

外光谱进行识别和匹配。在标准指纹图谱中,量较大的几个峰依次为18、25、26、19、22、20、8号峰。考察运行70 min的电泳图发现,在50 min之后再无峰出现,故选择运行时间为50 min。

3.4 为了寻找心舒口服液与其组成的各药材指纹图谱的相关性,按口服液的制剂工艺制成各药材的水煎液和阴性对照液,然后测定其指纹图谱。通过比较在线紫外光谱和迁移时间的方法,对口服液与各药材的水煎液、阴性对照液的指纹图谱中各指纹峰进行一一归属。除6、12、16、23号峰不能得到归属外,其余峰均能得到指认。口服液指纹谱中的指纹峰来自当归(14个峰),其次是川芎(10个峰),最后是红花(9个峰)。

References:

- [1] Chen Y, Cheng Z Y, Han F M, et al. Quantitative analysis of ferulic acid content in Danggui by high performance capillary electrophoresis [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1999, 27 (12): 1424.
- [2] Guo T, Sun Y, Sui Y, et al. Determination of ferulic acid adenosine in *Angelica sinensis* by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23 (5): 348.
- [3] Sun Y, Guo T, Sui Y, et al. Determination of adenosine, rutin and quercetin in *Carthamus tinctorius* by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2003, 38 (4): 283.
- [4] Wang L X, Xiao H B, Liang X M, et al. Vectorial angle method for evaluating the similarity between two chromatographic fingerprints of Chinese herb. [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2002, 37 (9): 713-717.
- [5] Wang X H, An R, Zou Y, et al. Application of chromatograph-digitized fingerprint spectrum in identification of medicinal materials and qualitative control of Shuang-huanglian preparation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (2): 115-118.

流化床包衣法制备灯盏花素前体脂质体的研究

雷国峰, 邓英杰*, 张丽娜, 钟海军, 李 喆, 张 勇

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 提高灯盏花素口服生物利用度,考察流化床包衣法制备灯盏花素前体脂质体的可行性。方法 采用流化床包衣法制备灯盏花素前体脂质体;超滤-HPLC法测定灯盏花素前体脂质体的包封率,考察了载体、药脂比、进口温度、喷雾速率和喷雾风量对前体脂质体包封率的影响。结果 以山梨醇为载体,药脂比小于1:3的前体脂质体包封率较高,进口温度、喷雾速率和喷雾风量对包封率均有一定影响;在较优条件下制备的前体脂质体颗粒流动性较好,粒径分布较均匀;重建的灯盏花素脂质体平均粒径为98 nm,包封率为 $(63.1 \pm 2.8)\%$ ($n=3$)。结论 流化床包衣法制备灯盏花素前体脂质体是可行的。

关键词:灯盏花素;前体脂质体;流化床;包封率

中图分类号:R283.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)06-0843-04

Preparation of breviscapine proliposome by fluidized bed coating method

LEI Guo-feng, DENG Ying-jie, ZHANG Li-na, ZHONG Hai-jun, LI Zhe, ZHANG Yong

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract; Objective To enhance the oral bioavailability of breviscapine and investigate the feasibility of preparing the proliposome of breviscapine by fluidized bed coating method. **Methods** The fluidized bed coating method was used to prepare breviscapine proliposome and ultrafiltration-HPLC was applied to determination of the encapsulation efficiency. The influence factors on encapsulation efficiency including carriers, drug-lipid weight ratio, inlet air temperature, spray rate, and spray air volume were investigated. **Results** When the carrier was sorbitol and the drug-lipid weight ratio was under 1:3, the encapsulation efficiency could be higher. Inlet air temperature, spray rate, and spray air volume had some effects on the encapsulation efficiency. By the method, the fluidity of the proliposome granules was well and the particle size distribution ratio of them was uniform; the mean particle size of liposomal formulation of breviscapine after rehydration was 98 nm, and the encapsulation efficiency was $(63.1 \pm 2.8)\%$ ($n=3$). **Conclusion** It is feasible to prepare the breviscapine proliposome with fluidized bed coating method.

Key words: breviscapine; proliposome; fluidized bed; encapsulation efficiency

灯盏花素(breviscapine)是从菊科飞蓬属植物灯盏花 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 中提取的,其主要成分为灯盏乙素(黄芩素苷, scutellarin),还有少量灯盏甲素(apigenin-7-*O*-glucuronide)及其他黄酮成分。灯盏花素具有扩张血管、增加脑血流量、降低血液黏度、抑制血小板聚集、改善微循环等作用,在脑梗死、脑血栓形成、冠心病、心绞痛等心脑血管疾病的治疗上有显著疗效^[1]。但其现有制剂存在一些缺点,如口服生物利用度低^[2],注射剂体内消除迅速^[3~5]等。近年来脂质体作为药物载体的研究得到了广泛开展。将灯盏花素制成脂质体,以期提高灯盏花素口服生物利用度,注射延长药物在血液中的半衰期,进而提高疗效。但脂质体在溶液状态下不稳定,将其制成前体脂质体是解决其液态不稳定性有效手段。传统的制备前体脂质体的方法只适合小量的实验室制备,目前冻干法是制备注射用的无菌脂质体粉末最常用的手段;喷雾干燥法能得到几微米的脂质粒子,可用于肺部吸入给药^[6]。流化床法也是一种制备前体脂质体的方法,Chen 等^[7]先用水性包衣方法封闭材料的多孔结构,以使其表面光滑,之后将磷脂包衣其上。该法所载磷脂量较小,笔者将其工艺进行改进,直接用磷脂的乙醇溶液进行包衣,所载磷脂量大,以期制备包封率较高的灯盏花素前体脂质体,提高灯盏花素口服生物利用度。

1 仪器与试剂

日本 FD—MP—01 型流化床包衣机,高效液相色谱仪(日本岛津公司 LC—10AT 泵和 SPD—10AT 紫外可见分光检测器,Anastar 色谱工作站),LS230 激光粒度仪(美国贝克曼公司),光学显微镜(德国 Motic DMBA450),超滤器(美国 Mollipore Corporation, Bedford, MA01730),分子质量截留膜(截流相对分子质量 50 000,上海医药工业研究院),灯盏花素原料药(云南玉溪万方药业有限公司),灯盏乙素对照品(中国药品生物制品检定所),大豆磷脂(上海太伟药业),聚乙烯吡咯烷酮(K_{30})(上海化学试剂公司),山梨醇、乳糖、甘露醇(天津市化学试剂公司),Triton X-100(北京化学试剂公司),色谱纯甲醇、乙腈(天津康科德科技有限公司),其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 前体脂质体的制备:将载体(山梨醇、乳糖等)及其他辅料粉碎过筛,并与药物粉末按等量递加法混合均匀备用。将磷脂与聚乙烯吡咯烷酮溶于适量无

水乙醇中,用流化床转动切喷的方式喷于上述混合好的粉末上,喷完后干燥一段时间,取出筛分即得。

2.2 灯盏花素中灯盏乙素的测定

2.2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil ODS 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(20 mmol/L, pH 2.5) (17:17:66);体积流量:0.8 mL/min;检测波长:334 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L。

2.2.2 标准曲线的制备:精密称取灯盏乙素对照品,用甲醇配成质量浓度为 0.1 mg/mL 灯盏乙素对照品储备液。精密量取储备液适量,用流动相稀释成质量浓度为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、40.0 μ g/mL 的溶液,分别进样 20 μ L。以峰面积(A)对质量浓度(C)作线性回归,回归方程为 $A = 1.428 \times 10^5 C + 2185.8$, $r = 0.9999$,表明灯盏乙素在 1.0~40.0 μ g/mL 与峰面积线性关系良好。

2.3 包封率测定方法

2.3.1 脂质体的重建:根据投料比折算,称取适量前体脂质体粉末,加蒸馏水适量,使水化后的药物质量浓度一定,手动振荡使水化,即得重建脂质体。

2.3.2 包封率测定:量取重建灯盏花素脂质体 5.0 mL 置超滤器内(相对分子质量截留膜 50 000),氮气加压超滤,收集续滤液。精密量取该滤液适量,用流动相稀释定容至适当质量浓度,按上述色谱条件进样分析,标准曲线法计算游离药物的量($W_{\text{游}}$);精密量取重建灯盏花素脂质体溶液 0.1 mL,用 Triton X-100 破坏后,用流动相稀释定容至适当质量浓度进样分析,标准曲线法计算脂质体中药物总量($W_{\text{总}}$),并计算包封率(EE),其中 $EE = (W_{\text{总}} - W_{\text{游}})/W_{\text{总}} \times 100\%$ 。

2.4 影响包封率的因素考察

2.4.1 载体的影响:固定其他条件,用不同的载体制备灯盏花素前体脂质体,按上述方法测定其水化后的包封率。结果见表 1。表明以山梨醇为载体时前体脂质体容易水化,包封率较高。

表 1 不同载体制备的前体脂质体水化后的包封率

Table 1 Influence of various carriers on encapsulation efficiency of proliposome

载体	包封率/%
山梨醇	60.3
乳糖	48.4
甘露醇	55.6

2.4.2 药脂比对包封率的影响:以山梨醇为载体,按药物与磷脂的质量比为 1:1、1:2、1:3、1:4 制备前体脂质体。前体脂质体水化后包封率见表 2。

表 2 药脂比对前体脂质体封装率的影响

Table 2 Influence of drug-lipid weight ratios on encapsulation efficiency of proliposome

药脂比/(g·g ⁻¹)	封装率/%	药脂比/(g·g ⁻¹)	封装率/%
1:1	35.5	1:3	60.7
1:2	50.3	1:4	62.2

表明封装率随药脂比的降低而升高,药脂比小于1:3时,封装率升高不明显。

2.4.3 进口温度的影响:固定其他因素,进口温度分别为 40、50、60 ℃,考察对封装率的影响。结果见表 3。进口温度对封装率有一定影响,兼顾磷脂的稳定性与包衣干燥的效率,50 ℃的进口温度较合适。

表 3 进口温度对封装率的影响

Table 3 Influence of inlet air temperatures on encapsulation efficiency of proliposome

进口温度/℃	封装率/%
40	56.8
50	58.1
60	53.4

2.4.4 喷雾速率的影响:固定其他因素,喷雾速率分别为 5、10、15 mL/min,考察对封装率的影响。结果见表 4。喷雾速率为 10 mL/min 时封装率较高,而 15 mL/min 时封装率有所降低。

表 4 喷雾速率对封装率的影响

Table 4 Influence of spray rates on encapsulation efficiency of proliposome

喷雾速率/(mL·min ⁻¹)	封装率/%
5	58.8
10	61.1
15	54.6

2.4.5 喷雾风量的影响:固定其他因素,喷雾风量分别为 20、40、60 L/min,考察对封装率的影响。结果见表 5。喷雾风量为 40 L/min 时封装率较高,当喷雾风量为 20 L/min 时雾化不完全,使磷脂在载体上分散的不好,封装率偏低,而喷雾风量达 60 L/min 时封装率降低,这可能由于此时雾滴变得过小,液体喷出的瞬间有少量磷脂析出所致。

表 5 喷雾风量对封装率的影响

Table 5 Influence of spray air volumes on encapsulation efficiency of proliposome

喷雾风量/(L·min ⁻¹)	封装率/%
20	52.9
40	60.2
60	57.4

2.5 前体脂质体粉末的表征

2.5.1 前体脂质体的制备:以优化的处方及工艺条件按 2.1 项下方法制备前体脂质体,测定该前体脂

质体的一些性质。优化的流化床工作参数为:进口温度:50 ℃;喷雾风量:40 L/min;喷液速度:10 mL/min;喷雾时间:10 s;间歇时间:20 s。

2.5.2 流动性:该前体脂质体颗粒流动性良好,用漏斗法测其休止角,3 次的平均结果为 35°。

2.5.3 粒度分布:用筛分法将前体脂质体颗粒分级,分别称其质量,从而计算其粒度分布。制得的前体脂质体颗粒粒径分布较一致,80%集中在 20~50 目。粒度分布见图 1。

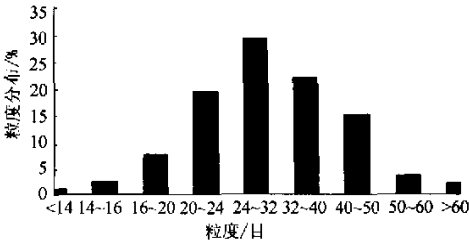


图 1 前体脂质体颗粒的粒度分布图

Fig. 1 Size distribution ratios of proliposome particles

2.5.4 重建脂质体的封装率及粒度分布:按 2.3 项下方法测定了重建后的灯盏花素脂质体的封装率,结果为(63.1±2.8)% (n=3)。

用 LS230 激光粒度仪测定重建脂质体的粒径及粒度分布。结果见图 2,可见,重建的灯盏花素脂质体平均粒径为 98 nm,99%的粒子小于 1 μm。

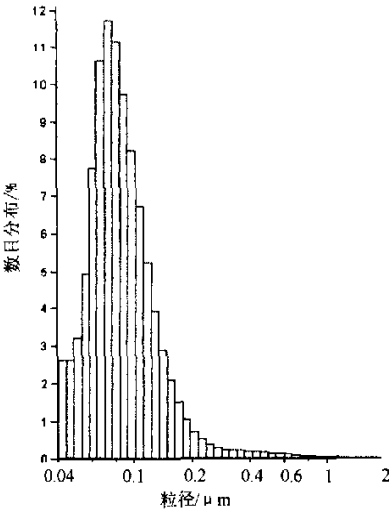


图 2 重建脂质体的数目分布

Fig. 2 Numbers distribution ratios of liposomal formulation of breviscapine after rehydration

3 讨论

3.1 载体的选择:制备前体脂质体常用的载体有山梨醇、乳糖、甘露醇、蔗糖等,其中以山梨醇的效果较好。这主要由于山梨醇具有多孔性结构,所载磷脂量

大,且水化时分散性较好。乳糖的水溶性不如山梨醇,水化时分散性不好,且放置后有分层现象。甘露醇很容易在制备过程中发生湿结,不适合用此法进行前体脂质体的制备。故最终选择山梨醇为载体材料。

3.2 主要工艺参数对前体脂质体粉末性质的影响

3.2.1 进口温度:进口温度越高,喷出的磷脂溶液雾滴蒸发越快,这样就使细粉之间相互碰撞而粘结在一起的力量变弱,所得粉末的粒度则变小。而且进口温度过高会使喷出的磷脂无水乙醇液还未接触到粉末就已完全蒸发,磷脂析出,也就无法达到包衣的目的。相反,如果进口温度过低,物料干燥不完全,易成大颗粒或黏附成团。所以,选择适宜的进口温度很重要。

3.2.2 喷雾速率:喷雾速率的大小对前体脂质体粉末的粒径有较大影响。流量慢,粒径小;流量过快,粉末易粘成团。

3.2.3 喷雾风量:雾化器风量越大,对进液的雾化力量越大,把雾滴打得更小,易于蒸发,使所得前体脂质体颗粒变小;风量变小则正好相反。

以上讨论 3 个因素对前体脂质体粉末的性质有较大影响,且它们对喷雾雾滴的大小有交互作用,应视药物和辅料性质的不同在试验中加以考察。其实,这种制备前体脂质体的过程也就是一种粉末包衣的过程,只是包衣材料换成了磷脂,因其磷脂黏性较大,干燥过程较一般的包衣材料困难。因此,使包衣过程处于良好的流化状态选择适宜的操作参数是包

衣成败的关键。

3.3 流化床包衣法制备前体脂质体是对 Payne^[8]改进的薄膜旋转蒸发法的放大,其过程都是对粉末进行包衣。流化床包衣法可以大量制备供口服或外用的前体脂质体粉末,适宜大小的前体脂质体颗粒还可以直接装胶囊或压片。可见,流化床包衣法是一种有前途的使前体脂质体工业化的方法,该法主要制备供口服或外用的前体脂质体。

References:

- [1] Cui J M, Wu S. The advance on the research of breviscapine [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15 (3): 255-258.
- [2] Ge Q H, Zhou Z, Zhi X J, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of breviscapine in Beagle dogs [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2003, 34 (12): 618-620.
- [3] Jiang X H, Li S H, Lan K, et al. Study on the pharmacokinetics of scutellarin in dogs [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2003, 38 (5): 371-373.
- [4] Liu Y M, Lin A H, Chen H, et al. Study on pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2003, 38 (10): 775-778.
- [5] Li S H, Jiang X H, Yang Q, et al. Pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *J Biomed Eng* (生物医学工程杂志), 2003, 20 (4): 692-694.
- [6] Giuliana P A, Maria H A S. Phospholipid dry powders produced by spray drying processing: structural, thermodynamic and physical properties [J]. *Power Tech*, 2004, 145: 139-148.
- [7] Chen C M, Dhananjaya A. Use of fluidized bed in proliposome manufacturing [J]. *J Pharm Sci*, 1987, 76 (5): 419.
- [8] Payne N I, Timmins P, Ambrose C V, et al. Proliposomes: a novel solution to an old problem [J]. *J Pharm Sci*, 1986, 75 (4): 325-329.

具有指纹特征的黄芩提取物质量可控性研究

杨红美^{1,2}, 曾建国^{2,1*}, 陈波¹, 罗琪², 缪建荣²

(1. 湖南师范大学化学化工学院, 湖南 长沙 410081; 2. 湖南九汇现代中药有限公司, 湖南 长沙 410329)

摘要:目的 确定黄芩提取物指纹特征产品标准。方法 通过采用 HPLC 色谱分析技术对黄芩提取物中 8 个黄酮化合物进行快速定量。结果 该黄芩提取物指纹特征相对稳定, 定量测定及指纹表征方法准确、快速。结论 使用该黄芩提取物的产品标准可更好地综合控制黄芩提取物的质量, 为组分中药提供实例支持。

关键词:黄芩提取物; 指纹特征; 标准化提取物

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)06-0846-06

Quality control of *Scutellaria baicalensis* extract with fingerprint characteristic

YANG Hong-mei^{1,2}, ZENG Jian-guo^{2,1*}, GHEN Bo¹, LUO Qi², MIAO Jian-rong²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

2. Phytoway Inc, Changsha 410329, China)

收稿日期: 2006-01-30

作者简介: 杨红美, 女, 湖南师范大学 03 级分析化学专业硕士研究生。

* 通讯作者 曾建国 E-mail: ginkgo@phytoway.com