

龙胆总苷胃漂浮微丸制备及其体外释药特性研究

王 焱¹, 宋小玲², 陈银芳², 王金钱³, 王跃生³, 郑 颖^{1*}

1. 澳门大学中华医药研究院, 澳门 999078

2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004

3. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 制备龙胆总苷胃漂浮微丸, 并探讨其体外释药特性。 **方法** 采用助漂剂十六醇-微晶纤维素(7:3), 以离心造粒法制备空白丸芯(40~60目); 采用 HPMC-K15M 为骨架材料和龙胆总苷等量混合以粉末层积法滚丸(20~30目); 采用 Eudragit NE 30D 进行流化床包衣, 制得龙胆总苷胃漂浮微丸; 以龙胆苦苷为指标, 《中国药典》2010年版二部附录 XC “转篮法”和 HPLC 法, 测定胃漂浮微丸 12 h 释放度, 并用 Higuchi 等数学模型对释放度数据进行拟合, 探讨龙胆总苷胃漂浮微丸释药特性。 **结果** 在人工胃液(pH 1.2)中, 龙胆总苷胃漂浮微丸具有良好的漂浮性能和良好的缓释效果。累积释药率数据用 Ritger-Peppas 模型拟合度最高, 相关系数 $R^2 > 0.97$, 且 $0.43 < n < 0.85$, 说明龙胆总苷胃漂浮微丸释药过程是溶蚀与扩散协同作用。 **结论** 龙胆总苷制备胃漂浮微丸工艺可行, 且能够达到胃滞留缓释的效果。

关键词: 龙胆总苷; 胃漂浮微丸; 粉末层积法; 体外释药; 缓释

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)09-1751-05

Preparation of gentian total glycosides intragastric floating pellets and their characteristics of *in vitro* release

WANG Yan¹, SONG Xiao-ling², CHEN Yin-fang², WANG Jin-qian³, WANG Yue-sheng³, ZHENG Ying¹

1. Institute of Chinese Medicine, University of Macau, Macau 999078, China

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To prepare gentian total glycosides intragastric floating pellets (GGIFPs) and investigate their *in vitro* release characteristics. **Methods** Blank pellet core (40—60 meshes) was prepared with cetyl alcohol-microcrystalline cellulose (MCC, 7:3) as floating agent using centrifugal granulation method; The pellets were developed using HPMC-K15M as skeleton material and mixed with equal amount of gentian total glycosides with powder stratification roll method (20—30 meshes); The GGIFPs were obtained using Eudragit NE 30D fluidized bed coating. The release rate was detected using “rotating basket method” in Appendix XC of *Chinese Pharmacopoeia 2010* (II) and HPLC within 12 h taking gentiopicroside as index. The release data were fitted with mathematical models such as Higuchi to explore the release characteristics of GGIFPs. **Results** GGIFPs had good floating performance and sustained-release characteristics in simulated gastric fluid (pH 1.2). The data of cumulative release rate fitted best with the Ritger-Peppas model, correlation coefficient $R^2 > 0.97$, and $0.43 < n < 0.85$, which showed that the drug release process of GGIFPs was the synergy of dissolution and diffusion. **Conclusion** The technology for the preparation of GGIFPs is feasible and the sustained-release could be achieved in the process.

Keywords: gentian total glycosides; intragastric floating pellets; powder stratification roll method; *in vitro* release; sustained-release

胃漂浮型制剂是一类延长药物在胃内滞留时间, 改善药物吸收的剂型^[1-2], 其剂型有单剂量和多单元剂量之分。胃漂浮型微丸属于多单元剂型, 不

仅具有微丸的优点, 而且可延长微丸在胃内的停留时间, 在疗效方面更具优势。微丸在胃肠道表面分布面积增大, 可以减少刺激性, 提高药物的生物利

收稿日期: 2012-02-03

作者简介: 王 焱(1987—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药新剂型和中药制剂关键技术研究。Tel: 13576264231 E-mail: 157670292@qq.com

*通讯作者 郑 颖 Tel: (0853)83974687 E-mail: 157670292@qq.com

网络出版时间: 2012-08-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120816.1042.005.html>

用度;不受胃排空因素影响,药物在体内吸收均匀;可以保证药物稳定性,掩盖不良味道^[3]。微丸的制备方法主要有:旋转式制丸、层积式制丸、压缩式制丸和球形化制丸^[4]。微丸的制备技术主要有滚动成丸法、挤出-滚圆成丸法、离心-流化造丸法。其他方法如熔融高速剪切法、喷雾冻凝法、喷雾干燥法和液体介质中制丸等^[5]。

龙胆总苷是从龙胆属植物秦艽中提取纯化所得的有效部位,有抗炎镇痛、保肝利胆及健胃抗溃疡等作用^[6-9]。龙胆总苷吸湿性强,且味苦,其主要成分龙胆苦苷生物利用度低^[10-11]。将龙胆总苷制备成胃漂浮型微丸制剂,可以掩盖苦味,延长其在胃肠道内的滞留时间和增加药物在胃肠道表面的分布面积,改善药物吸收,提高生物利用度。本研究以龙胆总苷为模型药物,采用离心造粒粉末层积法制备胃漂浮微丸,研究其体外释药特性,建立可靠的中药胃漂浮微丸释药特性的体外评价方法,寻找中药胃漂浮制剂体外释药的影响因素,阐明各影响因素的影响规律,为中药开发胃漂浮制剂提供理论依据。

1 仪器与材料

BZJ—360MII 包衣造粒机(中国航天科技集团公司一院一五所),BT00—100M 恒流泵(保定兰格设备有限公司),OPD—8 喷雾干燥机(上海大川原干燥设备有限公司),BSZ100S 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),标准分样筛(浙江上虞市纱筛厂),YZN50 液体真空浓缩煎药机(北京东华原医疗设备有限公司),Shimadzu SCL-10AVP 高效液相色谱仪(SPD-M10A VP 紫外检测器、SIL-10A DVP 自动进样器、CTO-10A SVP 柱温箱),RCZ—8A 智能药物溶出仪(天津精密仪器厂)。

龙胆总苷(自制,龙胆苦苷质量分数 59%,龙胆总苷质量分数>90%);微晶纤维素(MCC,上海昌为辅料公司),十六醇(山东聊城阿华制药有限公司),羟丙甲纤维素(HPMC K15M,山东阿华制药有限公司),聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-30,北京国人逸康科技有限公司),Eudragit NE 30D(上海德祥医药技术有限公司);无水乙醇(上海振兴化工一厂),盐酸(西陇化工股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 龙胆总苷胃漂浮微丸处方

龙胆总苷胃漂浮微丸主要有 3 层,包括空白丸芯、载药层和包衣层。空白丸芯处方主要由轻质(蜡质)材料与纤维素类高分子材料组成,在微丸系统

中起到承载微丸漂浮的作用;载药层是龙胆总苷药物储库,处方主要由药物与亲水膨胀凝胶材料组成,除了具有储存药物功能外,亲水凝胶遇胃液膨胀增大微丸体积从而增强漂浮功能;包衣层选择聚丙烯酸树酯类高分子材料 Eudragit NE 30D 作为主要成膜材料,其特性在于不溶于水和消化液,渗透性中等。龙胆总苷胃漂浮微丸各功能层处方:空白丸芯(200 g,十六醇-微晶纤维素 7:3),载药层(320 g,龙胆总苷-HPMC K15M 1:1),包衣层(16 g, Eudragit NE 30D 30%水溶液)。

2.2 龙胆总苷胃漂浮微丸的制备

2.2.1 空白丸芯的制备 称取微晶纤维素 150 g、十六醇 350 g 混合均匀(过 5 号筛),将其置于离心造粒机中,调节搅拌刀和喷枪位置及角度,搅拌刀的位置应使物料在锅内呈漩状回转运动,使喷枪雾化扇面最大。以 20% PVP K-30 的 10%乙醇溶液为黏合剂,按下列参数进行试验:主机转速为 200 r/min,喷气压力 0.15 MPa,鼓风流量 15~20 L/min,喷气流量 15~20 L/min,喷浆流量随造粒时间而变化,直至物料呈絮状流动状态开始供粉,控制粉浆比,维持物料呈絮状流动状态,至起模长大成目标丸芯。结束后开启出料口,取出丸芯,室温晾至近干,再于 60 ℃烘箱中烘干,筛分 40~60 目的丸芯,备用。

2.2.2 载药层的制备 称取 40~60 目空白丸芯 500 g,置于离心造粒机中,将龙胆总苷与 HPMC K15M 按 1:1 比例混合作为供粉,以 20% PVP K-30 的 10%乙醇溶液为黏合剂,选择主机转速为 200 r/min、热风温度为 40 ℃,供粉流量和喷液流量比控制为 1:1(均为 10 r/min)、喷气流量为 15~20 L/min 制备载药微丸,微丸滚圆时间控制在 4 min。结束后开启出料口,取出微丸,室温晾至近干,再于 60 ℃烘箱中烘干,筛分 20~30 目的丸芯,备用。

2.2.3 包衣层的制备 称取一定量 Eudragit NE 30D(水溶型),用水稀释至固含物质量浓度为 30%,用磁力搅拌器搅拌均匀。将 500 g 载药微丸放入流化床中,开启风机,使丸芯处于流化状态,调整控制按钮,使流化床风机频率为 18 Hz,进风温度为 100 ℃,物料温度为 35 ℃,喷气压力为 0.15 MPa,喷液体积流量为 5 mL/min,控制包衣增加质量 3%,至包衣增加质量完成,包衣完成后流化干燥 30 min,取出微丸。

2.3 体外漂浮性

采用《中国药典》2010 年版二部附录 XC 溶出

度测定法第二法的“浆”装置, 转速 75 r/min, 介质为脱气的 0.1 mol/L 盐酸水溶液 900 mL, 温度为 (37±0.5) °C。投入胃漂浮微丸约 1 g, 立即计时, 记录 95% 以上微丸上浮到液面所需的时间 (起漂时间) 和再次下沉所需的时间 (持续漂浮时间), 测定 5 份, 取平均值。用 20~30 目的载药微丸进行包衣, 共 3 批, 测定其体外漂浮性, 每批测定 5 次, 结果起漂时间分别为 65、62、70 s, 持续漂浮时间均大

于 12 h。表明龙胆总苷胃漂浮微丸在 2 min 内起漂, 持续漂浮时间大于 12 h, 具有良好的漂浮性能。

2.4 体外释放度试验

2.4.1 HPLC 法测定龙胆苦苷^[12]

(1) 色谱条件 色谱柱 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (17:83), 检测波长 270 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱压 8.8 MPa, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

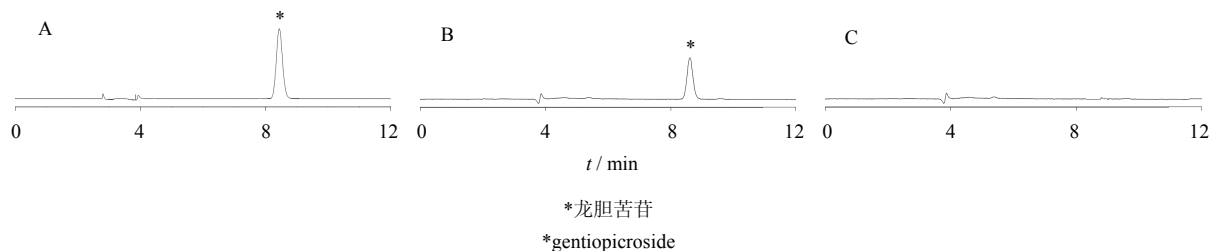


图 1 龙胆苦苷对照品 (A)、龙胆总苷胃漂浮微丸供试品 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of gentiopicoside reference substance (A), GGIFPs sample (B), and negative sample (C)

(2) 对照品溶液的制备 取龙胆苦苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.5 mg/mL 对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备 按“2.4.2”项下方法, 每隔 1 h 取样 2 mL, 样品经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

(4) 阴性样品溶液的制备 称取 1 g 空白丸芯, 按“2.4.2”项下方法, 每隔 1 h 取样 2 mL, 样品经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

(5) 线性关系考察 精密吸取龙胆苦苷对照品溶液 10、4、2、1、0.4、0.2 mL 置 10 mL 量瓶中, 以甲醇定容, 摇匀, 得质量浓度分别为 0.5、0.2、0.1、0.05、0.02、0.01 mg/mL 的系列龙胆苦苷对照品溶液。取各对照品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=1 \times 10^7 X-1717$, $R^2=0.9996$, 表明龙胆苦苷在 0.01~0.5 mg/mL 线性关系良好。

(6) 精密度试验 按供试品溶液制备方法制备 1 份供试品溶液, 按上述色谱条件, 重复进样 6 次, 其相对保留时间稳定, 记录峰面积, 计算得其峰面积的 RSD 为 1.07%。

(7) 稳定性试验 按供试品溶液制备方法制备 1 份供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定, 其峰面积的 RSD 为 2.13%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

(8) 重复性试验 取同一批龙胆总苷胃漂浮微丸, 按上述供试品溶液制备方法, 平行制备供试品溶液 6 份, 进样测定, 计算其质量分数的 RSD 为 1.87%。

(9) 样品测定 分别取对照品溶液、供试品溶液, 按照上述色谱条件进样测定, 外标法计算。

2.4.2 体外释放度测定 龙胆苦苷是龙胆总苷的主要指标成分, 以龙胆苦苷为考察指标, 测定龙胆总苷微丸的体外释放度。称取龙胆总苷微丸 1 g, 6 份, 采用《中国药典》2010 年版二部附录 XC 第一法“转篮法”, 分别量取经脱气处理的 0.1 mol/L 盐酸溶液 900 mL, 置各溶出杯内, 转速为 75 r/min, 温度为 (37±0.5) °C。每隔 1 h 取样 2 mL, 同时补加相同温度相同体积的相应释放介质。取样液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液进样, 测定龙胆苦苷质量浓度。根据标准曲线及累积释放度计算公式, 求得所测微丸在不同时间点的累积释放率。

$$\text{累积释放率} = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / (W \times D)$$

C_n 为第 n 个时间点溶出介质中药物的质量浓度, C_i 为第 $n-1$ 个时间点溶出介质中药物的质量浓度, V_i 为取样体积, V 为溶出介质的总体积, W 为微丸的质量, D 为微丸中药物的质量分数

用 20~30 目的载药微丸进行包衣, 共 3 批, 测定其体外释放度。累积释放率计算结果见图 2。根

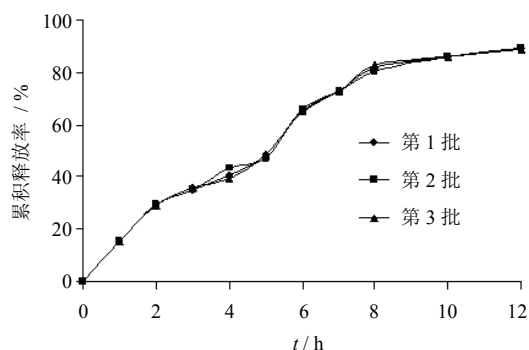


图2 3批龙胆总苷胃漂浮微丸累积释放曲线

Fig. 2 Cumulative release curves of three batches of GGIFPs

据《中国药典》2010年版附录“缓释、控释制剂指导原则”的要求,龙胆总苷载药微丸体外释药基本能达到缓释的目的,且12 h释放完全。3批微丸释药曲线相似。

2.5 释放机制探讨

将药物制成制剂后,多要求制剂在体内能按一定的规律释放药物,以达到预期的用药目的。本实验通过对龙胆总苷胃漂浮微丸体外累积释放率-时间数据进行各种模型的曲线方程拟合,研究龙胆总苷胃漂浮微丸的释药机制,目的在于探索胃漂浮微丸的体外释药规律,为其体内释药行为提供一定的理论依据。

目前评价缓释、控释制剂药物释放机制的模型主要有如下几种:

- (1) 零级释放模型^[13]: $Y=a_1+b_1 t$
- (2) 一级释放模型^[14]: $\ln(100-Y)=b_2 t-a_2$
- (3) Higuchi 方程^[15]: $Y=a_3+b_3 t^{1/2}$
- (4) Hixson-Crowell 方程^[16]: $(100-Y)^{1/3}=b_4 t-a_4$
- (5) Ritger-Peppas 方程^[17]: $\ln Y=a_5+n \ln t$

Y 为累积释放率, t 为释放时间, $a_1 \sim a_4$ 为常数, a_5 和 $b_1 \sim b_4$ 为速率常数, n 为扩散常数

分别采用代表扩散机制的 Higuchi 方程和溶蚀机制的 Hixson-Crowell 方程进行模型拟合,判断药物释放机制,并由 Ritger-Peppas 方程的拟合结果得到证实。

对于圆球型制剂, Ritger 等^[18]指出,时间项 t 指数 n 的意义为: (1) 当 $n \leq 0.43$ 时,药物释放机制为 Fickian 扩散过程; (2) 当 $0.43 < n < 0.85$ 时,药物释放机制为 non-Fickian 扩散,即药物扩散和骨架溶蚀协同作用; (3) 当 $n \geq 0.85$ 时,药物释放机制为骨架溶蚀过程。

本实验对龙胆苦苷胃漂浮包衣微丸在人工胃液中的体外释放度数据进行模型拟合,探索胃漂浮微丸的体外释药机制。拟合结果见表1。

模型拟合结果表明,龙胆总苷胃漂浮微丸在人工胃液中的体外释药过程与零级释放模型拟合度较低,与一级释放模型、Higuchi 方程、Hixson-Crowell 方程和 Ritger-Peppas 方程模型拟合度较高,而与 Ritger-Peppas 方程模型拟合度最高。根据反映扩散机制的 Higuchi 方程和溶蚀机制的 Hixson-Crowell 方程拟合结果来看,两者的相关系数均很高,说明微丸的释药机制为扩散和溶蚀协同释药,根据 Ritger-Peppas 方程中扩散指数结果,3批样品的 n 值 0.730 7~0.734 5,均介于 0.43~0.85,可进一步说明微丸的释药行为符合 non-Fickian 扩散机制,显示释药过程同时存在药物扩散和骨架溶蚀作用。这说明包衣微丸在人工胃液中,微丸的包衣材料造成微丸骨架溶蚀而促进药物释放,同时因为包衣材料中聚丙烯酸酯占大部分,所以微丸的药物释放同时存在扩散机制。

表1 龙胆总苷胃漂浮微丸累积释放率-时间模型拟合

Table 1 Cumulative release rate-time model fitting of GGIFPs

试验号	零级释放模型	一级释放模型	Higuchi 方程	Hixson-Crowell 方程	Ritger-Peppas 方程
1	$Y=7.159 5 t+14.846$ $R^2=0.936 1$	$\ln(100-Y)=4.753 -$ $0.204 5 t$ $R^2=0.969 6$	$Y=33.012 t^{1/2}-$ 19.334 $R^2=0.964 9$	$(100-Y)^{1/3}=4.626 -$ $0.216 7 t$ $R^2=0.968 0$	$\ln Y=0.731 4 \ln t +$ 2.782 $R^2=0.979 6$
2	$Y=7.092 9 t+15.347$ $R^2=0.935 4$	$\ln(100-Y)=4.740 -$ $0.201 6 t$ $R^2=0.975 3$	$Y=32.762 t^{1/2}-$ 18.645 $R^2=0.967 5$	$(100-Y)^{1/3}=4.612 -$ $0.214 1 t$ $R^2=0.972 1$	$\ln Y=0.730 7 \ln t +$ 2.786 $R^2=0.979 9$
3	$Y=7.180 2 t+14.802$ $R^2=0.929 4$	$\ln(100-Y)=4.749 -$ $0.204 6 t$ $R^2=0.963 7$	$Y=33.129 t^{1/2}-$ 19.525 $R^2=0.959 2$	$(100-Y)^{1/3}=4.624 -$ $0.217 1 t$ $R^2=0.961 0$	$\ln Y=0.734 5 \ln t +$ 2.777 $R^2=0.976 0$

3 讨论

以十六醇-微晶纤维素(7:3)为助漂剂, HPMC K15M 为骨架材料制备龙胆总苷胃漂浮微丸工艺可行。龙胆总苷胃漂浮微丸在 2 min 内起漂, 能持续漂浮 12 h 以上, 说明其具有良好的漂浮性。龙胆总苷胃漂浮微丸体外释药缓慢持久, 具有缓释特性, 其体内释药情况有待进一步研究。通过对龙胆总苷胃漂浮微丸体外释药特性研究, 进行释放数据的模型拟合, 从 Higuchi 方程、Hixson-Crowell 方程和 Ritger-Peppas 方程拟合结果来看, 其相关系数均很高, 且 Ritger-Peppas 方程中 n 值为 0.730 7~0.734 5, 均介于 0.43~0.85, 分析龙胆总苷胃漂浮微丸体外释药机制主要为 non-Fickian 扩散, 即以扩散和溶蚀机制协同释药。

参考文献

- [1] 孔德亮, 马 山, 顾 清. 胃内漂浮制剂 [J]. 山东中医杂志, 2000, 19(11): 290-291.
- [2] 许海玉, 赵 平, 张铁军, 等. 胃黏膜损伤相关疾病中药的研究现状及其开发思路 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 302-306.
- [3] 叶晓莉, 王选深, 王彬辉, 等. pH 依赖-时滞型大黄素结肠定位微丸的制备及体外释药研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1956-1962.
- [4] 崔福德. 药剂学 [M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [5] 陆 彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [6] 陈 雷, 王海波, 孙晓丽, 等. 龙胆苦苷镇痛抗炎药理作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 903-906.
- [7] 刘占文, 陈长勋, 金若敏, 等. 龙胆苦苷的保肝作用研究 [J]. 中草药, 2002, 33(1): 47-51.
- [8] 孙文基. 有效成分龙胆总甙在制备促进肠胃消化功能的药物中的应用 [P]. 中国: ZL97108434.3, 2002-08-21.
- [9] 孙芳云, 张 斌, 刘庆山, 等. 西藏地产藏药大叶秦艽的抗溃疡病作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(3): 312-313.
- [10] Wang C H, Wang Z T, Bligh S W A, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of gentiopicroside following oral and intravenous administration in mice [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokin*, 2004, 29(3): 199-203.
- [11] 蒲宝婵, 赵 骏, 邱 超, 等. 复乳法制备龙胆苦苷脂质体 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 428-431.
- [12] 杨慧玲, 司庆文, 侯勤正, 等. HPLC 法测定不同海拔长柄秦艽中龙胆苦苷、马钱酸、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1720-1722.
- [13] Korsmeyer R W, Gurny R, Doelker E, *et al.* Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers [J]. *Int J Pharm*, 1983, 15(1): 25-35.
- [14] Schwartz J B, Simonelli A P, Higuchi W I. Drug release from wax matrices I. Analysis of data with first-order kinetics and with diffusion-controlled model [J]. *J Pharm Sci*, 1968, 57(2): 274-277.
- [15] Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices [J]. *J Pharm Sci*, 1963, 52(12): 1145-1149.
- [16] Dredán J, Antal I, Rácz I. Evaluation of mathematical models describing drug release from lipophilic matrices [J]. *Int J Pharm*, 1996, 145(1/2): 61-64.
- [17] Peppas N A. Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers [J]. *Pharm Acta Helv*, 1985, 60(4): 110-111.
- [18] Ritger P L, Peppas N A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swallowable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs [J]. *J Controlled Release*, 1987, 5(1): 23-36.