

香青兰总黄酮微丸制备工艺及释药机制研究

姜雯¹, 何承辉², 邢建国^{2*}

1. 新疆医科大学第六附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830000

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

摘要: 目的 优化香青兰总黄酮微丸制备工艺, 初步探讨其释药机制。方法 采用 Box-Behnken 中心组合设计, 以挤出速率、滚圆速率、滚圆时间为自变量, 收率、脆碎度、圆整度和总评归一化值 (OD) 为因变量, 利用响应曲面法 (response surface methodology, RSM) 分析自变量对因变量的影响, 确定较优条件进行验证试验。通过体外溶出试验考察微丸的累积溶出率, 采用扫描电镜技术观察微丸内部结构。结果 香青兰总黄酮微丸最佳制备工艺条件: 挤出速率 36.96 Hz, 滚圆速率 37.18 Hz, 滚圆时间 5 min。在此条件下, 预测值和测定值偏差绝对值均 < 4%, 与模型拟合程度较高。微丸累积溶出度较好, 采用扫描电镜可观察到微丸内部形成骨架结构。结论 优化了香青兰总黄酮微丸制备工艺, 该方法科学、简便、可行。微丸吸水膨胀崩解的原因是低取代羟丙基纤维素的强溶胀作用。

关键词: 香青兰总黄酮; Box-Behnken 中心组合设计; 微丸; 溶出试验; 扫描电镜技术

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)21-3004-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.21.012

Preparation technology of *Dracocephalum moldavica* total flavonoids pellets and its release mechanism

JIANG Wen¹, HE Cheng-hui², XING Jian-guo²

1. The Sixth Clinical Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China

Abstract: Objective To optimize the preparation technology of the *Dracocephalum moldavica* total flavonoids pellets (DMTFP), and to study its release mechanism. **Methods** The Box-Behnken central composite design was used, and the extrusion speed, spheronisation speed, and spheronisation time were taken as the independent variables; The yield, friability, sphericity, and general normalized value were taken as dependent variables. The response surface methodology (RSM) was used to estimate the relationship between the dependent and independent variables, and to validate the optimal formulation. Then the dissolution behaviors of DMTFP were investigated by *in vitro* dissolution test. The internal structure of DMTFP was observed by scanning electron microscopy (SEM). **Results** The optimal conditions were as follows: the extrusion speed was 36.96 Hz, the spheronisation speed was 37.18 Hz, and the spheronisation time was 5 min. Under these conditions, the measured value was consistent with the predicated value with RSD < 4%. The dissolution rate of DMTFP was good, and the internal structure of DMTFP was matrix type by SEM. **Conclusion** The preparation technology of DMTFP is optimized, which is simple and feasible. The bulge of low-substituted hydroxypropyl cellulose is the reason of disintegration of DMTFP.

Key words: total flavonoids from *Dracocephalum moldavica*; Box-Behnken central composite design; pellets; dissolution test; scanning electron microscope

香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 为唇形科一年生草本植物, 是维吾尔医习用药材, 用于治疗冠心病、高血压等疾病, 主要有效成分为黄酮类化合物^[1-3]。

微丸 (pellets) 是目前广泛使用的一种多单元剂量分散型口服固体制剂, 与单剂量剂型 (如片剂、

收稿日期: 2013-06-18

基金项目: 国家科技重大专项——重大新药创制 (2012ZX09102201-009)

作者简介: 姜雯, 研究生, 研究方向为新药研究与开发。Tel: 15026018390 E-mail: 523524359@qq.com

*通信作者 邢建国, 硕士生导师, 研究员。Tel: (0991)2300682 E-mail: xjguodd@163.com

胶囊剂)相比,具有以下特点^[4-5]:①在胃肠道分布面积大,对胃肠道刺激性小;②血药浓度重现性好,受胃排空影响小;③可改善中药易吸潮特性,提高药物稳定性。根据临床需要可制成速释微丸、缓释微丸、控释微丸、靶向微丸、定位微丸、漂浮微丸、自微乳化微丸、固体分散体微丸等^[4-7]。这使得微丸在治疗冠心病、高血压等疾病方面具有一定优势,在现代药品研发和应用上越来越受到重视^[8]。

本研究以香青兰总黄酮为原料,前期研究表明,香青兰总黄酮水溶性差、流动性较差,吸湿性较大,若制成片剂或胶囊剂,生物利用度差;若制成滴丸剂,虽可改善其水溶性、流动性、吸湿性,但滴丸剂中使用聚乙二醇(PEG),PEG反复应用会导致人体亚急性毒性(靶器官为肾脏),主要的毒性是急性肾小管坏死及其所引起的急性肾功能衰竭^[9],滴丸剂易出现老化现象。故将香青兰总黄酮制备成微丸,改善其水溶性、流动性、吸湿性,提高生物利用度。

本研究采用挤出滚圆法^[10]制备香青兰总黄酮微丸,在单因素试验基础上,以挤出速率、滚圆速率和滚圆时间为自变量,以收率、脆碎度、圆整度和总评归一化值(OD)为因变量,采用3因素3水平Box-Behnken中心组合设计,优化微丸制备工艺。通过体外溶出度试验考察微丸的累积溶出度,采用扫描电镜技术观察微丸的内部结构,初步探讨微丸的释药机制。

1 仪器与材料

2501PC型紫外分光光度计(日本岛津公司),BP211D型电子天平(Sartorius公司);LEO-1430VP型扫描电子显微镜(德国蔡司公司);脆碎度检查仪、溶出试验仪(购自天津市天大天发科技有限公司);LXJ-10型立式旋转挤出机、SP-250型滚圆机(购自重庆帕泰克机械设备制造有限公司);沃特浦®实验室专用超纯水机(四川沃特科技发展有限公司);101A-2型数显电热鼓风干燥箱(上海锦屏仪器仪表有限公司通州分公司)。

香青兰总黄酮(新疆西部加斯特药业有限公司提供,以田蓟苷计,总黄酮质量分数为65%);微晶纤维素(MCC PH-101,德国JRS药用辅料公司,批号6610116238);微晶纤维素(MCC,湖州展望药业有限公司,批号20120910);交联聚乙烯吡咯烷酮(PVPP,德国BASF,批号53926677L0);淀粉、乳糖、羧甲基淀粉钠(CMS-Na)、低取代羟丙

基纤维素(L-HPC)、交联羧甲基纤维素钠(CCNa)、十二烷基硫酸钠(SDS)、无水乙醇均由国药集团化学试剂有限公司提供;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 香青兰总黄酮的定量测定

2.1.1 吸收波长的确定^[11] 精密称取香青兰总黄酮及微丸所用辅料(按处方量混匀)适量,分别置于含有0.5% SDS溶液的量瓶中,配制适宜质量浓度溶液,备用。以0.5% SDS溶液为空白,采用紫外分光光度法于200~700 nm进行紫外扫描。结果香青兰总黄酮在324 nm处有最大吸收,辅料在此波长处无紫外吸收,对测定无干扰。

2.1.2 线性关系考察 精密称取干燥至恒定质量的田蓟苷对照品适量,置25 mL量瓶中,加入70%乙醇超声溶解30 min,定容至刻度,摇匀,即得对照品储备液(200.4 μg/mL)。分别精密吸取对照品储备液0.3、0.5、1.0、2.0、3.0 mL置25 mL量瓶中,采用0.5% SDS溶液稀释至刻度,摇匀。以0.5% SDS溶液为空白,在324 nm处测定吸光度(A)值,以A值(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得回归曲线方程 $Y=0.049X+0.0037$, $r=0.9999$,线性范围2.4048~24.048 μg/mL。

2.1.3 供试品溶液的制备 取香青兰总黄酮微丸500 mg,按《中国药典》2010年版规定溶出度测定法中第三法(桨法),以250 mL 0.5% SDS水溶液为溶出介质,转速为100 r/min,依法操作3.0 h,即得。

2.1.4 样品测定 取供试品溶液5 mL,经0.45 μm微孔膜滤过,取续滤液,稀释至适量,以0.5% SDS溶液为空白,在324 nm处测定A值。根据上述回归方程计算3.0 h香青兰总黄酮的溶出度。

$$\text{溶出度} = C_i V_i / CV$$

式中 C_i 为3.0 h微丸溶液浓度, V_i 为3.0 h微丸溶液体积, C 为香青兰总黄酮溶液浓度, V 为香青兰总黄酮溶液体积

2.2 微丸制备

取香青兰总黄酮15 g和辅料适量,过120目筛混匀;加入适量黏合剂不断捏合,制成软材;挤出机将软材制成条状物;开启滚圆机,调节滚圆转速,快速将条状物料接出,迅速置于滚圆机内,让条状物滚制成小丸;取出微丸,在烘箱内适度干燥,筛分,取30~40目筛网的微丸进行研究和评价。

2.3 考察指标选择

2.3.1 收率 30~40目微丸质量占微丸总质量的

比例(筛析法)。

2.3.2 脆碎度 微丸的脆碎度关系到产品质量,目前《中国药典》2010年版尚未收载微丸脆碎度的测定方法。文献报道常用方法是采用玻璃球与微丸一起置于脆碎仪旋转,测其定时的细粉量^[12]等。称取微丸 10 g (W_1),放入片剂测定四用仪的小盒里,震荡 5 min,取出微丸,用 40 目筛筛分,称量留在筛网上的微丸质量 (W_2)。利用下式计算脆碎度。

$$\text{脆碎度}=(W_1-W_2)/W_1$$

2.3.3 圆整度 采用平面临界稳定法(One Plane Critical Stability, OPCS)评价微丸的圆整度,即将一定量微丸置一光滑平板上,将平板一侧缓慢抬起,当 80%微丸突然滚动时,测量倾斜平面与水平面所成的夹角(Φ),该角度越小,表明微丸的圆整度越好^[13]。

2.4 微丸制备工艺单因素试验

2.4.1 稀释剂种类的考察 MCC 是常用的微丸稀释剂,能保留水分,制备软材时,可控制湿料中水的运动和分布,降低黏性;成丸时,可增加物料的可塑性,使圆柱体易于滚圆,具有一定黏合作用,赋予微丸一定的强度,是一种优良的成球促进剂^[14]。根据文献方法^[15-17]及预试验,分别以淀粉、乳糖、MCC 101、MCC 为稀释剂,制备香青兰总黄酮微丸,结果 30~40 目微丸收率分别为 65.32%、75.13%、85.46%、88.89%,脆碎度分别为 7.13%、5.72%、1.23%、1.12%, Φ 分别为 27.89°、24.45°、18.33°、17.56°,72 h 吸湿率分别为 13.02%、9.53%、3.86%、4.12%,3.0 h 香青兰总黄酮溶出度分别为 45.32%、67.26%、73.06%、76.19%。使用淀粉、乳糖制备的微丸,各项指标均不如 MCC 101、MCC 制备的微丸,从节约成本角度,稀释剂选定为 MCC。由溶出度结果可知,要制备合格的微丸,需要加入崩解剂。

2.4.2 载药量的考察 处方中载药量的大小直接关系到成丸的好坏^[14],经预试验,选择载药量 25%~40%进行考察。将香青兰总黄酮与辅料混合均匀,固定其他条件(稀释剂为 MCC),制备香青兰总黄酮微丸。结果载药量分别为 25%、30%、35%、40%时,30~40 目微丸收率分别为 88.72%、89.91%、90.42%、0,脆碎度分别为 1.01%、1.02%、1.12%、0, Φ 分别为 15.73°、16.89°、17.19°、0°。随着载药量的不断增大,微丸的各项指标略有下降,载药量为 40%时,无法成丸,故确定载药量为 35%。

2.4.3 黏合剂种类的考察 中药提取物通常黏性较

强,一般不选择具有致黏作用的溶液作为黏合剂,如羟丙甲基纤维素(HPMC),而选择水或不同体积分数的乙醇。一般而言,提取物易溶于水且黏度不大时,首选黏合剂为水;提取物具有一定黏性,为了降低其黏性,应考虑选用不同体积分数的乙醇为黏合剂。将香青兰总黄酮与辅料混合均匀,固定其他条件(稀释剂为 MCC,载药量 35%),分别以水及 5%、15%、25%、35%乙醇为黏合剂,制备香青兰总黄酮微丸。结果 30~40 目微丸收率分别为 80.56%、90.42%、89.46%、86.73%、82.76%,脆碎度分别为 1.22%、1.05%、1.13%、1.25%、1.30%, Φ 分别为 24.86°、17.34°、18.46°、19.21°、20.05°。微丸载药量为 35%,黏合剂为水时,捏制的软材黏度大,不易挤出,所制得的微丸圆整度较差;黏合剂为 5%乙醇时,捏制的软材黏度适中,易挤出,制得的微丸圆整度好;随着乙醇体积分数的升高,提取物黏度降低,不易黏合,圆整度不好。故黏合剂选定为 5%乙醇。

2.4.4 崩解剂种类的考察 MCC 为稀释剂,采用挤出滚圆法制备微丸,药物释放行为主要取决于提取物中有效成分的溶解度。若提取物中有效成分在介质中溶解度很大,为速释微丸;若提取物中有效成分在介质中溶解度很小,会形成骨架型的缓释微丸。崩解剂的加入可打破骨架结构,使提取物中有效成分迅速释放^[18]。将香青兰总黄酮与辅料混合均匀,固定其他条件(稀释剂为 MCC,载药量为 35%,黏合剂为 5%乙醇),分别以 CMS-Na、L-HPC、CCNa、PVPP 为崩解剂,制备香青兰总黄酮微丸。结果 30~40 目微丸收率分别为 89.94%、90.52%、87.71%、87.45%,脆碎度分别为 1.32%、1.09%、1.41%、1.21%, Φ 分别为 18.59°、17.35°、18.45°、18.81°,3.0 h 香青兰总黄酮溶出度分别为 87.26%、91.13%、89.48%、88.15%。崩解剂种类对各项指标影响不大,但对溶出速率有很大影响。为满足微丸制剂要求,故崩解剂选定为 L-HPC。

2.4.5 崩解剂用量的考察 崩解剂的用量将直接影响香青兰总黄酮的溶出。将香青兰总黄酮与辅料混合均匀,固定其他条件(稀释剂为 MCC,载药量 35%,黏合剂 5%乙醇),分别考察崩解剂 L-HPC 用量(1%、3%、5%),制备香青兰总黄酮微丸。结果 30~40 目微丸收率分别为 89.91%、90.39%、89.84%,脆碎度分别为 1.08%、1.07%、1.08%, Φ 分别为 17.77°、17.95°、17.91°,3.0 h 香青兰总黄

酮溶出度分别为 89.38%、91.13%、93.48%。崩解剂用量为 5%可满足微丸制剂要求, 故选定崩解剂用量为 5%。

2.5 Box-Behnken 中心组合设计优选微丸工艺^[19]

经多次预试验知, 影响挤出滚圆制丸工艺的 3 个主要因素, 即挤出速率 (X_1)、滚圆速率 (X_2) 和滚圆时间 (X_3) 为自变量, 以收率 (Y_1)、脆碎度 (Y_2 , 越小越好)、圆整度 (Y_3 , 越小越好)、总评归一化值 (OD) 为因变量 (响应值) 进行 Box-Behnken 中心组合设计, 建立数学模型优化成型工艺。每一自变量的低、中、高水平分别以 -1、0、1 进行编码, 各自变量的编码水平见表 1。Box-Behnken 试验设计表及不同条件下微丸 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、OD 的相应变化见表 1。第 13~17 次试验为 5 次重复的中心点试验, 用于考察模型的误差。

每个指标均标准化为 0~1 间的“归一值”, 各指标“归一值”求算几何平均数, 得 OD, $OD = (d_1 d_2 \cdots d_n)^{1/n}$, n 为指标数。对取值越小越好的因素和取值越大越好的因素, 采用 Hassan 方法分别进行数学转换求“归一值” d_{min} 和 d_{max} 。

$$d_{min} = (y_{max} - y_i) / (y_{max} - y_{min})$$

$$d_{max} = (y_i - y_{min}) / (y_{max} - y_{min})$$

采用 Design Expert 7.1.3 软件分别对 Y_1 、 Y_2 、

Y_3 、OD 进行分析。该软件可对数据分别进行线性、2 因素相互作用 (2FI)、二次多项式或更高次项的模型拟合, 以拟合优度 (r) 和置信区间 (P) 作为模型判定标准。结果软件提示对 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、OD 响应值的拟合均符合二次多项式模型, 故对数据进行二次多项式模型拟合, 分别得方程为 $Y_1 = -135.662 13 + 5.917 83 X_1 + 4.714 17 X_2 + 13.194 38 X_3 + 0.030 889 X_1 X_2 - 0.001 666 67 X_1 X_3 - 0.060 833 X_2 X_3 - 0.102 10 X_1^2 - 0.072 009 X_2^2 - 1.037 00 X_3^2$ ($r = 0.995 9$, $P < 0.000 1$); $Y_2 = 12.832 81 - 0.286 67 X_1 - 0.375 33 X_2 - 0.021 250 X_3 - 8.573 99 \times 10^{-18} X_1 X_2 + 0.001 X_1 X_3 - 0.012 167 X_2 X_3 + 0.003 933 33 X_1^2 + 0.005 933 3 X_2^2 + 0.044 687 X_3^2$ ($r = 0.995 5$, $P < 0.000 1$); $Y_3 = 57.590 12 - 0.960 50 X_1 - 0.568 50 X_2 - 2.583 13 X_3 - 0.023 067 X_1 X_2 + 0.022 X_1 X_3 + 0.015 167 X_2 X_3 + 0.019 893 X_1^2 + 0.018 160 X_2^2 + 0.107 25 X_3^2$ ($r = 0.988 9$, $P < 0.000 1$); $OD = -11.125 + 0.311 50 X_1 + 0.340 50 X_2 + 0.053 125 X_3 + 0.003 6 X_1 X_2 - 1.656 08 \times 10^{-16} X_1 X_3 + 0.010 833 X_2 X_3 - 0.006 088 89 X_1^2 - 0.007 2 X_2^2 - 0.041 875 X_3^2$ ($r = 0.994 6$, $P < 0.000 1$)。

表 2 可知, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、OD 总模型方程均显著 ($P < 0.000 1$), 4 个模型的 R^2 依次为 0.991 8、0.991 0、0.977 9、0.989 2; 失拟性检验不显著, P 值依次为 0.156 1、0.305 9、0.007 4、0.011 5, 表明 4 个回归模型的拟合情况良好, 回归方程的代表性较好, 能准确的预测实际情况。4 个模型的校正决定系数 R^2_{adj} 依次为 0.961 2、0.979 4、0.949 4、0.975 4, 表明 4 个模型能分别解释 96.12%、97.94%、94.94%、97.54% 响应值变化, 说明实验有较好的精确度和可靠性。因此 4 个模型拟合程度均良好, 实验误差很小, 可以用 4 个模型分别进行分析和预测。

2.6 验证试验

通过软件分析并结合回归模型的数学分析 (4 个拟合方程) 得到香青兰总黄酮微丸最优工艺条件: 挤出速率 36.96 Hz, 滚圆速率 37.18 Hz, 滚圆时间 5.22 min。为检验 RSM 方法的可靠性, 采用上述最优工艺条件制备微丸, 同时考虑到实际操作的情况, 将最优提取条件修正挤出速率 36.96 Hz, 滚圆速度 37.18 Hz, 滚圆时间 5 min, 重复 3 次求得实测值与预测值之间的误差, 结果见表 3。可见, 指标误差均小于 4%, 说明采用 Box-Behnken 设计-响应面优化得到的成型工艺条件参数准确可靠, 重现性好。

表 1 Box-Behnken 试验设计及响应值

Table 1 Design and response values of Box-Behnken test

试验号	X_1 / Hz	X_2 / Hz	X_3 / min	Y_1 / %	Y_2 / %	Y_3 / (°)	OD
1	30 (-1)	30 (-1)	5 (0)	84.75	1.18	20.59	0.54
2	45 (1)	30 (-1)	5 (0)	72.68	1.39	19.64	0.00
3	30 (-1)	45 (1)	5 (0)	84.19	1.32	23.36	0.00
4	45 (1)	45 (1)	5 (0)	79.07	1.53	17.22	0.27
5	30 (-1)	37.5 (0)	3 (-1)	83.08	1.08	21.44	0.49
6	45 (1)	37.5 (0)	3 (-1)	74.04	1.24	17.62	0.32
7	30 (-1)	37.5 (0)	7 (1)	86.16	1.13	20.94	0.56
8	45 (1)	37.5 (0)	7 (1)	77.02	1.35	18.44	0.39
9	37.5 (0)	30 (-1)	3 (-1)	79.39	1.08	20.31	0.50
10	37.5 (0)	45 (1)	3 (-1)	83.33	1.57	19.81	0.00
11	37.5 (0)	30 (-1)	7 (1)	82.03	1.42	18.76	0.43
12	37.5 (0)	45 (1)	7 (1)	82.32	1.18	19.17	0.58
13	37.5 (0)	37.5 (0)	5 (0)	89.72	0.82	18.09	0.94
14	37.5 (0)	37.5 (0)	5 (0)	90.11	0.74	18.19	0.97
15	37.5 (0)	37.5 (0)	5 (0)	90.23	0.81	17.86	0.96
16	37.5 (0)	37.5 (0)	5 (0)	90.63	0.81	18.06	0.96
17	37.5 (0)	37.5 (0)	5 (0)	89.14	0.82	18.11	0.92

表2 Y₁、Y₂、Y₃和OD二项式回归模型系数显著性检验

Table 2 Significance test of coefficients in binomial regression models of Y₁, Y₂, Y₃, and OD

方差来源	Y ₁		Y ₂		Y ₃		OD	
	F值	P值	F值	P值	F值	P值	F值	P值
模型	94.00	<0.000 1	85.54	<0.000 1	34.34	<0.000 1	71.56	<0.000 1
X ₁	262.52	<0.000 1	53.72	0.000 2	166.31	<0.000 1	16.18	0.005 0
X ₂	21.24	0.002 5	23.58	0.001 8	0.063	0.809 7	16.71	0.004 6
X ₃	12.41	0.009 7	1.02	0.347 1	3.23	0.115 2	18.37	0.003 6
X ₁ X ₂	20.27	0.002 8	0	1.000 0	49.82	0.000 2	57.05	0.000 1
X ₁ X ₃	0.004 197	0.950 2	0.60	0.462 4	3.22	0.115 7	0	1.000 0
X ₂ X ₃	5.59	0.050 0	89.46	<0.000 1	1.53	0.255 8	36.74	0.000 5
X ₁ ²	233.13	<0.000 1	138.40	<0.000 1	39.01	0.000 4	171.80	<0.000 1
X ₂ ²	115.97	<0.000 1	314.92	<0.000 1	32.51	0.000 7	240.22	<0.000 1
X ₃ ²	121.619 3	<0.000 1	90.33	<0.000 1	5.73	0.047 9	41.09	0.000 4
误差								
失拟项	3.03	0.156 1	1.69	0.305 9	19.59	0.007 4	15.437 5	0.011 5

表3 预测值与实测值的比较

Table 3 Comparison on predicted and measured values

响应值	预测值	实测值	误差 / %
Y ₁	90.26%	90.82%	0.62
		91.02%	0.84
		89.32%	1.04
Y ₂	0.80%	0.78%	2.50
		0.81%	1.25
		0.77%	3.75
Y ₃	18.16	18.21	0.28
		18.13	0.17
		17.96	1.10
OD	0.96	0.95	1.04
		0.94	2.08
		0.93	3.12

2.7 微丸体外溶出度试验

取香青兰总黄酮微丸 500 mg，按《中国药典》2010 年版规定溶出度测定法中第三法（桨法），以 250 mL 0.5% SDS 水溶液为溶出介质，转速为 100 r/min，依法操作 0.25、0.50、0.75、1.0、2.0、3.0 h 时，取溶液 5 mL，并迅速补加同温度同体积的释放介质。药液经 0.45 μm 微孔膜滤过，取续滤液，稀释至适量，以 0.5% SDS 溶液为空白溶剂，在 324 nm 处测定吸收度。根据“2.1.2”项下回归方程计算累积溶出率。按照优化工艺制备 3 批微丸，依照体外溶出度测定法，分别测定香青兰总黄酮微丸的体外

累积溶出度，结果见图 1。

$$\text{累积溶出率} = (V_n C_n + V_i \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / CV$$

C_n, C_i 为第 n 和 i 次取样点微丸溶液质量浓度，V_n, V_i 为第 n 和 i 次取样点微丸溶液体积；C 为香青兰总黄酮溶液质量浓度，V 为香青兰总黄酮溶液体积

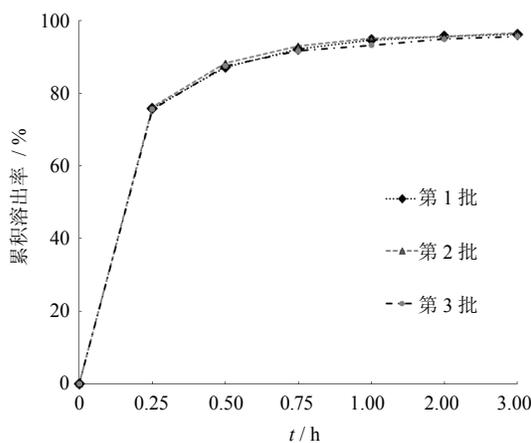


图1 体外溶出度考察

Fig. 1 Investigation of in vitro dissolution

2.8 扫描电镜观察微丸吸水膨胀到快速崩解的过程^[20-21]

微丸的崩解是一个动态过程，光学显微镜不能观察到微丸各成分的内部结构，因此采用扫描电镜观察内部结构。图 2 为 2 000 倍镜下，干燥微丸吸水膨胀到崩解的过程。图 2-a 为干燥微丸的内部情况，可见干燥微丸内部存在大量孔隙；图 2-b 为未

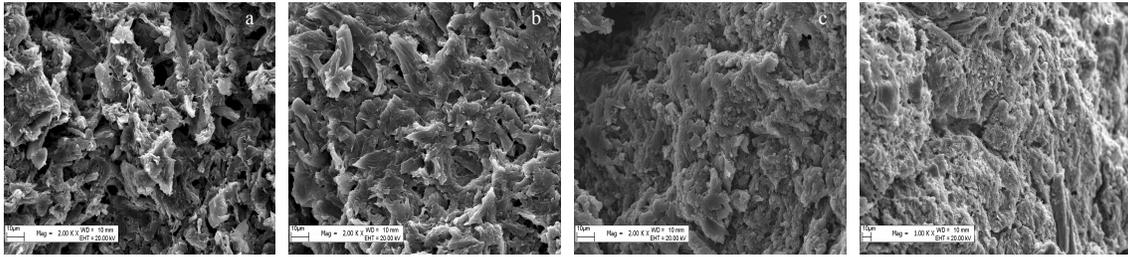


图2 干燥 (a)、未完全湿润 (b)、完全湿润 (c) 和崩解 (d) 微丸扫描电镜观察结果

Fig. 2 SEM photos of dried (a), wetting partially (b), wetting absolutely (c), and disintegration (d) pellets

完全润湿微丸的内部情况,可明显观察到未完全润湿的微丸内部孔隙变小;图 2-c 为完全润湿微丸的内部情况,可明显观察到完全润湿的微丸内部孔隙极小,几乎不可见;图 2-d 为崩解微丸的内部情况,可明显观察到崩解的微丸内部骨架结构断裂,形成较大孔洞,有利于总黄酮的溶出。

L-HPC 吸水膨胀明显(强溶胀作用),可打破 MCC 形成的骨架结构,形成孔洞促使有效成分溶出。前期实验中,在显微镜下观察香青兰总黄酮微丸,可见微丸遇水后膨胀,边缘出现裂痕,有光线透过,产生少量气泡;随着时间的延长,边缘裂痕增多,气泡增多;崩解后可见辅料与药物分散开,同时有气泡不断产生。

扫描电镜下观察干燥微丸从吸水膨胀到崩解的过程,可见干燥微丸边缘紧密结合、圆整光滑;吸水后微丸边缘疏松、出现裂痕;崩解后微丸边缘出现大量裂痕,甚至形成孔洞。干燥微丸内部存在大量孔隙;吸水后孔隙逐渐变小,直至几乎不可见;崩解后可见骨架结构断裂并有气泡逸出的痕迹(孔洞)。香青兰总黄酮微丸未使用泡腾崩解剂,产生气泡的原因可能为微丸外部为光滑圆整的小球,但内部 MCC 形成骨架结构,形成一个多孔体,水分通过孔隙进入微丸内部,将微丸内部的气体排出,形成气泡。

3 讨论

3.1 稀释剂种类的选择

MCC 是目前制备微丸常用的稀释剂之一。预实验中,分别考察了可溶性淀粉、糊精、蔗糖、淀粉、乳糖及不同厂家生产的 MCC 等辅料作为稀释剂。由于中药提取物黏度较大,使用可溶性淀粉、糊精、蔗糖制软材时,易结块,不易挤出条状物。因此以收率、圆整度、脆碎度、吸湿百分率、累积溶出度等为评价指标,对淀粉、乳糖及不同厂家生产的 MCC 进行进一步研究,结果湖州展望药业有限公司的 MCC 综合评分最高,故稀释剂选定为湖州展望

药业有限公司的 MCC。

3.2 崩解剂种类的选择

微丸的抗张强度受粒子间接触角的数量、粒子间粘合力(分子表面相互作用和机械咬合作用)的影响。接触角的数量由微丸的孔隙率,粒子的形状及直径来改变。MCC 形状系数较大,离子半径小,几乎完全纤维化,故在 MCC 断裂面的单位横截面积上接触角的数量较多。在相同压力下,MCC 用量越高,微丸孔隙率越低,抗张强度大,则水分渗透慢,微丸崩解慢,则药物释放慢。为达到微丸制剂的要求,实验中加入崩解剂,以改善微丸崩解慢、有效成分溶出慢的情况。

崩解剂的主要作用是消除因黏合剂或高度压缩而产生的结合力^[22]。不同的崩解剂有不同的作用机理,CMS-Na 吸水膨胀作用非常显著,吸水后膨胀率为原体积的 300 倍;L-HPC 是近年来国内应用较多的一种崩解剂,具有很大的表面积和孔隙率,有很好的吸水速度和吸水量,吸水膨胀率为 500%~700%,长期保存崩解度不受影响;CCNa 能吸收数倍于本身质量的水而膨胀,膨胀体积为原体积的 4~8 倍;PVPP 在水中迅速表现出毛细管活性和优异的水化能力,最大吸水量 60%。

本实验分别考察了 CMS-Na、L-HPC、CCNa、PVPP 4 种崩解剂对香青兰总黄酮累积溶出度的影响,结果 L-HPC 效果最优。

3.3 滚圆速度的考察

挤出滚圆法制备微丸工艺参数优化过程中,发现滚圆速度是影响微丸成型的关键因素。挤出物料在一定的滚圆速度下,受转盘离心力、剪切力的持续作用,由条状切成短枝随之滚圆成球。若滚圆速度太快,剪切力过大,易产生较多小丸而降低微丸的收率;若滚圆速度太慢,剪切力过小,易形成哑铃型或者短枝、长枝而影响微丸的圆整度。因此滚圆速度是影响微丸收率和圆整度的关键因素^[23]。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典-维吾尔药分册 [S]. 1999.
- [2] 杨秀, 邢建国, 王新春, 等. 香青兰总黄酮 HPMC 骨架片释放度的影响因素考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 6-9.
- [3] 梁艳, 徐向伟, 赵专友. 香青兰滴丸对冠脉结扎诱发大鼠急性心肌缺血的保护作用 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(3): 312-316.
- [4] 吴晓青, 陈丹, 程清, 等. 玳玳黄酮自微乳化微丸在大鼠小肠的吸收特性和机制研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2222-2226.
- [5] 郁丹红, 贾晓斌, 施亚琴, 等. 丹参二萜醌组分及其固体分散体微丸中主要成分在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 851-857.
- [6] 叶晓莉, 王选深, 王彬辉, 等. pH 依赖-时滞型大黄素结肠定位微丸的制备及体外释药研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1956-1962.
- [7] 王焱, 宋小玲, 陈银芳, 等. 龙胆总苷胃漂浮微丸制备及其体外释药特性研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1751-1755.
- [8] 陆彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [9] Herold D A, Keil K, Bruns D E, *et al.* Oxidation of polyethylene glycols by alcohol dehydrogenase [J]. *Biochem Pharmacol*, 1989, 38: 73-76.
- [10] 刘耀, 刘松青. 挤出-滚圆法制备微丸的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(6): 401-405.
- [11] 李悦, 邢建国, 杨秀, 等. 挤出滚圆法制备香青兰黄酮骨架型微丸 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 1-4.
- [12] 陈庆华, 张强. 药物微囊化新技术及应用 [D]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [13] 程侯连, 邹梅娟, 吴怡, 等. 挤出滚圆法制备复方醋氯芬酸速释微丸 [J]. 中国药剂学杂志, 2011, 9(4): 63-70.
- [14] 谢兴亮, 杨明, 韩丽, 等. pH 敏感型苦参结肠靶向微丸的处方筛选及其释药性能评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 1-5.
- [15] Steckel H, Mindermann-Nogly F. Production of chitosan pellets by extrusion/spheronization [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004, 57(1): 107-114.
- [16] Santos H, Veiga F. Physical properties of chitosan pellets produced by extrusion-spheronisation: influence of formulation variables [J]. *Int J Pharm*, 2002, 246(1/2): 153-169.
- [17] 孙彦辉, 李三鸣, 董阳, 等. 含有尼美舒利固体分散体的速释微丸的制备及性质考察 [J]. 中国药剂学杂志, 2008, 6(4): 162-170.
- [18] 李青坡, 游剑, 王永圣, 等. 葛根芩连微丸中指标成分的体外同步释放研究 [J]. 中草药, 2006, 37(1): 40-44.
- [19] 姜雯, 何承辉, 薛桂蓬, 等. Box-Behnken 中心组合设计优化复方一枝蒿滴丸成型工艺 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1134-1140.
- [20] Mughal M A, Iqbal Z, Neau S H. Guar gum, Xanthan gum, and HPMC can define release mechanisms and sustain release of propranolol hydrochloride [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(1): 77-87.
- [21] 田健, 田维, 陈学刚, 等. 遇水崩解型聚苯乙烯释药机理及性能 [J]. 塑料科技, 2008, 36(4): 36-40.
- [22] 崔福德. 药剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [23] 洪燕龙, 冯怡, 徐德生, 等. 挤出滚圆法制备大川芎方速释微丸的处方工艺研究 [J]. 中药材, 2007, 30(12): 1596-1600.