

- 离与纯化[J]. 中草药, 2000, 31(9): 652-653.
- [2] 祝顺琴, 谈 锋. 高速逆流色谱在天然产物分离中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(12): 788-791.
- [3] 单鸣秋, 张 丽, 曹雨诞. HPLC-ELSD 法测定银杏叶提取物中内酯的含量[J]. 中草药, 2004, 35(12): 1366-1368.
- [4] 王成章, 郁 青, 谭卫红, 等. 溶剂萃取银杏萜内酯的因子研究[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 11(2): 53-56.
- [5] 张 健, 刘明登, 苏小建. 银杏萜内酯的提取工艺[J]. 资源开发与市场, 1998, 14(3): 100-101.

挤出滚圆法制备芍药甘草方微丸的处方工艺研究

陈丽华^{1,2}, 冯 怡^{1*}, 徐德生¹, 汪益涵¹, 李俊松¹

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 现代中药制剂教育部重点实验室 江西中医学院, 江西 南昌 330004)

摘 要:目的 应用挤出滚圆法制备芍药甘草方微丸。方法 在考察提取物的物理性质的基础上, 用挤出滚圆造粒机分别制备芍药、甘草微丸; 采用单因素试验优化制剂处方及工艺条件; 评价了微丸的粉体学性质、收率和体外溶出度。结果 用挤出滚圆法制备的芍药、甘草微丸在 30 min 内体外溶出均达 90% 以上, 且圆整度好, 收率高。结论 挤出滚圆法制备芍药甘草方微丸工艺简便易行, 制得的微丸质量好, 收率高, 体外释药迅速。

关键词: 芍药甘草方微丸; 挤出滚圆法; 芍药; 甘草

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1648-05

Process of Shaoyao Gancan formulation pellet by extrusion-spheronization method

CHEN Li-hua^{1,2}, FENG Yi¹, XU De-sheng¹, WANG Yi-han¹, LI Jun-song¹

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Key Laboratory for Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: **Objective** To study the formulation and process of Shaoyao Gancan formulation pellet by extrusion-spheronization. **Methods** Based on the physical characters of active parts, the pellets with Shaoyao (*Radix Paeoniae Alba*) and Gancan (*Radix Glycyrrhizae*) were prepared separately by extrusion-spheronization. The formulation and process were studied by direct comparison. Then their characters were evaluated. **Results** The active components could release more than 90% in 30 min and the pellets presented a perfect sphericity. **Conclusion** Shaoyao Gancan formulation pellet could be prepared by extrusion-spheronization machine and the pellets show a perfect sphericity. *In vitro* dissolution is satisfactory with high quality and yield.

Key words: Shaoyao Gancan formulation pellet; extrusion-spheronization; *Radix Paeoniae Alba*; *Radix Glycyrrhizae*

芍药甘草汤源于张仲景的《伤寒论》, 由白芍、甘草组成, 具有明显的解痉镇痛作用。其组方严谨, 疗效确切。目前中药微丸的制备主要采用传统的泛丸法, 该方法操作复杂, 影响因素多, 质量不易控制, 收率较低。挤出滚圆法具有生产能力大、操作方便、产品收率高、工艺重现性好、微丸大小均匀, 分布更集中、圆整度好、载药量大、易于进一步包衣等优点^[1]。本实验在已制定芍药甘草方提取物标准的基础上, 根据提取物不同的物理性质及粉体学性质, 采用挤

出滚圆法分别制备芍药甘草方微丸, 考察关键工艺参数对制剂的影响, 为中药微丸的适宜性研究提供借鉴。

1 仪器与材料

挤出滚圆造粒机(上海华东理工大学化工机械研究所); RC-806 型智能药物溶出仪(天津大学无线电厂); Agilent 1100 高效液相色谱仪; FA 2104N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); BP211D Sartorius 电子天平; CJY-300 B 型片剂脆碎度测

收稿日期: 2007-12-19

基金项目: 上海市重点学科建设项目(T0301); 上海市科委项目(04DZ19841); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20060268009)

作者简介: 陈丽华(1972-), 女, 江西崇仁人, 副研究员, 博士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术。

Tel: (0791)7119011 E-mail: chly98@163.com

* 通讯作者 冯 怡 Tel: (021)51322493 E-mail: fyi@vip.sina.com

试仪(上海黄海仪器检验厂);HZQ-C型空气浴振荡器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司);BT-1000型粉体综合特性测试仪(丹东市百特仪器有限公司);LHS-150HC恒温恒湿箱(上海一恒科技有限公司);ZJ型应变控制式直剪仪(南京土壤仪器有限公司)。

芍药提取物(自制,含芍药苷不低于44.0%,批号060713);甘草提取物(自制,含甘草酸不低于50.0%,批号060719);微晶纤维素(湖州展望有限公司,批号060524);磷酸二氢钾、盐酸、乙醇等均为分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 芍药苷分析方法的建立

2.1.1 色谱条件:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-0.1%磷酸(14:86);体积流量:1.0 mL/min;柱温:25℃;检测波长:230 nm;进样量:10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成0.394 4 mg/mL的溶液,作为贮备液,备用。

2.1.3 芍药微丸样品液的制备:将芍药微丸研成细粉,精密称取约50 mg,置50 mL量瓶中,加入稀乙醇45 mL,超声提取30 min,用稀乙醇稀释至刻度,混匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察:精密量取芍药苷对照品溶液贮备液0.5、1、2、4、8、10 mL置10 mL量瓶中,用甲醇定容。分别精密吸取10 μL,注入液相色谱仪,测定。以峰面积为纵坐标,质量为横坐标,得回归方程 $Y=10.788 X-1.230 6$, $r=0.999 8$ 。结果表明芍药苷在0.197 2~3.944 0 μg与峰面积呈良好的线性关系。

2.2 甘草酸分析方法的建立

2.2.1 色谱条件:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm);流动相:甲醇-0.2 mol/L醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1);体积流量:1.0 mL/min;柱温:25℃;检测波长:250 nm;进样量:10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取甘草酸单铵对照品适量,加流动相制成0.64 mg/mL的溶液,作为贮备液,备用。

2.2.3 甘草微丸样品液的制备:将甘草微丸研成细粉,精密称取约50 mg细粉,置50 mL量瓶中,加入流动相45 mL,超声处理30 min,用流动相稀释至刻度,混匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系考察:精密称取甘草酸单铵对照品

32.00 mg置于50 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,分别取0.31、1.25、2.5、5、6.25、10 mL置10 mL量瓶中,流动相稀释至刻度,分别取10 μL进样,记录峰面积。由峰面积对质量浓度进行线性回归,得线性方程 $Y=3.252 3 X+37.448$, $r=0.999 8$ 。结果表明甘草酸在0.391 8~12.537 6 μg与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 提取物的物理性质考察

2.3.1 在不同pH值介质中表观溶解度的测定:将过量的芍药提取物和甘草提取物分别置具塞小瓶中,各加入0.1 mol/L盐酸溶液、蒸馏水和pH 6.8磷酸盐缓冲液各10 mL,置空气浴振荡器上(37±0.5)℃振荡48 h(频率为120次/min),于48 h取上清液3 mL,用0.45 μm微孔滤膜滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液1 mL,测定其质量浓度。结果表明芍药提取物溶解度不受pH值影响,易溶于水、0.1 mol/L盐酸和pH 6.8的磷酸盐缓冲液,甘草提取物溶解度受pH值影响,在pH 6.8磷酸盐缓冲液中溶解度更大。结果见表1。

2.3.2 在不同表面活性剂介质中表观溶解度的测定:配制pH 6.8 PBS(0.3%SDS)、pH 6.8 PBS(0.5%SDS)、pH 6.8 PBS(1.0%SDS)和pH 6.8 PBS(1.0%聚山梨酯80)溶液,分别取10 mL,加入过量芍药提取物和甘草提取物,置空气浴振荡器上(37±0.5)℃振荡48 h(频率为120次/min),取上清液3 mL,保温滤过,取续滤液适量,用相应介质稀释,测定质量浓度。结果表明2种提取物在不同表面活性剂pH 6.8磷酸盐缓冲液中溶解度与在pH 6.8 PBS溶液中的溶解度较为接近。结果见表1。

表1 不同pH值及表面活性剂介质中表观溶解度

Table 1 Solubilities of two extracts in media of different pH and surfactant

溶解介质	溶解度/(g·mL ⁻¹)	
	芍药提取物	甘草提取物
0.1 mol/L HCl	1.463	0.1723
H ₂ O	1.579	1.134
pH 6.8 BPS	1.659	19.950
0.3%SDS-pH 6.8 PBS	1.746	19.750
0.5%SDS-pH 6.8 PBS	1.852	20.020
1.0%SDS-pH 6.8 PBS	1.869	20.730
1.0%聚山梨酯80-pH 6.8 PBS	1.685	19.700

2.3.3 休止角的测定:采用固定圆锥底法测定。取样品适量,使其通过玻璃漏斗中流下,倾入培养皿中,直到堆成最高圆锥体为止,测量培养皿粉堆半径(r),圆锥体高度(H),由 $\text{tg}\alpha=H/r$ 计算休止角(α),

重复测5次,取平均值,结果见表2。结果表明2种提取物的流动性较差,加入MCC后有一定的改善作用。

表2 两种提取物粉体学性质(n=5)

Table 2 Micromeritic properties of two extracts (n=5)

组 分	休止角/(°)
芍药提取物	47.45±0.78
甘草提取物	44.31±0.51
芍药提取物-MCC (4:6)	40.95±0.58
甘草提取物-MCC (7:3)	39.63±0.49

2.3.4 提取物吸湿率的测定:取样品适量,精密称定质量,置已恒重的敞口小瓶中,铺成约0.3~0.4 mm厚,置相对湿度75%,25℃恒温恒湿箱中,于0.5、1.5、2、4、8、12、24、36、48 h精密称定质量,计算吸湿率[吸湿率=(吸湿后效应组分的质量-吸湿前效应组分的质量)/吸湿前效应组分的质量],绘制吸湿曲线,结果见图1。结果表明2种提取物加MCC后其吸湿性降低。

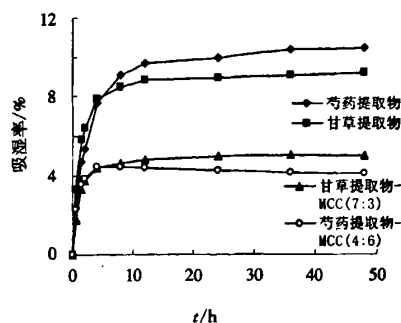


图1 两种提取物的吸湿曲线

Fig. 1 Hygroscopic curves of two extracts

2.3.5 黏度的测定:采用应变控制式直剪仪测定粉体的黏聚力,以表征粉体的黏度。分别选择50、100、200、300、400 kPa不同的垂直压力,施加水平力进行

剪切,读表获得破坏时剪应力。根据库仑定律以垂直压力为横坐标(X),破坏时的剪应力为纵坐标(Y)进行直线回归,得样品的抗剪强度参数:黏聚力,结果见表3。结果表明2种提取物的黏度较大,加MCC后二者黏度均有不同程度的降低。

表3 两种提取物粉体黏聚力测定结果(n=3)

Table 3 Cohesive strength of two extracts (n=3)

组 成	回归方程	r	黏聚力/kN
芍药提取物	$Y=0.0058X+0.1246$	0.9994	0.1246
甘草提取物	$Y=0.0066X+0.1062$	0.9995	0.1062
芍药提取物-MCC (4:6)	$Y=0.0064X+0.1117$	0.9995	0.1117
甘草提取物-MCC (7:3)	$Y=0.0059X+0.0987$	0.9995	0.0987

2.4 微丸处方因素的研究

2.4.1 制备工艺:按处方分别称取一定量,混匀,加润湿黏合剂不断捏合,制成软材;经挤出机筛板(孔径0.8 mm)挤成直径相同、光滑致密的条状物;选择一定的剪切、滚圆频率,将条状物料迅速投入高速旋转的滚圆机内,直至颗粒滚制成丸;取出微丸,40℃干燥,筛分,以20~30目的微丸进行分析和评价。

2.4.2 载药量及促进剂的考察:MCC是挤出滚圆技术中最重要的辅料,被认为是一种成球促进剂^[2]。与其他辅料相比,由于MCC制得的微丸硬度大、堆密度大、表面光滑、圆整度好。因此根据文献报道,选择以MCC作为辅料,制备的芍药、甘草微丸30 min内可以释放完全。其中芍药微丸的载药量为40%,甘草微丸的载药量为70%。结果见表4、5。

2.4.3 润湿剂种类及用量选择:在挤出滚圆法制备微丸时,常用的润湿剂为水或乙醇水溶液。一般而言,药物为水溶性且黏度不太大时,则首选水为润湿剂;若药物有一定黏度,则为了降低黏度,应使用乙

表4 芍药微丸载药量的考察

Table 4 Influence of different drug-carrying contents to prepare Shaoyao pellets

试验号	芍药提取物/g	MCC/g	制备时现象	圆整度/(°)	收率/%	30 min 释放度/%
1	15	35	外观圆整,硬度良好	15.3	84.4	96.5
2	20	30	外观圆整,硬度良好	15.8	83.2	95.7
3	25	25	圆整度低,多为棒状	17.4	65.2	99.3

表5 甘草微丸载药量的考察

Table 5 Influence of different drug-carrying contents to prepare Gancao pellets

试验号	甘草提取物/g	MCC/g	制备时现象	圆整度/(°)	收率/%	30 min 释放度/%
1	25	25	外观圆整,硬度良好	14.9	92.4	89.2
2	30	20	外观圆整,硬度良好	15.8	89.2	88.8
3	35	15	圆整度低,硬度良好	15.8	88.4	88.4
4	40	10	细粉多	16.3	75.2	88.8

醇水溶液为润湿剂。润湿剂中乙醇比例对微丸的圆整度及一定粒径范围内的收率影响显著,乙醇的比例低,所制微丸多为棒状,圆整度较低;乙醇的比例增大,微丸圆整度良好,且收率较高。芍药提取物选择50%乙醇为润湿剂,用量与粉料用量接近0.7:1时,甘草提取物选择10%乙醇为润湿剂,用量与粉料用量接近1:1时,所制成的微丸圆整度好、表面光滑、得率高。

2.5 微丸工艺因素的研究

2.5.1 挤出速度的考察:考察了3种挤出速度下挤出物性质、微丸的圆整度及收率。挤出速度对成丸有明显影响。当挤出速度过快,物料不够紧密,成条不圆满,挤出物质量差,易黏,严重影响微丸质量,微丸收率降低;而挤出速度过慢,则耗时太长,且物料在圆筒内反复挤压会造成物料过热,失水干燥,也会影响微丸的圆整度,挤出速度是保证挤出圆满条状物料的首要条件,是微丸成型的先决条件。结果表明芍药、甘草提取物挤出速度宜分别选择23、32 Hz。结果见表6、7。

表6 芍药微丸挤出速度的影响

Table 6 Influence of different extrusion speeds to prepare Shaoyao pellets

挤出速度/Hz	挤出物和微丸质量	圆整度/(°)	收率/%
40	挤出物有毛刺,物料易失水,微丸圆整度不好,多为哑铃状	15.8	67.7
32	挤出物色泽不均一,圆整度一般,不够圆滑	15.3	80.6
23	挤出物比较圆滑,微丸圆整度较好,有光泽,较圆滑	14.9	85.4

表7 甘草微丸挤出速度的影响

Table 7 Influence of different extrusion speeds to prepare Gancao pellets

挤出速度/Hz	挤出物和微丸质量	圆整度/(°)	收率/%
40	挤出物成条有毛刺,物料易失水,微丸圆整度不好,多为哑铃状	18.4	74.2
32	挤出物比较圆滑,无毛刺,微丸圆整度较好,有光泽,较圆滑	15.8	87.7
25	挤出物过热失水,易折易断,塑性较差,微丸圆整度一般,不够圆滑	16.3	73.0

2.5.2 滚圆速度的考察:滚圆速度为条状物料提供剪切力和离心力,使之变为圆球状。滚圆速度的大小直接影响微丸的成形,是影响微丸圆整度和收率的重要因素。速度低,则剪切力不够,微丸圆整度低,呈细棒状;速度加快,碎片及微粉量下降,微丸圆整度好,收率高。实验表明两种微丸均需要较高的滚圆速

度,宜选用50 Hz。

2.5.3 滚圆时间的考察:滚圆时间对微丸的外观、圆整度、收率以及微丸的堆密度、药物的溶出度有影响。在一定范围内滚圆时间延长,微丸圆整度越好,但时间过长,则微丸粒径增大,延缓药物的溶出速度;滚圆时间过短,则微丸圆整度差。在试验过程中随着滚圆时间的延长、乙醇的挥发,芍药微丸黏性逐渐增大,可变成双球甚至有严重的粘壁现象,因此芍药微丸的滚圆时间宜在4 min,甘草微丸滚圆时间选择为3 min。

2.6 微丸的制备:通过以上对方剂及工艺的考察,得到了2种微丸的最佳制备工艺。芍药微丸的制备工艺:芍药提取物、MCC、50%乙醇的配比为20:30:35,挤出频率为23 Hz,滚圆频率为50 Hz,滚圆时间4 min;甘草微丸的制备工艺:甘草提取物、MCC、10%乙醇的配比为35:15:50,挤出频率为32 Hz,滚圆频率为50 Hz,滚圆时间3 min。按照上述工艺,分别制备3批微丸,于40℃烘干,取20~30目的微丸计算收率。

2.7 微丸的粉体学性质考察

2.7.1 圆整度的测定:采用测定微丸的平面临界角,衡量其圆整度。将1 g微丸置一平板上,将平板一侧抬起,测量微丸开始滚动前倾斜平面与水平所夹的角,角度越小,表明圆整度越好。结果见表8、9。

2.7.2 堆密度的测定:取适量微丸,使其缓缓通过一玻璃漏斗,倾倒入一量筒内,测定微丸的松容积,计算微丸的堆密度,结果见表8、9。

2.7.3 脆碎度的测定:称取约10 g微丸(W_1)置于片剂脆碎度测定仪中,4 min旋转100转后,取出微丸,用30目筛筛分,称定留在筛网上的微丸质量(W_2),根据脆碎度 $F=(W_1-W_2)/W_1$ 计算,结果见表8、9。以上结果表明两种微丸圆整度较好,硬度适宜,收率在80%以上,可直接装入胶囊应用,也适于进一步包衣。

表8 芍药微丸粉体学参数($n=5$)

Table 8 Micromeritics parameter of Shaoyao pellets ($n=5$)

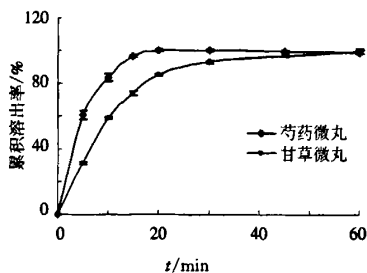
批号	收率/%	圆整度/(°)	堆密度/(g·mL ⁻¹)	脆碎度
061205	82.20±1.73	15.02±0.39	0.81±0.002	0.45±0.04
061222	83.12±1.49	15.78±0.63	0.82±0.003	0.42±0.05
061228	82.37±1.84	14.62±0.51	0.82±0.003	0.38±0.04

2.8 微丸的体外溶出度考察:采用《中国药典》2005年版方法。分别取芍药、甘草微丸约900 mg,加至900 mL磷酸盐缓冲液(pH 6.8)的溶出介质中,转

表9 甘草微丸粉体学参数($n=5$)Table 9 Micromeritics parameter of Gancao pellets ($n=5$)

批号	收率/%	圆整度/(°)	堆密度/(g·mL ⁻¹)	脆碎度
061211	88.71±1.67	17.92±0.58	0.75±0.004	0.51±0.06
061223	86.48±1.53	16.83±0.49	0.74±0.003	0.48±0.04
061229	88.96±1.42	16.54±0.61	0.75±0.002	0.53±0.07

速为100 r/min,水浴温度(37±0.5)℃,于设定时间取样5 mL,同时补加同温等量磷酸盐缓冲液。经0.45 μm微孔滤膜滤过,吸取续滤液10 μL,采用HPLC法分别测定芍药苷、甘草酸的峰面积,根据线性方程计算质量浓度。以微丸中有效成分的实际质量为100%,计算芍药苷、甘草酸的累积溶出率。结果表明两种微丸在30 min内体外溶出均达90%以上,因此可以认为是微丸。结果见图2。

图2 芍药微丸和甘草微丸中有效成分的体外溶出曲线($n=3$)Fig. 2 Dissolution curves of active components in pellets ($n=3$)

3 讨论

用挤出滚圆的方法分别制备了芍药、甘草微丸,

其在30 min内体外溶出均达90%以上,且微丸圆整度好、收率高,可进一步通过包衣制备芍药、甘草缓释微丸,为芍药甘草方效应组分释药行为的配伍研究奠定基础^[3]。

药物的溶解度是药物的一项重要理化性质,中药复方为多成分组成的混合物,每种成分的各自溶解度不同。本实验分别测定药物不同指标性成分在不同介质中的表观溶解度,为溶出介质的选择提供了依据。提取物的理化性质、粉体学性质对微丸的处方及工艺有重大的影响,为中药复方各组分进行制剂的适宜性研究提供借鉴意义。

中药提取物一般易吸潮,无论在乙醇中或水中黏度均较大。润湿剂或黏合剂的用量稍改变,软材性质将产生较大变化,即在挤出滚圆中适合成球的润湿剂或黏合剂的用量范围较窄。在以中药提取物为原料的微丸制备过程中,控制软材润湿剂的比例是挤出滚圆工艺中最关键的因素。相对增加中药物料软材制备的湿度,能降低黏性和韧性,使之能被剪切打断、成球;降低湿度,则挤出物塑性增强,韧性增大,滚圆中不易被剪切打断,即使被打断在滚圆中也多呈哑铃型或棒状。

参考文献:

- [1] 王文刚,崔光华. 挤出-滚圆制微丸工艺的进展[J]. 中国新药杂志, 2001,10(9):661-664.
- [2] Beert I, Remon J P. Influence of granulation liquid on the drug release rate from pellets made by extrusion-spheronization [J]. *Int J Pharm*, 1993,95(1):135-141.
- [3] 冯怡,徐德生,洪燕龙,等. 药物释药系统产品市场与中药复方释药系统[J]. 中国中药杂志, 2006,31(20):1669-1670.

斑点免疫印迹法快速测定地龙炮制品中蚓激酶及其水解产物

王厚伟

(山东中医药大学药学院,山东 济南 250355)

摘要:目的 测定参环毛蚓、秉氏环毛蚓、日本杜拉蚓和天锡杜拉蚓炮制品中蚓激酶及其水解产物,建立斑点免疫印迹法评价相应生药材药效成分明确的中药炮制品质量新方法。方法 以兔抗蚓激酶单抗为一抗,应用斑点免疫印迹法对地龙炮制品中蚓激酶及其水解产物作定性检测,杂交信号应用Quantity One软件作定量分析。结果 现行中药材参环毛蚓与山东产地地方品种:秉氏环毛蚓、日本杜拉蚓、天锡杜拉蚓炮制品中蚓激酶及其水解产物的质量分数分别为125.23、118.34、81.05、72.13 μg/g。结论 秉氏环毛蚓炮制品中蚓激酶及其水解产物与现行地龙炮制品参环毛蚓无显著差异,理论上可作为广地龙的替代品。斑点免疫印迹法简便快捷,结果准确,无需大型设备,可用于地龙与类似中药材炮制品的品质评价。

收稿日期:2008-03-28

基金项目:山东省教育厅资助项目(J06L17);山东省优秀中青年科学家奖励基金资助项目(2007BSB14087);山东省中药理论与技术创新团队资助项目

作者简介:王厚伟(1973—),山东日照人,博士,讲师,主要研究方向中药生物工程。Tel:(0531)82613129 E-mail:hhouweiw@163.com