

丹参酮 II_A 喷雾干燥粉体药剂学性质的研究

丁冬梅^{1,2}, 张振海¹, 蒋艳荣¹, 孙 娥¹, 汪 晶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实验室, 江苏 南京 210028

2. 江苏大学, 江苏 镇江 212013

摘 要: 目的 探索丹参酮 II_A 喷雾干燥粉体的药剂学性质。方法 采用喷雾干燥法处理丹参酮 II_A, 并运用比表面积测定法 (BET)、扫描电镜法 (SEM)、差示扫描量热法 (DSC) 和 X 射线粉末衍射法 (XRD) 等方法对丹参酮 II_A 粉体进行分析, 考察其体外溶出度和稳定性。结果 BET 结果显示经喷雾干燥处理后的丹参酮 II_A 具有较窄的粒径分布范围及较大的比表面积; XRD 和 DSC 分析结果显示部分丹参酮 II_A 已转变为非晶形式; 在 8 h 丹参酮 II_A 的累积溶出度为 85.2%。结论 喷雾干燥方法处理丹参酮 II_A 有利于提高药物体外溶出度, 为难溶性药物口服给药制剂的设计提供参考。

关键词: 丹参酮 II_A; 喷雾干燥; 粉体; 体外溶出度; 比表面积测定法; 扫描电镜法; 差示扫描量热法; X 射线粉末衍射法
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)10-1398-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.10.009

Micromeritic properties of tanshinone II_A spray drying powder

DING Dong-mei^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, JIANG Yan-rong¹, SUN E¹, WANG Jing¹, 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. Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract: Objective To explore a method to improving the *in vitro* dissolution of tanshinone II_A spray drying powder and to study its pharmaceutical properties. **Methods** Tanshinone II_A was processed with spray drying method and analyzed by determination of the specific surface area (BET), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), and X-ray powder diffraction (XRPD). And *in vitro* dissolution and drug stability were also investigated. **Results** The BET results showed that tanshinone II_A powder after spray drying had narrow particle size distribution range and large specific surface area; XRD and DSC analyses showed that most drug was transformed into amorphous form. The *in vitro* dissolution achieved 85.2% within 8 h. Accelerating experiment showed that the *in vitro* dissolution of tanshinone II_A decreased by approximately 21% stored for 6 months. **Conclusion** The drug dissolution is improved by spray-drying method. It provides a reference for the research and development of poorly soluble pharmaceutical preparations for oral administration.

Key words: tanshinone II_A; spray drying; powder; *in vitro* dissolution; determination of the specific surface area; scanning electron microscopy; differential scanning calorimetry; X-ray powder diffraction

丹参酮 II_A (tanshinone II_A) 是从中药丹参中提取分离得到的一种有效成分^[1]。药理研究表明丹参酮 II_A 具有抗肿瘤、抗炎抑菌、降低血液黏滞度、扩张冠状动脉、抗血小板、清除氧自由基、抗脂质过氧化以及改善记忆障碍等广泛作用, 在临床上常用于心血管疾病的治疗^[2-3]。由于其脂溶性强, 几乎不溶于水, 口服吸收较差, 限制了疗效发挥^[4-5], 因

此必须通过合适的方法提高其溶出速率。

采用固体分散技术等可以提高丹参酮 II_A 的溶出度^[6-7], 但是辅料用量很大, 服用剂量相应会大幅度增加^[8-9]。前期研究中, 笔者课题组发现喷雾干燥处理后丹参酮粉末粒径减小、比表面积增大、药物主要以非晶形式存在, 丹参酮中丹参酮 I、丹参酮 II_A 的累积溶出度显著提高^[10]。本实验进一步以丹参

收稿日期: 2013-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274088)

作者简介: 丁冬梅, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂新剂型研究。Tel: (025)52362115 E-mail: yx07ddm@163.com

*通信作者 贾晓斌, 博士生导师, 研究方向为中药制剂。Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: xiaobin_jia_nj@126.com

酮中的丹参酮 II_A 为模型药物, 采用喷雾干燥方法处理丹参酮 II_A, 运用比表面积测定法 (BET)、扫描电镜法 (SEM)、差示扫描量热法 (DSC) 和 X 射线粉末衍射法 (XRD) 等技术对喷雾干燥处理的丹参酮 II_A 粉体进行了药剂学性质考察, 并在 40 °C、75% 相对湿度 (RH) 加速实验条件下考察了粉体的稳定性。

1 仪器与材料

ZRS—8G 型智能溶出试验仪 (天津大学无线电厂); Labplant SD 喷雾干燥仪 (英国 LabPlant 公司); 扫描电镜 JSM—6301F (日本 JEOL 公司); 差示扫描量热仪 DSC 60 (日本岛津公司); Bruker Axs D8 Advance X 射线粉末衍射仪 (瑞士 ARL 公司); EyeTech 激光粒度粒形分析仪 (荷兰安米德 Ankersmid 有限公司); Autosorb-iQ 全自动比表面和孔径分布分析仪 (美国康塔公司, Quantachrome Instruments US); Agilent 1200 高效液相色谱仪。

丹参酮 II_A 对照品, 中国食品药品检定研究院, 批号 110766-200619, 质量分数 ≥ 98%; 丹参酮 II_A 原料药, 质量分数 > 98%, 南京泽郎医药科技有限公司, 批号 20130622; 无水乙醇, 分析纯, 中国医药集团上海世纪公司; 甲醇为色谱纯, 水为高纯水。

2 方法和结果

2.1 喷雾干燥处理丹参酮 II_A 样品

称取丹参酮 II_A 原料药, 用适量乙醇溶解, 所得溶液进行喷雾干燥 (进风温度 70 °C, 进料速度 15 mL/min), 收集粉末, 备用。

2.2 体外溶出度测定^[10]

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Luna C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温为 30 °C; 流动相为甲醇-水 (85:15); 体积流量为 1 mL/min; 检测波长为 270 nm; 进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取丹参酮 II_A 对照品适量, 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 217.00 μg/mL 丹参酮 II_A 对照品储备液。

2.2.3 线性关系考察 分别精密吸取丹参酮 II_A 对照品储备液 0.1、0.2、0.5、2.0、5.0 mL 各置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 分别量取 10 μL 注入 HPLC 仪, 测定峰面积, 将质量浓度 (X) 与峰面积值 (Y) 进行线性回归, 丹参酮 II_A 的标准曲线方程 $Y=45.445 X-10.349$, $r=0.999 7$, 线性范围 2.17~108.50 μg/mL。

2.2.4 体外溶出度测定 取喷雾干燥处理前后丹参酮 II_A 样品各适量, 精密称定, 分别装于胶囊中。按《中国药典》2010 年版二部附录 XC 桨法测定溶出度, 在转速 50 r/min、温度 (37 ± 0.5) °C 的条件下, 以 0.5% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液 (900 mL) 为溶出介质, 分别于预定时间点 (5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480 min) 取样 5 mL, 同时补加同温度等量溶出介质, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液 10 μL 进行 HPLC 测定, 计算各时间点的累积溶出率, 结果见图 1。从图 1 结果可以看出, 经喷雾干燥处理后丹参酮 II_A 的累积溶出率显著增加, 8 h 时其累积溶出率为 85.2%, 而同期 (8 h) 未经喷雾干燥处理丹参酮 II_A 的累积溶出率仅为 44.3%。

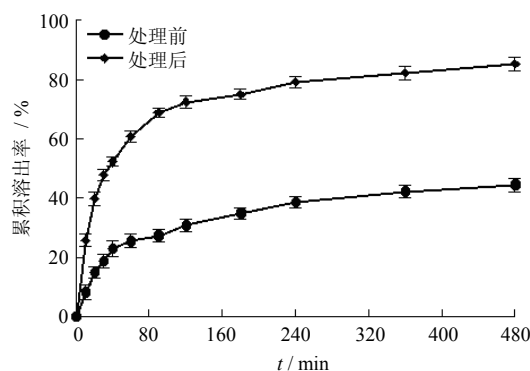


图 1 丹参酮 II_A 的溶出曲线 (n = 6)

Fig. 1 Dissolution curves of tanshinone II_A (n = 6)

2.3 粒径及比表面积测定

2.3.1 粒径测定 分别取喷雾干燥处理前后的丹参酮 II_A 样品适量, 采用激光粒度分布仪测定其粒径 (D_{10} 表示累积量为 10% 所对应的粒径, D_{50} 表示累积量为 50% 所对应的粒径, D_{90} 表示累积量为 90% 所对应的粒径), 结果见表 1。

2.3.2 比表面积测试 分别取 2 种待测样品约 1 g, 于 80 °C 流通氮气内干燥至恒定质量, 置于比表面及孔隙度测定仪中, 利用 BET 法测定样品的比表面积, 结果见表 1。

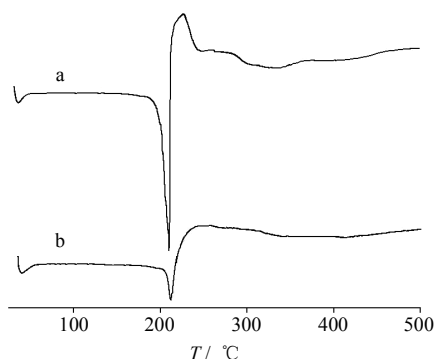
经喷雾干燥处理后丹参酮 II_A 粉末粒径减小, 比表面积增大。这增加了药物与溶出介质有效接触面积, 有利于提高药物体外溶出度。

2.4 物相表征

2.4.1 DSC 分析 测试条件: 以空铝坩埚为参比物; 另一铝坩埚中放入适量样品; 升温速度 10.00 °C/min; 扫描范围 0~500 °C, 结果见图 2。由图 2

表1 粒径分布及比表面积测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Partical size and surface area ($\bar{x} \pm s, n=3$)

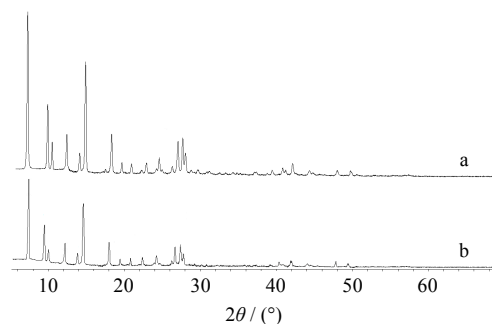
样品	$D_{10} / \mu\text{m}$	$D_{50} / \mu\text{m}$	$D_{90} / \mu\text{m}$	比表面积 / ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
丹参酮 II _A 原粉末	5.36	47.94	115.53	3.352 ± 0.529
经喷雾干燥处理丹参酮 II _A 粉末	1.97	5.89	9.64	14.085 ± 0.667

图2 喷雾干燥处理前 (a)、后 (b) 丹参酮 II_A DSC 图Fig. 2 DSC curves of tanshinone II_A before (a) and (b) after spray drying

可知,喷雾干燥处理前丹参酮 II_A(图 2-a)在 214 °C 左右有 1 个尖锐的特征吸热峰;喷雾干燥处理后丹参酮 II_A(图 2-b)在 214 °C 左右对应药物的吸热峰位置有一较小的吸热峰,强度显著减弱,表明经喷雾干燥处理后部分丹参酮 II_A 可能主要以非晶形式存在。

2.4.2 SEM 分析 使用扫描电镜观察处理前后丹参酮 II_A 粉末的表面形态,样品已于观测前进行喷金处理,结果见图 3。由图 3 可知,喷雾干燥处理前丹参酮 II_A 为不规则结晶体状态(图 3-a),而喷雾干燥处理后丹参酮 II_A 的表面形态结构发生了变化,喷雾干燥产物多为圆整性及均一性较好的类球状颗粒,明显的块状晶体消失。

2.4.3 XRD 分析 利用 ARL X—TRL 型 X 射线衍射仪进行测试,条件为 Cu-K α 射线,扫描范围: 5°~70°,扫描速度: 6°/min,管压 40 kV,管流 40 mA,结果见图 4。由图 4 结果可知,经喷雾干燥处理前

图4 喷雾干燥处理前 (a)、后 (b) 丹参酮 II_A XRD 图Fig. 4 XRD of tanshinone II_A before (a) and after (b) spray drying

丹参酮 II_A(图 4-a)晶型结构特征非常明显,在 5°~50°有多个强衍射峰;在图 4-b 中,与图 4-a 特征峰对应的地方出现了强度较弱的衍射峰,说明经喷雾干燥处理后丹参酮 II_A 的结晶度显著减弱,部分丹参酮 II_A 可能主要以非晶形式存在。非晶型由于其无晶格束缚,自由能大,从而有利于提高药物的溶出度。

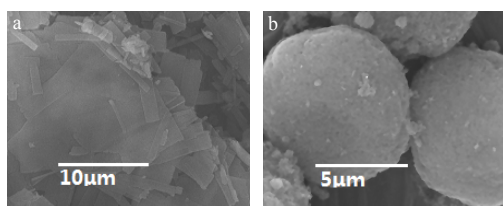
2.5 稳定性试验

在加速试验(40 °C、75% RH)条件下,分别将经喷雾干燥处理前后丹参酮 II_A 粉末密封放置 6 个月,按“2.2.4”项下方法测定其溶出度,结果见图 5。由图 5 结果可知,与初始样品(0 个月)相比,经喷雾干燥处理丹参酮 II_A 在 6 个月加速试验后溶出度有所降低,8 h 时溶出度下降了约 21%。可能是由于丹参酮 II_A 粉末中以非晶形式存在的药物处于一种热力学不稳定状态,经一段时间放置后,重结晶导致药物溶出度下降。

3 讨论

为了解决药物的水难溶性和低溶出度问题,药学者尝试了很多方法,如微粉化、环糊精包合、固体分散体、加助溶剂和增溶剂、采用微乳剂和脂质体等新剂型、对药物进行成盐处理等方法^[11],根据难溶性药物的性质选择一种或几种方法达到增溶的目的。

喷雾干燥技术具有制备过程相对简单、可操控性强易于工业化生产、瞬间干燥、生产效率高、产

图3 喷雾干燥处理前 (a)、后 (b) 丹参酮 II_A SEM 图Fig. 3 SEM images of tanshinone II_A before (a) and after (b) spray drying

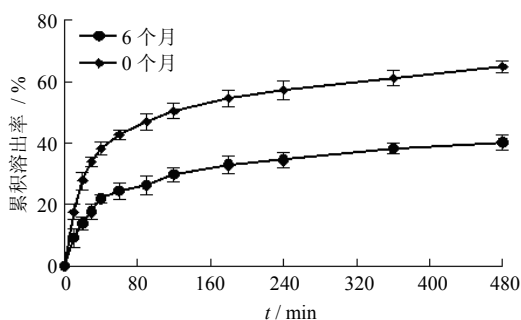


图5 丹参酮 II_A 加速实验的溶出曲线 (n=6)

Fig. 5 Dissolution curves of tanshinone II_A under accelerated test (n=6)

品质好等优点,已经广泛应用于制剂领域^[12-14]。本研究在未增加任何辅料的情况下,采用喷雾干燥方法处理丹参酮 II_A。实验结果表明,经喷雾干燥处理后丹参酮 II_A 粉体粒径减小、比表面积增大、部分药物可能主要以非晶体形式存在,从而使药物累积溶出率较原料药有显著提高。喷雾干燥处理丹参酮 II_A,通过减小药物粒径,使药物以非晶体形式存在,为提高难溶性药物体外溶出度提供了一种简单、快速的方法。

从稳定性试验中发现,经喷雾干燥处理的丹参酮 II_A 在 6 个月后溶出度降低,可能是由于其中以非晶形式存在的药物处于一种热力学不稳定状态,经一段时间放置后,发生重结晶现象。本实验是在未加入任何辅料的情况下喷雾干燥方法处理丹参酮 II_A,后期计划探索在喷雾干燥过程中引入 5%~10% 的高分子辅料抑制结晶来改善其稳定性。

参考文献

[1] 许昌胜,陈莉. 丹参酮 II_A 及其类似物的全合成和结构修饰研究进展 [J]. 药学进展, 2013, 37(2): 58-65.
[2] 陈景,黄曙方,肖定璋,等. 丹参酮 II_A 磺酸钠对胰腺癌 BX-PC-3 细胞系增殖与细胞周期调控因子表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(1): 112-115.

[3] 李玉萍,顾兵,刘建涛,等. 丹参酮 II_A 的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1770-1772.
[4] Yu X Y, Lin S G, Zhou Z W, *et al.* Role of P-glycoprotein in the intestinal absorption of tanshinone II_A, a major active ingredient in the root of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Curr Drug Metab*, 2007, 8(4): 325-340.
[5] Wang L, Jiang X, Xu W, *et al.* Complexation of tanshinone II_A with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: effect on aqueous solubility, dissolution rate, and intestinal absorption behavior in rats [J]. *Int J Pharm*, 2007, 341(1/2): 58-67.
[6] 蒋艳荣,张振海,贾晓斌,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(9): 37-41.
[7] 刘其媛,张振海,贾晓斌,等. 基于壳聚糖的丹参酮 II_A 固体分散体的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(4): 420-423.
[8] Li J, Liu P, Liu J P, *et al.* Novel Tanshinone II A ternary solid dispersion pellets prepared by a single-step technique: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 80(2): 426-432.
[9] Zhao X, Liu X, Gan L, *et al.* Preparation and physicochemical characterizations of tanshinone II_A solid dispersion [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(6): 949-959.
[10] 蒋艳荣,张振海,夏海建,等. 基于共聚维酮的丹参酮 II_A 固体分散体的研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 174-178.
[11] Matteucci M E, Hotze M A, Johnston K P, *et al.* Drug nanoparticles by antisolvent precipitation: mixing energy versus surfactant stabilization [J]. *Langmuir*, 2006, 22(21): 8951-8959.
[12] 李华龙,尹东东,王杏林. 难溶性药物的制剂增溶技术及应用 [J]. 天津药学, 2010, 22(1): 60-67.
[13] 房信胜,王建华,穆象山,等. 丹参素微囊的喷雾干燥法制备及其体外释药的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(11): 1732-1735.
[14] 井乐刚,赵新淮. 喷雾干燥法制备复合维生素微胶囊的研究 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(17): 1370-1371.