

葛根素胃黏附微丸的制备及其体外黏附性研究

李 静^{1,2*}, 卞 俊^{1#}(1.解放军第411医院药学科,上海 200434;2.江西中医药大学药学院,南昌 330004)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1836-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.34

摘要 目的:制备葛根素胃黏附微丸。方法:以体外累积释度为指标,对葛根素胃黏附微丸制备工艺中的包衣增质量、黏附材料羟丙甲基纤维素的型号、增塑剂种类及用量等进行考察,确定最优处方。以微丸胃滞留率为指标评价所制胃黏附微丸与未加入黏附材料的速释微丸的体外黏附性。结果:葛根素胃黏附型微丸的最优处方为采用1%的羟丙甲基纤维素K15M为黏附材料,包衣增质量为15%,增塑剂为相当于处方中葛根素量20%的柠檬酸三乙酯。所制3批胃黏附微丸6 h累积释度均在90%左右,胃滞留率约为87.67%,而速释微丸的胃滞留率约为35.33%。结论:建立的葛根素胃黏附微丸制备工艺简单、操作方便,所制微丸体外黏附性较好。

关键词 葛根素;胃黏附微丸;制备;处方;体外累积释度;体外黏附性

Study on the Preparation and Adhesiveness *in vitro* of Puerarin Gastric Adhesive Pellets

LI Jing^{1,2}, BIAN Jun¹(1.Dept. of Pharmacy, No.411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2.College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare puerarin gastric adhesive pellets (GAP). METHODS: With the index of cumulative release *in vitro*, the coating weight, the adhesion material hydroxyl propyl methyl cellulose (HPMC) and plasticizer species and amount in preparation process were surveyed to determine the optimal formulation; with the index of pellets gastroretentive rate, the adhesiveness *in vitro* of prepared GAP and immediate-release pellets without adhesive materials were evaluated. RESULTS: The optimal formulation of puerarin GAP was as follows as adhesive material of 1% HPMC K15M, coating weight of 15% and plasticizer of triethyl citrate, with amount of 20% of puerarin in formulation. The 6 h cumulative releases of 3 batches of prepared puerarin GAP were around 90%, the gastroretentive rate was about 87.67% and the gastroretentive rate of immediate-release pellets was 35.33%. CONCLUSIONS: The preparation process of puerarin GAP is simple and easy to operate with better adhesiveness *in vitro*.

KEYWORDS Puerarin; Gastric adhesive pellets; Preparation; Prescription; Cumulative release *in vitro*; Adhesiveness *in vitro*

葛根为豆科植物野葛或甘葛藤的块根,味甘辛,性平,是一种常用的药食同源的中药,应用历史悠久,具有解肌退热、生津、透疹、升阳止泻的功效^[1]。葛根素是从野葛干燥根中提取分离得到的一种白色至微黄色结晶性粉末,是中药葛根的主要有效成分,分子式为C₂₁H₂₀O₉^[2]。其目前在食品、医药、日用化工工业等方面都有重要的应用,如在医药上主要用于治

疗心脑血管系统疾病,包括冠心病、心绞痛、心肌梗死、心律失常等^[3-4]。目前已经上市的葛根素注射液疗效明确,但易发生过敏、溶血性黄疸、血管内溶血等不良反应^[5];另外,葛根素片疗效不佳、起效慢,临床应用有限,且随着给药剂量增加,副作用呈上升趋势^[6]。为了减少不良反应、提高药效,笔者以羟丙甲基纤维素(HPMC)为黏附性骨架材料,制备了葛根素胃黏附

用[J].材料导报,2010,24(12):121.

[4] 徐彦芹.基于有序介孔材料MCM-41的超声触发释药体系的研究[D].重庆:重庆大学,2010:12-14.

[5] 曲凤玉,朱广山,黄世英,等.水溶性药物疏甲丙脯酸/Si-MCM-41载药新体系的制备与缓释作用研究[J].高等学校化学学报,2004,25(12):2195.

[6] 汪求精,孙新林,祝爱萍,等.PLGA/PEG缓释微球的制备与载药性能的研究[J].中华神经医学杂志,2009,8(7):674.

[7] 龙娜,吕竹芬.微球缓释系统的突释现象及其影响因素[J].中国药师,2010,13(3):421.

[8] 钦富华,胡英,高建青.多孔PLGA微球的应用研究进展[J].广东药学院学报,2012,28(3):351.

[9] Cohn D, Lando G, Sosnik A, et al. PEO-PPO-PEO-based poly(ether ester urethane)s as degradable reverse thermo-responsive multiblock copolymers[J]. *Biomaterials*, 2006,27(9):1718.

[10] 孙伟,段友容,刘卫东.超声控释载尿激酶缓释给药系统的体外实验[J].中国新药与临床杂志,2008,27(3):173.

[11] 孟龙.超声操控微纳颗粒的理论及声场设计研究[D].沈阳:东北大学,2009:6-7.

* 硕士研究生。研究方向:药物新技术与新剂型。E-mail: happylijing8886663@163.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:新药制剂开发与研究。电话:021-65280289

(收稿日期:2014-07-10 修回日期:2014-08-27)

(编辑:邹丽娟)

微丸,并对其释放度及体外黏附行为进行了考察。

1 材料

1.1 仪器

AB104-N型电子分析天平(瑞士Mettler-toledo公司);SE3001F型电子天平(美国Ohaus公司);高效液相色谱仪(美国Waters公司);ZRS-8G智能溶出实验仪(天津天河医疗仪器有限公司);85-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂);Mini Glatt流化床(德国Glatt公司);BT100-2J型蠕动泵(河北保定兰格恒流泵有限公司);超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司);pHS-3C型精密pH计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

葛根素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110752-200912,纯度:96%);葛根素原料药(江苏天晟药业有限公司,批号:20120701,纯度:99.7%);蔗糖型药用微丸丸芯(杭州高成生物营养技术有限公司);HPMC(型号:K15M、K4M、E6)均来源于上海卡乐康包衣技术有限公司;聚乙二醇6000(PEG,上海浦东高南化工厂);柠檬酸三乙酯(TEC,上海凯赛化工有限公司);试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD大鼠,体质量(250±20)g,♂,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(沪)2008-0016。

2 葛根素含量及体外释放度测定方法的建立

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1%枸橼酸溶液-甲醇(65:35,V/V),流速:1.0 ml/min;检测波长:250 nm;柱温:室温;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备及专属性试验

2.2.1 对照品溶液的制备 取葛根素对照品约10 mg,精密称定,置于50 ml量瓶中,加甲醇适量超声溶解,放置至室温后以甲醇定容并摇匀,作为对照品贮备液。取2.5 ml对照品贮备液,置于50 ml量瓶中,以甲醇定容并摇匀,0.45 μm滤膜过滤,取续滤液即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取葛根素胃黏附性微丸30 mg(含葛根素约为3 mg),置于50 ml量瓶中,加甲醇溶解并超声20 min,放至室温,以流动相稀释定容后摇匀,0.45 μm滤膜过滤,取续滤液即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取不含葛根素的胃黏附性微丸,同供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液,取续滤液即得。

取上述3种续滤液10 μl进样,结果葛根素黏附微丸中的其他成分对葛根素的测定无干扰,色谱见图1。

2.3 线性关系考察

吸取“2.2.1”项下葛根素对照品贮备液适量,制备成5、10、30、50、70、90 μg/ml的对照品系列溶液,0.45 μm滤膜过滤,进样测定,记录峰面积。以对照品溶液质量浓度(x)为横坐标,以峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,得标准曲线方程 $y=54\ 379x+26\ 074$ ($r=0.999\ 9$),表明葛根素检测质量浓度线性范围为5.064~91.152 μg/ml。

2.4 精密度试验、稳定性试验、加样回收率试验

均按相关方法进行,结果精密度试验的RSD均小于2%($n=5$);供试品溶液在12 h内稳定,RSD为0.6%($n=6$);加样回收率平均值为99.57%(RSD=1.31%, $n=9$)。以上表明方

法学考察结果符合要求。

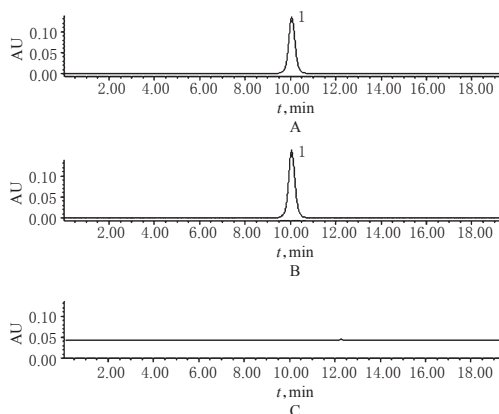


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.葛根素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative reference; 1. puerarin

2.5 含量测定

取3批葛根素胃黏附性微丸,研细,精密称取30 mg(含葛根素约为3 mg),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,结果3批样品中葛根素含量分别为10.12%、9.43%、9.89%($n=3$)。

2.6 体外释放度测定

按照2010年版《中国药典》(二部)附录XD第一法篮法要求^[7],以900 ml的水或pH为1.2的盐酸溶液为释放介质,温度为(37.0±0.5)℃,转速为100 r/min。精密称取葛根素胃黏附性微丸适量,放置于篮中,然后分别置于溶出杯中,在一定时间间隔内取样10 ml,并立即补充等量的同温介质,用0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液进样测定,计算葛根素的累积释放度,绘制释药曲线。

3 含药速释微丸的制备

3.1 包衣液的制备

取处方量的HPMC溶于适量的热水中充分溶胀,磁力搅拌器搅拌一定时间,加入95%乙醇使乙醇终浓度为50%。加入葛根素和十二烷基硫酸钠(SDS),超声20 min使溶解完全,制成含葛根素2.0%、HPMC质量分数为1%、SDS为0.04%的包衣液。

3.2 速释微丸的制备

预试验所得最优包衣工艺为取空白丸芯40 g,在流化压力0.25 bar(1 bar=100 kPa)、雾化压力1.5 bar、进风温度40℃、蠕动泵转速4 r/min下进行包衣。包衣机预热5 min后加入包衣液,包衣结束后干燥5 min,即得葛根素速释微丸。

4 葛根素胃黏附微丸的处方考察^[8-10]

4.1 微丸黏附层包衣液的制备

取黏附材料HPMC溶解于热水中充分溶胀,制备成质量分数为1%的包衣液,放置过夜,向其中加入适量的增塑剂,即得。

4.2 微丸黏附层的制备方法

取葛根素速释微丸放置于流化床内,按照制备速释微丸时的流化床包衣工艺参数制备其胃黏附性微丸,包衣结束后干燥5 min即得。

4.3 葛根素微丸黏附层的处方考察

4.3.1 黏附层包衣增质量的考察 取同一批葛根素速释微丸,固定黏附材料 HPMC K15M 和增塑剂的比例不变,选取 10%、15%、20% 的包衣增质量对速释微丸进行黏附层包衣,考察 3 种比例的增质量对微丸累积释放度的影响,结果见图 2。

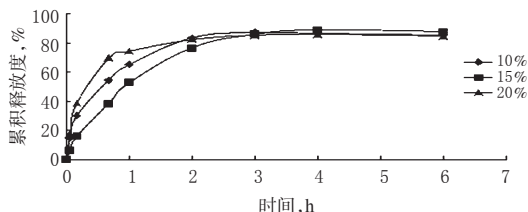


图2 不同包衣增质量对微丸累积释放度的影响

Fig 2 Effects of different coating weight on pellets cumulative release

从图 2 可知,在不同的黏附层包衣增质量下,包衣微丸在 4 h 的累积释放度均可以达到 90% 左右,在增质量为 15% 时最高,且释放曲线相对平缓,故选用 15% 的包衣增质量进行进一步的研究。

4.3.2 黏附材料 HPMC 型号的考察 取同一批葛根素速释微丸,固定其他辅料的量不变,考察不同型号的黏附材料即 HPMC K15M、HPMC K4M、HPMC E6 对微丸累积释放度的影响,结果见图 3。

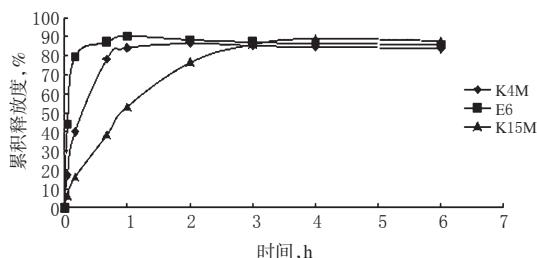


图3 不同 HPMC 型号对微丸累积释放度的影响

Fig 3 Effects of different types of HPMC on pellets cumulative release

由图 3 可知,以 HPMC K4M 和 HPMC E6 包衣的微丸释放均较快,而以 HPMC K15M 包衣的微丸释放较为缓慢且未出现突释现象,释药曲线也较为理想,故选择 HPMC K15M 为黏附材料。

4.3.3 不同增塑剂的考察 取同一批葛根素速释微丸,固定其他辅料的量不变,选取增塑剂 PEG、TEC 适量及不加增塑剂的包衣液对速释微丸进行包衣,考察不同增塑剂对微丸累积释放度的影响,结果见图 4。

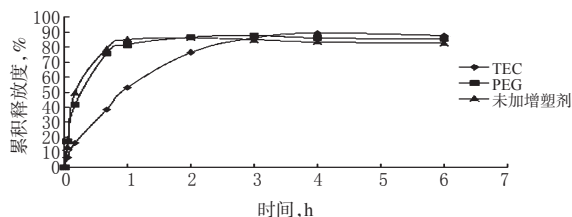


图4 不同增塑剂对微丸累积释放度的影响

Fig 4 Effects of different plasticizers on pellets cumulative release

由图 4 可知,增塑剂 PEG 和无增塑剂时包衣的微丸累积释

放度比 TEC 包衣的微丸更低且释放更快,故选择增塑剂为 TEC 进行进一步的研究。

4.3.4 增塑剂用量的考察 取同一批葛根素速释微丸,固定其他辅料的量不变,选取相当于处方中葛根素量 10%、15%、20% 的 TEC,制备包衣液对速释微丸进行包衣,考察不同增塑剂用量对微丸累积释放度的影响,结果见图 5。

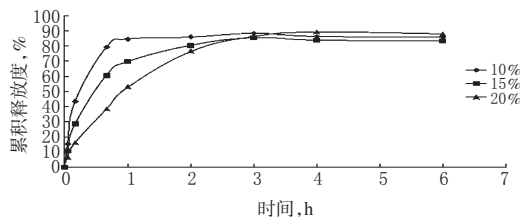


图5 不同 TEC 用量对微丸累积释放度的影响

Fig 5 Effects of different amounts of TEC on pellets cumulative release

由图 5 可知,加入 20% 增塑剂的包衣液累积释放度最高,释放时间较长,故选择相当于葛根素量的 20% 为增塑剂用量。

4.3.5 葛根素胃黏附微丸的处方验证 根据上述单因素考察结果,确定了葛根素黏附层的最终处方,即黏附材料为 1% HPMC K15M,包衣增质量为 15%,增塑剂为 TEC,其用量为处方中葛根素量的 20%。按此处方制备 3 批胃黏附微丸,考察其释放情况,结果见图 6。

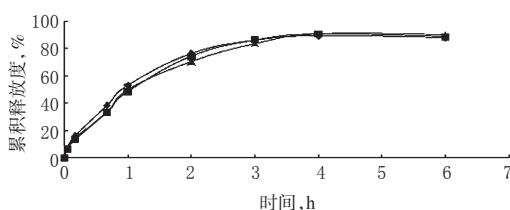


图6 3批胃黏附微丸的释放曲线

Fig 6 Release curves of 3 batches of GAP

根据相似因子法^[11]比较各曲线间的差异,其计算公式为 $f_2 = 50 \lg \{100 \times [1 + \sum (R_i - T_i)^2 / n]^{-0.5}\}$ 。 f_2 为相似因子,其值在 50~100 范围内时,表明两批样品间的释放曲线相似; R_i 和 T_i 分别表示微丸在第 n 个取样点的累积释放度。经计算,3 批胃黏附微丸 6 h 累积释放度均在 90% 左右,3 条曲线的 f_2 分别为 77.49、84.17、73.47,表明 3 批微丸的释放曲线相似,重现性良好。

5 体外黏附性考察^[12]

取体质量约 200 g 的 δ 大鼠 6 只,禁食供水 24 h 后断颈处死。取出胃,沿胃小弯剪开,用生理盐水漂洗,去内容物后将胃剪成块状,平铺固定于平整的载玻片上,于胃黏膜表面均匀撒上胃黏附微丸和速释微丸各 100 粒,然后放置于有饱和硝酸钾的密闭容器中,保湿 20 min 后取出。将其固定于 45° 的斜面,用 pH 1.2 盐酸-氯化钠溶液以 22 ml/min 流速冲洗胃黏膜表面 5 min,计数表面滞留颗粒,计算微丸滞留率。结果显示,胃黏附微丸、速释微丸的滞留率分别为 $(87.67 \pm 1.53)\%$ 、 $(35.33 \pm 2.52)\%$,前者黏附性明显优于未加黏附材料的速释微丸,故所制胃黏附微丸具有较理想的体外黏附性。

6 讨论

葛根素的理化性质和体内行为限制了其临床应用,因此其研究主要集中在两方面,一是依据前药、生物转化等原理修饰和改造葛根素的结构,以改善其水溶性和脂溶性,增强与血

红蛋白的结合能力;二是延长药物在药用部位的作用时间,降低其极性,提高药物的口服生物利用度或者药物的靶向作用^[5]。

微丸的粒径较小,是一种多单元的给药系统,可以减少药物对人体胃肠道的刺激,促进药物吸收,提高药物的生物利用度^[13]。生物黏附给药系统是20世纪80年代兴起且近年来发展较快的药物新剂型的一个分支。此类制剂以具有生物黏附特性的高分子材料为载体,在人体特定生物黏膜的黏膜表面通过高分子材料与黏膜间的黏附力,延长药物在特定部位的滞留时间而发挥疗效^[14]。该剂型除具有延长制剂在黏膜处的滞留时间、提高药物的生物利用度外,还具有靶向、避免药物在肝脏的首关效应、剂型容易定位、给药方便、患者易于接受等优点^[15]。

在本课题组前期的研究中发现,葛根素在胃部的累积吸收百分率较高。因此,本研究基于葛根素的特点设计了一种口服葛根素胃黏附型微丸,即利用微丸的多单元性及以生物黏附材料为载体两种特性,使微丸长时间黏附于吸收较佳的胃黏膜,广泛均匀分布于胃黏膜上,同时释放出药物,由此达到增加药物吸收的作用。微丸由内到外依次是空白丸芯、含药层、黏附骨架层,这种制剂可延长药物在胃内的停留时间,控制药物的释放,使药物与黏膜能充分接触,达到提高生物利用度、充分发挥药理活性、减少不良反应的目的。

在制备葛根素速释微丸时,包衣液中加入 SDS,作用是增加药物的溶解度,从而可提高葛根素微丸的累积释度。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:312.
[2] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].17版.北京:人民卫生出版社,2011:392.
[3] 谭开羽,吴敏.葛根素的药理作用及不良反应分析[J].中国药业,2007,16(3):60.

[4] 张环宇,李大伟,史彩虹.葛根素的临床应用研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(1):75.
[5] 李运景.葛根素注射液不良反应分析[J].中国药房,2006,17(24):1895.
[6] 金玉婷,石森林.葛根素新剂型的研究进展[J].中国医院药学杂志,2010,30(12):1048.
[7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录87.
[8] 谢向阳,李银科,李雪梅,等.盐酸利多卡因口腔黏附片的处方研究[J].中国药师,2012,15(10):1404.
[9] 尹丽芳,王静,张友智.克霉唑口腔黏附片的制备及质量评价[J].中国药师,2013,16(4):540.
[10] 蔡君,王淑英.黄芪总皂苷口腔黏附缓释片的处方筛选及体外释度测定[J].广东中医药大学学报,2012,29(3):310.
[11] 王荔.生物黏附剂口服给药系统的研究现状[J].北方药学,2005,2(1):27.
[12] 高朝霞,蒋学华,张川川,等.体外黏附力的测定及在生物黏附剂处方筛选的试用[J].中国医药工业杂志,2006,37(9):606.
[13] 狄媛,姜庆伟,李盛华.挤出-滚圆法制备微丸的影响因素研究[J].中国药房,2009,20(19):1512.
[14] 陈建海.药用高分子材料与现代药剂[M].北京:科学出版社,2003:240.
[15] Serra L, Domenech J, Peppas NA. Engineering design and molecular dynamics of mucoadhesive drug delivery systems as targeting agents[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 71(3):519.

(收稿日期:2014-06-16 修回日期:2015-01-19)

(编辑:刘萍)

全国农村基层卫生工作会议在武汉召开

本刊讯 2015年4月2日,国家卫生计生委在湖北武汉召开全国农村基层卫生工作会议,会议总结了近年来农村基层卫生工作,并部署了当前和今后一段时间改革发展任务。国家卫生计生委主任李斌出席会议并讲话,湖北省省长王国生出席会议并致辞,国家卫生计生委副主任马晓伟主持会议,湖北省副省长梁惠玲出席会议。

李斌指出,农村的医疗卫生工作具有极其重要的地位和作用,党中央高度重视,农村三级卫生服务网络不断健全,农村医疗卫生服务状况进一步改善,农民的健康水平持续提高。新一轮医改以来,改革首先从农村基层保基本起步,优先保障基本医疗保险、基本医疗服务、基本药物和基本公共卫生等需求;从强基层入手,健全城乡基层医疗卫生服务体系,提高服务能力和可及性;从建机制着眼,统筹推进建立基层新机制综合改革。农村基层医疗卫生体制改革成为医改亮点,走出了一条中国特色的医改之路,有力助推了农村同步小康进程和健康中国建设。

李斌强调,当前和今后一段时间,农村基层卫生发展要围绕建立基本医疗卫生制度,坚持以农村为重点、预防为主,进

一步巩固完善基本药物制度和基层运行新机制,进一步明确县、乡、村三级医疗卫生机构的功能定位,推动建立分级诊疗制度。改革新农合支付方式,推进大病保险,提高国家基本公共卫生服务项目的质量和效果,增强群众的获得感。加强乡村医生队伍建设,力争到2020年,让每个家庭有一名合格的家庭医生,每个居民有一份电子化的健康档案、一张智能健康卡,实现人人享有基本医疗卫生服务。

李斌要求,重点做好几项工作:一是进一步巩固完善国家基本药物制度、多渠道补偿机制、人事分配制度等农村基层运行新机制。二是通过发挥农村三级卫生服务网络整体效能、加强人才队伍建设、发挥“新农合”的调控引导作用,为构建分级诊疗制度打下牢固基础。三是通过提高保障水平,全面推进大病保险,深入推进支付方式改革,开展跨省就医核查和结报,进一步完善“新农合”制度。四是落实补偿政策,完善养老政策,改善服务条件,着力加强乡村医生队伍建设。五是加强基础设施建设,优化就医流程,强化医疗质量和安全,深入推进“建设群众满意的乡镇卫生院”活动。六是继续做好国家基本公共卫生服务项目,强化服务质量,提高群众获得感。