

黄芩苷-Eudragit L100-55 肠溶固体分散体制备及其体外释放度评价

严红梅^{1,2}, 张振海¹, 蒋艳荣¹, 丁冬梅¹, 孙 娥¹, 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研究室, 江苏 南京 210028

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 拟制备黄芩苷-Eudragit L100-55 肠溶固体分散体, 考察黄芩苷肠溶制剂的可行性。方法 采用溶剂蒸发法制备黄芩苷-Eudragit L100-55 (EL) 肠溶固体分散体, 运用差示扫描量热法 (DSC)、扫描电镜法 (SEM)、X 射线粉末衍射法 (XRD) 和傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 等分析方法对其微观结构和理化性质进行了分析, 并对其体外释放性能进行考察。结果 DSC 和 XRD 分析结果显示黄芩苷以无定形形式分散在固体分散体中, FTIR 结果表明黄芩苷与 EL 之间存在非共价键作用。体外释放度测定结果表明, 黄芩苷-EL 比例达到 1:6 时所制备的固体分散体, 黄芩苷在 pH 1.2 的稀盐酸溶液中 2 h 的释放量小于 3%, 在 pH 6.8 的磷酸缓冲液中, 2 h 累积溶出度达到 90% 以上。结论 所制备的肠溶固体分散体能够达到黄芩苷在人工肠液中的快速释放和增加局部药物浓度的目的, 从而改善黄芩苷的口服吸收。

关键词: 黄芩苷; Eudragit L100-55; 肠溶固体分散体; 体外释放度; 溶剂蒸发法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)20-2841-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.20.010

Evaluation on preparation process of baicalin-Eudragit L100-55 enteric coated solid dispersion and its *in vitro* release

YAN Hong-mei^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, JIANG Yan-rong¹, DING Dong-mei¹, SUN E¹, 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

Abstract: Objective To prepare the baicalin-Eudragit L100-55 (EL) enteric coated solid dispersion and to investigate the feasibility of this baicalin preparation. **Methods** Baicalin-EL enteric coated solid dispersion was prepared by using solvent evaporation method. The microscopic structure and physicochemical properties of solid dispersion were analyzed using differential scanning calorimetry (DSC), scanning electron microscopy (SEM), X-ray powder diffraction (XRD), and infrared vibrational spectra (IR). And its *in vitro* release was also investigated. **Results** DSC and XRD analyses suggested that baicalin may be present in enteric coated solid dispersion as amorphous substance. IR results indicated the presence of interactions between baicalin and EL. The *in vitro* release showed the accumulated dissolution rate of baicalin was less than 3% in artificial pH 1.2 dilute hydrochloric acid solution for 2 h, but an accumulated dissolution rate exceeding 90% in pH 6.8 phosphate buffer solution for 2 h when baicalin-EL ratio reached 1:6. **Conclusion** Baicalin-EL enteric coated solid dispersion prepared could release drug rapidly and increase local drug concentration and then improve the oral absorption of baicalin.

Key words: baicalin; Eudragit L100-55; enteric coated solid dispersion; *in vitro* release; solvent evaporation method

黄芩苷 (baicalin) 是唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 中的一种黄酮类有效成分, 具有镇静、降压、抗心律失常、心肌保护以及对不同原因引起的肝损伤具有保护作用^[1], 但其水溶性差^[2], 体内溶出速率低, 限制了药效的发挥。

为改善黄芩苷的溶出度, 将其制备成固体分散体这一实验研究已有较多的文献报道^[3-5]。但是采用聚乙二醇 (PEG) 和聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 作为载体时, 其本身在酸性介质中会迅速溶解, 而黄芩苷在酸性条件下溶解度极低, 将会影响固体分散体的促

收稿日期: 2013-06-17

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划 (2008BAI51B03); 江苏省社会发展科技支撑计划 (BE2010756); 江苏省中医药科技项目 (LZ11065)

作者简介: 严红梅, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂新剂型研究。Tel: (025)85608672 E-mail: yanhongmei0716@163.com

*通信作者 贾晓斌 Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: ji Xiaobinpharmacy@163.com

溶出效果。相比前面的载体,药用丙烯酸树脂中的 Eudragit L100-55 (EL) 是 pH 依赖型的药用辅料,可用于保护和隔离包衣或在胃肠道不同部位释放药物,其无毒、无刺激,且不被人体吸收,常被用于制备肠溶制剂^[6-7]。黄芩苷的溶解度随着 pH 值的升高而增加^[8],本研究尝试将黄芩苷与 EL 通过溶剂法制备成肠溶固体分散体^[9],使固体分散体在 pH 值相对较高的肠道中溶解,以促进黄芩苷的溶出和口服吸收。

1 仪器与材料

DSC204 差示扫描量热仪(德国 Netzsch 公司); 6390LV 扫描电镜(日本电子公司); 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); Agilent 1100 高效液相色谱仪; ZB—2E 智能崩解仪(天大天发仪器公司)。

黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110715-200514,质量分数 $\geq 98\%$); 黄芩苷(南京泽郎医药科技有限公司,批号 ZL20121015A,质量分数 98%); EL(德国 Evonik 公司,批号 B120604025); 甲醇、磷酸为色谱纯,水为高纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 黄芩苷-EL 肠溶固体分散体的制备 称取黄芩苷原料药,加一定量的 95%乙醇溶解。根据药物与载体的质量比为 1:4、1:6、1:8,分别称取 EL 适量,溶解于一定量的 95%乙醇。药物与载体的乙醇溶液充分混匀,40℃减压蒸除溶剂,真空干燥,研细过 100 目筛,即得黄芩苷-EL 肠溶固体分散体,置干燥器内保存备用。

2.1.2 物理混合物的制备 按质量比 1:6 分别称取黄芩苷原料药和 EL,于研钵中混合均匀,得物理混合物,保存备用。

2.2 体外溶出试验

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent HC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.01%甲酸水溶液(53:47); 检测波长 280 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35℃; 进样量 20 μL。理论塔板数以黄芩苷峰计不低于 3 000^[8]。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 4.32 mg,置于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品储备液。精密吸取对照品储备液 1.0 mL,置于 25 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,

摇匀,得质量浓度为 17.28 μg/mL 对照品溶液。

2.2.3 线性关系考察 分别精密吸取黄芩苷对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 各置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件取样,进行 HPLC 测定其对应的峰面积,将质量浓度(X)与峰面积(Y)进行线性回归,得标准曲线方程 $Y=41.600X+6.585$, $r=0.9996$; 线性范围 0.173~17.280 μg/mL。

2.2.4 药物的溶出度测定 精密称取黄芩苷原料药及其与 EL 按不同比例制备的肠溶固体分散体(相当于黄芩苷 10 mg),采用《中国药典》2010 年版二部附录 XC 溶出度测定法中第二法,即桨法测定。转速 50 r/min,温度(37±0.5)℃,释放介质选择 pH 1.2 的稀盐酸和 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS),根据食物在体内的转运过程和时间,考察黄芩苷及其固体分散体在 pH 1.2 的稀盐酸中 2 h 的药物溶出度,并分别于 0.5、1、2 h 取样 2 mL(同时补加同温度等量溶出介质),以及在 pH 6.8 的 PBS 中 2 h 的累积溶出度,分别于 2、5、10、30、60、90、120 min 取样 2 mL(同时补加同温度等量溶出介质),以 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液 20 μL 进行 HPLC 测定,测定结果代入标准曲线方程计算黄芩苷质量浓度,并换算成累积溶出率,结果见表 1 和图 1。实验结果显示,黄芩苷-EL 3 种不同比例制备的肠溶固体分散体,在 pH 1.2 的稀盐酸溶液中黄芩苷都有少量释放,但都小于黄芩苷原料药的溶出度,并且随着载体 EL 比例的增加,固体分散体中黄芩苷的溶出度逐渐减小。

图 1 反映了以不同黄芩苷-EL 比例制备的肠溶固体分散体,在 pH 6.8 的 PBS 中的药物释放行为,黄芩苷-EL 肠溶固体分散体的累积溶出率均明显大于黄芩苷原料药,且随着载体比例的增大而增大,当黄芩苷-EL 比例达到 1:6 时,所制备的固体分散体中黄芩苷 2 h 累积溶出度即达到 90%以上。

表 1 黄芩苷及其肠溶固体分散体在 pH 1.2 的稀盐酸中的释放度 ($n=3$)

Table 1 Release of baicalin and baicalin-EL in pH 1.2 HCl solution ($n=3$)

时间 / h	黄芩苷 / %	黄芩苷-EL / %		
		1:4	1:6	1:8
0.5	10.93	4.34	2.11	1.94
1	15.63	5.72	2.58	2.25
2	18.62	6.53	2.97	2.56

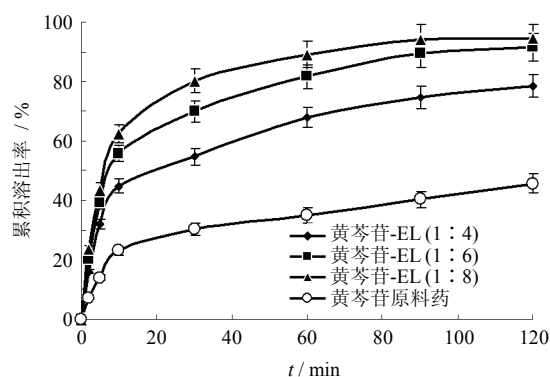


图1 黄芩苷与及其肠溶固体分散体在 pH 6.8 的 PBS 中的溶出曲线 ($n=3$)

Fig. 1 Dissolution curves of baicalin and baicalin-EL in pH 6.8 PBS ($n=3$)

2.3 固体分散体物相表征

2.3.1 电子扫描显微镜 (SEM) 观察 测试条件为真空镀金 70 s, 采用 SEM 观察黄芩苷、EL、黄芩苷与 EL 的物理混合物 (1:6) 及黄芩苷-EL 固体分散体 (1:6) 的表面和晶体结构, 结果见图 2。电镜扫描结果显示, 黄芩苷原料药呈现竖条形纤维状, EL 为球形或类球形颗粒, 物理混合物中可见黄芩苷和 EL 的特征, 而在固体分散体的电镜图谱中黄芩苷的晶体特征基本消失。

2.3.2 差示扫描量热法 (DSC) 分析 测试条件为铝坩埚; 气氛: 氮气; 升温速率为 10.00 °C/min; 升温范围为 25~400 °C。分别对黄芩苷、EL、黄芩苷与 EL 的物理混合物 (1:6) 及黄芩苷-EL 固体分散体 (1:6) 进行 DSC 分析, 结果见图 3。DSC

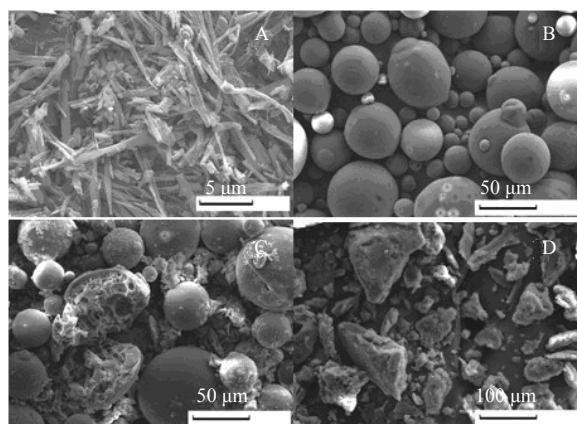


图2 黄芩苷 (A)、EL (B)、黄芩苷与 EL 物理混合物 (1:6, C)、黄芩苷-EL 固体分散体 (1:6, D) 的 SEM 图

Fig. 2 SEM imagines of baicalin (A), EL (B), baicalin-EL physical mixture (1:6, C), and baicalin-EL solid dispersion (1:6, D)

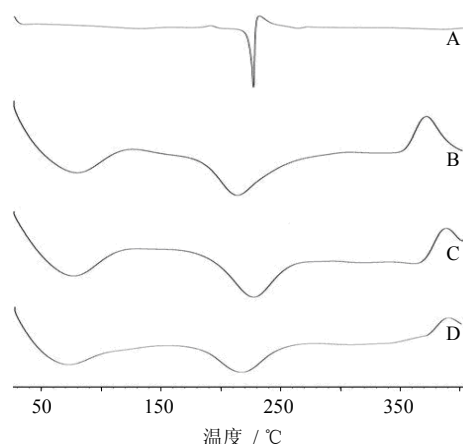


图3 黄芩苷 (A)、EL (B)、黄芩苷与 EL 物理混合物 (1:6, C)、黄芩苷-EL 固体分散体 (1:6, D) 的 DSC 图

Fig. 3 DSC curves of baicalin (A), baicalin-EL (B), baicalin-EL physical mixtures (1:6, C), and baicalin-EL solid dispersion (1:6, D)

曲线图显示, 黄芩苷在 229 °C 处出现 1 个明显吸热峰; EL 在 75 °C 和 217 °C 处均有 1 个吸热峰, 在 363 °C 处有 1 个放热峰; 物理混合物中 226 °C 处的吸热峰可以认为是由黄芩苷的吸热峰与 EL 在其附近的吸热峰相重叠所致, 说明二者仅为简单的物理混合; 黄芩苷-EL 固体分散体中只见载体的 2 个吸热峰和 1 个放热峰, 原料药的特征峰消失, 说明固体分散体中黄芩苷可能以无定形形式存在。

2.3.3 傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 采用 KBr 压片法测定 FTIR, 将样品与 KBr 在干燥环境下混合制片后, 分辨率为 4 cm^{-1} , 4 000~500 cm^{-1} 全谱扫描, 结果见图 4。FTIR 结果可见, 黄芩苷-EL 物理混合物 (1:6) 中, 3 450 cm^{-1} 和 1 760 cm^{-1} 左右的峰可以认为是黄芩苷 3 500 cm^{-1} 处的羟基伸缩振动峰和 1 740 cm^{-1} 处的羰基峰与 EL 在附近的峰叠加形成的, 但物理混合物和 EL 的 FTIR 整体还是较接近, 是由于 EL 的比例较大, 所以有可能黄芩苷的部分峰位被掩盖了。固体分散体 (1:6) 的 FTIR 中各峰值较小, 不明显, 但黄芩苷在 3 600 cm^{-1} 左右的羟基伸缩振动峰及 1 750 cm^{-1} 左右的-COOH 中羰基特征吸收峰都明显减小或消失, EL 在 1 780 cm^{-1} 左右羰基特征吸收峰减弱, 所以黄芩苷与 EL 之间可能存在非共价键缔合。

2.3.4 X 射线粉末衍射法分析 (XRD) 测试条件为 Cu 靶 (40 kV, 40 mV); 步进扫描: 0.01°/步; 扫描范围为 5°~70°; 扫描速度为 4°/min, 结果见图 5。XRD 分析结果显示, 黄芩苷在 5°~40°有多

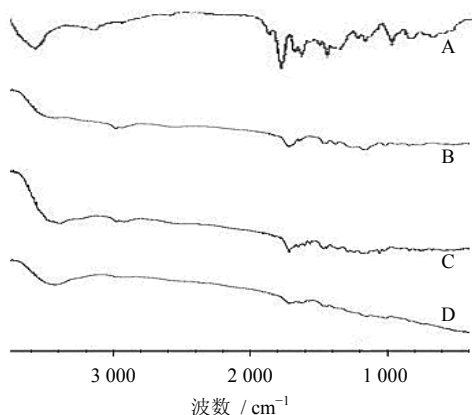


图4 黄芩苷 (A)、EL (B)、黄芩苷与 EL 物理混合物 (1 : 6, C)、黄芩苷-EL 固体分散体 (1 : 6, D) 的 FTIR 图

Fig. 4 FTIR patterns of baicalin (A), EL (B), baicalin-EL physical mixtures (1 : 6, C), and baicalin-EL solid dispersion (1 : 6, D)

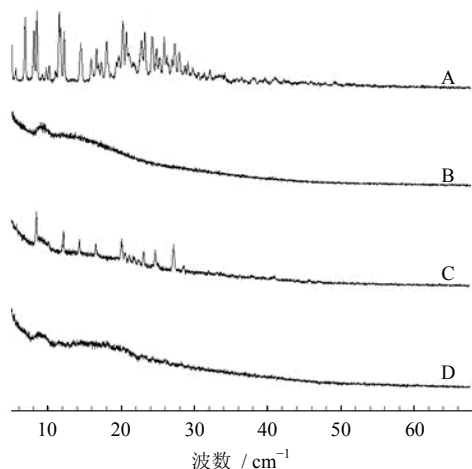


图5 黄芩苷 (A)、EL (B)、黄芩苷与 EL 物理混合物 (1 : 6, C)、黄芩苷-EL 固体分散体 (1 : 6, D) 的 XRD 图

Fig. 5 XRD of baicalin (A), EL (B), baicalin-EL physical mixtures (1 : 6, C), and baicalin-EL solid dispersion (1 : 6, D)

个强的结晶特征衍射峰; EL 为高分子化合物, 故没有明显的衍射峰; 物理混合物 (1 : 6) 的谱线中黄芩苷结晶衍射峰仍然存在, 说明黄芩苷和 EL 只是简单的物理混合, 药物的结晶形式并未改变; 而在固体分散体 (1 : 6) 的谱线中, 黄芩苷结晶特征峰几乎消失, 进一步说明黄芩苷可能以无定形形式分散于载体中。

3 讨论

关于载体材料的选择, 常用的肠溶衣主要是丙烯酸树脂类聚合物, 国外产品分为 Eudragit S 型和 Eudragit L 型, S 型者可在 pH 7 以上的肠液中溶解,

药物释放大多发生在结肠部位, L 型者在 pH 5.5 以上的介质中溶解, 多用小肠定位释药^[10-11]。所以本研究选择 EL 为载体, 采用溶剂挥发法制备黄芩苷肠溶固体分散体。一方面, EL 在 pH>5.5 时开始溶解, 药物在经过胃时基本不释放或释放很少, 不仅避免了黄芩苷在胃液中的团聚现象, 而且减少其用量; 另一方面, SEM、DSC、IR 和 XRD 实验表明, 黄芩苷以无定形形式分散于载体中, 使其在肠道中快速释放, 提高局部药物浓度, 从而显著改善了黄芩苷的溶出度, 且随着载体比例的增加, 固体分散体的溶出速率也随之增加, 当黄芩苷和 EL 的比例达到 1 : 6 时, 2 h 累积溶出度达到 90% 以上。本研究成功制备了黄芩苷-EL 肠溶固体分散体, 能够避免黄芩苷在胃液中的释放和团聚作用, 从而达到其在肠道中的快速释放和增加局部药物浓度的目的。

参考文献

- [1] 文 敏, 李 雪, 付守廷. 黄芩苷药理作用研究新进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(2): 158-162.
- [2] 史亚军, 吴品江, 许润春, 等. 黄芩苷磷脂复合物基本性质研究 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 78-82.
- [3] 叶玉杰, 钱 敏. 黄芩苷固体分散体的制备及其体外溶出情况 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(22): 1905-1908.
- [4] 郭瑞光, 罗俊杰, 高晓燕, 等. 黄芩苷固体分散体的制备及差示扫描量热研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 25-27.
- [5] 王玉秀, 王玉璧, 胡海洋, 等. 黄芩苷 PVP_{K30} 固体分散体的研制 [J]. 山西医科大学学报, 2012, 18(13): 959-962.
- [6] 白 靖, 李 骞, 王 静, 等. 药用丙烯酸树脂在制剂中的应用进展 [J]. 中国药房, 2011, 22(17): 1613-1616.
- [7] 尹进朝, 李 进, 高永良. 中药肠溶制剂研究进展 [J]. 中成药, 2011, 33(2): 315-318.
- [8] 欧水平, 王 森, 张海燕, 等. 黄芩苷溶解性能的测定与表征 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(20): 3954-3957.
- [9] 任浩洋, 刘 倩, 蔡雯雯, 等. 双嘧达莫肠溶固体分散物及其缓释微丸的研究 [J]. 科学技术与工程, 2008, 8(9): 2340-2343.
- [10] 张兆旺. 中药药剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [11] Jelvehgari M, Zakeri-Milani P, Siahi-Shadbad M R, et al. Development of pH-sensitive insulin nanoparticles using Eudragit L100-55 and chitosan with different molecular weights [J]. AAPS PharmSciTech, 2010, 11(3): 1237-1242.