

## 雷公藤红素缓释滴丸的研究

夏海建<sup>1,2</sup>, 张振海<sup>2</sup>, 贾晓斌<sup>1,2\*</sup>

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

2. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

**摘要:** **目的** 制备雷公藤红素缓释滴丸, 考察药物的分散状态和体外释放度, 优化制备工艺。**方法** 以聚乙二醇 4000 (PEG 4000) 和单硬脂酸甘油酯 (GM) 为载体材料, 采用固体分散体方法制备雷公藤红素缓释滴丸, 以圆整度和质量差异为评价指标, 采用正交试验考察滴丸成型的影响因素。**结果** 经过优化缓释滴丸处方以雷公藤红素、GM 和 PEG 4000 按质量比 1 : 3 : 7 组成, 药料温度 80 °C, 滴速 20 滴/min, 滴距 5 cm, 冷凝液温度 15 °C。缓释滴丸中药物以非晶形存在, 该缓释滴丸 12 h 的最大累积释放率可达 91.2%。**结论** 所制得的雷公藤红素缓释滴丸具有良好的缓释效果。

**关键词:** 雷公藤红素; 固体分散体; 缓释滴丸; 体外释放度; 圆整度; 制备工艺

**中图分类号:** R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)07-0834-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.07.012

## Study on Tripterin Sustained-release Dropping Pills

XIA Hai-jian<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhen-hai<sup>2</sup>, JIA Xiao-bin<sup>1,2</sup>

1. Affiliated Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

**Abstract:** **Objective** To prepare the Tripterin Sustained-release Dropping Pills (TSRDPs), investigate the disperse state and *in vitro* release, and optimize the preparation technology. **Methods** The TSRDPs were prepared by solid dispersion method with PEG 4000 and glycerol monostearate (GM) as carrier materials. Orthogonal design was conducted to explore the influencing factors of the preparation technology by evaluating the indexes of roundness and weight difference. **Results** The ideal condition of TSRDPs: the ratio of tripterin-GM-PEG 4000 was 1 : 3 : 7; the temperature of drug mixture was 80 °C; dropping speed was 20 d/min; dropping distance was 5 cm; and the condensate temperature was 15 °C. Tripterin existed as amorphous state in carriers. The maximum cumulative release amount of tripterin was 91.2% at 12 h. **Conclusion** The prepared TSRDPs have a good sustained-release effect.

**Key words:** tripterin; solid dispersion; sustained-release dropping pills; *in vitro* release; roundness; preparation technology

雷公藤红素 (南蛇藤素, celastrol, tripterin) 是从中药雷公藤中提取的一种具有多种生物活性的三萜类化合物, 具有显著的抗肿瘤作用<sup>[1-2]</sup>。同时, 雷公藤红素还具有抑制免疫反应、抗炎、抑制血管生成、诱导细胞凋亡和抗氧化等多种药理活性<sup>[3-5]</sup>。但雷公藤红素严重的不良反应影响了其临床应用, 此外雷公藤红素水溶性很小、口服吸收差、生物利用度低、半衰期短 ( $t_{1/2}=2.4$  h)、体内消除速率快、血

药浓度波动大, 影响其药效的发挥<sup>[6-9]</sup>。

采用固体分散体法制备固体分散体型缓释滴丸, 药物以非晶形态存在, 能够显著地提高药物溶出, 从而促进药物的吸收, 提高药物的生物利用度, 同时能使血药浓度更平稳<sup>[10-13]</sup>。有研究表明, 滴丸剂对雷公藤有减毒增效的作用<sup>[14]</sup>。本实验尝试采用聚乙二醇 4000 (PEG 4000) 和单硬脂酸甘油酯 (GM) 作为基质, 制备雷公藤红素固体分散体型缓释滴丸,

收稿日期: 2012-07-18

基金项目: 江苏省中医药领军人才专项 (2006 贾晓斌); 江苏省高等学校大学生创新训练计划项目 (011042004000)

作者简介: 夏海建, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂新剂型研究。Tel: 15005165212 E-mail: haij-1988@163.com

\*通信作者 贾晓斌 Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

网络出版时间: 2013-01-09 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130109.1523.003.html>

希望在提高药物释放度的同时,能够缓慢释药,以达到增加口服生物利用度和减少不良反应的目的。

## 1 仪器与材料

高效液相色谱仪(Waters, 600型泵, 717自动进样器, 2996DAD紫外检测器, Empower数据处理系统); DSC204差热分析仪(德国 Netzsch 公司); DWJ—2000S—DP多功能滴丸试验机(烟台康达尔药业有限公司); 数显气浴恒温振荡器(金坛市双捷实验仪器厂); ZRS—8G型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

雷公藤红素对照品(质量分数98%, 上海源叶生物科技有限公司, 货号90106); 雷公藤红素(南京泽郎医药科技有限公司, 批号ZL2012AAS, 质量分数>98%); GM(成都市科龙化工试剂厂); PEG 4000(国药集团化学试剂有限公司); 二甲基硅油(药用, 烟台康达尔药业有限公司); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 雷公藤红素测定方法的建立

**2.1.1 色谱条件** Hadera ODS-2 C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5%磷酸溶液(85:15); 检测波长425 nm; 柱温30℃; 体积流量1.0 mL/min; 进样量40 μL。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 准确称取雷公藤红素对照品5.33 mg置10 mL量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 得到0.533 mg/mL对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取适量的雷公藤红素缓释滴丸溶于一定量的甲醇, 0.45 μm微孔滤膜滤过, 即得。

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取1 mL雷公藤红素对照品溶液置于25 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 得21.32 μg/mL的对照品储备液, 分别精密量取储备液0.5、1.0、2.0、3.0、5.0、6.0 mL置10 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 分别HPLC进样, 测定。以雷公藤红素质量浓度为横坐标( $X$ ), 峰面积积分值为纵坐标( $Y$ )进行线性回归, 得回归方程 $Y=37.072 X-15.599$ ,  $r=0.997 8$ , 表明雷公藤红素在1.066~12.792 μg/mL线性关系良好。

**2.1.5 精密度试验** 取同一份供试品溶液, HPLC进样测定雷公藤红素峰面积, 重复6次, 结果峰面积的RSD为0.96%, 表明本方法精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 分别于0、2、4、6、8、10、12、24 h取样HPLC进样,

测定雷公藤红素峰面积, 结果峰面积的RSD值为1.37%, 表明供试品溶液至少在24 h内稳定性良好。

**2.1.7 重复性试验** 精密称取同一批雷公藤红素滴丸6份, 平行制备一定质量浓度的6份供试品溶液, 分别进样, 测定雷公藤红素的质量分数, 结果其质量分数的RSD为1.16%, 表明重复性良好。

**2.1.8 回收率试验** 精密称取同一批雷公藤红素滴丸6份, 分别加入适量的对照品溶液, 平行制备一定质量浓度的6份供试品溶液, 0.45 μm微孔滤膜滤过。按上述色谱条件分别进样, 依法测定, 计算回收率和RSD。结果雷公藤红素的平均回收率为98.61%, RSD为1.57%。

### 2.2 体外释放度的测定

按照《中国药典》2010年版二部附录XC浆法, 以0.5%聚山梨酯80为释放介质, 调节转速100 r/min, 温度(37±0.5)℃。每份样品平行测定3次, 分别于0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12 h取样5 mL, 立即补充同温度等体积的释放介质, 以0.45 μm微孔滤膜滤过, 取滤液进行HPLC测定, 计算释放介质中雷公藤红素的量, 并换算成累积释放率, 绘制体外释放时间曲线图。

### 2.3 缓释滴丸的制备

**2.3.1 基质筛选** 选择PEG 4000为速释性固体分散体载体材料, 先后尝试使用硬脂酸(SC)和GM两种缓释型载体材料, 固定药物与载体质量比1:10, 并按照不同的缓释和速释载体比例进行预试验, 考察其释放度。

初步试验结果表明, 使用SC作为缓释基质时, 药物溶出慢且释放不完全, 而使用GM作为缓释基质则药物释放度较高。这可能是由于GM不仅作为缓释载体, 同时作为一种安全的表面活性剂, 其结构中亲水基团甘油能够在一定程度上促进药物溶出。结果见图1。结果表明, SC和GM都能起到一定的缓释效果, 且随着缓释基质比例的增加, 药物释放越慢。当缓释载体与速释载体比例为1:1时, 药物释放慢而且释放不完全, 当缓释载体与速释载体比例为1:9时, 药物则释放太快。因此初步确定两基质比例筛选范围确定在1:1~1:9, 以确保获得缓释效果良好的载体。

**2.3.2 滴丸的制备** 固定雷公藤红素与载体质量比为1:10, 精密称取雷公藤红素原料药适量, 加适量无水乙醇溶解。按一定质量比分别称取GM和PEG 4000两种载体, 置于蒸发皿内, 于75℃水浴

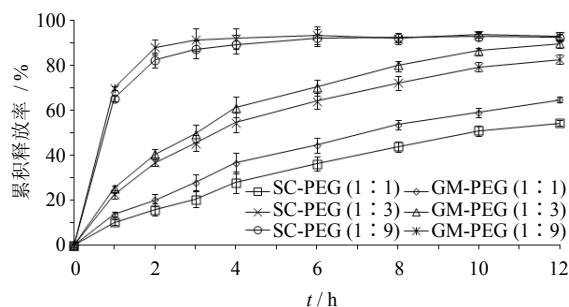


图1 不同载体及其比例对药物释放的影响

Fig. 1 Effect of different carrier materials and their ratios on drug release

锅上加热至完全熔融, 然后加入雷公藤红素乙醇溶液搅拌均匀, 待挥去乙醇后, 趁热倒入滴丸机料斗中, 调节滴丸机温度控制系统, 包括滴速、滴径、和滴距等, 然后滴入冷却液中冷却, 取出小丸, 用纱布除去表面的冷凝液, 即得。

#### 2.4 不同载体比例对滴丸释放度的影响

将制备好的不同载体比例的滴丸按照“2.2”项下的方法进行体外释放度的测定并绘制体外释放曲线图, 结果见图2。结果表明, 载体的比例是影响滴丸释药速率的重要因素, GM的比例越小, 药物释放越快; 其比例越大, 药物释放越慢, 而且释放不完全。当GM与PEG 4000质量比为3:7时, 该缓释滴丸1 h累积释放25%, 12 h的最大累积释放率可达90%。故经上述试验可发现当雷公藤红素、GM和PEG 4000的质量比为1:3:7时, 药物缓释效果良好, 基本符合缓释设计要求。

#### 2.5 缓释滴丸滴制条件的优化

滴丸的成型性受处方组成、药料温度、滴距、冷凝液温度、滴速等因素的影响, 以上研究已基本确定了雷公藤红素缓释滴丸的处方比例。以滴丸的成型性和丸重差异作为考察指标来评价滴丸成型的影响因素。

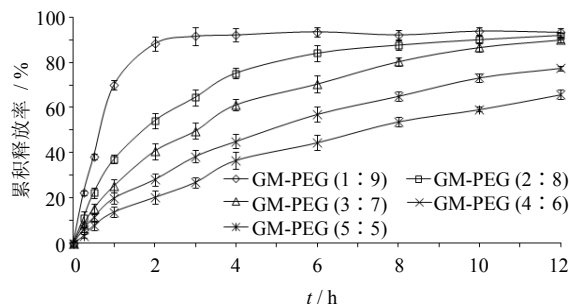


图2 不同载体比例对药物释放的影响

Fig. 2 Effect of different ratios of carrier materials on drug release

**2.5.1 药料温度** 药料温度是形成滴丸的基础, 药料温度过低, 载体无法熔融成液态, 无法成型, 温度过高可能发生局部焦糊现象, 易使滴丸表面褶皱严重, 圆整度降低。只有保持适宜的温度才能保证基质充分融化, 和雷公藤红素充分混合形成固体分散体, 然后保持在一定温条件下进行滴制, 才能得到光滑圆整的滴丸。

**2.5.2 滴距** 滴距主要影响滴丸的成型性和圆整度。滴距过大, 液滴容易成扁形状或产生小丸; 滴距过小, 液滴来不及收缩就进入冷凝液而形成不圆整的滴丸, 本研究分别考察滴距为5、7、9 cm时滴距对滴丸成型的影响。

**2.5.3 冷凝液温度** 经过预试验, 选用二甲基硅油作为冷凝液可以满足制备滴丸的要求。冷凝液的温度宜在15℃以下, 有利于丸子进一步充分收缩、冷凝成型, 防止丸子之间相互粘连成团。

**2.5.4 滴速** 当滴速很快时, 滴丸间易粘连, 圆整度较差, 甚至影响滴丸的成型; 滴速过慢圆整度好, 成型性好, 但容易增加丸质量差异, 应尽可能在不影响成型效果的情况下提高滴速, 结合预试验, 滴速选择在10~40滴/min。

**2.5.5 正交试验考察** 经考察已确定药物与载体比例、载体种类、冷凝液种类等, 将药料温度(A)、滴速(B)、冷凝液温度(C)、滴距(D)作为考察因素, 以滴丸圆整度和质量差异作为考察指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验, 进一步优化滴丸的制备条件。变异系数越小, 滴丸的质量越理想。圆整度的评价指标按1~5分进行评价, 且规定圆整度最好为1分, 最差为5分。选择滴丸的圆整度和丸质量差异两指标权重各占50%, 进行综合评价。综合得分=圆整度 $\times 0.5$ +质量差异 $\times 0.5$ , 其数值越小越好。 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果见表1, 方差分析见表2。

对正交试验结果进行直观分析和方差分析, 结果表明, 对雷公藤红素缓释滴丸成型的影响因素大小依次为 $B>A>C>D$ ; 相对于因素D, 因素A、B具有显著影响( $P<0.05$ ), 因素C无显著影响。最优处方组合为 $A_2B_2C_3D_1$ , 即药料温度为75~80℃, 滴速为20滴/min, 冷凝液温度为10~15℃, 滴距为5 cm。

#### 2.6 验证试验

按照上述优化的工艺制备3批雷公藤红素缓释滴丸, 并进行圆整度、丸质量差异和体外释放的测

表1 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

| 试验号   | A / °C    | B / (滴·min <sup>-1</sup> ) | C / °C    | D / cm | 圆整度  | 丸质量差异 / % | 综合得分 |
|-------|-----------|----------------------------|-----------|--------|------|-----------|------|
| 1     | 65~70 (1) | 10 (1)                     | 0~5 (1)   | 5 (1)  | 4.22 | 3.84      | 4.03 |
| 2     | 65~70 (1) | 20 (2)                     | 5~10 (2)  | 7 (2)  | 2.62 | 3.76      | 3.19 |
| 3     | 65~70 (1) | 40 (3)                     | 10~15 (3) | 9 (3)  | 4.78 | 3.16      | 3.97 |
| 4     | 75~80 (2) | 10 (1)                     | 5~10 (2)  | 9 (3)  | 4.22 | 2.08      | 3.15 |
| 5     | 75~80 (2) | 20 (2)                     | 10~15 (3) | 5 (1)  | 1.82 | 1.20      | 1.51 |
| 6     | 75~80 (2) | 40 (3)                     | 0~5 (1)   | 7 (2)  | 4.33 | 2.27      | 3.30 |
| 7     | 85~90 (3) | 10 (1)                     | 10~15 (3) | 7 (2)  | 2.81 | 4.17      | 3.49 |
| 8     | 85~90 (3) | 20 (2)                     | 0~5 (1)   | 9 (3)  | 2.32 | 2.78      | 2.55 |
| 9     | 85~90 (3) | 40 (3)                     | 5~10 (2)  | 5 (1)  | 3.07 | 4.45      | 3.76 |
| $K_1$ | 11.19     | 10.67                      | 9.88      | 9.30   |      |           |      |
| $K_2$ | 7.96      | 7.25                       | 10.10     | 9.98   |      |           |      |
| $K_3$ | 9.80      | 11.03                      | 8.97      | 9.67   |      |           |      |
| R     | 3.23      | 3.78                       | 1.13      | 0.68   |      |           |      |

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

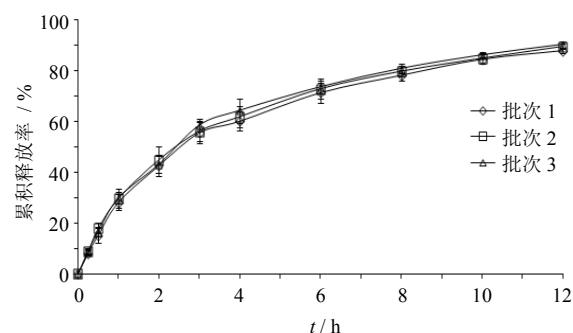
| 变异来源   | 偏差平方和 | 自由度 | F 值    | 显著性        |
|--------|-------|-----|--------|------------|
| A      | 1.750 | 2   | 22.727 | $P < 0.05$ |
| B      | 2.902 | 2   | 37.688 | $P < 0.05$ |
| C      | 0.239 | 2   | 3.104  |            |
| D (误差) | 0.077 | 2   | 1.000  |            |

 $F_{0.05}(1, 2) = 19.00$ 

定。结果表明该工艺条件下制备的缓释滴丸，其圆整度、丸质量差异和体外累积释放率无显著差异，且均达到缓释的要求，设计的结果是可靠的。结果见表3和图3。

### 2.7 差示扫描量热分析

以三氧化二铝为参比物，升温速度 10 °C/min，升温范围 0~400 °C，分别对雷公藤红素原料药、PEG 4000、GM、缓释滴丸（将其研磨成粉末，其中雷公藤红素、GM 和 PEG 4000 的质量比为 1:3:7）及其相应比例的物理混合物进行 DSC 分析，结

图3 不同批次样品体外释放度曲线 ( $n=3$ )Fig. 3 *In vitro* release curves of different batches of samples ( $n=3$ )

果见图4。从图中可以看出，载体 PEG 4000 和 GM 在 63 °C 和 74.5 °C 分别呈现出尖锐的吸热峰；雷公藤红素原料药在 161 °C 左右有一明显的放热峰，在 215 °C 呈现出一明显的吸热峰；其物理混合物呈现出三者各自的特征峰，表明该混合物只是原料药和载体的简单混合；而滴丸中只有载体的吸热峰，并没有出现药物的吸热峰或放热峰，说明雷公藤红素主要以非晶形态分散在滴丸中。

### 3 讨论

本实验采用 PEG 4000 和 GM 作为基质，制备雷公藤红素固体分散体型缓释滴丸。GM 为脂溶性基质，可以延缓药物的释放。在前期的预试验中，以 SC 为载体，结果药物释放较慢而且释放不完全。GM 具较好的乳化作用，有利于药物的溶出。实验发现 GM 和 PEG 4000 联合使用制备的滴丸不仅成型性

表3 验证试验结果

Table 3 Results of verification tests

| 批次 | 圆整度  | 丸质量差异 / % | 累积释放率 / % |       |       |
|----|------|-----------|-----------|-------|-------|
|    |      |           | 2 h       | 6 h   | 12 h  |
| 1  | 1.85 | 1.24      | 46.94     | 71.84 | 91.45 |
| 2  | 1.79 | 1.52      | 47.83     | 72.47 | 90.58 |
| 3  | 1.88 | 1.37      | 47.24     | 72.06 | 91.21 |

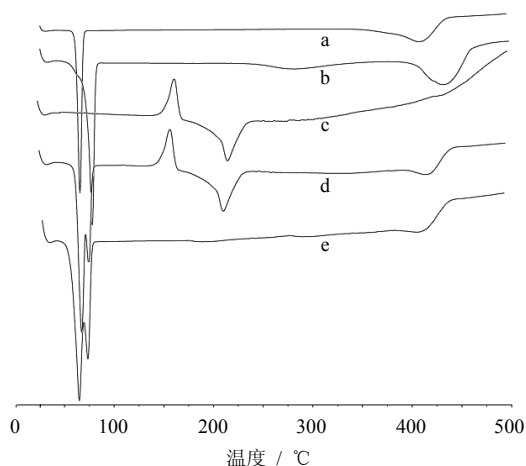


图4 PEG 4000 (a)、GM (b)、雷公藤红素 (c)、物理混合物 (d) 和雷公藤红素缓释滴丸 (e) 的 DSC 扫描图

Fig. 4 DSC analysis of PEG 4000 (a), GM (b), tripterin (c), physical mixture (d), and TSRDPs (e)

好，而且药物释放较完全。

本研究发现，雷公藤红素、GM 和 PEG 4000 的质量比为 1:3:7 制备的固体分散体型缓释滴丸具有较好地促进溶出和缓慢释药的效果，12 h 累积释放率可达 90%。差示扫描量热分析结果表明药物主要以无定形态分散在载体中，这种分散形态也有助于药物的溶出。

#### 参考文献

- [1] 刘为萍, 刘素香, 唐慧珠, 等. 雷公藤研究新进展 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1215-1218.
- [2] Tozawa K, Sagawa M, Kizaki M. Quinone methide tripterine, celastrol, induces apoptosis in human myeloma cells via NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(5): 1117-1122.

- [3] Zhang D H, Marconi A, Xu L M, *et al*. Tripterine inhibits the expression of adhesion molecules in activated endothelial cells [J]. *J Leukocyte Biol*, 2006, 80(2): 309-319.
- [4] Yang H J, Chen D, Cui Q C, *et al*. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese “thunder of god vine” is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4758-4765.
- [5] Trott A, West J D, Klaić L, *et al*. Activation of heat shock and antioxidant responses by the natural product celastrol: transcriptional signatures of a thiol-targeted molecule [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 1104-1112.
- [6] 薛 璟, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤化学成分及其毒性研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 726-733.
- [7] 黄煜伦, 周 岱. 雷公藤红素纳米脂质体的制备及抗胶质瘤的实验研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2009.
- [8] 薛云云, 玛尔江·巴哈·提别克, 王 彦, 等. 大鼠血浆中雷公藤红素的 HPLC 法测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(7): 532-535.
- [9] 薛 璟, 贾晓斌. 雷公藤主要成分肠吸收动力学研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2010.
- [10] 王曙宾, 黄兰芷. 葛根素固体分散体的分散状态及其体外评价 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1632-1634.
- [11] 韩 刚, 阎林奇, 索 炜, 等. 大黄素固体分散体的制备及其溶出度测定 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 487-490.
- [12] 王 婴, 罗虹嘉, 王 欢. 固体分散体在缓释制剂中的应用 [J]. 中国药业, 2002, 11(11): 72-74.
- [13] 陈 超, 周福军, 刘时乔, 等. 固体分散技术在中药制剂中的应用 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(4): 279-282.
- [14] 戴寿荣, 靳晓青, 沈 越, 等. 滴丸剂对雷公藤减毒增效的实验研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(5): 32-33.