

五味子多糖微囊的制备及其体外释药特性考察

舒予^{1,2}, 李小芳^{1,2*}, 刘玲^{1,2}, 吴珊^{1,2}, 文怡静^{1,2}, 罗敏¹

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] 目的:优选五味子多糖微囊的喷雾干燥工艺并评价其质量和体外释药模式。方法:以壳聚糖为载体,采用喷雾干燥法制备五味子多糖微囊,以收率和载药量的综合评分为指标,通过正交试验考察药物与壳聚糖质量比、壳聚糖质量分数、进样速度、进风温度对制备工艺的影响,评价五味子微囊的质量并考察其体外释药特性。结果:最佳制备工艺为壳聚糖质量分数 2.0%,五味子多糖与壳聚糖质量比 1:3,进风温度 160℃,进液速度 5 mL·min⁻¹,空气流速 600 L·h⁻¹;制备的微囊表面光滑圆整、无黏连,载药量 22.71%,收率 62.04%,包封率 83.27%,平均粒径 13.47 μm,1,8 h 累积释药率分别为 47.86%,84.19%,在 0~8 h 内拟合 Higuchi 动力学方程 $Q = 29.365t^{1/2} + 11.033$ ($r = 0.9557$)。结论:采用喷雾干燥法制备的五味子多糖微囊包封率较高,具有一定缓释性能和突释效应。

[关键词] 五味子多糖;壳聚糖;微囊;喷雾干燥法;体外释药试验;正交试验

[中图分类号] R283.6;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)05-0027-05

[doi] 10.11653/syjf2014050027

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131218.1407.004.html>

[网络出版时间] 2013-12-18 14:07

Preparation of Schisandrae Chinensis Fructus Polysaccharides Microcapsules and Investigation of Its *in vitro* Release Behavior

SHU Yu^{1,2}, LI Xiao-fang^{1,2*}, LIU Ling^{1,2}, WU Shan^{1,2}, WEN Yi-jing^{1,2}, LUO Min¹

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China; 2. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Ministry of Education, Ministry of State Key Laboratory Breeding Base of System Research and Development Utilization of TCM Resources, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize spray drying process of Schisandrae Chinensis Fructus polysaccharides microcapsules and evaluate its quality and *in vitro* release pattern. **Method:** With chitosan as a carrier, Schisandrae Chinensis Fructus polysaccharides microcapsules was prepared by spray drying method, orthogonal design was adopted to investigate effects of quality rate of drug-chitosan, the mass fraction of chitosan, inlet velocity and inlet air temperature on preparation technology by taking composite score of yield and drug loading as index, quality of Schisandrae Chinensis Fructus polysaccharides microcapsules was evaluated and investigate its *in vitro* release characteristics. **Result:** Optimal preparation process was as follows: drug-chitosan (1:3), the mass fraction of chitosan 2.0%, inlet air temperature 160℃, inlet velocity 5 mL·min⁻¹, air flow rate 600 L·h⁻¹; These prepared microcapsules had rounded smooth surface without adhesions, drug loading was 22.71%, yield was 62.04%, encapsulation efficiency was 83.27%, average particle size was 13.47 μm, cumulative release in

[收稿日期] 20130729(005)

[基金项目] 四川省教育厅重点项目(12ZA042)

[第一作者] 舒予,在读硕士,从事中药新剂型及中药新技术研究,Tel:13548131260,E-mail:525614160@qq.com

[通讯作者] *李小芳,博士,教授,从事中药新剂型及中药新技术研究,Tel:13808195110,E-mail:lixiaofang918@163.com

1, 8 h were 47.86 and 84.19% , *in vitro* drug release profile could be described by Higuchi equation of $Q = 29.365t^{1/2} + 11.033$ ($r = 0.9557$) at 0-8 h. **Conclusion:** Entrapment efficiency of polysaccharides chitosan microcapsules prepared by spray drying method was high with some burst effects and sustained release performance.

[**Key words**] Schisandrae Chinensis Fructus polysaccharides; chitosan; microcapsules; spray drying method; *in vitro* release test; orthogonal test

五味子总多糖具有保肝、降血糖、抗疲劳、免疫调节、抗衰老、抗肿瘤等生物活性,且无副作用^[1-5],具有极大的开发价值。但其极易吸收水分从而导致潮解、结块、流动性降低或晶型改变^[6],而且口服时损失多、效益差^[7]。微囊化技术作为一种粉体表面改性技术,能改变药物粉体表面的性质,提高药物稳定性,能改善中药提取物粉体吸湿性强、荷电性大、分散性差等不良物理性质。喷雾干燥法作为最具工业化价值的微囊化技术之一,可用于水溶性或难溶性的固态或液态药物,尤其适用于热敏感性药物^[8]。本实验选用壳聚糖为载体,采用喷雾干燥法将五味子多糖制成壳聚糖微囊,以解决由于该成分不良物理性质给后续制剂成型工艺造成的困难,同时可达到缓控释的目的。

1 材料

BUCHI B-191 型小型喷雾干燥仪(瑞士 Buchi 公司),UV-6000 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),HJM-1 型差示扫描量热仪(北京恒久科学仪器厂),JSM-7500F 型扫描电子显微镜(日本电子株式会社),S3500 型激光粒度测定分析仪(美国 Microtrac 公司),X'Pert Pro MRD X 型射线衍射仪(荷兰帕纳科公司),BP61 型 1/10 万电子天平(德国 Satorius 公司),85-2 型控温磁力搅拌器(金坛市医疗仪器厂),ZRS-8G 型智能溶出试验仪(天大天发科技有限公司)。

$D(+)$ -无水葡萄糖对照品(批号 MUST-11020603,纯度 $\geq 98\%$,中国食品药品检定研究院),五味子提取物(五味子多糖质量分数 70%,陕西森弗高科实业有限公司),壳聚糖(脱乙酰度 $\geq 95\%$,黏度 < 200 cps,山东奥康生物科技有限公司),水为重蒸水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 五味子多糖壳聚糖微囊的制备 精密称取适量壳聚糖,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解并配成不同质量浓度备用。将五味子多糖溶解于壳聚糖溶液中,按一定比例配成待喷溶液,置于磁力搅拌器上充分搅拌均匀,静置除去气泡后进行喷雾干燥。

2.2 五味子多糖的含量测定

2.2.1 检测波长的确定 精密称取适量 $D(+)$ -无水葡萄糖对照品,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解并稀释成 $0.02\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,吸取 2.0 mL 至 10 mL 具塞干燥刻度试管,加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL,迅速加入浓硫酸 5.0 mL,摇匀;另以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸 2.0 mL 同法制备,作为空白溶液;室温放置 5 min,置于沸水浴中恒温 15 min,冰水浴中冷却至室温,于 400 ~ 800 nm 进行紫外扫描,结果对照品溶液在 490 nm 处有最大吸收。称取适量壳聚糖制成空白微球,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解,同法显色,结果发现在 490 nm 处无紫外吸收,故确定检测波长 490 nm。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取适量五味子多糖微囊置 100 mL 量瓶中,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解并定容,超声后摇匀,即得。

2.2.3 标准曲线的建立 分别精密移取 **2.2.1** 项下对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 至 10 mL 量瓶中,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸定容,得系列对照品溶液。分别吸取系列对照品溶液各 2.0 mL 至 10 mL 具塞干燥刻度试管,另以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸 2.0 mL 同法操作,作为空白溶液,按 **2.2.1** 项下方法显色,于 490 nm 处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,葡萄糖质量浓度(C)为横坐标,得回归方程 $A = 0.0625C - 0.0069$ ($r = 0.9998$),线性范围 2.5 ~ 12.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2.4 精密度试验 精密移取 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖对照品溶液 1.0 mL 至 10 mL 量瓶中,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸定容,精密量取 2.0 mL 置于具塞试管中,按 **2.2.1** 项下方法显色,于 490 nm 处测定 A ,结果 RSD 1.18%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取同一批样品,按 **2.2.2** 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,分别精密移取 2.0 mL 置于具塞试管中,按 **2.2.1** 项下方法显色,于 490 nm 处测定 A ,结果 RSD 1.72%,表明该方法重复性良好。

2.2.6 回收率试验 分别精密称取 $D(+)$ -无水葡萄糖对照品 0.247 5,0.308 9,0.370 3 g,各 3 份,按处方量加入壳聚糖空白微囊,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解,配成低、中、高 3 种质量浓度的溶液,按 **2.2.1** 项

下方法显色,于 490 nm 处测定 A,计算平均回收率分别为 98.35%,102.30%,99.56%,RSD 分别为 2.37%,2.68%,2.54%。

2.3 载药量测定 精密称取微囊粉末 50 mg 置 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶解并定容,超声后摇匀,吸取 4.0 mL 至 10 mL 量瓶中,加 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸稀释至刻度,精密吸取 2.0 mL 按 2.2.1 项下方法显色,于 490 nm 处测定 A,计算载药量。

载药量 = 微囊中含药量 / 微囊总质量 × 100%

2.4 收率的计算 收集喷雾干燥器收集瓶中微囊,称定质量,计算收率。

2.5 喷雾干燥工艺正交试验优选 在单因素试验基础上,选取药物与壳聚糖质量比、壳聚糖质量分数、进样速度、进风温度为考察因素,因素水平见表 1,以载药量和收率的综合评分为评价指标,权重系数均为 0.5,试验安排及结果见表 2。

表 1 五味子多糖微囊喷雾干燥工艺正交试验因素水平

水平	A 五味子多糖- 壳聚糖/g·g ⁻¹	B 壳聚糖 加入量/%	C 进样速度 /mL·min ⁻¹	D 进风温度 /℃
1	1:2	1.0	5	140
2	1:3	1.5	10	160
3	1:4	2.0	15	180

表 2 五味子多糖微囊喷雾干燥工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	综合评分/%
1	1	1	1	1	41.51
2	1	2	2	2	43.85
3	1	3	3	3	39.47
4	2	1	2	3	38.59
5	2	2	3	1	28.64
6	2	3	1	2	47.25
7	3	1	3	2	34.52
8	3	2	1	3	39.20
9	3	3	2	1	36.81
K ₁	41.610	38.207	42.653	35.653	
K ₂	38.161	37.230	39.750	41.873	
K ₃	36.843	41.177	34.210	39.087	
R	4.767	3.947	8.443	6.220	

由极差分析可知,各因素对五味子多糖微囊喷雾干燥工艺的影响顺序为 C>D>A>B,确定最优工艺组合为 A₂B₃C₁D₂,即五味子多糖-壳聚糖(1:3),壳聚糖质量分数 2.0%,进样速度 5 mL·min⁻¹,进风温度

160℃。按优选的工艺条件制备 3 批五味子多糖微囊,结果平均载药量 22.71%(RSD 2.89%),平均收率 62.04%(RSD 2.11%),表明该工艺重复性良好。

2.6 微囊质量评价

2.6.1 形态 五味子多糖微囊样品呈白色略带浅棕色粉末,无不良气味,流动性和分散性均较佳。采用扫描电子显微镜观察微囊的表面形态,结果见图 1,显示微囊形态表面圆整光滑、不粘连。

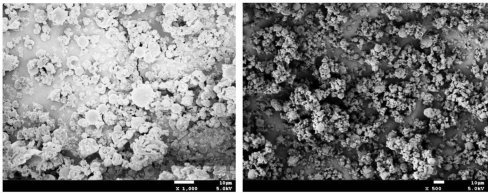


图 1 五味子多糖微囊 SEM(左、右图分别放大 1 000,500 倍)

2.6.2 粒径测定 取五味子多糖微囊样品,用激光粒度分析仪测定粒径分布,结果见图 2,显示微囊粒径大多数<50 μm,平均粒径 13.47 μm,表明微囊粒径较小,但粒径分布不太均匀。

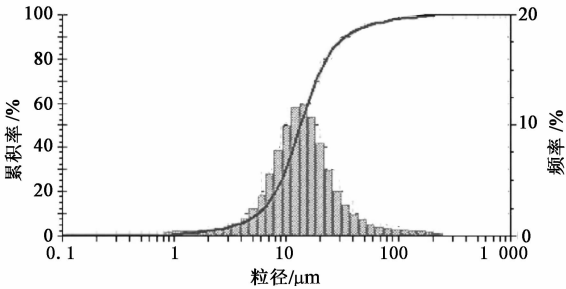


图 2 五味子多糖微囊粒径分布

2.6.3 差示扫描量热分析 分别对五味子多糖微囊、五味子多糖提取物-壳聚糖(1:3)的物理混合物进行 DSC 测定,取样品约 10 mg,设定升温 25~500℃,升温速率 10℃·min⁻¹,结果发现二者的 DSC 吸收峰具有明显差异,微囊样品在 270.1℃处具有吸收峰,而物理混合物在 307.8,438.3℃具有吸收峰,说明五味子多糖微囊并不是简单的物理包裹,其物理性质已发生了一定改变。

2.6.4 X 射线衍射分析 采用 X 射线衍射仪记录微囊样品、五味子多糖提取物-壳聚糖(1:3)物理混合物的 X 射线衍射图谱,测定条件为靶材 Cu,将样品制成厚度 1 mm,长度 10 mm 的压片并固定,测定电流设定 40 mA,电压 40 kV,连续扫描 PSD 长度 3.35°(2θ),结果见图 3,表明物理混合物具有明显的特征峰,而微囊样品几乎不具有特征峰,进一步证实了经微囊化后物相已完全改变,说明五味子多糖

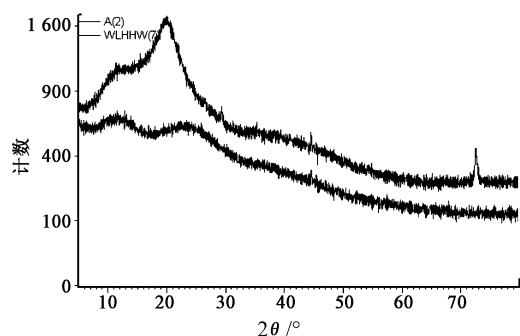


图 3 五味子多糖提取物-壳聚糖物理混合物(上)和五味子多糖微囊(下)的 XRD

已完全包裹在微囊中。

2.6.5 包封率的测定 精密称取五味子微囊样品 50 mg,用水洗涤 3 次,弃去洗涤液,洗过的微囊按 2.3 项下方法操作,根据公式包封率 = 微囊中实际药量/微囊理论载药量 × 100%,计算平均包封率 83.27% ($n=3$),RSD 2.43%。

2.6.6 体外释放度的测定^[9-10] 按《中国药典》2010 版二部附录 XC 溶出度测定法第二法装置测定五味子多糖微囊的体外释药特性。以 pH 6.8 磷酸缓冲溶液 900 mL 为释放介质,恒温(37 ± 0.5)℃,调节转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。精密称取制备的微囊样品和五味子多糖提取物各 50 mg 置于溶出杯中,取样时间点为 0.5,1,2,4,6,8 h,每次取样 5 mL,并立即补充等体积等温度释放介质。取样液立即用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,吸取续滤液 2 mL 用 pH 6.8 磷酸缓冲溶液定容至 10 mL,于 490 nm 处测定 A,计算体外累积释放率,绘制累积释放曲线见图 4,采用零级、一级及 Higuchi 动力学模型进行释药曲线拟合,以累积释放率(Q)为纵坐标, t 为横坐标,得回归方程分别为 $Q=8.568\ 2t+28.345$ ($r=0.842\ 3$), $\ln(1-Q)=-0.212t+4.266\ 7$ ($r=0.942\ 4$), $Q=29.365t^{1/2}+11.033$ ($r=0.955\ 7$),结果表明 Higuchi 方程能较好地解释药物的释放行为。在释放介质中五味子提取物粉末 1 h 内累积释放率达 97.33%,而五味子多糖微囊 8 h 累积释放率 84.19%,表明五味子多糖微囊具有一定的缓释性能。

3 讨论

选择多糖类水溶性物质作为芯材进行包覆,可创造一个相对稳定的环境,应用起来具有诸多优点:①屏蔽外界不良影响,避免因吸湿导致潮解、结块、流动性降低而影响制剂的成型和贮存;②可改变药物的吸湿性、分散性、流动性、团聚性等物理性质;③可控制微胶囊芯材的释放能力,使水溶性多糖类物

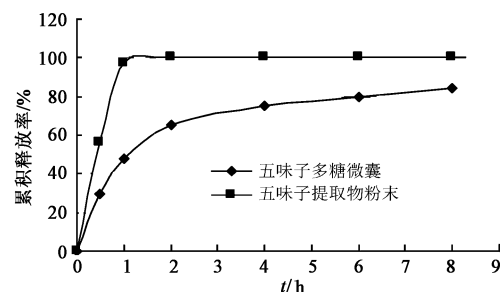


图 4 五味子多糖微囊体外累积释药曲线($n=3$)

质以一定速率逐渐向外释放;④改善芯材物质的稳定性,对水溶性多糖起到保护作用,延长药效时间。

利用喷雾干燥法制备微囊的过程中,虽然进风温度 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$,出口温度接近 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$,但由于喷雾微囊形成的特殊原理,不会对五味子多糖产生破坏作用。喷雾干燥包埋的原理可理解为壁材形成一种网状结构,起到筛分作用,小分子物质(水)由于体积小,经热的作用能顺利移出,而分子体积较大的芯材则滞留于网中;在固化过程中,虽然热空气温度可能会很高,但由于水从壁材中快速蒸发从而保证了芯材温度 $<100\text{ }^{\circ}\text{C}$;同时雾化颗粒暴露在热空气中时间最多不超过十几秒,所以该法适合于热敏感物质的微胶囊化^[11]。

在体外释药试验中发现,在开始的 1 h 内五味子多糖微囊的累积释药率 47.86%,存在突释效应,可使药物在短时间内达到较高浓度,同时减少滞后现象,主要原因可能是由于微囊表面存在许多微孔。在释放初期,释放介质可通过微孔迅速进入微囊内部,溶解药物形成较高甚至是饱和浓度,依据浓度差,药物分子由微孔快速扩散出来形成突释;同时也可能是微球表面吸附了药物的微小晶体,从五味子多糖微囊的 SEM 可清晰地观察到此现象^[12]。1~8 h 内的释放相对缓慢是由于囊材壳聚糖吸水易溶胀,溶胀后使微孔口径减少甚至消失,微孔通道关闭,随后的药物释放只能通过骨架缓慢地扩散或通过壳聚糖的降解慢慢地释放。

五味子多糖微囊粒径较小,但粒径分布却不太均匀。原因可能是五味子提取物溶于壳聚糖溶液中较为困难,造成分散不均匀,致使制备的微囊粒度差异较大,亦有可能是囊材溶液浓度、药物与囊材比例等因素的影响。

【参考文献】

- [1] 陈文静,季宇彬.五味子多糖药理作用的研究进展[J].食品与药品,2007,9(12):66.

超滤工艺对生脉注射液中有效成分透过率的影响

张坚¹,唐海涛²,刘汉清^{1*},张平²,于鹤云¹,徐杰²

(1. 南京中医药大学,南京 210046; 2. 江苏苏中药业集团股份有限公司,江苏 姜堰 225500)

[摘要] 目的:考察超滤工艺对生脉注射液中有效成分透过率的影响。方法:以人参皂苷 R_{g₁},Re,Rb₁,五味子醇甲透过率为指标,通过正交试验考察聚砜膜孔径、温度、压力对生脉注射液超滤工艺的影响。采用 HPLC 测定指标成分含量,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min,0%~10% A;30~40 min,10%~23% A;40~50 min,23% A;50~85 min,23%~60% A;85~95 min,60%~100% A),检测波长 203 nm。结果:最佳超滤工艺为聚砜膜孔径 50 000,温度 45 ℃,压力 11 psi;人参皂苷 R_{g₁},Rb₁,Re,五味子醇甲的透过率分别为 80.26%,85.02%,50.69%,94.99%。结论:超滤工艺对生脉注射液中有效成分的透过率存在一定影响,为生脉注射液过滤工艺的优选提供实验依据。

[关键词] 超滤工艺;生脉注射液;人参皂苷;五味子醇甲;透过率;

[中图分类号] R283.6;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)05-0031-04

[doi] 10.11653/syfy2014050031

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131218.1406.003.html>

[网络出版时间] 2013-12-18 14:06

Effects of Ultrafiltration Process on Transmittance of Active Ingredients
from Shengmai Injection

ZHANG Jian¹, TANG Hai-tao², LIU Han-qing^{1*}, ZHANG Ping², YU He-yun¹, XU Jie²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. SZYY Pharmaceutical Group Limited, Jiangyan 225500, China)

[收稿日期] 20130725(014)

[基金项目] 江苏省重点科研成果产业化项目(BA2011124)

[第一作者] 张坚,在读硕士,从事中药新剂型研究,Tel:18362315880,E-mail:zhangjian7942@126.com

[通讯作者] *刘汉清,教授,博士生导师,从事中药新剂型研究,Tel:025-86595017,E-mail:nzyhqliu@126.com

[2] 陈雯,刘宝瑞. 五味子多糖的抗肿瘤研究进展[J]. 中医临床研究,2012,4(14):24.

[3] 王志存,董佩佩. 五味子多糖抗运动性疲劳研究进展[J]. 食品研究与开发,2012,33(6):235.

[4] 谢明亮,王位萍. 五味子降脂功能研究[J]. 临床合理用药杂志,2012,5(6A):9.

[5] Gao X X,Meng X J,Li J H,et al. Hypoglycemic effects of a water-soluble polysaccharide isolated from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill in alloxan-induced diabetic mice[J]. J Biotechnol,2008,136(5):5725.

[6] 刘怡,冯怡,徐德生. 中药提取物防潮剂技术研究进展[J]. 中成药,2007,38(5):795.

[7] 樊英,许拉,于晓清,等. 黄芪多糖海藻酸钠微胶囊的制备及释放性能研究[J]. 饲料研究,2011,34(11):6.

[8] 胡荣,罗先钦,秦伟瀚,等. 喷雾干燥法制备丹酚酸壳聚糖微囊[J]. 中国海洋药物杂志,2012,31(5):27.

[9] 艾凤伟,王佳瑜,李艳凤,等. 芦丁微囊的制备及其质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):32.

[10] 严春临,张季,张丹参,等. 大黄酚微囊的制备及其体外释药的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):7.

[11] 钟业俊,叶云花,刘成梅,等. 姜辣素喷雾干燥微胶囊化研究[J]. 江西食品工业,2006,19(1):29.

[12] 蔡鑫君,程巧鸳,赵宁,等. 喷雾干燥法制备川芎嗪壳聚糖微球的研究[J]. 中草药,2008,39(5):679.

[责任编辑 仝燕]