

新型载姜黄素结肠定位胶囊的制备及其体外释药行为研究

张玉霞¹, 贾运涛², 田睿³, 郭锋¹, 刘玉祺¹, 张良珂^{1*}

1. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016

2. 重庆医科大学附属儿童医院 药剂科, 重庆 400010

3. 重庆医科大学 实验教学中心, 重庆 400016

摘要: **目的** 制备载姜黄素结肠定位胶囊并对其体外释药行为进行研究。**方法** 采用灌注法制备非渗透性胶囊体, 滴制法制备载姜黄素自微乳微丸, 粉末直接压片法压制柱塞片, 将其组装成柱塞型胶囊, 考察影响释药时滞的各种因素, 评价其体外释药行为。**结果** 该柱塞型胶囊的释药时滞随柱塞片中高酯果胶/乳糖比例的增加而延长, 随柱塞片质量的增加而延长。具有相同处方柱塞片的胶囊在 0.5%果胶酶柠檬酸盐缓冲液和 5%大鼠盲肠内容物溶液中的释药时滞明显缩短, 说明其具有酶促发性。**结论** 通过调节柱塞片处方组成及片质量可获得具有适当释药时滞的结肠定位胶囊。

关键词: 姜黄素; 自微乳微丸; 结肠定位胶囊; 果胶; 体外释药

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)01-0042-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.008

Preparation of novel curcumin-loaded colon-specific capsule and study on its *in vitro* release

ZHANG Yu-xia¹, JIA Yun-tao², TIAN Rui³, GUO Feng¹, LIU Yu-qi¹, ZHANG Liang-ke¹

1. School of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

2. Department of Pharmacy, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

3. The Experimental Teaching Centre, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: **Objective** To prepare the curcumin-loaded colon-specific capsule and to study its *in vitro* release behaviors. **Methods** The impermeable capsule bodies were prepared by filling method, the curcumin-loaded self-microemulsifying beads were prepared by dropping method, the plug tablets were pressed by direct compression, and plug capsule was assembled with them. The factors affecting the lag-time were investigated, and the *in vitro* release behaviors of curcumin were evaluated. **Results** With the ratio of high methoxy pectin (HMP)/lactose (L) in the plug tablet and the weight of plug tablet increasing, the lag-time was prolonged. The lag-time of the capsule was obviously shortened in 0.5% pectinase citrate buffer and 5% rat cecal content solution, which indicated the capsule had the enzyme-triggered properties. **Conclusion** The capsule with colon-specific characteristics and a suitable lag-time could be achieved by adjusting the weight and formulation of the plug tablet.

Key words: curcumin; self-microemulsifying beads; colon-specific capsule; pectin; *in vitro* release

姜黄素 (curcumin, CUM) 是从姜科植物块根中提取的一种植物多酚, 具有治疗结肠癌及结肠炎、前列腺癌的作用^[1-3], 但其水溶性差, 生物利用度低。柱塞型胶囊是一种新型口服给药系统, 可控制药物在体内定时定位释放^[4], 且制备工艺简单, 适用于

不同类型药物的给药。自微乳作为口服药物的载体, 能够提高难溶性药物的溶解度, 从而提高口服药物的生物利用度^[5-6]。以微丸为代表的多单元剂量分散型给药制剂, 给药后分布较广, 与黏膜接触面积大, 并且其体积小可延长在结肠的滞留时间。本实验以

收稿日期: 2013-08-09

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目 (CSTC2012jjA10021); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20125503120003); 重庆市卫生局医学科研项目 (2013-2-060); 重庆医科大学大学生科研与创新实验项目 (201244, 201229, 201217); 重庆市教育委员会科学技术研究项目 (KJ110323); 海扶之星学生科研基金项目 (XS201309)

作者简介: 张玉霞 (1989—), 女, 硕士研究生, 主要从事中西药物新型给药系统研究。Tel: (023)68485161 E-mail: ZhangYX898@163.com

***通信作者** 张良珂 Tel: (023)68485161 E-mail: zlkdyx@126.com

难溶性药物姜黄素为模型药物,制备载姜黄素自微乳微丸,置入非渗透性胶囊体内,以高酯果胶(high methoxy pectin, HMP)为主要材料制备柱塞片,组装成柱塞型胶囊,考察影响其释药时滞的各种因素,评价其体外释药行为。

1 仪器与材料

SHZ—88 台式恒温水浴振荡器(江苏太仓市实验设备厂);ZDY8 型重型单冲压片机(上海远东制药机械总厂);Unico UV—2000 紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司)。

姜黄素(Aladdin,批号 C1301014,质量分数为98%);明胶胶囊、肠溶胶囊(0号,批号100316,广东省潮州市强基制药厂);Granulac®200 乳糖(L,批号 L0918A,德国 Meggle 公司);乙基纤维素(EC,批号 CN-RK29013T01,上海 Colorcon 公司);高酯果胶(HMP,批号 100722,衢州果胶有限公司);硬脂酸镁(批号 091008,安徽山河药用辅料有限公司);海藻酸钠(美国 FMC,批号 S22278);油酸乙酯(批号 100115,天津市光复精细化工研究所);聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH40,批号 63040675L0,德国 BASF 公司);二乙二醇单乙基醚(Transcutol P,批号 451042004,法国佳法赛公司);果胶酶(批号 110929,天津利华酶制剂公司)。

Sprague-Dawley 大鼠 4 只,体质量(200±20)g,雌雄各半,由重庆医科大学动物实验中心提供,许可证号:SYXK(渝)2012-0001。

2 方法与结果

2.1 柱塞型胶囊的制备

2.1.1 非渗透性胶囊体的制备^[4] 采用灌注法制备。精密称取 EC 溶解于二氯甲烷-无水乙醇-醋酸乙酯(4:0.8:0.2)的混合溶剂中,配成质量分数为12%的 EC 溶液,将上述溶液灌注于0号胶囊体内,刮去多余溶液,使液面与囊口齐平,迅速放入4℃冰箱内挥去溶剂,24 h 后取出,在水中浸泡15 min,除去外层明胶胶囊体后,即得。

2.1.2 姜黄素自微乳微丸的制备^[7] 精密称取一定量姜黄素加入到油酸乙酯-Cremophor RH40-Transcutol P(0.3:0.525:0.175)空白微乳中,使其质量分数为60 mg/g,37℃恒温搅拌30 min,然后取0.6 g 姜黄素自微乳加入至2 mL 质量分数为3%的海藻酸钠溶液中混匀,将其滴入质量分数为4%的氯化钙溶液中,搅拌1 h,用布氏漏斗抽滤,蒸馏水冲洗3次,于45℃烘箱中干燥3.5 h,即得。

2.1.3 柱塞片的制备^[8] 将各原辅料过100目筛,按处方量在研钵内充分混合均匀,用直径为6.0 mm 的浅凹冲,粉末直接压片法压制片质量为100 mg 的柱塞片。柱塞片的处方:HMP 与 L 不同比例(2:8、4:6、5:5、6:4、8:2)、20% KH₂PO₄、10% EDTA-Na₂、1%硬脂酸镁。

2.1.4 柱塞型胶囊的组装 精密称取30 mg 姜黄素自微乳微丸置入非渗透性胶囊体中,装入柱塞片与囊口齐平,盖上肠溶性囊帽,接口处用8% EC 溶液密封,即完成柱塞型胶囊的组装。

2.2 柱塞型胶囊释放度测定

将组装好的柱塞型胶囊放于200 mL 锥形瓶中,置于恒温水浴振荡器中振荡,释放介质100 mL,转速100 r/min,温度(37±0.5)℃,在特定时间点取出2 mL 释放介质,同时补入2 mL 同温同介质。样品在4 000 r/min 下离心10 min,取上清液1 mL,加入1 mL 无水乙醇破乳,用50%乙醇定容至5 mL。在不同释放介质对应的测定波长处测定紫外吸光度(A)值,计算累积释药率,绘制释药曲线。

2.3 非渗透性胶囊体及柱塞片对药物释放的影响

为考察非渗透性胶囊体及柱塞片对药物释放的影响,分别设计如下实验:(1)将30 mg 姜黄素自微乳微丸直接放入100 mL pH 为6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS 6.8)中;(2)将30 mg 姜黄素自微乳微丸置入非渗透性胶囊体中,置于100 mL PBS 6.8 溶液中;(3)将30 mg 姜黄素自微乳微丸置入非渗透性胶囊体中,装入柱塞片与囊口齐平,置于100 mL PBS 6.8 溶液中。按“2.2”项下方法进行释放度测定,在424 nm 处测定A 值,计算累积释药率,结果见图1。由图可知,非渗透性胶囊体及柱塞片对

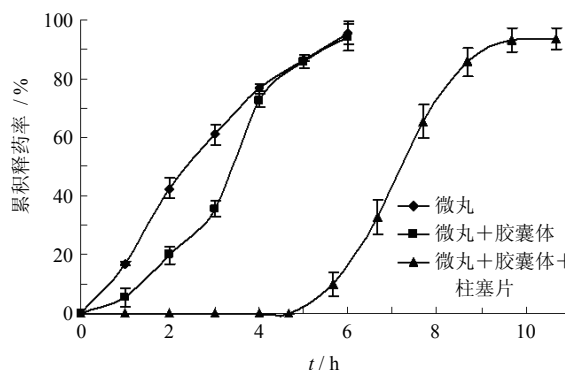


图1 非渗透性胶囊体及柱塞片对药物释放的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effects of impermeable capsule bodies and plug tablets on *in vitro* release ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

姜黄素自微乳微丸的体外释放都有影响。非渗透性胶囊体延缓了姜黄素自微乳微丸的释放,但最终释放率相近。非渗透性胶囊体加了柱塞片之后,出现明显的释药时滞,因为药物只有在柱塞片溶蚀完全后,才有机会释放。

2.4 HMP 与 L 不同比例对柱塞型胶囊释药时滞的影响

按“2.1.3”项下方法操作,分别制备片质量为 100 mg, HMP 与 L 比例为 2:8、4:6、5:5、6:4、8:2 的柱塞片,再按“2.1.4”项下方法操作得相应的柱塞型胶囊,按“2.2”项下方法进行释放度

测定,前 2 h 释放介质为 0.1 mol/L HCl 溶液,之后更换为 PBS 6.8 溶液。在 424 nm 处测定 A 值,计算累积释药率,结果见图 2。由图可知,释药时滞随柱塞片中 HMP 与 L 比例的增加而延长, L 为小分子水溶性物质,增加 L 的量可以加速柱塞片的溶蚀,从而促进药物提前释放,当 HMP 与 L 比例为 5:5 时,释药时滞在 6 h 左右,可基本达到结肠定位的作用。

2.5 柱塞片片质量对柱塞型胶囊释药时滞的影响

按“2.1.3”项下方法操作,分别制备 HMP 与 L 比例为 5:5,片质量为 80、100、120 mg 的柱塞片,

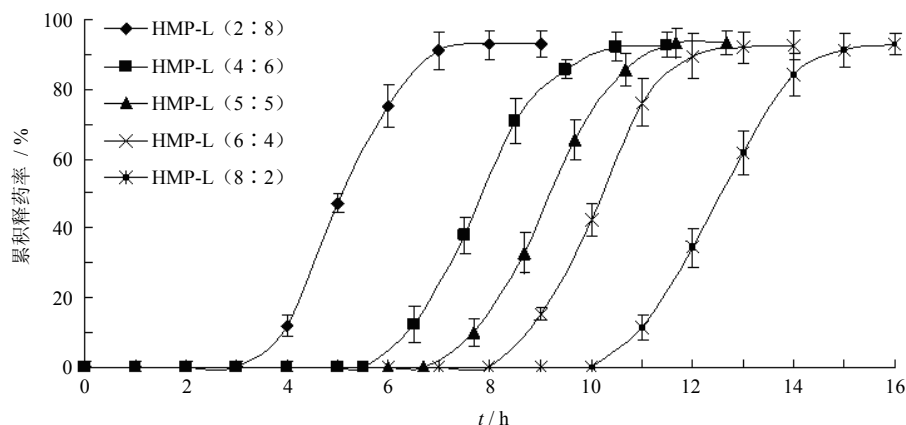


图 2 HMP 与 L 不同比例对柱塞型胶囊释药时滞的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effects of different ratios of HMP/L on lag-time of drug release from plug capsule ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

再按“2.1.4”项下方法操作得相应的柱塞型胶囊,按“2.2”项下方法进行释放度测定,前 2 h 释放介质为 0.1 mol/L HCl 溶液,之后更换为 PBS 6.8 溶液。在 424 nm 处测定 A 值,计算累积释药率,结果见图 3。由图可知,随着柱塞片片质量的增加,释药时滞延长,这是因为随着片质量增加,柱塞片完全溶蚀需要更长的时间。当柱塞片片质量为 100 mg 时,其释药时滞能基本满足结肠定位的需求。

2.6 体外模拟结肠液释放

取 HMP 与 L 比例为 5:5,片质量为 100 mg 的柱塞片,再按“2.1.4”项下方法操作得柱塞型胶囊,按“2.2”项下方法进行释放度测定,前 2 h 释放介质为 0.1 mol/L HCl 溶液,之后 3 h 更换为 PBS 6.8 溶液,最后分别置于以下 3 种介质中:(1) 0.5% 果胶酶柠檬酸盐缓冲液 (pH 5.0);(2) 5% 大鼠盲肠内容物溶液 (pH 7.5);(3) PBS 6.8 溶液 (未更换介质)。分别在 426、422、424 nm 处测定 A 值,计算累积释药率,结果见图 4。由图可知,与 PBS 6.8 溶液相比,0.5% 果胶酶柠檬酸盐缓冲液和 5% 大鼠

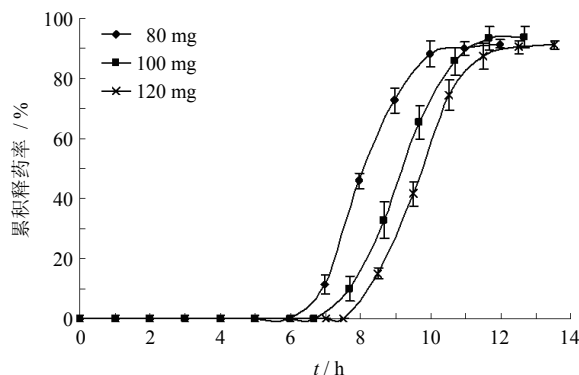
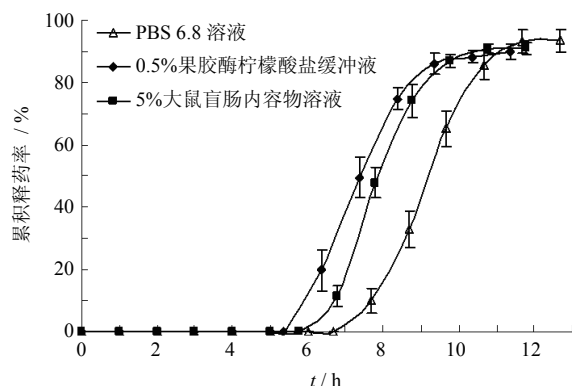


图 3 柱塞片片质量对柱塞型胶囊释药时滞的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effect of plug tablet weight on lag-time of drug release from plug capsule ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

盲肠内容物溶液 2 种释放介质可以促进柱塞片的降解,说明其具有良好的酶触发降解作用。柱塞片在自身溶蚀和酶降解的双重作用下溶蚀速率加快,柱塞型胶囊的释药时滞减小,说明该柱塞型胶囊可能具有时间控制-酶降解依赖型结肠定位释药的特点。

图4 药物体外模拟结肠液释放 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Fig. 4 In vitro release of drug in simulated colon solution ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

口服结肠定位给药系统主要有 pH 依赖型、压力控制型、时间依赖型、酶降解型等多种类型的结肠释药系统。其中酶降解型具有特异性强、定位释药准确可靠、生物相容性好等优点，它是利用菌群产生的多种酶可以降解以前体药物和多糖为载体的药物体系^[9]。果胶是一种天然多糖，因胃和小肠内缺乏降解果胶的酶，而结肠中有能特异性降解果胶的酶^[10]，所以本实验采用 HMP 作为柱塞片的主要成分。但单独采用 HMP 制备的柱塞片溶蚀速度太慢，故将 HMP 与 L 联用，L 是小分子易溶物质，可加速柱塞片的溶蚀，通过调整 HMP 与 L 的比例以及柱塞片的片质量，可以使该柱塞型胶囊的释药时滞能基本满足结肠定位的要求。

研究表明，胃排空时间个体差异大，且受食物类型、药物微粒大小等影响显著，而小肠运转时间相对稳定 (3.0 ± 1.0) h^[11]。本实验中柱塞型胶囊采用了肠溶性囊帽，因其在胃中不释放药物，可减少胃排空个体差异。当肠溶性囊帽在小肠内溶解后，柱塞片在自身溶蚀或（和）酶降解的作用下溶蚀完全，使囊身内的药物制剂释放出来，起到定时定位释放药物的目的。

在制备柱塞片的处方中，辅料 KH_2PO_4 和 EDTA-Na_2 的加入是为了使柱塞片局部的 pH 值更稳定，防止肠道中的钙离子与果胶络合成难溶性的物质，保证释药时滞的重现性。

本实验除了采用果胶酶溶液来评价柱塞型胶囊的结肠定位释药性质之外，还采用了大鼠盲肠内容物溶液作为结肠模拟介质，这是因为大鼠盲肠中的

菌群与人体结肠内的菌群相似，能更好的模拟人体内的结肠环境，从而可以获得更准确的评价结果。

为提高难溶性药物姜黄素的生物利用度，本实验将其制成了姜黄素自微乳^[7]，但由于直接将姜黄素自微乳置入非渗透性胶囊体内，药物容易提前泄露，导致释药时滞的重现性不够理想，因此将姜黄素自微乳进一步包裹入海藻酸钙微丸。该微丸置入非渗透性胶囊体内，不影响柱塞片的溶蚀，可以保证柱塞型胶囊释药时滞的重现性，使药物在结肠部位缓慢持续释放。本实验制备的姜黄素自微乳微丸柱塞型胶囊有望实现难溶性药物的结肠定位释药，为进一步的体内研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 郭立达, 薛佳伟, 渠开跃, 等. 姜黄素联合奥沙利铂对人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的抗癌作用研究 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2261-2266.
- [2] 贾淑杰, 刘庆焕, 王文彤, 等. 姜黄素、去甲氧基姜黄素和二去甲氧基姜黄素对照品的制备及姜黄素细胞毒性初步研究 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1118-1121.
- [3] 孙绍瑛, 牛建昭. 姜黄素联合雷帕霉素诱导去势难治性前列腺癌 Pten-CaP8 细胞自噬及凋亡研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 520-523.
- [4] Liu J, Zhang L K, Jia Y T, *et al.* Preparation and evaluation of pectin-based colon-specific pulsatile capsule *in vitro* and *in vivo* [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(11): 1927-1934.
- [5] 轩肖玉, 王亚静, 张伟玲, 等. 芒果苷自微乳给药系统的制备及其大鼠体内药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 166-170.
- [6] 陈立江, 刘洋, 李丽, 等. 赤芍总苷自微乳化给药系统的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1082-1086.
- [7] 刘文利, 张良珂, 贾运涛, 等. 姜黄素自微乳化释药系统处方优化及体外评价 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(22): 1730-1733.
- [8] Krogel I, Bodmeier R. Evaluation of an enzyme-containing capsular shaped pulsatile drug delivery system [J]. *Pharm Res*, 1999, 16(9): 1424-1429.
- [9] Shimono N, Takatori T, Ueda M, *et al.* Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2002, 245(1-2): 45-54.
- [10] Liu L, Fishman M L, Kost J, *et al.* Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(19): 3333-3343.
- [11] 郎美琦, 黄佳盛. 口服结肠定位给药系统的研究进展 [J]. 中国药学与临床, 2010, 10(4): 441-442.