

黄芪多糖-Eudragit S100 结肠定位释放喷雾干燥粉的制备和体外溶出评价

邓瑾¹, 郑立发¹, 张振海², 赵志英^{1*}, 贾晓斌^{2,3*}

1. 中国药科大学 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009

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

3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 拟制备 pH 依赖型黄芪多糖结肠定位释放喷雾干燥粉, 以期达到结肠定位释药的目的。方法 以 Eudragit S100 水分散体为结肠靶向材料制备黄芪多糖结肠定位释放喷雾干燥粉, 考察其体外释药性能, 并对其进行扫描电镜 (SEM) 分析。结果 药物与 Eudragit S100 比例为 1:10 时所制备的喷雾干燥粉在模拟人工胃液中基本不释药, 在模拟人工肠液中, 药物 4 h 的累积溶出率小于 30.0%, 在模拟人工结肠液中, 1 h 的体外累积溶出率达 90.0% 以上。结论 以 Eudragit S100 水分散体为载体制备的黄芪多糖结肠定位释放喷雾干燥粉达到了结肠定位释药的效果, 其制备工艺简单、可行。

关键词: 黄芪多糖; 结肠定位; 喷雾干燥; 水分散体; 药物释放; 累积溶出率

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)06-0778-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.06.007

Preparation of astragalus polysaccharides-Eudragit S100 colon-specific spray drying powder and evaluation on its *in vitro* release

DENG Jin¹, ZHENG Li-fa¹, ZHANG Zhen-hai², ZHAO Zhi-ying¹, JIA Xiao-bin^{2,3}

1. State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

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

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

Abstract: Objective To prepare the pH-dependent astragalus polysaccharides colon-specific spray drying powder, with the intention of controlling drug release in the colon. **Methods** Eudragit S100 water dispersion was used as a carrier to prepare astragalus polysaccharides colon-specific spray drying powder by spray drying method and the *in vitro* dissolution of spray drying powder was performed. The structure characteristics of spray drying powder was analyzed by SEM. **Results** When the ratio of drug to Eudragit S100 was 1:10, the drug in simulated gastric fluid did not release nearly and the accumulative drug-release percent *in vitro* at 4 h was less than 30.0%; But in the simulated colonic fluid, the accumulated drug release percent reached 90.0% within 1 h. **Conclusion** The astragalus polysaccharides colon-specific spray drying powder had the characteristics as a colon-specific delivery system. The preparation process is simple and feasible.

Key words: astragalus polysaccharides; colon-specific; spray drying; water dispersion; drug release; cumulative leaching rate

黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 和膜黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根, 黄芪多糖 (APS) 是黄芪的主要生物活性成分之一, 其主要是由葡萄糖、鼠

李糖、半乳糖和阿拉伯糖等单元连接而成的^[1-3]。近年国内外多项研究表明黄芪多糖对结肠溃疡和结肠癌具有一定的治疗作用^[4-5], 因此其对结肠疾病潜在的应用价值有待进一步发掘。但普通制剂最终到达结肠段的药物浓度较低, 治疗效果受到很大的限制。

收稿日期: 2013-10-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202929)

作者简介: 邓瑾, 讲师, 研究方向为药物新剂型研究。Tel: (025)83271272 E-mail: dengjin1977@163.com

*通信作者 赵志英 Tel/Fax: (025)85301528 E-mail: zhaozhiying608@126.com

贾晓斌 Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: jiaxiaobinpharmacy@163.com

口服结肠定位释药系统是指通过适当的方法使药物经口服后避免在胃、十二指肠、空肠和回肠前端释放,运送至回盲部后再释放,从而达到提高药物局部浓度和生物有效性目的的一种新型给药系统^[6-7]。中药肠溶粉体、缓释粉体已经有较多报道^[8-9],可以达到控制药物释放的目的。本实验以黄芪多糖为模型药物,采用 Eudragit S100 为辅料,根据 pH 敏感控释机制,制备结肠定位喷雾干燥粉,使药物主要在结肠段释放,提高病变部位的局部药物浓度,减少用药剂量,提高疗效,同时提高患者的顺应性。

1 仪器与材料

黄芪多糖(实验室自制,以葡萄糖为指标成分,用苯酚-硫酸法测定质量分数为 90.5%,相对分子质量为 40 000~60 000);苯酚(国药集团化学试剂有限公司);浓硫酸(南京华嘉化学试剂有限公司);Eudragit S100(批号 B120705005,德国 Evonik 公司);柠檬酸三乙酯(广州市正通化工有限公司),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

Labplant SD—06 喷雾干燥仪(英国 Lab Plant 公司);ZRS—8G 型智能溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司);Mastersizer 3000 激光粒度粒形分析仪(英国马尔文仪器有限公司);6390LV 扫描电镜(日本电子公司);Milli—Q Reference 纯水机(美国 Millipore 公司);紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 Eudragit S100 水分散体的制备^[10]

取处方量 Eudragit S100 粉末,在不断搅拌下加入适量水中,形成均匀分散的混悬液后,加入稀氨水调节 pH 值大于 7,不断搅拌 1 h,再滴加适量柠檬酸三乙酯作为增塑剂,继续搅拌 2 h,即得均匀稳定的水分散体。

2.2 黄芪多糖结肠定位喷雾干燥粉体的制备

称取黄芪多糖适量,按照药物与 Eudragit S100 质量比为 1:6、1:8、1:10、1:12 分别加入适量“2.1”项下制备的 Eudragit S100 水分散体中,充分搅拌混匀,进行喷雾干燥,进料温度 30 ℃,进风温度 150 ℃,出口温度 50 ℃,进料体积流量 10 mL/min,收集产品,研细过 80 目筛,即得,置干燥器内保存备用。

2.3 体外溶出实验

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取葡萄糖对照品 2.14 mg,置于 10 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻

度,摇匀,即得质量浓度为 214.0 μg/mL 的葡萄糖对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的配制 取黄芪多糖喷雾干燥粉适量,取约 1 g,精密称定,于 250 mL 量瓶中,加水至刻度溶解,超声,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,备用。

2.3.3 线性关系考察 取苯酚适量,蒸馏收集 180~182 ℃的馏份,称取馏份 5.0 g,置 100 mL 的量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得 5%苯酚溶液。分别精密吸取对照品溶液 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、2.0 mL 于 10 mL 具塞试管中,加蒸馏水补足至 2.0 mL,加入 1.0 mL 5%苯酚溶液混匀,然后立即加入 5.0 mL 浓硫酸。振摇静置 5 min,水浴加热 20 min 后于室温下冷却。以苯酚-硫酸溶液作为空白对照,于 490 nm 处测定葡萄糖的吸光度(A)值。以质量浓度为横坐标(X),对应的 A 值为纵坐标(Y),进行线性回归,得标准曲线回归方程 $Y=0.0138X-0.0255$, $r=0.9995$,结果表明,黄芪多糖在 5.35~214.0 μg/mL 线性关系良好。

2.3.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液,依法显色后测定 A 值,得 RSD 为 1.79% ($n=6$),表明该方法精密度良好。

2.3.5 重复性试验 精密称取同一批黄芪多糖喷雾干燥粉 6 份,平行配制一定质量浓度的 6 份供试品溶液,依法显色后测定 A 值,得 RSD 为 2.41%,表明重复性好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取制备的供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、12 h 依法显色后测定 A 值,得 RSD 为 2.08%,说明该供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3.7 回收率试验 精密称取已测定的黄芪多糖喷雾干燥粉,制备成供试品溶液 6 份,分别加入葡萄糖对照品溶液适量,精密吸取混合溶液 1 mL,用蒸馏水定容至 10 mL,取 2 mL,依法显色后测定吸光度,并计算平均回收率和 RSD 值,结果分别为 96.18%和 2.11%。

2.3.8 药物的溶出度测定 按《中国药典》2010 年版二部附录第一法转篮法,评价喷雾干燥粉的体外释药性能。取适量样品分别装于普通胶囊壳中,分别依次测定其在人工胃液(pH 1.2 的稀盐酸)2 h、人工肠液(pH 6.8 的磷酸缓冲液)4 h、人工结肠液(pH 7.6 的磷酸缓冲液)1 h 中的释放情况。转速为 100 r/min,介质温度为 (37.0 ± 0.5) ℃,于规定时

间(根据药物在各模拟环境中停留时间不同,停留较短的则取样时间点较为密集,停留时间长的取样时间间隔较长,在人工胃液中分别于 10、30、60、90、120 min 取样,人工肠液中分别于 30、60、120、

240 min 取样,人工结肠液中分别于 10、20、30、60 min 取样)取释放液 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,依法显色后测定吸光度。结果见图 1。

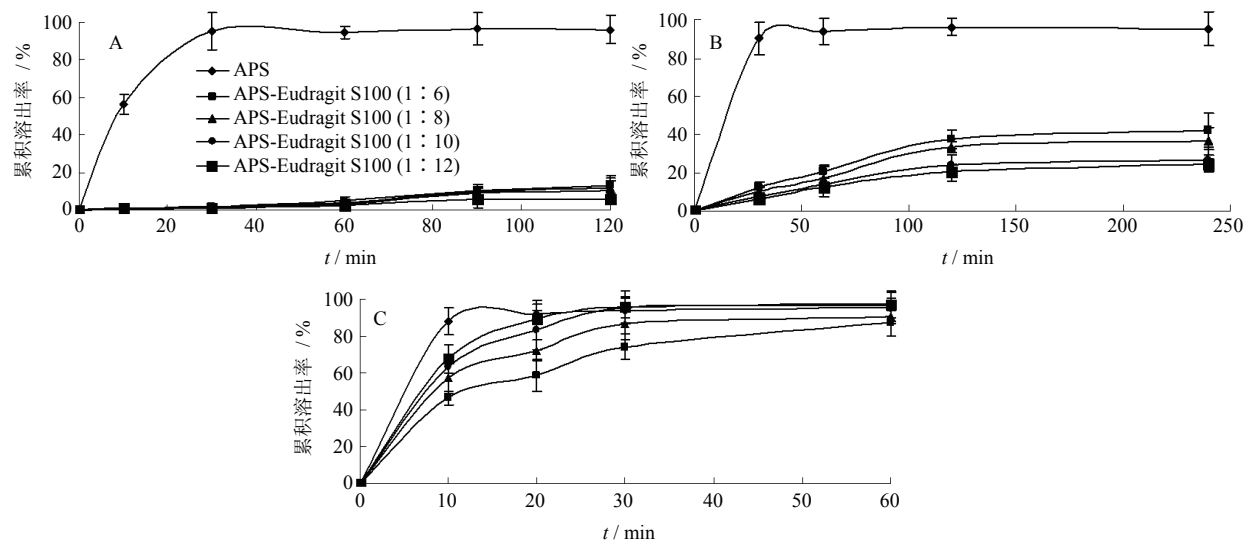


图 1 黄芪多糖与黄芪多糖-Eudragit S100 喷雾干燥粉在人工胃液 (A)、人工肠液 (B) 和人工结肠液 (C) 中的溶出曲线
Fig. 1 Dissolution curves of astragalus polysaccharides and astragalus polysaccharides-Eudragit S100 spray drying powder in simulated gastric fluid (A), simulated intestinal fluid (B), and simulated colonic fluid (C)

图 1-A 结果显示,药物在人工胃液中有一定的释放,可能是由于黄芪多糖为水溶性物质,当喷雾干燥粉表面的药物与溶出介质充分接触,黄芪多糖溶解,因而出现一定的突释。图 1-B 表明,在人工肠液中,药物在 30 min 后开始释放,当药物与载体比例为 1:6 时,4 h 后释放量大于 40.0%,Eudragit S100 比例的增加到 1:12 时,4 h 后释放量仅为 24.2%。可推测当 Eudragit S100 的比例增加时,其保护作用越强,释药时滞延长,药物在小肠液中的泄露越少。图 1-C 为药物与喷雾干燥粉在人工结肠液 (pH 7.6 的磷酸盐缓冲溶液) 中的释放情况。随着 Eudragit S100 比例的增加,药物的释放逐渐加快,当药物与载体比例为 1:10 时,60 min 的体外累积溶出率达 90.0% 以上,而当药物与载体比例为 1:12 时,药物的体外累积溶出率无明显增加,因而选择药物与载体比例为 1:10 的处方。

2.4 粒径与粒度分布

抽真空状态下将适量黄芪多糖原料药或喷雾干燥粉末均匀分散于载玻片上,置于激光粒度分析仪内,测定其粒径及粒径分布,结果见表 1,其中 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 分别表示样品中有 10%、50%、90% 的粒子其直径均小于该值所示的粒径。

表 1 粒径分布

Table 1 Partical size of distribution

样品	粒径分布 / μm		
	D_{10}	D_{50}	D_{90}
原料药	3.14	69.51	162.60
喷雾干燥粉	3.96	23.47	65.66

2.5 扫描电镜 (SEM) 分析

将原料药和喷雾干燥粉末样品分别涂在样品台上,真空喷金 70 s 后进行表面形貌扫描,结果见图 2。图 2-A 是黄芪多糖原料药的 SEM 图,由图可知,原料药颗粒粒径较大,大小不均,粒径分布较宽,表面凹凸粗糙;图 2-B 为喷雾干燥得到的黄芪多糖-Eudragit S100 粉末,其粒径变小,比表面积增加,颗粒多为球形或近球形的,表面圆整、光滑,粒径分布变窄。黄芪多糖喷雾干燥粉较小的粒径和较大的比表面积,可能是造成其有突释的一个原因。

3 讨论

Eudragit S100 为常用的肠溶丙烯酸树脂类材料,有较好的抗酸性能,不受消化酶破坏,从而使药物经过胃液时不被泄露,在 pH 值大于 7 时开始溶解,释放药物,达到结肠定位释药的目的^[11-12],对人体无害,同时具有良好的流动性和可压性,利

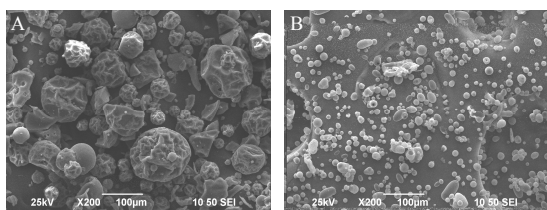


图 2 黄芪多糖原料药 (A) 和黄芪多糖-Eudragit S100 喷雾干燥粉 (B) SEM 图

Fig. 2 SEM images of astragalus polysaccharides (A) and astragalus polysaccharides-Eudragit S100 spray drying powder (B)

于制剂的成型。通常将易溶于有机溶剂的成膜材料以极小粒子分散于水中，制成水分散体，从而克服了使用有机溶剂易燃、易爆、毒性大和防护要求高的缺点。水分散体中的聚合物是以微粒形式存在的，因此它的成膜机制不同于有机溶液。常需要加入增塑剂促进膜的形成和融合，提高产品柔韧性^[13]。柠檬酸三乙酯为常用的增塑剂，具有溶解力强、耐油性和抗霉性好等优点，Eudragit S100 水分散体中加入适量的柠檬酸三乙酯，具有良好的增塑作用^[14]。

本实验选用 Eudragit S100 水分散体为结肠靶向材料，采用喷雾干燥法制备黄芪多糖靶向喷雾干燥粉末，体外溶出实验结果显示药物在模拟人工结肠液中快速释放，当药物与 Eudragit S100 比例为 1：10 时，60 min 体外累积溶出率达 90.0% 以上，达到了良好的结肠定位释药特性，提高了结肠病变部位黄芪多糖的浓度，结肠靶向给药系统对于结肠溃疡和结肠癌等结肠疾病的治疗具有重大的临床价值和广阔的应用前景，本研究为黄芪多糖口服靶向制剂的研究提供了参考，但该制剂的体内靶向性及疗效还有待进一步评价。

参考文献

- [1] Zhu Z Y, Liu R Q, Si C L, *et al.* Structural analysis and anti-tumor activity comparison of polysaccharides from *Astragalus* [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 85(4): 895-902.
- [2] 陈虎虎, 孙 静, 杨金颖, 等. 柱前衍生化-高效液相色谱法测定蒙古黄芪多糖中单糖的组成 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5): 468-470.

- [3] Yang Y F, Feng J Q, Xu H Y, *et al.* Influence of different extraction and purification methods on *Astragalus* polysaccharides and pharmacological evaluation [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 54-61.
- [4] Tin M M, Cho C H, Chan K, *et al.* *Astragalus* saponins induce growth inhibition and apoptosis in human colon cancer cells and tumor xenograft [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(6): 1347-1355.
- [5] 郑学芝, 李 佳, 王志刚, 等. 黄芪多糖对 COLO205 人结肠癌细胞株抑制作用研究 [J]. 中国食物与营养, 2012, 18(8): 68-70.
- [6] 谢兴亮, 杨 明, 韩 丽, 等. pH 敏感双层型苦参结肠靶向微丸的体内外释药性能评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 7-10.
- [7] 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.
- [8] 严红梅, 张振海, 蒋艳荣, 等. 黄芩苷-Eudragit L100-55 肠溶固体分散体制备及其体外释放度评价 [J]. 中草药, 2013, 44(20): 2841-2844.
- [9] 陈小云, 张振海, 郁丹红, 等. 丹参酮组分缓释固体分散体的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2391-2396.
- [10] 易 鹏, 李 航, 文怡静, 等. 肠康宁多元释药片剂的制备工艺研究 [J]. 中药与临床, 2013, 4(2): 32-34.
- [11] Rasool F, Ahmad M, Murtaza G, *et al.* Eudragit FS based colonic microparticles of metoprolol tartrate [J]. *Acta Pol Pharm*, 2012, 69(2): 347-353.
- [12] Jain V, Jain D, Singh R. Factors effecting the morphology of Eudragit S-100 based microsponges bearing dicyclomine for colonic delivery [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(4): 1545-1552.
- [13] 刘 欣, 薛红梅, 王建明, 等. 盐酸小檗碱结肠定位包衣片的制备工艺和体外释放研究 [J]. 世界科技研究与发展, 2008, 30(3): 347-351.
- [14] 樊永庆, 杨济昆, 刘建平, 等. 丹参素缓释微丸的制备及家兔体内药动学研究 [J]. 药学与临床研究, 2013, 21(2): 105-108.