

• 药剂与工艺 •

盐酸青藤碱微囊的制备及其质量评价

程 亮¹, 韩腾飞¹, 李莎莎¹, 宋艳丽¹, 鞠大宏², 赵宏艳², 刘梅洁², 郝保华^{1*}

1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069

2. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700

摘要: **目的** 研究盐酸青藤碱微囊的制备工艺, 并考察其体外释药特性。**方法** 用复凝聚法制备盐酸青藤碱微囊, 以包封率为指标, 用正交试验设计法对盐酸青藤碱的制备工艺进行研究, 用高效液相色谱法研究制备的微囊体外释药特性, 并且对其形态、稳定性等进行研究。**结果** 盐酸青藤碱微囊的囊心囊材比、搅拌速率及成囊温度对微囊的包封率均有显著影响, 当囊心与囊材比为 1:3、搅拌速率为 200 r/min、成囊温度为 60 ℃时, 制得的盐酸青藤碱微囊囊形圆整光滑, 囊壁清晰, 粒径均匀, 平均包封率可高达 85%, 载药量平均为 16.5%, 囊径为 4~12 μm。**结论** 复凝聚法制备盐酸青藤碱微囊工艺简单、可靠, 产品稳定性好。微囊作为一种新兴剂型, 具有一定的缓释效果。

关键词: 盐酸青藤碱; 微囊; 复凝聚法; 制备工艺; 体外释放

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)05-0880-05

Preparation of sinomenine hydrochloride microcapsules and its quality evaluation

CHENG Liang¹, HAN Teng-fei¹, LI Sha-sha¹, SONG Yan-li¹, JU Da-hong², ZHAO Hong-yan², LIU Mei-jie², HAO Bao-hua¹

1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China

2. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine Research, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To study the preparation technology of sinomenine hydrochloride microcapsules, then examine their *in vitro* release. **Methods** The sinomenine hydrochloride microcapsules were prepared with the complex agglutination method. The preparation technique of sinomenine hydrochloride microcapsules was optimized by orthogonal design. *In vitro* release of sinomenine hydrochloride microcapsules was studied by HPLC, afterwards its morphology and stability were studied. **Results** The encapsulation rate was significantly related to the ratio of coating material, encapsulation temperature, and stirring speed. The highest rate of production and minimum diameter of microcapsules were obtained when the ratio of coating material to sinomenine hydrochloride was 1:3, the temperature of encapsulation was 60 ℃, and the stirring speed was 200 r/min. The obtained microcapsules were smooth round capsule-shaped, wall clear, uniform particle size, the average encapsulation rate up to 85%, the average drug loading 16.5%, and the microcapsule diameter 4—12 μm. **Conclusion** Complex agglutination used to prepare sinomenine hydrochloride microcapsules is simple and reliable, and its product is stable. As a new formulation, microcapsules could provide some controlled-release effect.

Key words: sinomenine hydrochloride; microcapsule; complex agglutination method; preparation technology; *in vitro* release

微囊(microcapsule)是采用天然或合成的高分子成膜材料(通称囊材)将固体或液体等活性物质(通称囊心)包裹而成的药库型微型囊,其粒径一般在微米范围,较大的在毫米范围,较小的在纳米范

围^[1]。微囊具有掩盖药物不良气味、提高药物稳定性、防止药物在胃内失活和减少药物对胃的刺激性等特点,故其常应用于药剂、食品添加剂等领域^[2]。此外,微囊还具有缓释作用,可长时间维持稳定的

收稿日期: 2012-01-10

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项(2009ZX09502-019); 陕西省教育厅产业化中试项目(2010je20)

作者简介: 程 亮, 硕士研究生, 研究方向为中药新型给药系统及新制剂研究。Tel: 15809205843 E-mail: chengliangno.1@163.com

*通讯作者 郝保华 Tel: (029)81970519 E-mail: haobaohua@126.com

网络出版时间: 2012-04-09 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120409.0904.006.html>

血药浓度,以减少给药次数,从而减轻药物不良反应,提高药物生物利用度等优点^[3]。

盐酸青藤碱(sinomenine hydrochloride)是从青藤中提取的生物碱单体青藤碱的盐酸盐,具有抗炎、抗氧化、镇痛和免疫抑制作用,临床上常用其治疗风湿、类风湿及心律失常等疾病^[4]。近年来有研究表明,盐酸青藤碱对脑缺血再灌注损伤有极强的保护作用^[5],但其具有味苦,对胃有刺激性,半衰期较短,对光、热不稳定,易分解^[6]等缺点。本实验采用复凝聚法将盐酸青藤碱制成微囊,可提高盐酸青藤碱的稳定性,掩盖其苦味,减少其对胃的刺激性,同时,研究微囊体外释药特性、形态及稳定性,为进一步研究相关缓释制剂提供参考,具有较重要的意义。

1 仪器与材料

YP—5001 电子精密天平(上海良平仪器仪表有限公司); 79—1 型恒温加热磁力搅拌器(江苏省金坛市正基仪器有限公司); Olympus—CX31 型电子显微镜(日本奥林巴斯株式会社); 岛津 LC—20AT 高效液相色谱仪(含 1525 型泵、2487 型检测

器,日本岛津公司); pH5—3C 型精密酸度计(上海大普仪器有限公司); JL—55 型激光粒度分布测试仪(四川省轻工业研究院); YP—250B 药品稳定性试验箱(上海领德仪器有限公司); RCZ—6C3 药物智能溶出仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

盐酸青藤碱(质量分数>98.5%,西安天诚医药生物工程有限公司); 阿拉伯胶(天津市福晨化学试剂厂); 明胶(天津登峰化学品有限公司); 聚山梨酯-80(天津登峰化学品有限公司); 戊二醛(天津市化学试剂六厂); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定盐酸青藤碱^[7]

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 ODS C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钠-乙二胺(55:45:0.25), 体积流量 0.5 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 262 nm, 进样体积为 20 μL。在此条件下, 盐酸青藤碱对照品与空白辅料色谱峰得到较好的分离, 专属性好, 方法可行。盐酸青藤碱及其微囊色谱图见图 1。

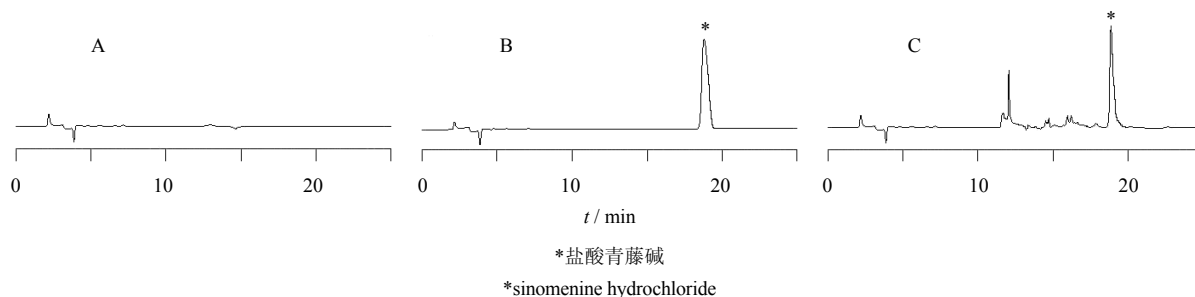


图1 空白溶液(A)、盐酸青藤碱对照品(B)和样品溶液(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank solution (A), sinomenine hydrochloride reference substance (B), and sample solution (C)

2.1.2 线性关系考察 精密称取在 105 ℃干燥至恒定质量的盐酸青藤碱 10 mg 置 100 mL 棕色量瓶中,以流动相溶解,配制 100.0 mg/L 对照品储备溶液。精密吸取盐酸青藤碱对照品储备溶液 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,得 1.0、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、100.0 mg/L 的系列对照品溶液,分别取 20 μL 进样测定其峰面积。以峰面积对质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y=16\,186X-31\,692$, $r=0.999\,5$, 线性范围为 1.0~100.0 mg/L。

2.1.3 供试品溶液的制备 取适量盐酸青藤碱微囊,在研钵中充分研成细粉,置 50 mL 圆底烧瓶中,加 0.1 mol/L NaOH 试液 20 mL,混匀,超声 20 min。

精密加氯仿 30 mL, 密塞,称定质量,置水浴中回流提取 2 h, 放冷,再称定质量,以氯仿补足损失的质量。滤过,弃去初滤液,取续滤液,水浴蒸干,加 100 mL 流动相充分溶解,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取 20 μL 进样测其峰面积,代入回归方程计算其质量浓度。

2.2 载药量和包封率的测定

精密称取盐酸青藤碱微囊适量,按“2.1.3”项下的操作制备供试品溶液并进样测定其峰面积,代入回归方程求得质量浓度,换算出微囊中药物的量,计算包封率。

载药量=微囊中药物的质量/微囊的质量

包封率=微囊中药物的质量/投入的总药量

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。精密称取盐酸青藤碱细粉 85 mg，加入 15 mL 20% 聚山梨酯-80 溶液中，然后在一定温度和搅拌速率下分别缓缓加入阿拉伯胶 40 mL 及明胶浆液 25 mL，再加入甘油 3 mL，待甘油与乳浊液混匀后，用 10% 乙酸调 pH 值至 3.8~4.2，成囊 30 min，再加入 15 mL 明胶液，用乙酸调 pH 值至 3.8~4.2，继续搅拌 30 min，使盐酸青藤碱第 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。将微囊用 2.5% 戊二醛溶液 30 mL 固化 1 h，抽滤，用水洗涤 4~6 次，50 ℃ 真空干燥，得白色粉末状微囊。整个实验过程保持避光。

2.3.2 预试验及其结果 为了优化制备工艺，本课题组根据文献报道^[8]分别以囊心与囊材比、搅拌速率及成囊温度为单因素指标，考察各因素在各水平下对微囊的包封率和载药量的影响。预试验结果显示，囊心与囊材比大于 1:1 时，药物未被囊泡完全包裹，包封率低于 30%，囊心与囊材比小于 1:3

时，药物包裹情况较好，而载药量却低于 10%，因此囊心囊材比控制在 1:1~1:3，包封率和载药量均有较好的结果。此外，试验发现当搅拌速率太高时，囊泡容易破裂，使包封率明显下降；当搅拌速率太低时，囊泡容易产生粘连，造成微囊结块；试验控制搅拌速率在 100~300 r/min 时，包封率好且微囊成型情况较为理想。成囊温度也是决定微囊制备好坏的一个重要指标^[9]，温度过低时，两相稀释过程中胶液易粘连，难以成囊，温度过高时，两相稀释过程中胶液成囊速度过快，难以包裹药物，包封率太低，试验显示温度控制在 40~60 ℃ 为佳。

2.3.3 正交设计确定最佳制备工艺 根据预试验结果，以直接影响成囊的囊心与囊材比 (A)、搅拌速率 (B) 及成囊温度 (C) 为主要因素，每个因素分为 3 个水平；同时确定明胶和阿拉伯胶质量浓度均为 5%。选择 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验，以微囊包封率和载药量的综合评分 [综合评分 = 包封率 × 80 + 载药量 × 20] 评定制备工艺。试验设计及结果见表 1。

由极差分析可知，A、B、C 3 个因素对综合评分影响大小依次为 A>B>C，由综合评分确定的最

表 1 盐酸青藤碱微囊制备工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

试验号	A	B / (r·min ⁻¹)	C / ℃	D (空白)	包封率 / %	载药量 / %	综合得分
1	1:1 (1)	100 (1)	40 (1)	(1)	38.63	13.34	33.572
2	1:1 (1)	200 (2)	50 (2)	(2)	54.71	16.10	46.988
3	1:1 (1)	300 (3)	60 (3)	(3)	53.37	15.85	45.866
4	1:2 (2)	100 (1)	50 (2)	(3)	43.92	14.75	38.086
5	1:2 (2)	200 (2)	60 (3)	(1)	61.59	16.89	52.650
6	1:2 (2)	300 (3)	40 (1)	(2)	41.27	14.15	35.846
7	1:3 (3)	100 (1)	60 (3)	(2)	67.22	17.21	57.218
8	1:3 (3)	200 (2)	40 (1)	(3)	76.62	18.32	64.960
9	1:3 (3)	300 (3)	50 (2)	(1)	51.61	15.46	44.380
K_1	126.426	128.876	134.378	130.602			
K_2	126.582	164.598	129.454	140.052			
K_3	166.558	126.092	155.734	148.912			
R	40.132	38.506	26.280	18.310			

佳工艺参数组合为 $A_3B_2C_3$ ，即囊心与囊材比为 1:3，搅拌速率为 200 r/min，成囊温度为 60 ℃。

2.4 验证试验

按确定的最佳工艺制备 3 批微囊，测定其包封率和载药量，结果见表 2，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 2 最佳工艺验证 (n=3)

批号	载药量 / %	包封率 / %
110915	17.2±1.1	85.3±1.4
110916	15.7±1.6	83.2±2.7
110917	16.2±1.3	84.4±1.8

2.5 微囊的体外释药特性

按《中国药典》2010 年版溶出度测定第三法测定微囊的体外释药特性。取 900 mL 人工肠液(0.5% 十二烷基硫酸钠溶液)置于溶出杯中,加热,待人工肠液的温度恒定在(37±0.5)℃后,分别精密称取盐酸青藤碱 5 mg 和相应药物量的盐酸青藤碱微囊置溶出杯中,调节转速为 100 r/min。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,溶出液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按“2.1.1”项下的色谱条件进样分析,计算不同时间点盐酸青藤碱的累积释药率。重复上述操作 3 次,以 3 次结果的平均值绘制其累积释药率曲线,结果见图 2。由图可知,微囊在体外具有良好的缓释效果,增加了药物的作用时间。

校正后的累积溶出量= $C_n V_2 / m + (C_{n-1} + \dots + C_2 + C_1) V_1 / m$
 C_n 为各时间点取样后的样品质量浓度(即补充溶出液前该时间点的样品质量浓度), m 为制剂标示质量, V_1 为各时间点固定取样体积, V_2 为溶出介质体积

该公式如采用各时间点测得释放量表示,则可演变为如下公式。

各时间点校正后的累积溶出量= $A_n + (A_{n-1} + \dots + A_2 + A_1) V_1 / V_2$
 A_n 为各时间点测得的溶出量

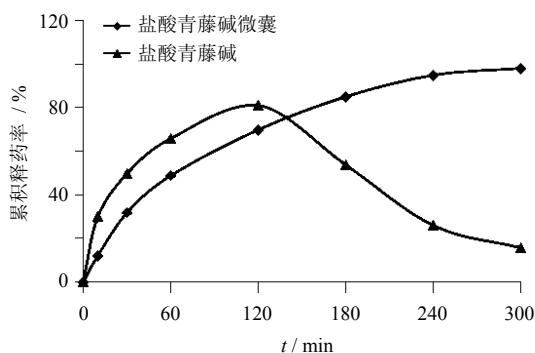


图 2 盐酸青藤碱及其微囊的体外释药曲线 (n=3)

Fig. 2 *In vitro* release curves of sinomenine hydrochloride and its microcapsules (n=3)

2.6 微囊形态与粒径分布

用带有标尺的电子显微镜观察微囊的形态,并测定约 800 个微囊的粒径分布,平行测定 5 次,其结果见图 3、4。

2.7 稳定性试验

在 40℃、75%相对湿度条件下对盐酸青藤碱微囊及盐酸青藤碱与明胶、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 个月时取样测定盐酸青藤碱,以 0 月时的量为 100%计,考察盐酸青藤碱的稳定性,结果见表 3。结果表明,盐酸青藤碱微囊的稳定性较盐酸青藤碱与明胶和阿拉伯胶的物理混合物有显著提高,3 个月内盐酸青藤碱微囊中盐酸青藤碱的质量分数在 85%以上,而物理混合物中盐酸青藤碱质量分数在 3 个月时降到 65%以下。

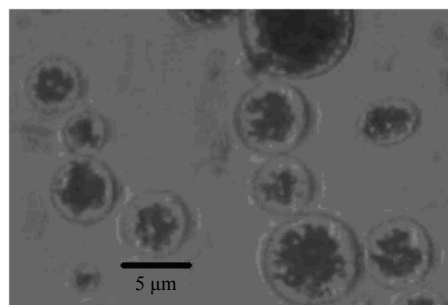


图 3 微囊电子显微镜下形态

Fig. 3 Microcapsule form under electron microscope

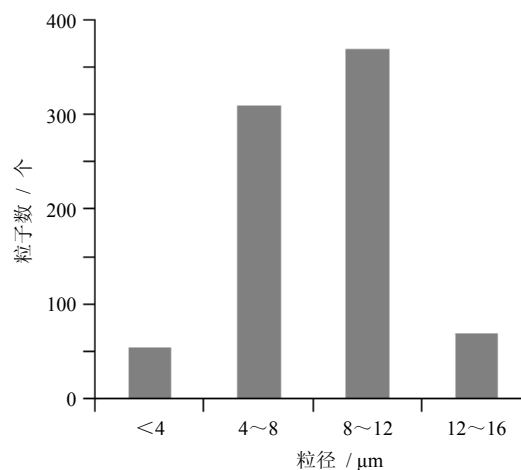


图 4 微囊粒径分布

Fig. 4 Particle size distribution of microcapsules

表 3 盐酸青藤碱微囊稳定性试验($\bar{x} \pm s$, n=5)

Table 3 Stability test of sinomenine hydrochloride microcapsules ($\bar{x} \pm s$, n=5)

样 品	盐酸青藤碱 / %			
	0 个月	1 个月	2 个月	3 个月
物理混合物	100	86.5±5.7	76.2±3.5	64.3±4.3
盐酸青藤碱微囊	100	95.6±4.6	93.4±3.9	87.2±3.6

3 讨论

由于盐酸青藤碱有不稳定,半衰期短,遇光易变质等缺点,很多研究人员针对如何提高其稳定性、

增加其生物利用度方面作了大量的研究,如将其制成传递体、脂质体、醇质体、微乳、复乳、 β -环糊精包合物^[10-13]等。本实验将盐酸青藤碱制备成微囊,明显提高了盐酸青藤碱的稳定性,且制备工艺简单,重复性好。

复凝聚法是通过 2 种带有相反电荷的囊材相互交联而凝聚成囊,其环境因素,如成囊温度、pH 值等都将影响微囊的性质^[14-15]。本实验采用明胶和阿拉伯胶为囊材在适宜 pH 值条件下凝聚成囊,在制备过程中微囊容易产生粘连,调 pH 值时应注意匀速搅拌,调好后立即用 2 倍量的水稀释并搅拌使微囊分散而不至于粘连。此法所得微囊呈圆球形,表面光滑,无粘连,粒径大多分布在 4~12 μm ,且微囊性质稳定。体外实验表明,盐酸青藤碱制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。

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。由于盐酸青藤碱在碱性环境下不稳定,故本实验改用戊二醛代替甲醛作为固化剂,在中性介质中使明胶交联固化。

在进行溶出度试验时,本研究采用了人工胃液和人工肠液作为溶出介质测定盐酸青藤碱微囊和盐酸青藤碱溶出度,结果表明,在人工胃液中,两者的溶出效果不佳,而在人工肠液中两者的溶出度较好,且盐酸青藤碱微囊显示出明显的缓释作用。此外,为了改善盐酸青藤碱及其微囊的溶出效果,提高与体内药动学的相关性,实验中宜向人工肠液中加入 0.5% 十二烷基硫酸钠。图 2 中盐酸青藤碱的累积释药量在 120 min 后开始下降,可能是由于盐酸青藤碱自身的不稳定性,遇光、热易变质易分解^[16]的特点所导致的。

在测定微囊中盐酸青藤碱时,必须先将微囊完全破坏。本实验采取研磨加超声后有机溶剂提取的处理方法,即先将干燥好的微囊充分研磨,再超声 20 min,使囊材可以比较完全地破裂释放出盐酸青藤碱,最后用有机溶剂提取。该法比较费时,但与单纯的有机溶剂萃取相比,此法提取完全、效果好。

参考文献

[1] 张兆旺. 中药药剂学 [M]. 第 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2008.

- [2] Biju S S, Saisivam S, Rajan N S M G, *et al.* Dual coated erodible microcapsules for modified release of diclofenac sodium [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004, 58(1): 61-67.
- [3] 严春临, 张 季, 张丹参, 等. 大黄酚微囊药代动力学研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1127-1129.
- [4] 刘继红, 李卫东, 滕慧玲, 等. 青藤碱治疗类风湿性关节炎免疫作用和机制 [J]. 药学学报, 2005, 40(2): 127-131.
- [5] 李 浩, 石胜良, 刘开祥, 等. 青藤碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用及机制 [J]. 重庆医学, 2010, 39(19): 2558-2560.
- [6] 李 乐, 张彩玲, 宋卫卫, 等. 青藤碱的药理研究与临床应用 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(4): 310-313.
- [7] 朱兰寸, 马廷升. 高效液相色谱法测定盐酸青藤碱脂质体缓释片的含量 [J]. 中国药业, 2009, 18(9): 23-24.
- [8] Wang G J, Chu L Y, Zhou M Y, *et al.* Effects of preparation conditions on the microstructure of porous microcapsule membranes with straight open pores [J]. *J Membrane Sci*, 2006, 284(1/2): 301-312.
- [9] Valot P, Baba M, Nedelec J M, *et al.* Effect of process parameters on the properties of biocompatible Ibuprofen-loaded microcapsules [J]. *Int J Pharm*, 2009, 369(1/2): 53-63.
- [10] 惠 先, 徐 坤, 豆婧婧, 等. 青藤碱传递体经皮给药的药动力学和药效学研究 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(5): 374-377.
- [11] 姜素芳, 姚 瑶, 陶昱斐, 等. 盐酸青藤碱多囊脂质体的制备及其释放特性研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1158-1161.
- [12] 韩文霞, 李伟泽, 汪兴军, 等. 盐酸青藤碱纳米柔性脂质体的制备及其性质研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 671-675.
- [13] 甄小龙, 刘 婷, 杨文婧, 等. 青藤碱水凝胶贴剂的微针经皮给药的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(6): 892-896.
- [14] Chu L Y, Park S H, Yamaguchi T, *et al.* Preparation of micron-sized monodispersed thermoresponsive core-shell microcapsules [J]. *Langmuir*, 2002(18): 1856-1864.
- [15] Akamatsu K, Yamaguchi T. Novel preparation method for obtaining pH-responsive core-shell microcapsule reactors [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2007, 46(1): 124-130.
- [16] 孔庆峰, 李 军. 青藤碱研究新进展 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(20): 1573-1576.