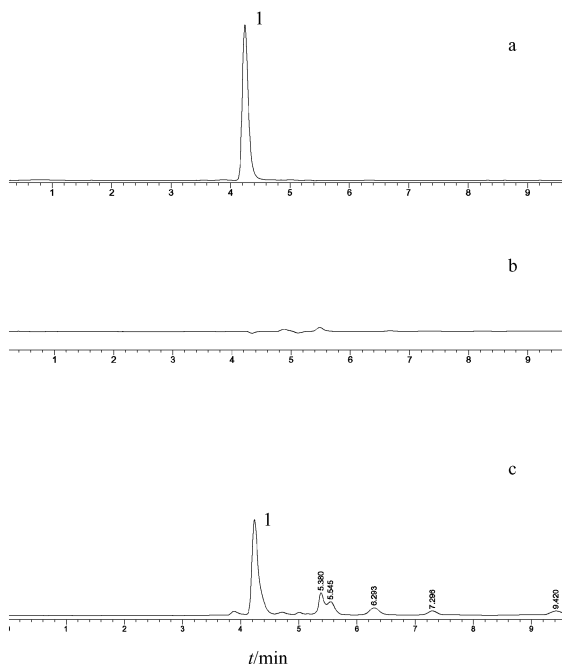


图 1 HPLC 图

a. 对照品;b. 阴性样品;c. 苦豆子总碱;1. 槐定碱

线性关系考察:分别精密吸取 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.025 mL 对照品储备液,至 10 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取对照品储备液、对照品不同浓度稀释液 20 μL,按上述色谱条件测定,标准曲线方程为 $y = 3\,460.5x + 15.521$, $r = 1.000$ (0.02~8.3 μg)。

精密度试验:精密吸取对照品溶液(0.052 mg·mL⁻¹) 20 μL,连续进样 6 次,平均峰面积为 3581.74, RSD 0.3%,表明仪器精密度良好;

重复性试验:按“对照品溶液的配制”项下方法制备供试品溶液 5 份,平均质量分数为 42.93%, RSD 2.61%,表明分析方法重现性良好。

稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液 20 μL,分别于 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72 h 重复进样 7 次,每次 20 μL,测定峰面积,槐定碱的 RSD 0.35%,说明供试品溶液在 72 h 内稳定。

回收率试验:精密量取已知含量的苦豆子总碱 3 mg,分别加入一定量对照品贮备液,依法处理、测定,平均回收率为 98.67%, RSD 3.2%。

2.2 定位释放片在模拟胃液、小肠液、结肠液体外释放度评价 采用 2005 年版药典附录 XC 溶出度测定法中第三法,即小杯小桨法。搅拌桨转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$; 温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。将样品投入杯中,分别放入人工胃液 200 mL 中,2 h 后取样 1 mL(同时补加等量等温的溶出介质)。在 30 s 内过 $0.45 \mu\text{m}$ 微滤膜,进样测定。将人工胃液小心倒出,加入人工肠液 200 mL 分别于 4, 6 h 取样 1 mL,同时补加等量的溶出介质,过 $0.45 \mu\text{m}$ 微滤膜,进样测定。倾去溶出液,加入 200 mL 人工结肠液,并通入 CO_2 气体,分别于 8, 12, 16, 18, 24, 26 h 取样 1 mL(同时补加等量的溶出介质),直至片完全溶解。过 $0.2 \mu\text{m}$ 微滤膜,按上述方法进行测定。

2.3 溶液配制 人工胃液:取盐酸 16.4 mL,加水至 1 000 mL,摇匀,即得。

人工肠液:分别称取 NaOH 1.888 g 溶于 236 mL 水中, KH_2PO_4 13.10 g 溶于 500 mL 的水中,摇匀定容至 2 000 mL 即得。

人工结肠液:清洁级 SD 大鼠常规饲养,给予 1.5% 瓜尔胶水溶液饮用一周,临用前新鲜配制,每天更换。第 8 天脱臼处死,在吹 CO_2 的操作箱中快速取盲肠内容物,放进通入 CO_2 气体的人工肠液中,增重法确定盲肠内容物质量,搅拌,定容至大鼠盲肠内容物 4% 即得^[9]。

3 结果

采用湿法制粒压片技术。按配方量 400 倍称取一定量的瓜尔胶和糊精,过 80 目筛两次混匀;称取一定量的苦豆子总碱溶于 20% 可溶性淀粉溶液中,制软材,快速过 22 目筛, 80°C 烘干 3 ~ 4 h, 20 目整粒,加入 0.5% 的硬脂酸镁, 11 mm 的浅凹冲压片,即得。

3.1 不同处方对片物理特性的影响 按表 1 配方分别制备 A, B, C, D, E 片,片物理特性见表 2。

表 1 苦豆子总碱水凝胶骨架片配方组成 g

配方	瓜尔胶	糊精
A	100	150
B	125	125
C	150	100
D	175	75
E	200	50

注:苦豆子总碱均为 100 g。

表 2 不同配方骨架片的物理特性

配方	休止角 / $^\circ$	颗粒平均粒度 /%			硬度 /kg	脆碎度 /%	片重 /g	标示量 /%
		20 目	20 ~ 40 目	40 ~ 60 目				
A	26	6.2	34.3	40.4	4.8	0.61	0.348	98.68
B	28	6.7	32.2	38.8	4.7	0.82	0.354	101.33
C	28	8.6	35.2	38.2	6.6	0.58	0.352	99.68
D	26	14.3	33.3	36.3	4.8	0.76	0.351	98.35
E	32	16.2	32.2	34.5	4.5	0.88	0.349	98.21
包衣 C					4.9	0.98		

结果表明,所有颗粒色泽均匀一致,有较好的流动性。配方 A 颗粒较脆, D, E 软材较黏、颗粒呈长条状; B, C 软材适中,粒度分布较好,其中 C 片硬度最好,脆碎度为 0.58%,可压性好。

3.2 苦豆子总碱定位释放片在模拟胃液、小肠液、结肠液中的释放 结果表明,瓜尔胶骨架片在 6 h 内(胃液及小肠液) SRI 释放为 13.5% ~ 25.6%,在结肠液中释放明显加快, 6 ~ 12h 达 55.4% ~ 75.1%,至 24 h 或 26 h 完全释放。其中配方 A 释放最快,配方 D, E 释放延迟,显示了一定的结肠定位释放作用。为进一步延缓其 6 h 内释放,作者在配方 C 的基础上直压瓜尔胶阻止层 100 mg 制备双层片,体外释放表明双层片在胃液中不释放,在小肠液中释放仅为 6.78%,在结肠液中最初 6 h 释放明显加快, 6 ~ 12 h 达 55.4% ~ 75.1%,至 24 h 或 26 h 完全释放,显示了较好的定位释放特性。结果见图 2。

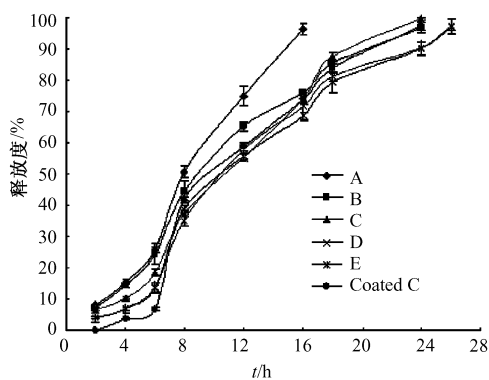


图 2 苦豆子总碱瓜尔胶水凝胶骨架片在模拟胃液、小肠液、结肠液中的释放曲线

3.3 体外释放的数学模型拟合 为进一步分析瓜尔胶水凝胶骨架片的释药行为,槐定碱体外释放曲线分别采用 Higuchi 方程、一级方程和零级方程模型拟合。为研究药物从骨架中释放机制,作者采用 Korsmeyer-Peppas equation^[10-13]进行数学模型拟合。

表 3 表明,配方 A, B, C, D, E 采用上述方程拟合接近 Higuichi 释药模型,一级方程模型拟合最差。用 Korsmeyer-Peppas equation 分析其释药机制 $n >$

0.89,对于圆柱形制剂,为骨架溶蚀机制,(配方 A, B, C, D, E 的 n 分别为 1.252, 1.096, 1.338 7, 1.339 2, 1.997 9),为骨架溶蚀释药。

表 3 不同配方的苦豆子总碱片体外释放动力学数学模型拟合

配方	A	B	C	D	E	coated C
零级方程模型	$Y = 6.6715X - 8.1651$	$Y = 4.3584X + 2.7435$	$Y = 4.5532X - 2.4638$	$Y = 4.1413X - 2.375$	$Y = 4.0855X - 2.2177$	$Y = 5.0225X - 11.651$
相关系数	$R^2 = 0.9832$	$R^2 = 0.9554$	$R^2 = 0.9855$	$R^2 = 0.9536$	$R^2 = 0.9571$	$R^2 = 0.9316$
总方差	18 315.190	29 186.350	27 468.206	33 716.080	32 927.230	25 113.600
总均方误差	103.2	361.1951	124.143	500.977	449.209	644.500
一级方程模型	$Y = -0.2198X + 5.3787$	$Y = -0.146X + 5.1258$	$Y = -0.2117X + 5.6782$	$Y = -0.1348X + 5.1798$	$Y = -0.1309X + 5.1645$	$Y = -0.155X + 5.3098$
相关系数	$R^2 = 0.8894$	$R^2 = 0.9403$	$R^2 = 0.794$	$R^2 = 0.9233$	$R^2 = 0.917$	$R^2 = 0.915$
总方差	146.368	186.925	104.781	216.4606	216.328	112.7
总均方误差	17.828	23.811	5.430	31.082	29.533	0.900
Higuchi 方程模型	$Y = 36.267X - 52.45$	$Y = 28.184X - 37.349$	$Y = 29.154X - 43.431$	$Y = 28.075X - 43.819$	$Y = 27.666X - 42.998$	$Y = 31.611X - 54.263$
相关系数	$R^2 = 0.9608$	$R^2 = 0.9808$	$R^2 = 0.9918$	$R^2 = 0.9728$	$R^2 = 0.9742$	$R^2 = 0.955$
总方差	18 175.304	29 390.441	27 522.168	33 922.931	33 107.269	26 701.600
总均方误差	241.530	155.898	70.274	293.834	270.568	471.400
Korsme Yer-Peppas 方程模型	$Y = 1.252X + 1.1443$	$Y = 1.0967X + 1.2815$	$Y = 1.3387X + 0.5998$	$Y = 1.3365X + 0.4419$	$Y = 1.3392X + 0.4235$	$Y = 1.9979X - 1.278$
相关系数	$R^2 = 0.9807$	$R^2 = 0.9765$	$R^2 = 0.973$	$R^2 = 0.9592$	$R^2 = 0.953$	$R^2 = 0.9365$
总方差	77.276	112.519	106.340	90.276	119.724	93.500
总均方误差	0.088	0.143	0.246	2.634	0.532	1.300

4 讨论

本制剂基于菌触发原理设计结肠靶向,依据胃肠菌群梯度变化以及生理排空时间评价其释放,研究了苦豆子总碱瓜尔胶骨架片在模拟人体消化道液中的体外释放,表明该制剂能够达到结肠定位释放的目的。

近年来对胃肠道各段肠道 pH 研究发现,肠道 pH 从小肠到大肠并无明显梯度变化。胃肠道 pH 从胃到回肠由 1.2 逐步升到 7.0,到达盲肠时 pH 只降低至 6 左右,随后又升到 7.0。这一发现即可解释某些 pH 依赖性结肠给药制剂在体内释药部位变异性较大的原因。结肠内生存在着超过 400 多种菌群,菌群密度为 $10^{11} \sim 10^{12}$ CFU·mL⁻¹ 肠液。由于肠道菌群存在明显的梯度变化,其独特的偶氮还原酶、糖苷酶及糖苷酸酶等多种酶可作为理想的靶向释药触发机制。瓜尔胶是半乳甘露聚糖(1:2),主链 β -1,4 苷键结合吡喃甘露糖,相对分子质量 $2.2 \times 10^5 - 3.0 \times 10^5$ 。瓜尔胶遇消化液形成凝胶,凝胶态不受介质 pH 的影响,但能被大肠内菌群代谢^[14]。瓜尔胶的压制包衣片包衣层水化形成黏性凝胶层,使释放介质渗入片芯的速度大大降低,且由于糖苷酶只存

在回盲部和结肠,在人工胃液和人工小肠液释药极低。因此利用酶解原理制备的苦豆子总碱压制包衣片较 pH 依赖型更有优势,靶向性强。

瓜尔胶水凝胶骨架片和水性介质接触时,聚合物发生玻璃态向高弹态相转变,同时伴有溶胀过程,即亲水性分子链吸收水分,由最初的缠绕状态转变为首尾距离和回转半径不断增大的溶剂化状态。溶胀时 3 个可移动区域前沿从内到外依次为:溶胀前沿(聚合物玻璃态-高弹态相转变前沿)、扩散前沿(固态药物-溶液态药物转变前沿)和溶蚀前沿(骨架溶胀-溶蚀转变前沿)^[15]。凝胶层是一个亲水性屏障,限制水分向内渗入及药物向外扩散,其强度决定了骨架的缓控释能力,与瓜尔胶的量密切相关。在胃和小肠部位主链在水分子作用下相互交联,形成致密的凝胶层而延缓释放。瓜尔胶片进入结肠后,在大肠细菌糖苷酶的作用下,1,4 苷键断裂而释放药物。同时瓜尔胶为一天然功能性辅料,Naito 报道 Partially hydrolyzed 瓜尔胶能治疗 DSS 诱导的小鼠肠炎的作用^[16]。因此本课题选择瓜尔胶作为定位释放的载体材料。

瓜尔胶一旦与水性介质接触,表层药物首先释

放,如果骨架材料不能迅速形成凝胶层,就会发生药物的“突释”^[17-18]。本课题采用直压瓜尔胶阻止层以达到延缓其释药,达到减少凝胶溶蚀的目的。

本课题采用 2005 年版《中国药典》二部附录 XIX D 缓释、控释和迟释制剂指导原则要求^[19]进行了释药模型的拟合,并对其释药机制作了分析,结果表明,配方 A, B, C, D, E 采用上述方程拟合接近 Higuichi 释药模型。其释药机制为骨架溶蚀释药,说明药物从固体骨架中的释药遵循单位面积的释放量与时间的平方根成正比的规律,为预测体内释药提供了初步的理论依据。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科技出版社, 1997:1293.

[2] 洪阁,刘培勋. 槐属植物生物碱化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(5):783.

[3] 周福生,穆青. 野生植物苦豆子的化学成分和主要药理作用[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(4):1.

[4] 周毅,邓虹珠,邓子华,等. 苦豆子总碱对大鼠实验性结肠炎 CD4⁺ CD25⁺, CD8⁺ CD28⁻ 表达的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(47):89.

[5] 周毅,邓虹珠,朱学敏,等. 苦豆子总碱对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子 IL-10 表达的影响[J]. 国际消化病杂志, 2007, 27(6):465.

[6] 陈建国,邓虹珠. 苦豆子总碱对大鼠实验性结肠炎 SOD, MDA, NO, MPO 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(4):323.

[7] 赵文昌,邓虹珠,宋丽军,等. 不同酯化度果胶对苦豆子总碱水凝胶骨架片体外释放的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19):2188.

[8] Krishnaiah Y S, Seetha D A, Nageswara R L, et al. Guar as a carrier for colon specific delivery; influence of metronidazole and tinidazole on *in vitro* release of alben-dazole from guar matrix tablets[J]. J Pharm Pharm Sci, 2001, 4(3):235.

[9] Prasad Y V, Krishnaiah Y S, Satyanarayana S. *In vitro*

evaluation of guar as a carrier for colon-specific drug de-livery[J]. J Control Release, 1998, 51(2-3):281.

[10] Ji C M, Xu H N, Sun N Y, et al. Guar/ethylcellulose coated pellets for colon-specific drug delivery[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2007, 42(6):656.

[11] Das A, Wadhwa S, Srivastava A K. Cross-linked guar hydrogel discs for colon-specific delivery of ibuprofen; formulation and *in vitro* evaluation [J]. Drug Deliv, 2006, 13(2):139.

[12] 赵博光. 苦豆草生物碱的研究[J]. 药学报, 1989, 15(3):1.

[13] 蔡松涛,欧阳惠芳,罗杰. 克泻灵片中槐定碱的含量测定[J]. 中成药, 2004, 26(5):附6.

[14] Zhao W, Song L, Deng H, et al. Hydration, erosion and release behavior of guar-based hydrophilic matrix tablets containing total alkaloids of *Sophora alopecuroides* [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2009, 35(5):594.

[15] Pornsak Sriamornsak, Nartaya Thirawong, Kingkarn Korkerd. Swelling, erosion and release behavior of algi-nate-based matrix tablets[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 66:435.

[16] Naito Yuji, Tomohisa Takagi, Kazuhiro Katada, et al. Partially hydrolyzed guar down-regulates colonic inflam-matory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. J Nutri Biochem, 2006, 17(6):402.

[17] Krishnaiah Y S, Muzib Y I, Bhaskar P, et al. Pharma-cokinetic evaluation of guar-based colon-targeted drug delivery systems of tinidazole in healthy human volun-teers[J]. Drug Deliv, 2003, 10(4):263.

[18] Krishnaiah Y S R, Karthikeyan R S, Satyanarayana V. A three-layer guar matrix tablet for oral controlled deliv-ery of highly soluble metoprolol tartrate [J]. Inter J Pharm, 2002, 241(2):353.

[19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部. 北京:化学工业出版社,附录 XI X D 缓释、控释和迟释制剂指导原则, 2005:179.

[责任编辑 全燕]