

芦丁壳聚糖-海藻酸钠漂浮微囊的制备研究¹

肖 莉, 张韵慧*, 许建辰, 晋兴华

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要: 目的 以芦丁为模型药物, 研究其壳聚糖-海藻酸钠漂浮型微囊的脉冲释药性能。方法 采用复凝聚法制备壳聚糖-海藻酸钠微囊, 通过添加起泡剂将其制成胃内漂浮型微囊, 考察微囊的脉冲释药性能, 并研究起泡剂用量对释放时滞的影响。结果 该微囊具有 pH 值响应性, 体外释放呈现 S 型脉冲释放特征, 随着起泡剂用量的增加, 释放时滞可由 3 h 延长为 6 h。结论 芦丁壳聚糖-海藻酸钠漂浮型微囊具有理想的包封率和脉冲释放性能, 适用于中药制剂领域。

关键词: 芦丁; 壳聚糖-海藻酸钠漂浮型微囊; 脉冲给药系统

中图分类号: R 284. 2; R 286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0209-04

Preparation of floating rutin-alginate-chitosan microcapsule

XIAO Li, ZHANG Yun-hui, XU Jian-chen, JIN Xing-hua

(College of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: **Objective** Using rutin as the model drug to prepare floating alginate-chitosan microcapsule and investigate the feasibility of this pulsatile drug delivery system applied in Chinese materia medica. **Methods** By means of complex coacervation to prepare alginate-chitosan microcapsule and foaming agent to turn the microcapsule into gastric floating system and to investigate the release profile of the microcapsule *in vitro* and the influence of gas forming agent to the lag-time of the microcapsule. **Results** *In vitro* release, the microcapsule responded to the change of pH value and the release profile showed "S" profile, the lag-time increased from 3 h to 6 h as the quantity of gas forming agent with the dosage of foamer increased. **Conclusion** Floating alginate-chitosan microcapsule is suitable to be applied in pulsatile drug delivery system of Chinese materia medica with the desirable entrapment efficiency.

Key words: rutin; floating alginate-chitosan microcapsule; pulsatile drug delivery system

时辰药理学的研究表明, 一些疾病如心血管疾病、哮喘、关节疼痛的发生、发作均存在时辰节律的变化。基于这种模式, 人们提出药物在体内达到平稳血药浓度, 恒速给药并非首选, 取而代之的是通过药物浓度的定期波动达到最佳的疗效^[1, 2]。脉冲给药系统是根据时辰药理学和时辰治疗学原理设计的新型控释给药系统。这种系统在给药一定时间后快速释放出活性物, 这段时间又称为时滞(lag time)。在时滞期内应该没有药物或者只有少量药物释放。患者在睡前服用口服脉冲制剂, 活性药物经预定的滞后时间, 在疾病发作前释放, 可以有效地预防和治疗疾病并减少药物可能引发的不良反应, 但该给药系统目前在中药制剂领域的应用还不多见。本研究以芦丁作为模型药物, 制备壳聚糖-海藻酸钠脉冲给药型微囊, 并进一步针对脉冲给药系统的特点, 根据微囊口服后需要在胃肠道中滞留, 将滞留时间控制在疗

效的理想状态是脉冲给药技术的关键, 设计采用了一种漂浮系统来延长其在胃肠道中的停留时间, 从而达到控制时滞的目的^[3~6]。本研究重点考察了起泡剂用量对所制备的微囊性质的影响, 比较了漂浮型微囊和普通微囊的脉冲释放时滞的变化, 进一步为中药脉冲给药系统的研究提供参考。

1 材料与仪器

芦丁(药用标准); 壳聚糖(相对分子量约 2×10^5 , 脱乙酰度 93%, 青岛海汇生物工程有限公司); 海藻酸钠(化学纯, 上海化学试剂公司分装厂); 氯化钙、碳酸氢钠、磷酸钠等试剂均为分析纯。

XS205DU 电子天平(Mettler-Toledo 公司); 日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, SPD-6AV 紫外检测器, LC-6A 输液泵, ANASTAR 色谱工作站; 15JE 数显测量显微镜(上海光学仪器五厂); ZRS-8G 智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂); PB-

¹ 收稿日期: 2007-05-28

作者简介: 肖 莉(1978—), 女, 安徽无为, 博士研究生, 研究方向为药物缓控释制剂的开发。E-mail: tdxiao427@yahoo.com.cn

* 通讯作者 张韵慧 Tel: (022) 27401186

10 型 pH 计(北京赛多利斯仪器系统有限公司); JB—3 磁力搅拌(上海雷磁新泾仪器有限公司); WH—3 微型漩涡混合仪(上海沪西分析仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 微囊的制备

2.1.1 壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备^[7]:称取适量芦丁溶于 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 海藻酸钠水溶液中,在漩涡混悬器上振荡混匀,所得混悬液用注射器滴加到慢速磁力搅拌的 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 壳聚糖的 2% 醋酸溶液(内含 1.5% 氯化钙)中,加毕,室温下继续搅拌 1 h 后,滤过,并用 200 mL 蒸馏水洗涤后,真空干燥 48 h,得不规则颗粒。

2.1.2 漂浮型壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备:称取适量研磨后的起泡剂碳酸氢钠粉末,按照与芦丁的质量比分别为 0.5 1、0.75 1、1 1、1.25 1、1.5 1 溶于 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 海藻酸钠水溶液中,同 2.1.1 项方法制备微囊,分别得到微囊 A (0.5 1)、B (0.75 1)、C (1 1)、D (1.25 1)、E (1.5 1)。

2.2 芦丁的 HPLC 法测定

2.2.1 色谱条件:色谱柱为 Spherisorb ODS C_{18} (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;柱温为 45 $^{\circ}\text{C}$;流动相为 0.05 mol/L 的磷酸二氢钾溶液-乙腈(80 20,磷酸调 pH 值至 3.0);体积流量为 1.0 mL/min;检测波长为 257 nm;进样量为 20 μL 。色谱图见图 1。

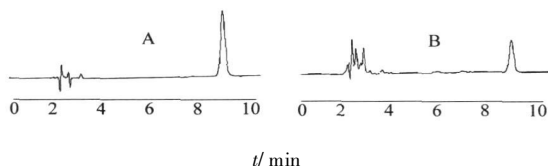


图 1 芦丁对照品(A)和芦丁壳聚糖-海藻酸钠微囊(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of rutin reference substance (A) and rutin-alginate-chitosan microcapsules (B)

2.2.2 供试品溶液的制备:精密称取适量微囊 0.1 g,加入到 0.1 mol/L HCl 介质中搅拌 3 h,再用 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8,继续快速搅拌消解 3 h 后得到澄清透明黄色溶液,然后转移至 100 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度。精密吸取 0.5 mL,加流动相定容至 10 mL,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 标准曲线的绘制:精密称取芦丁对照品 10.0 mg,流动相溶解定容至 50 mL,摇匀,得储备液。精密吸取储备液,按不同比例稀释,得到 0.20、2.0、10.0、20.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液,分别进样 20

μL ,测定,记录色谱图,计算峰面积。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归,得线性回归方程 $Y = 17\,341.65 X + 802.72$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明,芦丁在 0.20 ~ 50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,峰面积对质量浓度有良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验:取同一芦丁对照品溶液,于 1 日内进样 6 次和连续 6 日进样,测定峰面积值,计算得日内和日间 RSD 分别为 1.2% 和 1.9%。

2.2.5 回收率试验:取微囊 9 份,精密称定,精密加入 80%、100%、120% 质量水平的芦丁对照品,制备供试品溶液,进样,测定峰面积,由线性回归方程计算回收率,结果平均回收率为 99.21%,RSD 为 1.3%。

2.3 载药量和包封率的计算:精密称取适量载药微囊,加入到 0.1 mol/L HCl 介质中搅拌 3 h,再用 0.10 mg/mL NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8,继续快速搅拌消解 3 h 后得到澄清透明黄色溶液。将该溶液用流动相稀释至适当浓度,微孔滤膜滤过,HPLC 法测定微囊中药物,计算载药率(载药率=微囊中所含药物质量/微囊的总质量 $\times$ 100%) 和包封率(包封率=微囊中所含药物的质量/系统中的总药量 $\times$ 100%)。

2.4 粒径大小:在光学显微镜下观察微囊的形态。观察并计算 100 个微囊的粒径大小,计算平均粒径。

2.5 漂浮性能试验:将 20 个微囊分别加入至 100 mL 蒸馏水、模拟人工胃液(pH 1.2 的盐酸溶液)、模拟人工肠液(pH 6.8 的 PBS 溶液),在 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 下使微囊浸润,12 h 内定时观察微囊的漂浮状态,平行 3 次。

2.6 起泡剂对微囊影响的考察

2.6.1 起泡剂的用量对漂浮型微囊性质的影响:通过改变碳酸氢钠的用量来考察起泡剂对微囊的影响,见表 1。可以看出,随着起泡剂用量的增加,微囊粒径也会增大。包封率随碳酸氢钠比例的上升而下降,特别是当碳酸氢钠的比例超过 1.25 1 时,下降更为明显。提示碳酸氢钠作为起泡剂,与芦丁一起被高分子囊材缠绕包裹,碳酸氢钠颗粒与芦丁竞争高分子链段中的空间,所以起泡剂加入量越大药物的包封率反而越小。

2.6.2 起泡剂用量对微囊漂浮性能的影响:分别将 A、B、C、D、E 5 种微囊加入到蒸馏水、模拟人工胃液和模拟人工肠液中,微囊 A、B、C 立即下沉,而微囊 D、E 则显示出具有一定的漂浮性能,见表 2。微囊的漂浮性能与聚合物基质中的气体成分有关,不含起

表 1 起泡剂对微囊粒径大小、载药量和包封率的影响

Table 1 Effect of gas forming agent to size, drug loading and entrapment efficiency

微囊型号	起泡剂 芦丁/ (mg · mg ⁻¹)	粒径/μm	载药量/%	包封率/%
空白微囊	0	165	17.98	69.10
A	0.50	170	16.05	57.79
B	0.75	185	15.74	57.11
C	1.00	185	15.56	56.93
D	1.25	185	14.19	44.21
E	1.50	195	12.21	43.58

表 2 起泡剂对微囊漂浮性能的影响

Table 2 Effect of gas forming agent on floating

微囊型号	水	模拟人工胃液	模拟人工肠液
A	下沉	下沉	下沉
B	下沉	下沉	下沉
C	下沉	下沉	下沉
D	漂浮	漂浮	漂浮
E	漂浮	漂浮	漂浮

泡剂的微囊在所有的介质中均会下沉。当微囊浸没在介质中,其漂浮性会持续到微囊出现溶蚀。在制备过程中,碳酸氢钠与醋酸发生反应产生小的气泡镶嵌在分子网状结构中,当气体的量足够多时,微囊就会漂浮;一旦微囊的基质溶蚀,气泡将会逸出,微囊就会下沉。

2.7 壳聚糖-海藻酸钠微囊在不同 pH 值的释放介质中的释放情况: 释放度测定方法参照《中国药典》2005 年版二部附录方法。分别精密称取适量载药微囊,以 300 mL pH 1.2、pH 6.8 的溶液为释放介质,恒温(37 ± 0.5),转速为 100 r/min。定时取样 5 mL,并及时补充 5 mL 释放介质,微孔滤膜滤过,用流动相适当稀释,取 20 μL 进样,记录峰面积,计算不同时间微囊中芦丁的累积释放率,绘制释放曲线,见图 2。微囊在人工胃液中的释放十分缓慢,而在人工肠液中迅速释放,后者释放率是前者的 10 倍。提示海藻酸钠-壳聚糖微囊具有很好的 pH 值响应性,可以制成 pH 值响应性的脉冲释放制剂。

2.8 漂浮型微囊与普通微囊的体外释放的比较: 释放度测定方法参照《中国药典》2005 年版二部附录方法。精密称取适量漂浮型微囊 E 和普通微囊,以 300 mL 0.1 mol/L HCl 溶液 (pH 1.2) 为溶出介质,恒温(37 ± 0.5),转速为 100 r/min。定时取样 5 mL,并及时补充 5 mL 释放介质,适当稀释,微孔滤膜滤过,用流动相适当稀释定容, HPLC 法测定芦丁的量。待微囊基本浸没于溶出液中后,向溶出介质中加入适量 0.2 mol/L Na₃PO₄ 溶液,将介质的 pH 值调至 6.8,定时取样 5 mL,并及时补充 5 mL 释放

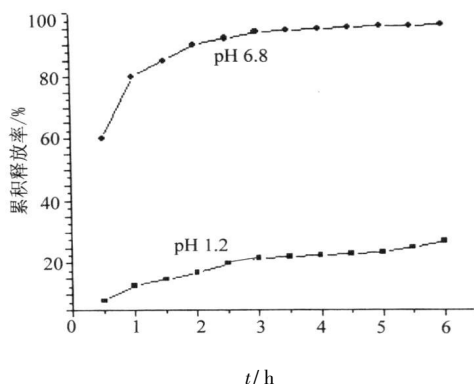


图 2 芦丁微囊在不同介质中的释放曲线

Fig. 2 Release profile of rutin from chitosan microcapsules in different media

介质,适当稀释,微孔滤膜滤过,用流动相适当稀释定容, HPLC 法测定芦丁的量。分别计算漂浮型微囊和普通微囊在不同时间累积释放率,绘制释放曲线,比较两者的脉冲时滞,结果见图 3。壳聚糖-海藻酸钠微囊具有 pH 值响应性,利用此性质可以制成脉冲释放制剂,但是,脉冲制剂的缺点是时滞时间太短。起泡剂的添加可以使微囊成为胃内漂浮的微囊从而延长胃内滞留时间,达到延长体内脉冲释放时滞的目的。由释放曲线可以发现,普通壳聚糖-海藻酸钠微囊的脉冲释放时滞约 3 h,而经过改进的漂浮型微囊的脉冲释放时滞可延长为 6 h,但两者的释药速率基本一致

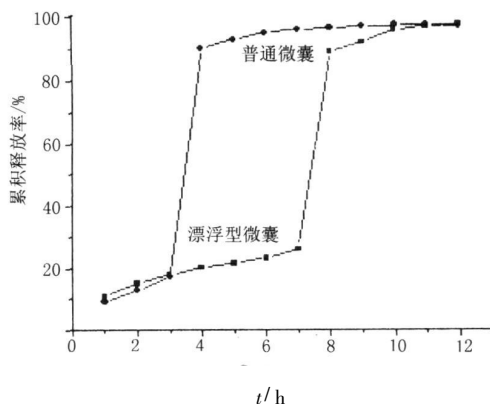


图 3 漂浮型微囊与普通微囊的释放比较

Fig. 3 Comparison of releasing profile of floating and normal microcapsules

3 讨论

体外释放试验表明该微囊 pH 值响应性良好,满足 pH 值响应性脉冲给药系统的要求。这种 pH 值响应性可以由 3 层结构模型说明。微囊的最外层是壳聚糖沉积层不含药物,中间是壳聚糖-海藻酸钠复合膜,其中均匀含有药物,中心是含有药物的海藻酸钙囊芯。由于壳聚糖的 pK_a = 6.3,而海藻酸中

洛糖醛酸的 $pK_a = 3.5$, 甘露糖醛酸的 $pK_a = 4.0$ 。所以, 当 $pH\ 1.2$ 时壳聚糖与氢离子结合成为聚阳离子, 开始溶解, 海藻酸与钙离子交联解离和 H^+ 结合但不溶解。当 $pH\ 6.8$ 时海藻酸电离成为海藻酸根并开始溶解, 微囊解体。总之, 在 $pH\ 1.2$ 的释放介质中外层的壳聚糖质子化并溶解, 部分药物随之溶出, 但是此层中的药物的量低。在 $pH\ 6.8$ 的释放介质中, 中间层的壳聚糖不溶, 形成网状膜骨架结构, 海藻酸及其钙盐透过膜慢慢渗出溶解, 同时药物也随之渗出, 从而达到脉冲释放的效果。

当微囊在体内从胃部向小肠转移时, 随 pH 值的变化, 药物释放将呈现脉冲型释放特征, 其脉冲释放时滞为胃内的滞留时间。但由于此时滞时间太短, 壳聚糖-海藻酸钠微囊作为脉冲给药系统并不完善。由于时滞是脉冲技术的关键, 如果制剂在胃肠道不能有效地滞留, 在未发挥作用前就达到小肠远端或被排出体外, 则不能达到预期的治疗目的, 而通过向微囊中加入起泡剂, 则可以使制剂漂浮于胃液中, 延长胃排空时间。同时因为时滞时间是由微囊在胃肠道中的漂浮时间决定的, 因此可以通过改变起泡剂的用量来控制时滞时间。本研究中对该制剂进行优化设计, 通过在微囊中加入起泡剂制成胃内漂浮系统来调整释药时滞, 达到延长时滞的目的, 经优化后

的微囊的释药时滞可达到 6 h。

脉冲给药系统是基于时辰药理学的理论, 以制剂手段控制药物释放, 配合生理节律的变化, 达到最佳疗效的智能化给药系统。本实验采用芦丁作为模型药物, 制备漂浮型的脉冲给药系统, 取得了理想的效果, 对脉冲释药系统应用于中药, 实现中药制剂现代化具有一定的意义。

参考文献:

- [1] Kikuchi A, Okano T. Pulsatile drug release control using hydrogels [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2002, 54(1): 53-77.
- [2] Charloux A, Gronfier C, Lonsdorfer-Wolf E, et al. Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans [J]. *Am J Physiol*, 1999, 276: E43-E49.
- [3] Xu X Q, Sun M J, Zhi F, et al. Floating matrix dosage form for phenoprolamine hydrochloride based on gas forming agent: In vitro and in vivo evaluation in healthy volunteers [J]. *Int J Pharm*, 2006, 310(1-2): 139-145.
- [4] Choi B Y, Park H J, Hwang S J, et al. Preparation of alginate beads for floating drug delivery system: effects of CO_2 gas-forming agents [J]. *Int J Pharm*, 2002, 239(1-2): 81-91.
- [5] Krogel I, Bodmeier R. Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores [J]. *Int J Pharm*, 1999, 187(2): 175-184.
- [6] Murata Y, Sasaki N, Miyamoto E, et al. Use of floating alginate gel beads for stomach-specific drug delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(2): 221-226.
- [7] Gaserod O, Smidsrod O, Skjak-brak G. Microcapsules of alginate-chitosan I: A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan [J]. *Biomaterials*, 1998, 19(20): 1815-1825.

HPLC 法测定络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸和哈巴俄苷¹

赵晓莉, 陈晓燕, 狄留庆*, 吴 皓

(南京中医药大学中医药研究院, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 建立 HPLC 双波长法同时测定络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷 6 个成分的方法。方法 采用 YMC-C₁₈ 柱, 以乙腈-0.5% 磷酸水为流动相, 梯度洗脱, 双波长检测 ($\lambda_1 = 276\text{ nm}$, $\lambda_2 = 327\text{ nm}$), 体积流量为 1.0 mL/min , 柱温 30°C 。结果 6 个成分均能达到基线分离, 各成分的平均回收率在 $94.1\% \sim 98.8\%$ 。结论 本检测方法简便、准确、重现性好, 可作为络通胶囊质量控制的方法。

关键词: 络通胶囊; 绿原酸; 阿魏酸; 甘草苷; 甘草素; 肉桂酸; 哈巴俄苷; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2008)02-0212-04

络通胶囊是由金银花、当归、玄参、甘草等组成的复方制剂, 具有清热养阴、活血化瘀的功效, 临床

用于血栓闭塞性脉管炎、脑血栓形成及其后遗症等症的治疗^[1]。目前对其质量控制主要采用分别测定

¹ 收稿日期: 2007-06-30

基金项目: 国家科技部 863 计划资助项目(2003AA2Z3247); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2005150)

作者简介: 赵晓莉(1976—), 女, 江苏南京人, 实验师, 博士, 主要从事中药药剂学及中药制剂分析研究。

Tel: (025) 86798226 E-mail: xlee-zhao@163.com

* 通讯作者 狄留庆