

丹参酮组分缓释固体分散体的研究

陈小云^{1,2}, 张振海¹, 郁丹红^{1,2}, 刘丹¹, 金慧芬¹, 杨世林³, 贾晓斌^{1,2*}

1. 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

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

3. 江西本草天工科技有限责任公司, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 制备丹参酮组分缓释固体分散体, 以提高其体外溶出, 并控制药物的释放。方法 以单硬脂酸甘油酯(GMS)和高相对分子质量的聚氧乙烯(PEO)为复合载体, 用溶剂熔融法制备缓释固体分散体, 考察其体外释药性能, 并利用SEM、DSC、XRD、FTIR等表征手段对固体分散体的结构特征进行分析研究。结果 药物与复合载体(GMS-PEO 2:1)比例为1:8时所制备的固体分散体取得了较好的缓释效果, 指标成分的12 h体外累积溶出度均达90%以上; 物相分析结果表明药物以非晶型状态高度分散于载体中。结论 以GMS和PEO为载体制备的丹参酮组分固体分散体能显著改善药物的溶出, 且缓释效果良好, 具有实际应用价值。

关键词: 丹参酮组分; 固体分散体; 缓释; 复合载体; 体外释放; 溶出; 单硬脂酸甘油酯; 聚氧乙烯

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)17-2391-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.17.010

Studies on sustained release solid dispersion of tanshinone composition

CHEN Xiao-yun^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, YU Dan-hong^{1,2}, LIU Dan¹, JIN Hui-fen¹, YANG Shi-lin³, JIA Xiao-bin^{1,2}

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

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

3. Jiangxi Herbfine High-technological Co., Ltd., Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To prepare the sustained release solid dispersions of tanshinone composition with the intention of improving drug dissolution and controlling drug release. **Methods** The glycerin monostearate (GMS) and polyethylene oxide (PEO) were used as composite carriers to prepare tanshinone solid dispersions by solvent melting method and the *in vitro* dissolution of tanshinone solid dispersions was performed. The structure of solid dispersions was characterized by SEM, DSC, XRD, and FTIR. **Results** When the ratio of drug to composite carriers (GMS-PEO 2:1) was 1:8, the solid dispersions had a better sustained release effect, the accumulative drug-release percent *in vitro* at 12 h was over 90%, and the results from the phase analysis indicated that the tanshinone composition existed in carriers as amorphous state. **Conclusion** The *in vitro* dissolution of tanshinone is greatly improved by the solid dispersions with GMS-PEO as its carriers. And it exhibits excellent release characteristics *in vitro* with the actual applied value.

Key words: tanshinone composition; solid dispersion; sustained release; composite carriers; *in vitro* release; dissolution; glycerin monostearate; polyethylene oxide

丹参酮组分系从丹参中提取的脂溶性有效成分, 含有邻醌或对醌结构, 其中量较高的为丹参酮II_A、隐丹参酮、丹参酮I、二氢丹参酮I等。丹参酮组分药理作用广泛, 具有抑菌、抗炎、扩冠、抑制脂质过氧化, 保护心肌细胞等作用^[1-2]。但由于其难溶于水, 口服吸收差, 使其药效的发挥受到很大

收稿日期: 2013-04-08

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划“基于中药有效成分群的中药组方设计技术研究”课题(2008BA151B03); 江苏省高等学校大学生创新训练计划项目(011042004000); 江苏省中医药领军人才专项(2006)

作者简介: 陈小云, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂新剂型研究。Tel: 15850519215 E-mail: chenxy1190@163.com

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

的限制^[3]。

目前,改善丹参酮组分的体外溶出及延缓其释放的方法主要有微囊、微丸及固体分散体技术^[4-5]。利用难溶性载体、肠溶性载体或脂质材料制备的缓释固体分散体不但能够提高难溶性药物的溶出和生物利用度,还能延缓和控制药物释放,减少给药次数^[6-7]。本实验选用缓释骨架材料单硬脂酸甘油酯(GMS)和高相对分子质量的聚氧乙烯(PEO)为复合载体,制备丹参酮组分缓释固体分散体,以期提高丹参酮组分的溶出,并控制其释放度,达到较好的缓释效果,减少给药次数,长效保护心血管系统。

1 仪器与试药

ZRS—8G 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); UV—2450 型紫外分光光度仪(日本岛津); Mettler204 十万分之一天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪(包括四元泵,自动进样器,DAD 二极管阵列检测器),6390LV 扫描电镜(日本电子公司); DSC204 差示扫描量热仪(德国 Netzsch 公司); D8 型 X—射线衍射仪(德国 Bruker 公司); 470—傅里叶红外光谱仪(美国 Nicolet 公司)。

对照品丹参酮 I、丹参酮 II_A(批号分别为 110867-200205、110766-200619,中国药品生物制品检定所);丹参酮组分(批号 20121125,质量分数 >80%,其组成为 21.8%丹参酮 I、55.2%丹参酮 II_A,购于西安小草植物科技有限责任公司);单硬脂酸甘油酯(成都市科龙化工试剂厂,批号 20100816);聚氧乙烯(攻碧克新材料科技有限公司,相对分子质量 6×10^6);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 丹参酮组分指标成分的定量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(75:25);体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 °C;检测波长 268 nm。可得到丹参酮 I 与丹参酮 II_A 有效分离色谱图,见图 1。

2.1.2 线性关系考察 精密称取对照品丹参酮 I 4.78 mg、丹参酮 II_A 9.98 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,得各指标成分的混合对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.5、4.0、5.0、7.5 mL 至 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取滤液,HPLC 法测定

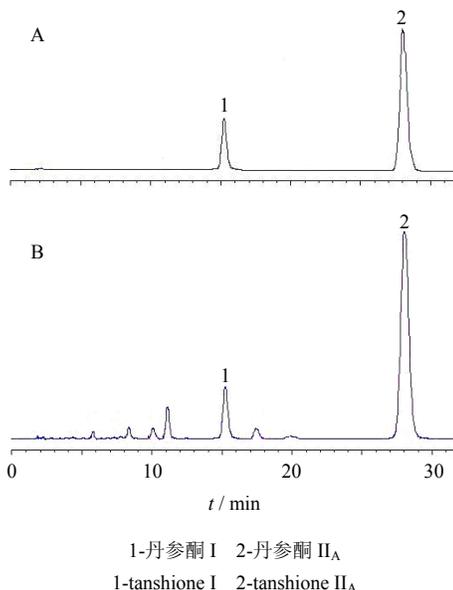


图 1 混合对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A) and sample (B)

其对应的峰面积,以质量浓度为横坐标(X),对应的峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程:丹参酮 I $Y=16.763 X-26.114$, $r=0.999 6$;丹参酮 II_A $Y=47.726 X-48.855$, $r=0.999 7$ 。结果表明,丹参酮 I 在 4.78~95.6 μg/mL、丹参酮 II_A 在 9.98~199.6 μg/mL 线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液的制备 取丹参酮组分固体分散体适量,精密称取 1.07 g,置 250 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,超声,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.1.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液,重复进样 6 次,测定其峰面积,得丹参酮 I 峰面积的 RSD 为 1.68%,丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 为 1.43%,表明该方法精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样,测定其峰面积值,得丹参酮 I 峰面积的 RSD 为 1.71%,丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 为 1.57%,表明该供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.6 重复性试验 精密称取同一份丹参酮组分固体分散体 6 份,平行配制一定质量浓度的 6 份供试品溶液,分别进样,测定峰面积,计算,丹参酮 I 质量分数的 RSD 为 1.89%,丹参酮 II_A 质量分数的 RSD 为 1.72%,表明重复性好。

2.1.7 回收率试验 精密称取已测定的丹参酮组分

固体分散体, 制备成供试品溶液 6 份, 分别加入丹参酮 I 和丹参酮 II_A 对照品溶液适量, 精密吸取混合溶液 1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 分别进样, 测定并计算平均回收率及其 RSD, 结果丹参酮 I 分别为 97.51%、2.18%, 丹参酮 II_A 分别为 95.99%、1.89%。

2.1.8 样品测定 精密称取 3 份丹参酮组分固体分散体(药物与载体比例为 1 : 8)适量, 分别置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液, 按“2.1.1”项下方法进样测定, 计算样品中丹参酮 I 和丹参酮 II_A 的量, 结果丹参酮 I 平均量为 2.24%, RSD 为 1.27%, 丹参酮 II_A 的平均量为 5.96%, RSD 为 1.59%。

2.2 固体分散体及物理混合物的制备

2.2.1 单一载体固体分散体的制备 采用溶剂熔融法制备固体分散体, 先称取丹参酮组分原料药适量, 分散于少量无水乙醇中, 按药物与载体质量比为 1 : 4、1 : 6、1 : 8、1 : 10 精密称取 GMS 和 PEO 2 种载体水浴加热熔融, 加入上述乙醇分散的原料药, 充分搅拌, 挥干乙醇, 然后迅速倾倒在冰浴不锈钢板上, 涂成薄层, 置冰箱中(温度为 -20 °C)冷却

6 h, 用药勺刮掉凝结的固体分散体, 置真空干燥器中干燥, 待脆化后研细, 过筛, 即得。

2.2.2 复合载体固体分散体的制备 固定药物与载体质量比为 1 : 8, 载体中 GMS 和 PEO 分别以 4 : 1、2 : 1、1 : 1、1 : 2 的质量比例, 按照“2.2.1”项下方法分别制备丹参酮组分复合载体的固体分散体, 备用。

2.2.3 物理混合物的制备 称取丹参酮组分原料药适量, 按 1 : 8 质量比例称取复合载体(GMS 和 PEO 比例为 2 : 1)置于乳钵中研细, 混匀, 过 80 目筛, 即得, 置干燥器内保存备用。

2.3 溶出度测定

按《中国药典》2010 年版二部规定的浆法测定, 精密称取丹参酮原料药和固体分散体分别装于胶囊中, 置于 900 mL 含 0.5% 十二烷基硫酸钠的水溶液中, 转速为 50 r/min, 介质温度为 (37.0 ± 0.5) °C, 定时取样 5 mL, 并迅速补充等体积等温度的溶出介质, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 精密量取 10 μL, 注入液相色谱仪中, 记录峰面积, 计算样品质量浓度, 得出对应时间点药物的累积溶出度。结果见图 2、3。

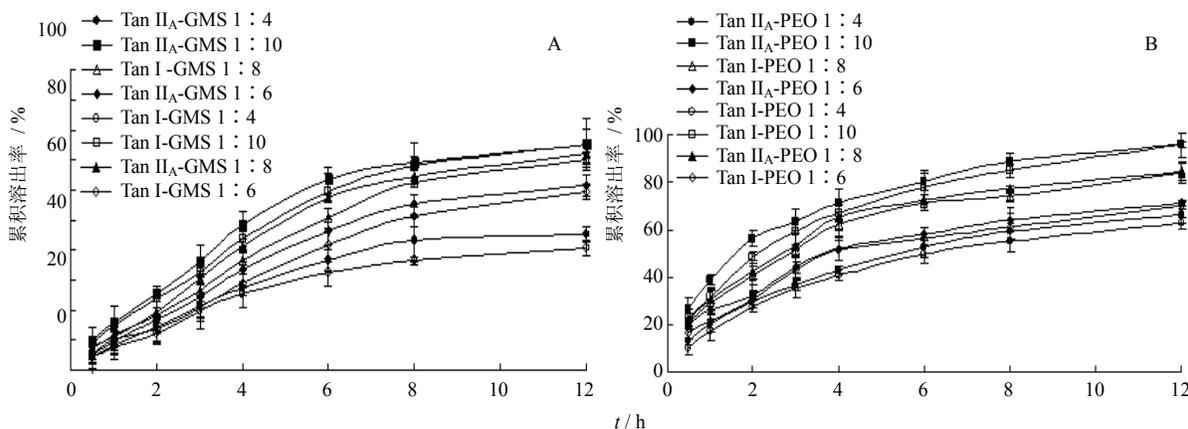


图 2 不同比例 GMS (A) 和 PEO (B) 对丹参酮组分溶出的影响 (n=6)

Fig. 2 Effects of GMS (A) and PEO (B) in different ratios on dissolution of tanshinone composition (n=6)

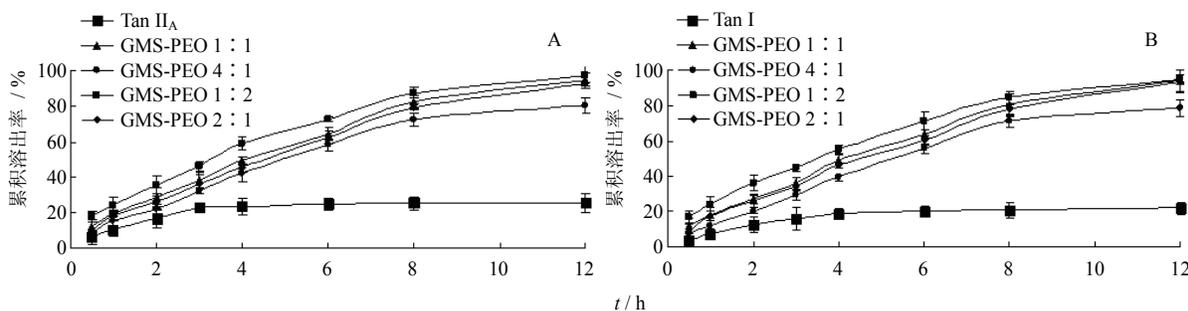


图 3 复合载体中 GMS 和 PEO 不同比例对丹参酮组分中丹参酮 II_A (A) 和丹参酮 I (B) 溶出的影响 (n=6)

Fig. 3 Effects of GMS and PEO in different ratios on dissolution of tanshinone II_A (A) and tanshinone I (B) (n=6)

GMS 是一种常用的乳化剂,由图 2-A 可以看出 GMS 能提高丹参酮组分的体外溶出,这几个比例的处方中随着药物与载体比例增大,药物 12 h 的累积溶出率逐渐增大,当药物与载体比为 1:8 时,12 h 的体外累积溶出率超过 70%,继续增加载体比例时,体外累积溶出率增加不显著。由图 2-B 可以看出 PEO 能提高丹参酮组分的体外溶出,高相对分子质量的 PEO 水溶性好,对丹参酮组分具有较强的增溶作用,同时由于其黏度较大,对药物的释放存在一定的阻滞作用。随着载体比例的增加,其体外累积溶出率逐渐增大,当药物与载体比例为 1:10 时,药物释放较快,6 h 溶出已达 80%。综合考虑,确定药物与载体的比例为 1:8。GMS 作为丹参酮组分固体分散体的载体,能提高其体外溶出,但未达到理想的效果。而 PEO 作为丹参酮组分固体分散体的载体,体外溶出明显增强,但药物释放过快,因而考虑将 2 种载体联合应用,制备丹参酮组分固体分散体。由图 3 可知,当复合载体中 GMS 和 PEO 比例为 1:2 时,6 h 的累积溶出率达 72.54%,缓释效果仍旧不明显;当 GMS 和 PEO 比例为 2:1 和 1:1 时,药物缓慢稳定释放,12 h 的体外累积溶出率均达到 90%以上,考虑到 PEO 较为黏稠,因而确定 GMS 和 PEO 比例为 2:1。GMS 和 PEO (2:1) 作为复合载体制成的丹参酮组分固体分散体较单一载体固体分散体的累积溶出率更高,表明复合载体可能对提高丹参酮组分的累积溶出率有协同作用,其机制有待进一步研究^[8-9]。

2.4 固体分散体的表征

2.4.1 扫描电镜 (SEM) 分析 由图 4 可知,丹参酮组分中存在片状晶体,而在固体分散体中该晶型消失,则初步证明丹参酮组分以非晶体形式高度分散于复合载体中。

2.4.2 差示量热扫描 (DSC) 分析 以空铝钳锅为参比物,另一铝锅中放入适量样品,扫描范围 0~

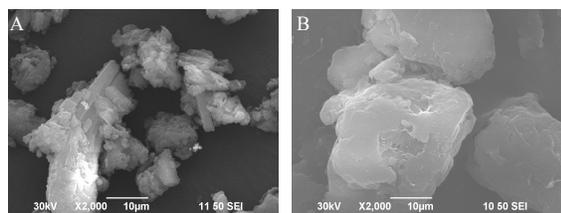


图 4 丹参酮组分原料药 (A)、固体分散体 (B) 的 SEM 图
Fig. 4 SEM images of tanshinone raw drug (A) and solid dispersion (B)

400 °C, 升温速率: 10 °C/min, 分别对丹参酮组分、复合载体、药物与载体的混合物和固体分散体进行 DSC 分析, 结果见图 5。DSC 实验结果表明, 丹参酮组分原料药在 170 °C 和 188 °C 左右处出现 2 个明显吸热峰; 复合载体 GMS 和 PEO 在 74 °C 处有明显的放热峰; 丹参酮组分与载体的物理混合物中药物的吸热峰仍存在, 说明药物晶型未改变, 二者仅为物理混合; 固体分散体仅在 74 °C 处有一明显的放热峰, 原料药的特征峰均已消失, 这说明固体分散体中丹参酮组分在复合载体中已由晶态完全转变成无定型状态, 并高度分散于载体中。

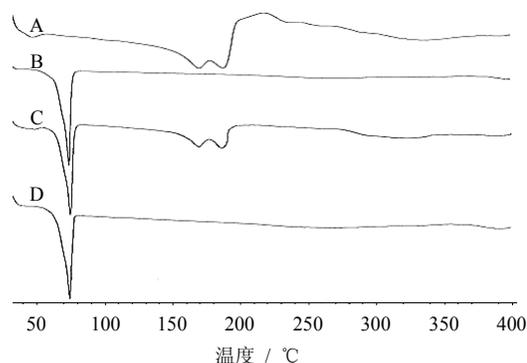


图 5 丹参酮组分原料药 (A)、载体 (B)、丹参酮组分和载体 (1:8) 的物理混合物 (C)、固体分散体 (D) 的 DSC 图

Fig. 5 DSC curves of tanshinone raw drug (A), carriers (B), physical mixture of tanshinone-carrier (1:8, C), and solid dispersion (D)

2.4.3 X-射线粉末衍射法 (XRD) 分析 测试条件为 Cu 靶 (40 kV, 40 mV); 步进扫描: 0.01°/步; 扫描范围: 5°~70°; 扫描速度: 4°/min。分别对丹参酮组分、复合载体、药物与载体的混合物和固体分散体进行 XRD 分析, 结果见图 6。XRD 曲线图结果表明, 丹参酮组分在 5°~30°有多个结晶特征衍射峰; 复合载体 GMS 和 PEO 在 5°~50°有多个强的特征衍射峰, 物理混合物的衍射图中丹参酮组分仍有结晶衍射峰存在, 强度减弱, 说明药物的晶型未改变; 而在固体分散体的衍射图中仅出现载体的特征峰, 丹参酮组分的特征峰几乎消失, 说明载体对药物的晶型具有抑制作用, 丹参酮组分以非结晶状态高度分散在复合载体中。

2.4.4 红外光谱 (FTIR) 分析 分别取丹参酮组分、复合载体、药物与载体的混合物和固体分散体少许, 与 KBr 在干燥环境下混合制片后, 在 4 000~400 cm⁻¹ 进行 FTIR 分析, 结果见图 7。图 7-A 为丹参

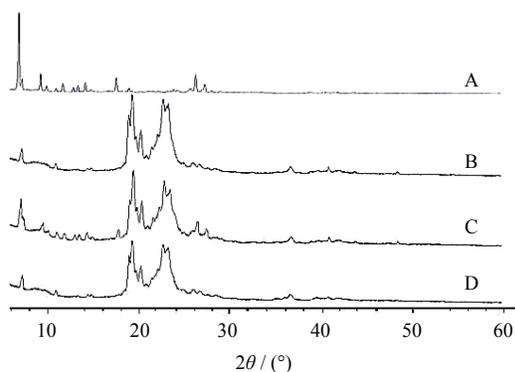


图6 丹参酮组分原料药(A)、载体(B)、丹参酮组分和载体(1:8)的物理混合物(C)、固体分散体(D)的XRD图

Fig. 6 XRD patterns of tanshinone raw drug (A), carriers (B), physical mixture of tanshinone-carrier (1:8, C), and solid dispersion (D)

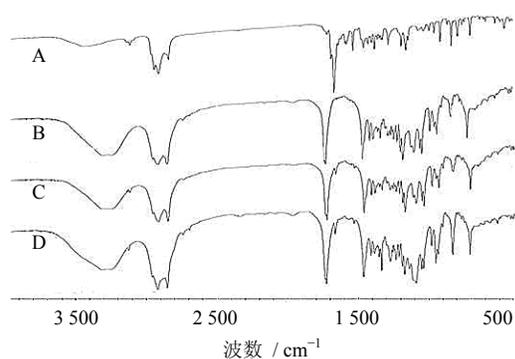


图7 丹参酮组分原料药(A)、载体(B)、丹参酮组分和载体(1:8)的物理混合物(C)、固体分散体(D)的FTIR图

Fig. 7 FTIR spectra of tanshinone raw drug (A), carriers (B), physical mixture of tanshinone-carrier (1:8, C), and solid dispersion (D)

酮组分原料药的FTIR图,其中,在波长 2810 cm^{-1} 左右处有一明显的吸收峰,可能是由于 $-\text{CH}_3$ 的伸缩振动引起的, $\text{C}=\text{O}$ 在 1680 cm^{-1} 处左右有一尖锐吸收峰;物理混合物中的特征峰为原料药与载体峰的简单叠加,载体在一定程度上掩盖了原料药的某些官能团峰,使得原料药的特征峰强度减弱;固体分散体与物理混合物的红外光谱图基本相似,未见新的吸收峰,说明丹参酮组分与复合载体之间仅为物理吸附作用,没有发生相互的化学作用。

3 讨论

中药成分复杂,性质多样,具有多组分协同、多环节或多靶点发挥疗效的特点。根据中药各组分生物药剂学性质和作用特点,运用现代制剂技术提

高中药组分的吸收利用,优化组分间的协同效应,是目前中药研究的热点问题^[10]。而目前中药的大多数现代新剂型都是以中药的某个单一的活性成分作为研究对象,中药组分是多成分的集合体,为了充分体现中医药学的统一性和完整性,本实验将丹参的脂溶性成分即丹参酮组分作为一个整体单元,制备丹参酮组分缓释固体分散体,增加药物的溶出度,提高其生物利用度,且控制药物的释放。本实验中丹参酮组分中丹参酮 II_A 和丹参酮I的量较高,文献报道^[11-12]这2种成分具有较强的药理活性,可作为代表组分整体性质的代表性成分,因而选择二者作为指标成分进行评价。

GMS是一种高脂溶性的分子骨架材料,具有生物相容性好,无毒性,在体内可降解等优点,被广泛地用在缓释给药体系中以延迟药物的释放^[13]。但由于药物从GMS中释放的速率较慢,故需要在体系中加入水溶性载体来调节释药速率。PEO是一种水溶性高聚物,高相对分子质量的PEO可溶于水和某些有机溶剂,具有较好的生物相容性,吸湿性小,其溶液在很低的浓度下就具有很高的粘度,具有一定的缓释作用,因而选择其作为释放调节剂,控制药物的释放。

本实验将一种生物溶蚀性骨架材料GMS和水溶性材料高相对分子质量PEO联合使用,制备丹参酮组分缓释固体分散体,与原料药相比,固体分散体达到了增溶、调节药物缓慢释放的良好效果。通过SEM、DSC、XRD、FTIR等表征手段,证明了固体分散体中药物以非晶形式存在于载体中,丹参酮组分分散度提高,与溶出介质的接触面增加,体外溶出效果好,并且达到了理想的缓释效果。本实验为丹参酮组分口服给药制剂的研究与发展提供了参考。

参考文献

- [1] 严丽,李永胜,梁黔生,等.丹参酮 II_A 磺酸钠对大鼠肥厚心肌血管紧张素受体STAT3的影响[J].中草药,2010,41(4):588-592.
- [2] 陈磊,陆茵,郑仕中.丹参药理活性成分的整合效应[J].中草药,2009,40(3):476-479.
- [3] Zhao X, Liu X, Gan L S, et al. Preparation and physicochemical characterizations of tanshinone II_A solid dispersion [J]. Arch Pharm Res, 2011, 34(6): 949-959.
- [4] 胡荣,罗先钦,励娜,等.丹参酮缓释微囊的制备工艺研究[J].中草药,2012,43(11):2173-2176.
- [5] 陈斌,萧伟,贾晓斌,等.通脉复方微丸多元释药

- 系统中丹参酮缓释单元的制备工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 39-43.
- [6] Ha J M, Kang S Y, Park C W, *et al.* Effect of poloxamer on physicochemical properties of tacrolimus solid dispersion improving water solubility and dissolution rate [J]. *J Pharm Invest*, 2012, 42(4): 171-176.
- [7] Shim J B, Kim M J, Kim S J, *et al.* Dissolution properties of control released solid dispersion of carvedilol with HPMC and Eudragit RS [J]. *J Pharm Invest*, 2012, 42(5): 285-291.
- [8] 蒋艳荣, 张振海, 陆 艳, 等. 丹参酮 II_A 二元载体固体分散体的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10): 37-41.
- [9] Al-Obaidia H, Ke P, Brocchini S, *et al.* Characterization and stability of ternary solid dispersions with PVP and PHPMA [J]. *Int J Pharm*, 2012, 419(1/2): 20-27.
- [10] 刘 丹, 贾晓斌, 郁丹红, 等. 基于中药组分的中药多元释药系统的构建 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2338-2342.
- [11] Lee W Y W, Zhou X L, Or P M Y, *et al.* Tanshinone I increases CYP1A2 protein expression and enzyme activity in primary rat hepatocytes [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(2): 169-176.
- [12] Gao S, Liu Z P, Li H, *et al.* Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone II_A [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(1): 3-10.
- [13] Sughir A, Lahiani-Skiba M, Skiba M. Preparation of tiagabine HCl/2-HPCD complex pellets by extrusion-spheronization using glycerol monostearate as pellet aid [J]. *Lett Drug Design Discov*, 2010, 7(1): 63-69.