

丹参酮缓释微囊的制备工艺研究

胡 荣, 罗先钦, 励 娜, 王云红, 杨荣平*

重庆市中药研究院, 重庆 400065

摘要:目的 考察丹参酮缓释微囊的制备工艺和最优处方, 并进行释放度的研究。方法 采用滴制法制备丹参酮缓释微囊, 考察海藻酸钠与丹参酮质量比、海藻酸钠及氯化钙的质量分数对微囊的影响。由于丹参酮是难溶性药物, 采用 β -环糊精(β -CD)作为吸收促进剂, 进行微囊释放度研究。**结果** 最优处方为海藻酸钠与丹参酮的质量比为 0.5、海藻酸钠质量分数为 2.0%、氯化钙质量分数为 3.0%、 β -CD 用量为 0.10%。**结论** 丹参酮缓释微囊的圆整度好、硬度较强, 载药量和包封率较高, 并具有良好的缓释作用。

关键词: 丹参酮; 缓释微囊; 海藻酸钠; 氯化钙; β -环糊精; 制备工艺; 释放度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2173-04

Preparation technology of tanshinone sustained-release microcapsules

HU Rong, LUO Xian-qin, LI Na, WANG Yun-hong, YANG Rong-ping

Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Abstract: Objective To study the preparation technology and suitable formula of tanshinone (Tan) sustained-release microcapsules (SRMs) and to observe their *in vitro* drug release. **Methods** The microcapsules were prepared by the dropping method. The effects of several factors, such as the contents of sodium alginate and calcium chloride as well as the weight ratio of sodium alginate-Tan, were investigated, respectively. Because Tan was hard to dissolve, β -cyclodextrin was chosen as absorption enhancer in the study on the *in vitro* release. **Results** The result showed that the optimal formulation was sodium alginate 2.0%, calcium chloride 3.0%, and β -cyclodextrin 0.10%, with the weight ratio of sodium alginate-Tan being 0.5. **Conclusion** The microcapsules are good round, suitable hard with the high drug-load and high encapsulation. The microcapsules also show good *in vitro* sustained-release properties.

Key words: tanshinone (Tan); sustained-release microcapsules (SRMs); sodium alginate; calcium chloride; β -cyclodextrin; preparation technology; release rate

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎, 性微寒、味苦, 具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦的功效^[1-2]。现代药理研究表明, 丹参酮为丹参的主要有效成分之一, 具有改善血液循环、抗菌、抗炎、抗肿瘤、预防和保护心血管疾病的作用^[3]。目前已有许多含有丹参酮的制剂, 如丹参酮片、丹参酮胶囊、丹参酮油膏、丹参舒心胶囊、复方丹参滴丸、丹参舒心片、丹参酮 II 磺酸钠注射液、精制冠心病片等。然而, 丹参酮脂溶性强, 遇湿、热、光均不稳定, 从而会影响其药效作用的发挥^[4]。

为此本研究采用微型包裹技术提高其稳定性, 并达到缓控释的目的^[5-7]。同时以源于天然的海洋多糖作为载体, 因其具有良好的生物相容性、生物降解性和毒性低的特点, 越来越受到人们的重视, 被广泛应用于医药卫生制品到食品添加剂的各个领域, 在新剂型的研究中也显示出良好的应用前景。

1 仪器与材料

Agilent 1200SL 快速高分离液相色谱仪(美国 Agilent 公司), ZSA302 体视显微镜(重庆光学仪器厂), 78HW—1 恒温磁力搅拌器(江苏中大仪器厂)。海藻酸钠(粒度 60 A, 黏度 380 mPa·s), 青岛

收稿日期: 2012-03-21

基金项目: 重庆市自然科学基金计划重点项目(CSTC, 2009BA5034)

作者简介: 胡 荣, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为药物新剂型的研究。Tel: (023)89029068 13637896202 E-mail: hr_790606@163.com

*通讯作者 杨荣平 Tel: (023)89029056 E-mail: rongpingyang18@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-09-21 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120921.1706.002.html>

晶岩生物科技开发有限公司；丹参酮（丹参酮 II_A 质量分数为 25.2%），重庆日用化学工业研究所；丹参酮 II_A 对照品（批号 110766-200518），中国药品生物制品检定所；β-环糊精（批号 20080612），北京奥博星生物技术责任有限公司；其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹参酮缓释微囊的制备

称取适量丹参酮粉末（过 100 目筛），加入海藻酸钠水溶液，混匀，用注射器（9 号针头）吸取混悬液滴加至慢速搅拌的 CaCl₂ 溶液中，钙化 10 min，滤过，水洗 3 次，50 ℃干燥，得微囊。

2.2 丹参酮的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 symmetrix ODS-AQ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇-水（75：25），体积流量 1.0 mL/min，检测波长 270 nm，柱温为室温（30 ℃），进样量 10 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备 称取干燥的微囊 60 mg，精密称定，研磨，加入无水乙醇适量，超声提取 3 次，合并提取液至 50 mL 量瓶中，加无水乙醇至刻度，摇匀，即得。

2.2.3 线性关系考察 精密称定丹参酮 II_A 对照品 25.25 mg 置 25 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，得质量浓度为 1.01 mg/mL 对照品储备液。从中精密吸取 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 50 mL 量瓶中，加入甲醇定容，摇匀，分别得到质量浓度为 2.02、10.10、20.20、40.40、60.06、80.80、101.00 mg/L 的系列对照品溶液。将上述各系列对照品溶液过 0.45 μm 微孔滤膜，按“2.2.1”项下色谱条件检测，进样 20 μL，测定，以峰面积为纵坐标（Y）对质量浓度进行线性回归，得回归方程为 $Y = 36\,321.6 X - 10\,328$ ， $R^2 = 0.999\,9$ ，表明丹参酮 II_A 在 2.02~101.00 mg/L 呈良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验 按“2.2.3”项下方法，配制低、中、高（2.02、40.40、101.00 mg/L）3 个质量浓度的对照品溶液，分别连续进样 7 次，按“2.2.1”项下方法测定，得日内精密度的 RSD 分别为 0.68%、0.89%、0.56%；连续 5 d，每天进样 1 次，得日间精密度的 RSD 分别为 2.45%、2.63%、2.89%。结果均符合测定要求。

2.2.5 稳定性试验 精密称取微囊样品，制备供试品溶液，于 0、2、4、6、8、10 h 进样 1 次，按上述条件测得峰面积，结果其 RSD 为 1.59%。

2.2.6 重复性试验 精密称取微囊样品 5 份，分别制备供试品溶液，各精密吸取 20 μL 进样测定，结果丹参酮 II_A 质量分数的 RSD 为 2.83%。

2.2.7 回收率试验 精密称取 9 份批号为 201006 微囊样品，每份约 5.0 mg，分别置于 5.0 mL 量瓶中，平均分成 3 组，按照样品中每种待测成分量的 80%、100%、120% 定量加入丹参酮对照品，制备供试品溶液。按“2.2.1”项下方法测定，记录峰面积，测得回收率分别为 99.85%、102.69%、100.57%，RSD 分别为 2.89%、3.02%、2.71%，均符合测定要求。

2.3 微囊包封率和载药量的测定

称取干燥的微囊适量，研磨，用无水乙醇提取药物 3 次，滤过后定容至 50 mL，根据线性回归方程计算药物质量浓度，计算载药量和包封率。

载药量 = 微囊中药物量 / 微囊总量

包封率 = 微囊中药物量 / 投药量

2.4 微囊制备的影响因素考察

2.4.1 海藻酸钠与丹参酮质量比的选择 在 1.5% 海藻酸钠、4.0% 氯化钙条件下，海藻酸钠与丹参酮质量比分别为 0.5、1.0、2.0 制备一系列微囊，观察其形态，测定其载药量和包封率，结果见表 1。结果表明，海藻酸钠与丹参酮质量比对圆整度、硬度和包封率均无显著影响，而对微囊的载药量有显著影响。海藻酸钠与丹参酮的质量比越大，载药量则越小。由此选择海藻酸钠与丹参酮的最佳质量比为 0.5。

表 1 不同海藻酸钠与丹参酮质量比的影响 ($n=3$)

Table 1 Effects of different mass ratios of sodium alginate-Tan on Tan SRMs ($n=3$)

质量比	圆整度	硬度	载药量 / %	包封率 / %
0.5	较好	稍差	45.8±2.33	82.0±2.89
1.0	较好	适中	26.6±1.23	81.3±2.57
2.0	较好	较强	19.3±3.89	83.6±3.46

2.4.2 海藻酸钠质量分数的选择 在 4.0% 氯化钙、海藻酸钠与丹参酮质量比为 0.5 条件下，海藻酸钠质量分数分别为 1.0%、1.5%、2.0%，制备一系列微囊，观察其形态，测定其载药量和包封率，结果见表 2。结果表明，随着海藻酸钠质量分数的增大，微囊的圆整度逐渐变好，硬度增强，包封率无显著变化，但载药量却逐渐减小。当海藻酸钠质量分数小于 2.0% 时，微囊的载药量虽然较高，但其圆整度和硬度却不理想，因此选择海藻酸钠的最佳质量分

数为 2.0%。

2.4.3 氯化钙质量分数的选择 在 2.0%海藻酸钠、海藻酸钠与丹参酮质量比为 0.5 条件下, 氯化钙质量分数分别为 2.0%、3.0%、4.0%、5.0%, 制备一系列微囊, 观察其形态, 测定其载药量和包封率, 结果见表 3。结果表明, 虽然氯化钙质量分数越低, 微囊的载药量越高, 但是当氯化钙质量分数为 3.0% 或 4.0% 时, 微囊的圆整度和硬度最佳。因此综合考虑载药量、圆整度和硬度, 选择氯化钙的最佳质量分数为 3.0%。

表 2 海藻酸钠质量分数的影响 ($n=3$)

Table 2 Effect of sodium alginate at different concentration on Tan SRMs ($n=3$)

海藻酸钠 / %	圆整度	硬度	载药量 / %	包封率 / %
1.0	差	差	49.0 ± 2.42	80.5 ± 1.46
1.5	稍差	稍差	45.8 ± 2.33	82.0 ± 2.89
2.0	好	较强	34.6 ± 2.29	80.9 ± 1.69

表 3 氯化钙质量分数的影响 ($n=3$)

Table 3 Effect of calcium chloride at different concentration on Tan SRMs ($n=3$)

氯化钙 / %	圆整度	硬度	载药量 / %	包封率 / %
2.0	稍差	稍差	47.9 ± 1.74	79.3 ± 3.12
3.0	好	较强	40.5 ± 2.43	81.5 ± 2.72
4.0	好	较强	34.6 ± 2.29	80.9 ± 1.69
5.0	很差	很差	30.3 ± 4.89	80.7 ± 2.63

2.4.4 β -环糊精 (β -CD) 用量的选择 在海藻酸钠与丹参酮质量比 0.5、海藻酸钠质量分数为 2.0%、氯化钙质量分数为 3.0% 的条件下, 分别以 0.05%、0.10%、0.20% β -CD 作为吸收促进剂, 制备一系列的微囊^[8]。按《中国药典》2010 年版二部附录 XD 释放度测定法第一法测定其释放度。取微囊适量, 以 1 000 mL 0.5% 的十二烷基硫酸钠 (SDS) 为溶出介质, 在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 75 r/min 条件下进行释放度试验, 分别于 2、4、6、8、10、12、24 h 取样 5 mL, 同时补充同体积同温度新鲜溶出介质, 依法测定, 计算其累计释放率, 其释放曲线见图 1。

释放曲线表明, 微囊中未加 β -CD 时, 微囊的释放度很低。 β -CD 是常用的吸收促进剂, 当加入 β -CD 后, 微囊的释放显著提高, 并且随着 β -CD 质量分数的增加, 其释放度不断增加。 β -CD 质量分数为 0.10% 和 0.20% 时, 其释放度接近, 因此选用 0.10% β -CD 作为微囊的吸收促进剂。

2.5 优化处方的验证

综合各因素对微囊的形态、载药量及包封率的影响后, 确定优化处方为海藻酸钠与丹参酮质量比 0.5、海藻酸钠质量分数为 2.0%、氯化钙质量分数为 3.0%、 β -环糊精用量为 0.10%。以优化处方制备微囊, 其形态见图 2, 平均粒径为 $(1.51 \pm 0.03) \mu\text{m}$, 包封率为 81.5%、载药量为 40.5%, 并且在 24 h 内药物释放达到 90% 以上。

综上所述, 以海藻酸钠作为囊材, 采用滴制法制备的丹参酮缓释微囊, 其圆整度好、硬度较强, 载药量和包封率较高, 并具有良好的缓释作用。

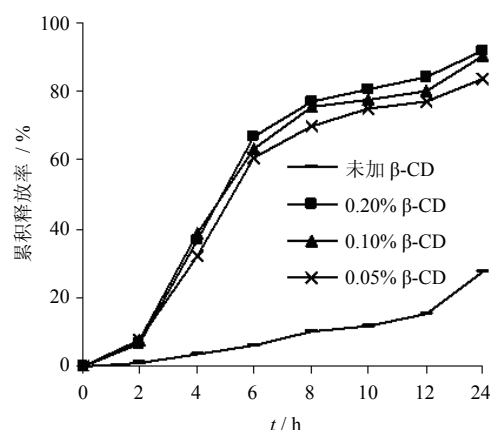


图 1 丹参酮缓释微囊中丹参酮 II_A 的释放曲线
Fig. 1 Release curves of Tan II_A in Tan SRMs

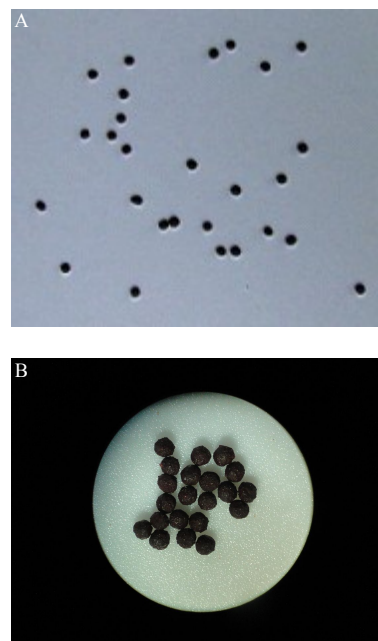


图 2 丹参酮缓释微囊实物图 (A) 和立体显微镜图 (B)
Fig. 2 Physical photograph (A) and stereomicroscopic view (B) of Tan SRMs

3 讨论

本实验采用的微囊制备方法是实验室手工滴制法,其中滴距为6~10 cm比较适宜,滴距小于6 cm海藻酸钠液滴不能成球,滴距大于10 cm微球漂浮于氯化钙溶液面上,影响微球进一步的固化反应。针头的粗细是决定微囊粒径的主要因素,针头越细微囊的粒径就越小。由于载药微囊易堵塞针头,所以本实验采用的是9号针头。

预试验表明不同固化时间和不同体积的氯化钙溶液对微囊影响的研究表明两者均无显著影响,为了保证试验的重复性,因此规定固化时间为10 min,氯化钙溶液的体积为海藻酸钠体积的6倍。

在微球的制备过程中,海藻酸钠与丹参酮的质量比、海藻酸钠与氯化钙的质量分数均是关键,当海藻酸钠与丹参酮质量比小于0.5时,丹参酮在海藻酸钠溶液中不易被分散均匀,并且滴制时易堵塞针头;当海藻酸钠的质量分数小于1.0%或氯化钙的质量分数小于2.0%时均不能滴制成球,而海藻酸钠的质量分数大于2.5%则滴制困难,需特殊的加压装置。

在选择吸收促进剂过程中,本研究除了 β -CD还采用了十二烷基磺酸钠、聚山梨酯、聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油。当采用十二烷基磺酸钠时,滴制较困难,并且微囊的圆整度差;当采用聚山梨酯或聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油时,微囊易吸潮。因此采用 β -CD作为微囊的吸收促进剂。

丹参酮 II_A 作为丹参酮的代表成分,具有抗心肌急性缺氧损伤、改善血管平滑肌功能、保护血管

内皮细胞等作用。并且《中国药典》2010年版中是以丹参酮 II_A 的量作为丹参药材、提取物及其制剂的质量控制指标。因此本研究选择丹参酮 II_A 作为考察制备工艺和体外释放的指标成分。

利用海藻酸钠与氯化钙形成凝胶的性质制备缓释制剂,条件温和,不需要有机溶媒,模型药物选择广泛,尤其对难溶性药物及大分子药物更有优势,国外已有相关的发明专利。我国海洋资源丰富,海藻酸盐的产量居世界前列,将其开发为缓释材料有丰富的物质基础和广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 窦昊,李薇. 丹参药理作用的研究 [J]. 中国中医药咨讯, 2011(1): 197.
- [2] 何根云. 丹参的药理作用与临床应用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2011, 21(2): 124-125.
- [3] 蓝天凤,于宗渊,王岱杰,等. 硅胶柱色谱结合高速逆流色谱法分离纯化丹参中丹参酮 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 466-469.
- [4] 苏子仁,刘中秋,周华. 丹参酮醇提液在浓缩、干燥工艺过程中的化学成分变化研究 (I)——丹参酮 II_A 湿热降解机理探讨 [J]. 中成药, 1997, 19(11): 5-7.
- [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] 平其能. 现代药剂学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998.
- [7] 张卫敏,任晓文,徐为人,等. 分子模拟技术在释药技术中的应用 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(2): 86-89.
- [8] 张良珂,张彦,田睿,等. 阿西美辛海藻酸钙凝胶微丸释药影响因素考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(12): 1671-1674.