

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.06.007

白芍提取物肠溶微囊的制备及体外释放度的研究^{*}

崔亚男¹ 管 华¹ 刘春华² 付英杰¹ 王慧云¹(¹ 济宁医学院药学院, 山东 日照 276826; ² 济宁医学院临床学院, 山东 济宁 272067)

摘 要 **目的** 制备白芍提取物肠溶微囊并对其体外释放度进行考察。**方法** 以相凝聚法制备微囊, 建立高效液相色谱法测定微囊的载药量与包封率, 并考查其体外释放度。**结果** 所得微囊外观圆整, 平均粒径为 $(460 \pm 120) \mu\text{m}$ 范围内, 载药量为 92.3%, 包封率为 43.04%。所得微囊在模拟胃液中 2h 内释放量低于 10%, 在模拟肠液中 45min 释放量即超过 70%。**结论** 白芍提取物所制得的微囊肠溶效果理想。

关键词 白芍提取物; 肠溶微囊; 高效液相色谱法

中图分类号: R9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2013)12-400-03

Study on the preparation and release activity of enteric microcapsules for paeony extraction

CUI Ya-nan, GUAN Hua, LIU Chun-hua, et al

(College of Pharmaceutical Sciences, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Objective To study on the preparation method and release activity of enteric microcapsules for paeony extraction. **Methods** Enteric microparticles were prepared by modified coacervation techniques. The HPLC method was found to determine the drug loading, entrapment efficiency and release activity in vitro. **Results** The microcapsules were regular in shape and the average particle size was $(460 \pm 120) \mu\text{m}$. The drug loading and entrapment efficiency were 92.3% and 43.04% respectively. The releasing experiment in vitro showed that the drug release amount was less than 10% in simulated gastric fluid within 2h while the amount was more than 70% in simulated intestinal fluid only in 45min. **Conclusion** The microcapsules show significant enteric release character.

Key words: Paeony abstract; Enteric microcapsules; HPLC

本文作者曾成功制备了复方参芍注射剂^[1-2]。但近年来, 随着中药注射剂的产销量快速增长, 有关中药注射剂的产品质量和临床安全问题的报道也逐渐增多。因此, 本文在前期研究的基础上, 进一步对复方参芍进行研究, 拟通过微囊化技术, 将白芍及人参茎叶皂苷分别包囊, 提高储存稳定性, 延长和控制膜内物质的释放, 提高生物利用度。

1 仪器与试剂

白芍饮片(日照市药材公司); 芍药苷对照品(中国药品生物制品检验所); AB-8 型大孔吸附树脂(南开大学化工厂); Eudragit L100(连云港制药厂); HPMC(石家庄优甫化工有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯; 其它均为分析纯; DMBA 数码显微镜

(麦克奥迪实业集团有限公司); 光学显微镜(Nikon YS100); 78HW-1 型恒温磁力搅拌器(杭州仪表电机厂); 冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂); LC-10ATVP 高效液相色谱泵(日本岛津株式会社); SPD-10AVP 高效液相检测器(日本岛津株式会社); 柱温箱(大连中汇达科学仪器有限公司); ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

2 方法与结果

2.1 白芍提取物的制备

将白芍饮片粉碎过 20 目筛, 取 100g, 加 80% 乙醇 200ml, 回流提取 2 次, 每次 2 h^[2], 合并提取滤液, 将提取液减压浓缩至稠膏, 于真空干燥箱内 60℃ 干燥至恒重, 称取提取物 0.02g, 加水超声定容至 10ml 容量瓶中, 用离心机离心 20 min(4 000 r/min), 取上清, 定容 10ml, 抽滤, 得上柱液。取该液 35ml, 用 AB-8 型大孔吸附树脂吸附, 选择 5

^{*} [基金项目] 济宁市卫生局“济宁市中医药科技发展计划项目”(编号: ZY2012004)

倍柱体积的 25%乙醇为洗脱剂,洗脱流速为 6ml/min。收集洗脱液,于 60℃干燥,最终得白芍提取物。以指标成分芍药苷为代表,其含量占提取物的 33%。

2.2 白芍提取物肠溶微囊的制备

本文采用改进的相凝聚法制备微囊^[3]。将 10g 的 Eudragit L100 溶于 100ml 丙酮中制成胶液,4.2g 白芍提取物中加入少许 span-60 润湿后,加入 Eudragit L100 胶液中,作为油相。将 HPMC 溶于 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.2)中制成 1% HPMC 溶液作为水相。将 15ml 的 1% HPMC 溶液逐渐滴加到 10ml 的油相中,于 750rpm 搅拌 10min 后,并逐渐升温至 45℃,溶液出现浑浊,继续搅拌 5min。然后加入同温度下 50ml 蒸馏水,继续搅拌 10min,迅速将混悬液于 2500rpm 离心 10min,然后冷冻干燥,即得微囊。通过此工艺所制得的微囊外观圆整,平均粒径为 (460±120)μm,微囊的光学显微镜照片如图 1。



图 1 肠溶微囊光学显微镜照片

2.3 微囊中白芍提取物含量的测定

2.3.1 最大吸收波长的选择 分别称取芍药苷对照品和按处方投药比制备的空白微囊,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液(1:1)溶解,配成浓度约为 10 μg/ml 的 2 份试液,在 190~310 nm 波长范围内进行扫描。扫描图见图 2。由图可知,芍药苷于 230 nm 处有最大吸收,辅料在此波长范围内对检测无影响,所以选择波长 λ=230 nm 处测定芍药苷。

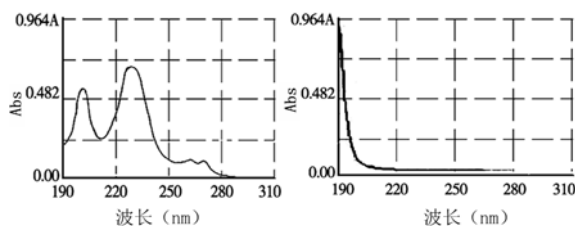


图 2 检测波长的确定

2.3.2 色谱条件 色谱柱: ODS C18 柱(250×4.6 mm, 5 μm 迪马公司);流动相: 乙腈-水-甲醇(60:25:15);检测波长: 230nm;流速: 1.0ml/min;柱温: 30℃;进样量: 20μl。

2.3.3 标准曲线的绘制 精密称取芍药苷对照品 4.2mg,置于 100ml 量瓶中,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液(1:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。分别精密吸取贮备液 2.0、4.0、6.0、8.0 和 10.0 ml 于 10 ml 量瓶中,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液(1:1)稀释至刻度,摇匀,作为标准供试液。精密取各供试液 20μl,进样,按上述色谱条件测定,重复操作 3 次,测定结果见表 1。以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归,得标准曲线方程 $A = 121619C - 102160$, $R^2 = 0.9992$,标准曲线见图 3。芍药苷在 8.4~42.0 μg/ml 范围内,线性关系良好($r=0.9996$)。

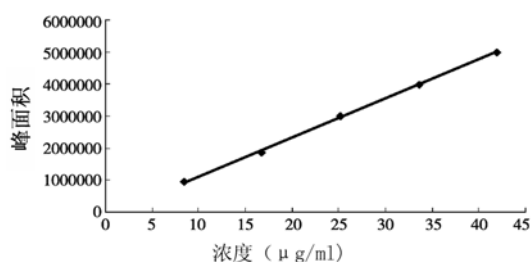


图 3 芍药苷含量测定标准曲线

表 1 芍药苷浓度的测定

C(μg/ml)	8.4	16.8	25.2	33.6	42.0
A	953786	1865717	3004814	3988452	5000413

2.3.4 仪器精密度考察 取中间浓度的标准供试液,连续进样 6 次,测定峰面积,计算 RSD 为 1.42%;连续 6d 求得日间含量的 RSD 为 1.83%。

2.3.5 溶液稳定性考察 取中间浓度的标准供试液,分别于 0、4、8、12、24h 进样,测定芍药苷的峰面积。结果表明,24h 内峰面积的 RSD 为 1.67%,说明样品稳定性良好。

2.3.6 加样回收率 称取空白微囊适量,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液(1:1)溶解制备空白样品溶液。精密量取芍药苷标准贮备液(52μg/ml)2.0、4.0、8.0ml 各 3 份于 10ml 容量瓶中,用空白样品溶液定容 10ml,进样,测定其峰面积,根据标准曲线计算浓度,求得平均加样回收率为 100.24%,相对标准偏差为 (下转第 407 页)

1037.
[2] Worsaae N, Thorn JJ. Surgical versus nonsurgical treatment of unilateral dislocation low subcondylar fractures. A clinical study of 52 cases[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1994; 52: 353-360.
[3] 翦新春, 蒋灿华, 唐瞻贵. 下颌髁状突骨折移位的分类—附 56 例病例分析[J]. 口腔颌面外科杂志, 2000, 10(3): 9-12.
[4] Zide MF, Kent JN. Indications for open reduction of mandibular condyle fractures[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1983, 41: 89-

98.
[5] 李祖兵, 廖锋, 赵吉宏等. 髁状突骨折分类与治疗方法选择[J]. 中华创伤杂志, 2005, 21(12): 888-891.
[6] Schon R, Gutwald R, Schramm A, et al. Endoscopy-assisted open treatment of condylar fractures of the mandible: extraoral vs intraoral approach[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2002, 31(3): 237-243.

(收稿日期 2013-11-25)

(上接第 401 页)1.64%。结果见表 2。

表 2 芍药苷回收率的测定(n=3)

加样量(μg)	回收量(g)	回收率(%)	Mean±SD(%)
104.00	102.02	98.43	100.24±1.64
	103.11		
	101.98		
	208.85		
208.00	209.12	100.66	
	210.17		
	422.17		
416.00	423.24	101.63	
	422.96		

2.3.7 载药量、包封率的确定 精密称取制得的微囊 10mg 于 100ml 容量瓶中, 加入 50ml pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液(1:1)振摇溶解, 然后定容 100ml。进样, 测定峰面积, 根据标准曲线计算浓度, 依据下式计算微囊载药量与包封率:

载药量=微囊中所含芍药苷的量/(0.33×微囊的总量)×100%

包封率=微囊中所含芍药苷的量/(0.33×白芍提取物投药量)×100%

2.4 释放度的测定

精密称取制得的微囊 100mg, 3 份, 按《中国药典》2010 版二部释放度测定方法^[4], 首先将微囊投放至 0.1mol/L 的盐酸溶液 500ml 中, 在(37±0.5)℃, 100rpm 条件下, 分别于 10、20、40、60、90、120 min 取样 5ml(同时补充同体积同温新鲜溶出介质), 用 0.22μm 微孔滤膜过滤, 依法测定其峰面积, 计算样品浓度, 并计算累积释放百分率。2h 后, 于上述酸溶液中加入的 0.2mol/L 的磷酸盐缓冲液 250ml, 同时以 2mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8, 在(37±0.5)℃, 100rpm 条件下, 同时开始计时, 分别于 30、45、60、90、120min 后取样 5ml, 用 0.22μm 微孔滤膜过滤, 依法测定其峰面积, 计算样品浓度, 并计算累积释放百分率。结果见图 4。

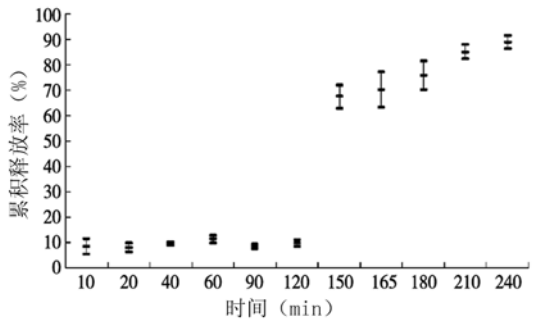


图 4 白芍提取物肠溶微囊在人工胃液、肠液中释放结果

3 结果与讨论

经过本法提取纯化的白芍提取物, 水溶性差, 在 50% 以上的乙醇溶液中溶解良好, 亦可溶于丙酮中, 因此本文选择将白芍提取物加入到 Eudragit L100 的丙酮溶液中作为油相。同时在测定载药量和包封率时, 选用 pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液与无水乙醇液按 1:1 的比例作为微囊的良溶剂。

在筛选微囊的最佳处方工艺时, 通常以载药量和包封率为指标。本文所制备的微囊载药量为 92.3%, 而包封率仅为 43.04%, 主要考虑的是为防止剂量过大, 为今后制备口腔崩解片打下基础。

参考文献:

[1] 崔亚男, 王东凯, 邱志斌. 2 种溶血性试验方法在复方参芍注射剂研究中的应用[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 182-183.
[2] 崔亚男, 王东凯, 邱志斌, 等. 复方参芍注射剂制备工艺的研究[J]. 中成药, 2007, 29(3): 447-450.
[3] Dong W, Bodmeier R. Encapsulation of lipophilic drugs within enteric microparticles by a novel coacervation method[J]. Int J Pharm, 2006, 326: 128-138.
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. (收稿日期 2013-09-22)