

三七皂苷缓释微球的性质研究

赵国巍¹, 廖正根¹, 陈绪龙¹, 梁新丽¹, 王光发¹, 蒋且英² (1.江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004; 2.江西中医学院成人教育学院, 南昌 330006)

摘要: 目的 对三七皂苷缓释微球(PNS-SRM)的理化性质进行研究。方法 采用粒径测定、扫描电镜(SEM)、比表面积测定、差示扫描量热分析(DSC)、红外光谱(IR)、X射线衍射(XRD)、溶出度测定等手段研究 PNS-SRM 的理化性质。结果 PNS-SRM 与物理混合物相比, 在 IR、DSC、XRD 上有显著差异。PNS-SRM 具有明显的缓释效应。结论 PNS-SRM 中壳聚糖、丙烯酸树脂和三七皂苷(PNS)之间发生了分子间作用, 有新晶形生成。

关键词: 三七皂苷; 缓释微球

中图分类号: R943.41

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)11-1112-04

Study on the Properties of *Panax Notoginseng* Saponins Sustained Release Microspheres

ZHAO Guowei¹, LIAO Zhenggen¹, CHEN Xulong¹, LIANG Xingli¹, WANG Guangfa¹, JIANG Qieying² (1.Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2.College of Adult Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study on physicochemical properties of *Panax notoginseng* saponins sustained release microspheres (PNS-SRM). **METHODS** Some analytical methods, such as determination of particle size, scanning electron microscopy (SEM), differential thermal analysis (DSC), infrared spectra (IR), X-ray powder diffraction (XRD), specific surface area determination, dissolution test, were applied to the investigation of PNS-SRM. **RESULTS** There were difference between PNS-SRM and physical mixture in IR, DSC, XRD. The PNS-SRM had good slow releasing effect. **CONCLUSION** There is intermolecular interaction among chitosan, acrylic resin and PNS in PNS-SRM. In the PNS-SRM a new crystal form was generated.

KEY WORDS: *Panax notoginseng* saponins; sustained release microspheres

三七皂苷(*Panax notoginseng* saponins, PNS)为中药三七的主要有效成分, 具有降低心肌耗氧量、改善心肌缺血、抗心律失常、降血脂、防止动脉粥样硬化、改善脑血循环、抗炎、抗衰老、抗氧化等药理作用^[1], 临床上主要用于心脑血管疾病的治疗。将三七皂苷制成缓释制剂, 可以改变普通制剂日给药量大、反复给药^[2]等缺点。本试验采用多种分析测试手段对制备的 PNS 缓释微球(PNS-SRM)进行性质研究, 为微球的质量控制和制剂学研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Büchi B-290 型小型喷雾干燥机(瑞士步琦有限公司); Agilent 1200 型高效液相色谱(美国 Agilent 公司); BT-9300H 型激光粒度分布仪(丹东

市百特仪器有限公司); Tristar 3000 型比表面积测定仪(美国 Micromeritics 公司); VERTEX 70 型红外光谱仪(德国 Bruker 公司); 差示扫描量热(DSC)分析仪(美国 PE 公司); D8ADVANCE 型 X 射线衍射仪(德国 Beuker-axc 公司); QUANTA200 型扫描电子显微镜(美国 FEI 公司)。

1.2 试药

PNS(西昌市杰象药物原料有限公司, 批号: 20071101, 其中人参皂苷R_{g1}含量为29%); 壳聚糖(Chitosan, CS, 脱乙酰度≥95%, 济南海得贝海洋生物工程有限公司); 丙烯酸树脂水分散体FS 30D 型(Acrylic Resin, 含量为30%, 卡乐康公司); 人参皂苷R_{g1}对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110703-200424, 纯度: 97.7%); 其他试剂均为分析纯。

基金项目: 江西省卫生厅项目(2007A025); 江西省科技支撑计划(2008BB22500); 十一五重大新药创制项目(2009ZX09310-005)

作者简介: 赵国巍, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0791)7119011

E-mail: weiweihaoyunqi@163.com

2 方法

2.1 PNS-SRM 的制备^[3]

采用喷雾干燥法制备 PNS-SRM。以壳聚糖和丙烯酸树脂为载体材料,载体溶液浓度为 $11 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,载体材料与 PNS 的浓度比为 10:1,在空气流量 $32 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ 、进口温度 $135 \text{ }^\circ\text{C}$ 、出口温度 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 、进样速度 $9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下,喷雾干燥制得 PNS-SRM,其载药量为 9.1%,包封率为 70.4%。同法制备壳聚糖和丙烯酸树脂混合载体材料的空白微球。

2.2 PNS 中 Rg_1 测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Waters C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 203 nm; 进样量: 20 μL ; 柱温: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 流动相乙腈-水进行梯度洗脱,洗脱条件为: 0~15 min,乙腈由 20%线性增加到 21.5%, 15~21 min,乙腈由 21.5%线性递增至 26.5%。

2.2.2 标准曲线的绘制 精密称取人参皂苷 Rg_1 对照品 5.02 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,分别吸取上述对照品溶液 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 mL 置 1 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归,得回归方程: $Y=6.1885X-7.0595$, $r=0.9996$,对照品浓度在 25.1~150.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液 20 μL ,重复进样 6 次,测定色谱峰面积,计算人参皂苷 Rg_1 的 RSD 为 1.1%,表明本实验精密度符合要求。

2.2.4 加样回收率试验 精密称取空白微球 0.5 g,共 6 份,分别置于 10 mL 量瓶中,分别精密加入对照品溶液 1 mL,甲醇定容,涡旋震荡 10 min,滤过并测定。根据标准曲线求其含量,与加入量比较,计算回收率。本方法人参皂苷 Rg_1 的加样回收率在 96.10%~98.76%之间, RSD 为 1.4%。

2.2.5 含量测定 精密称取 PNS 15 mg,置于 50 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,作为供试品溶液。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,进样分析,得出的峰面积代入回归方程,计算出 PNS 中人参皂苷 Rg_1 的百分含量为 29%。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取“2.2.5”项下供试品溶液 20 μL ,按 0, 2, 4, 6, 8 h 时间间隔,分

别进样分析,测定人参皂苷 Rg_1 的色谱峰面积, RSD 为 1.3%,表明在 8 h 内供试品稳定性良好。

2.3 粒径测定

采用 BT-9300H 型激光粒度分布仪,测定 PNS-SRM 的粒径及分布。

2.4 表面形貌

采用 QUANTA200 型扫描电子显微镜(SEM)观测 PNS-SRM 形貌。

2.5 比表面积测定

采用 Tristar 3000 型比表面积测定仪,测定 PNS-SRM 的比表面积。

2.6 DSC 分析

以空 Al_2O_3 坩锅为参比,另一 Al_2O_3 坩锅放入样品,升温速度 $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,扫描范围 $10\sim 280 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.7 红外光谱(IR)分析

样品的 IR 测定采用 VERTEX 70 型红外光谱仪,每个样品的红外光谱为 $400\sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 内扫描 16 次的累积。

2.8 X 射线衍射(XRD)分析

样品的 XRD 分析在 D8ADVANCE 型 X 射线衍射仪上进行,扫描范围 2θ 为: $0^\circ\sim 60^\circ$, $\text{Cu-K}\alpha$ 靶,管电压 60 kV,管电流 30 mA,采样间隔为 0.02° 。

2.9 溶出试验^[4-5]

采用恒温振荡法。精密称取 PNS-SRM 适量,装入处理好的透析膜袋内,加入 2 mL 溶出介质(磷酸缓冲液, $\text{pH}=7.4$),置于具塞锥形瓶中并补加 48 mL 溶出介质。在 $(37\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 条件下恒温水浴,振荡频率为 $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 定时取样 1 mL,并即时补加同体积、同温度的溶出介质。

3 结果

3.1 微球粒径及分布

采用激光粒度分布仪测定 PNS-SRM 的粒径及分布,其体积平均径为 11.8 μm , D_{90} 为 25.2 μm ,粒径在 2~20 μm 的微球占 77%,粒径分布见图 1。

3.2 表面形貌

PNS-SRM 的 SEM 图见图 2,可以看出微球呈圆形,表面沾有粒状物,可能为未包封的药物。

3.3 比表面积测定

PNS-SRM 等温吸附曲线图和等温脱附曲线图见图 3,采用 BET 法测定 PNS-SRM 的比表面积为 $2.1988 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ 。

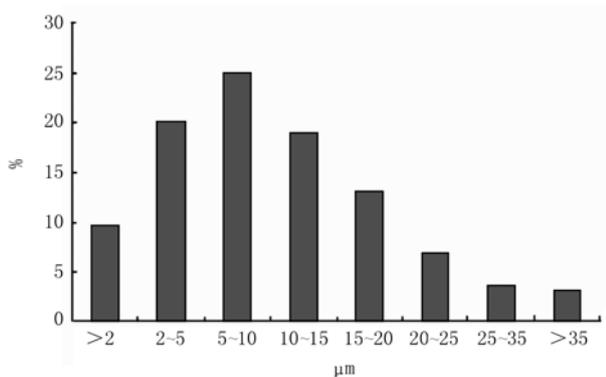


图1 PNS-SRM 粒径分布图
Fig 1 Particle size distribution of PNS-SRM

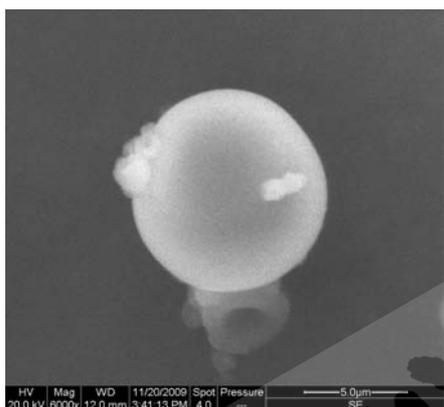


图2 PNS-SRM 的 SEM 图
Fig 2 SEM micrographs of PNS-SRM

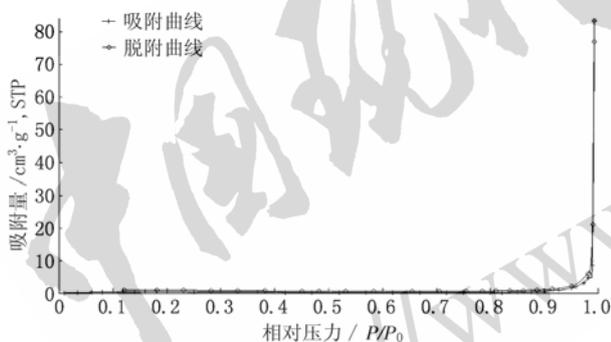


图3 PNS-SRM等温线图
Fig 3 Isotherm linear plot of PNS-SRM

3.4 IR 分析

壳聚糖在 2881 cm^{-1} 处的吸收峰、丙烯酸树脂在 2957 cm^{-1} 处的吸收峰和 PNS 在 2934 cm^{-1} 处的吸收峰，在物理混合物中依然存在，在 PNS-SRM 中该处的吸收峰消失。对比物理混合物和 PNS-SRM，丙烯酸树脂在 1449 cm^{-1} 的吸收峰在物理混合物中没有发生变化，在 PNS-SRM 中迁移至 1415 cm^{-1} 处，丙烯酸树脂在 1737 cm^{-1} 处的吸收峰在 PNS-SRM 中消失，同时 PNS-SRM 在 1568 cm^{-1} 处新出现了吸收峰，见图 4。吸收峰新

增、消失和发生位移，说明壳聚糖、丙烯酸树脂和 PNS 之间发生了分子间作用。

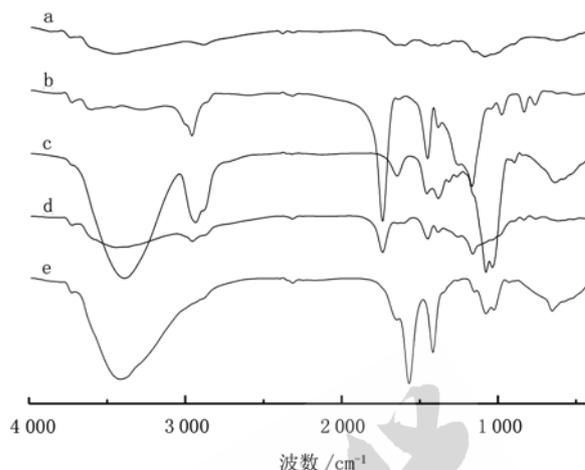


图4 IR 图谱
a-壳聚糖; b-丙烯酸树脂; c-PNS; d-物理混合物; e-PNS-SRM
Fig 4 IR spectra
a-chitosan; b-acrylic resin; c-PNS; d-physical mixture; e-PNS-SRM

3.5 差示扫描量热分析

壳聚糖在 $158\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰和丙烯酸树脂在 $51\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰在物理混合物中依然存在，壳聚糖在 $81\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸收峰和 PNS 在 $74\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰，在物理混合物中合并表现为 $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰，物理混合物的 DSC 图谱具有壳聚糖、丙烯酸树脂和 PNS 谱线叠加的特征，说明混合后三者未发生物理化学变化。在 PNS-SRM 的 DSC 图谱中壳聚糖、丙烯酸树脂和 PNS 的特征吸热峰均消失不见，在 $82\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 新出现了 2 个吸热峰，在 $244\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰可能是 PNS-SRM 的转化温度。表明壳聚糖、丙烯酸树脂和 PNS 之间发生了分子间作用，可能有新的物相生成。见图 5。

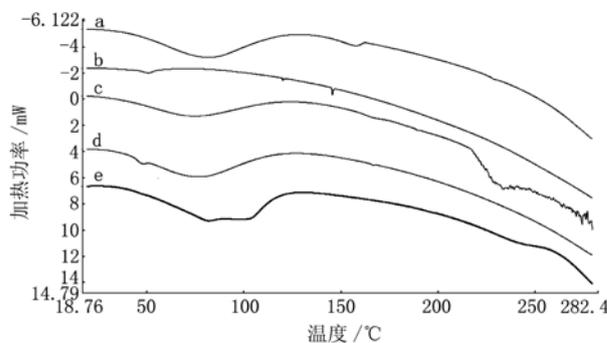


图5 DSC 图谱
a-壳聚糖; b-丙烯酸树脂; c-PNS; d-物理混合物; e-PNS-SRM
Fig 5 DSC curves
a-chitosan; b-acrylic resin; c-PNS; d-physical mixture; e-PNS-SRM

3.6 XRD图谱分析

采用 X 射线粉末衍射技术可有效地测定晶体化合物的晶型变化, 见图 6。在图 6 中, 壳聚糖的特征峰 1) 标记没有发生变化, 丙烯酸树脂和 PNS 以 2) 标记的特征峰被以 1) 标记的壳聚糖特征峰包含在内。对比图 6(d) 和图 6(e), 可以看出 PNS-SRM 和物理混合物的主要特征峰明显不同, 1) 标记的特征峰消失, 新出现了 3) 标记的特征峰。这些特征峰的变化, 表明 PNS-SRM 中形成新的晶型。

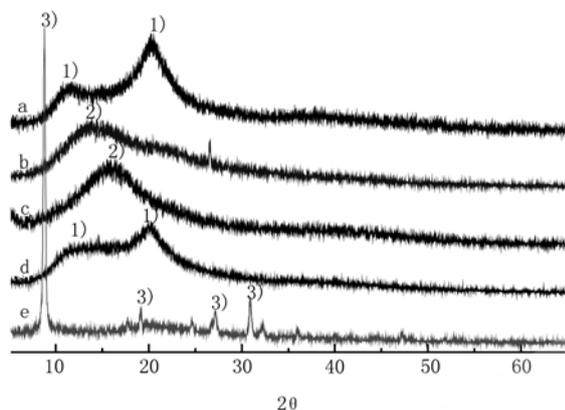


图 6 XRD 图谱

a-壳聚糖; b-丙烯酸树脂; c-PNS; d-物理混合物; e-PNS-SRM

Fig 6 X-ray diffraction patterns

a-chitosan; b-acrylic resin; c-PNS; d-physical mixture; e-PNS-SRM

3.7 溶出实验结果

对 PNS-SRM 按“2.9”项下方法进行溶出实验, 结果见图 7。

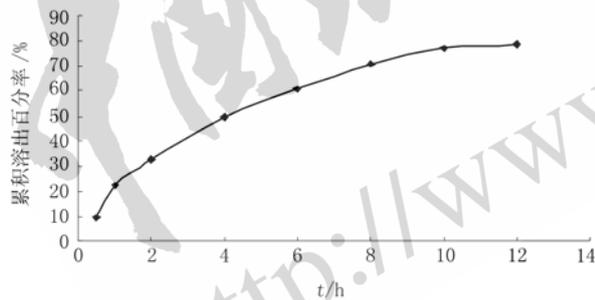


图 7 PNS-SRM 溶出曲线

Fig 7 Release curves of PNS-SRM

参照有关文献[6], 三七皂苷缓释微球 2, 4, 10 h 的释放度范围分别为 $20\% < F_{2h} < 40\%$ 、 $40\% < F_{4h} < 60\%$ 、 $75\% < F_{10h} < 95\%$, 具有明显的缓释效应。

将 PNS-SRM 释放时间 (t) 与药物的累积溶出百分率 (Q) 分别用零级释放模型、一级释放模型、Weibull 函数和 Higuchi 模型进行拟合^[7], 结果见表 1。

以各方程的相关系数为指标, 得出 PNS-SRM 在磷酸缓冲液中的释放按 Weibull 函数拟合效果

最好。

表 1 PNS-SRM 溶出数据的拟合方程

Tab 1 The fitting equations of release date of PNS-SRM

模型	拟合方程	r
零级释放模型	$Q=0.0976t+18.314$	0.9574
一级释放模型	$\lg(1-Q)=-0.0009t-0.0555$	0.9912
Weibull 函数	$\ln\ln[1/(1-Q)]=0.8392\ln t-4.9941$	0.9943
Higuchi 模型	$Q=3.2979t^{1/2}-4.2034$	0.9921

4 讨论

综合考虑 IR、DSC 和 XRD 分析结果, 表明 PNS-SRM 中壳聚糖、丙烯酸树脂和 PNS 之间发生了分子间作用, 有新的物相即新晶形生成。

药物包封于载体材料中制成微球, 药物从微球中逐步释放出来, 具有缓释效果。本研究发现, PNS-SRM 具有明显的缓释效应, 除了上述原因外, 还可能受到微球中新晶形生成的影响。以晶体形式存在的药物较以分子或无定形形式存在的药物的释放速率慢, 是由于晶体药物的释放首先需要破坏晶格, 需要更多的能量, 因而溶解速率较慢。

本试验采用 SEM、IR、DSC、XRD、释放度等多种表征手段, 对 PNS-SRM 的理化性质进行了系统研究, 为 PNS-SRM 的制剂学研究和质量控制提供依据。

REFERENCES

- [1] YANG Z G, CHEN A Q, YU S D, et al. Recent advances in the research of pharm acological activities of *Panax notoginseng saponins* [J]. Chin J Veterinary Drug (中国兽药杂志), 2005, 39(1): 33-37
- [2] HONG Y L, WU Q, DU S Y. Initial research on technology for preparing slow-release total notoginsenoside tablets [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med (北京中医药大学学报), 2004, 27(3): 75-77.
- [3] ZHAO G W, LIAO Z G, CHEN X L, et al. Study on preparation of *Panax notoginseng saponins* sustained release microspheres by spray drying method [J]. West Chin J Pharm Sci (华西药科学杂志), 2010, 25(6): 676-678.
- [4] XIA H, ZHANG N, JIN Z M, et al. The technological study on microspheres of breviscapine by spray drying method [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2007, 29(5): 683-686.
- [5] CAI X J, CHENG Q Y, ZHAO N, et al. Preparation of ligustraz ine-chitosan microspheres by spray drying method [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2008, 39(5): 679-682.
- [6] LIAO Z G, LIANG X L, PING Q N, et al. Formula design and optimization of Guizhi-Fuling double layers sustained-release tablet [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2009, 40(4): 10-14.
- [7] LIU C, JIN M Y, ZHANG X N. Studies on preparation of diclofenac sodium silk fibroin-chitosan sustained-release microspheres and its characteristics [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2009, 18(6): 1566-1572.

收稿日期: 2010-03-23