

- inflammation [J]. Pharmacol Res, 2003, 48(6): 601-606.
- [4] WILMSEN P K, SPADA D S, SALVADOR M. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(12): 4757-4761.
 - [5] TIRKEY N, PILKHWAL S, KUHAD A, et al. Decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney [J]. BMC Pharmacol, 2005, 5(1): 1-8.
 - [6] LEE N K, CHOI S H, PARK S H, et al. Antiallergic activity of hesperidin is activated by intestinal microflora [J]. Pharmacology, 2004, 71(4): 174-180.
 - [7] PARK Y B, DO K M, BOK S H, et al. Interactive effect of hesperidin and vitamin E supplements on cholesterol metabolism in high cholesterol-fed rats [J]. Int J Vitam Nutr Res, 2001, 71(1): 36-44.
 - [8] SUN Y F, DU L L, ZHOU L, et al. Study on antibacterial active components from *Viola yedoensis* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 34(4): 87-90.
 - [9] FU G Y, FU K, WANG H G, et al. Extraction and determination of total flavone from *Viola Philippica* Cav by spectrophotometry [J]. J Inner Mongolia Nat Univ-Nat Sci Med(内蒙古民族大学学报: 自然科学版), 2008, 23(5): 512-513.
 - [10] JIN Y M, JIANG S. Study on extraction of total flavones from *Viola yedoensis* Makino [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学杂志), 2009, 37(1): 188-189.
 - [11] CHEN W N. Principle of Supercritical Fluid Extraction and Its Application(超临界流体萃取的原理和应用) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1998: 119.
 - [12] KERRY M D, CHIEN P K, ROBERT P G, et al. The use of entrainers in the supercritical extraction of soils contaminated with hazardous organics [J]. Ind Eng Chem Res, 1987, 26(10): 2058-2062.
 - [13] XI Y B, XIA X H, JIN R, et al. Effect of entrainer on supercritical CO₂ for extraction of tradition and herbal drugs [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(11): 1460-1463.
 - [14] LIU C M, ZHAO X L, LIU Z Q, et al. Isolation and extraction of total flavonoids from *Epimedium koreanum* Nakai by supercritical fluid extraction [J]. Chem Res Chin Univ(高等学校化学研究: 英文版), 2004, 20(6): 707-710.
 - [15] KURIN D, ANDRE I. Response Surfaces Design and Analysis [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1997.
 - [16] TENG K, RUAN H S, WU Z J, et al. Optimal extraction of total flavone from Tengligen by central composite design and response surface methodology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(7): 610-614.
 - [17] CAO J, WANG F G, LIU K, et al. Study on the extraction of Dictamn Cortex with ultrasonic wave technology optimized by central composite design and response surface method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(10): 895-899.
 - [18] HOU D Y, HUI R H, LIU X Y. Study on extracting condition flavones from *Viola yedoensis* Makino [J]. J Anshan Normal Univ(鞍山师范学院学报), 2007, 9(2): 19-22.

收稿日期: 2013-04-16

银杏叶提取物-蒺藜总皂苷缓释微丸的制备研究

钦富华¹, 黄孝闻², 夏晓静¹, 吴人杰², 王明军¹ (1. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100; 2. 浙江省中医药研究院, 杭州 310007)

摘要: 目的 制备银杏叶提取物-蒺藜总皂苷(GBE-GSTT)缓释微丸。方法 采用挤出制粒滚圆法制备素丸, 以微球圆整度、堆密度、脆碎度和收率为指标, 通过正交试验选出优化处方工艺, 用乙基纤维素进行缓释包衣。结果 缓释包衣微丸在 1 h 释放量约为 20%, 无明显突释现象; 4 h 释放量约为 55%, 8 h 可达 80% 以上, 基本符合中国药典对缓释制剂的要求。微丸体外释放符合一级动力学模型。结论 本工艺制备 GBE-GSTT 缓释微丸可行, 操作简便, 质量稳定。

关键词: 银杏叶提取物; 蒺藜总皂苷; 微丸; 缓释

中图分类号: R942

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)02-0178-05

Study on Preparation of *Ginkgo Biloba* Extract and Gross Saponin from *Tribulus Terrestris* Sustained Release Pellets

QIN Fuhua¹, HUANG Xiaowen², XIA Xiaojing¹, WU Renjie², WANG Mingjun¹ (1. Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 2. Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare *Ginkgo biloba* extract and gross saponin from *Tribulus terrestris* (GBE-GSTT) sustained release pellets. **METHODS** Pellets were prepared by granulating extrusion spheronization method, and were further coated with ethyl cellulose. Degree of circularity, bulk density, friability and yield were selected as indicators to optimize the

基金项目: 宁波市工业科研攻关项目(2007B10013); 浙江省大学生科技创新计划项目(2010R433001)

作者简介: 钦富华, 男, 硕士生, 讲师 Tel: (0574)88223081 E-mail: qinhf@mail.zjpc.net.cn

formulation and process by orthogonal test. **RESULTS** The pellets basically met the requirements of Pharmacopoeia of sustained-release preparations with the release profile of 20% at 1 h, 55% at 4 h and above 80% at 8 h respectively. The *in vitro* release of pellets fit the first-order kinetic model. **CONCLUSION** The process is feasible, simple and stable.

KEY WORDS: *Ginkgo biloba* extract; gross saponin from *Tribulus terrestris*; pellets; sustained release

银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* extract, GBE)具有清除自由基、拮抗血小板活化因子、降血脂、增强中枢神经系统功能等作用^[1]。临床研究表明, GBE 在治疗心血管系统疾病、急性脑梗死等方面功效显著。GBE 主要活性成分包括黄酮类和萜内酯类化合物, 其中黄酮类水解产物主要包括槲皮素、山柰酚和异鼠李素, 萜类内酯主要为银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C 和白果内酯。

蒺藜具活血祛风、祛痰止咳、明目利尿等功效, 多用于治疗心脑血管性疾病方药的组方中。蒺藜有效成分主要包括生物碱类、黄酮类和皂苷类。研究表明蒺藜总皂苷(gross saponin from *Tribulus terrestris*, GSTT)在防治动脉硬化、心绞痛等心脑血管疾病、抗衰老和治疗性功能减退症等方面显示出良好疗效^[2]。

GBE 和 GSTT 在治疗心脑血管疾病方面具有许多相似之处。课题组前期以 GBE、GSTT 不同比例配伍为供试品, GBE、GSTT 为对照品, 分别以抗实验性血栓形成, 对大鼠脑缺血再灌注的影响, 对血液黏度的影响为指标, 综合考虑了 GBE、GSTT 2 者作用的差异性与协同性, 结果表明 GBE-GSTT 高比例组的各项指标均显著优于等剂量 GBE 对照组, 为以 GBE-GSTT 为核心的中药有效部位的合理配伍和深度开发提供了较充分的药理学依据。

微丸作为多元给药系统的重要组成部分, 具有提高药物生物利用度, 体内吸收重复性好, 易于调节释药速率, 流动性好便于分剂量, 表面光滑便于包衣等优点, 已经成为缓释/控释制剂的一个主要发展方向^[3-4]。本研究选用了微丸作为缓释剂型, 进一步开发 GBE-GSTT 这一中药有效部位制剂, 探索 GBE-GSTT 缓释微丸的制剂工艺。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BY300A 型小型包衣机(上海天祥健台制药机械有限公司); RCZ-6C2 型智能溶出测定仪(上海黄浦药检仪器有限公司); Dionex U3000 高效液相色谱仪(美国戴安公司); HH-1 型恒温水浴锅(常州国华电器有限公司); XSP-8CA 型生物显微镜(上海

普丹光学仪器厂); DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司); Mini DPL 包衣制粒机(重庆精工制药机械公司)。

1.2 试药

对照品槲皮素(批号: 100081-201107, 纯度: 97.3%)、山柰素(批号: 110861-201209, 纯度: 93.2%)、异鼠李素(批号: 110860-201109, 纯度: 99.0%)由中国药品生物制品检验所提供; 银杏叶提取物(由浙江省中医药研究院制备); 蒺藜提取物(西安华瑞生物工程有限公司, 批号: 20120609); 乙基纤维素(EC, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20120618); 微晶纤维素(MCC, 山东瑞泰化工有限公司, 批号: 20101117); 邻苯二甲酸二丁酯(DBP, 上海化学试剂有限公司, 批号: 20071101); 聚维酮(PVP K30, 批号: F20070416)、聚乙二醇 400(PEG400, 批号: F20080314)均购自国药集团化学试剂有限公司; 乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱: AgilentTC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% H₃PO₄(52:48); 检测波长: 360 nm; 柱温 30 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。

2.1.2 对照品溶液 取槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品适量, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成浓度分别为 80.0, 76.8, 59.4 μg·mL⁻¹ 的对照品混合溶液, 备用。

2.1.3 供试品溶液 精密移取释放度试验中各取样点滤液 5 mL 置圆底烧瓶中, 加入甲醇-25%盐酸(4:1)溶液 10 mL, 摇匀, 80 °C 水浴 30 min, 放冷后转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过滤即得。

2.1.4 线性关系 分别精密量取对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 制成一系列对照品溶液。分别精密吸取各系列对照品溶液 20 μL 进样, 记录峰面积。以各对照品浓度(*C*, mg·L⁻¹)为横坐标, 峰面积(*A*)为纵坐标进行线性回归, 得槲皮素、山柰素、异

鼠李素的线性回归方程分别为 $A_1=1.039\ 8C_1-0.070\ 6(r=0.999\ 6)$, $A_2=1.221\ 6C_2-0.031\ 4(r=0.999\ 8)$, $A_3=1.131C_3-0.077\ 6(r=0.999\ 9)$, 表明 3 种成分分别在 4.0~40.0, 3.84~38.4, 2.97~29.7 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积线性关系良好。

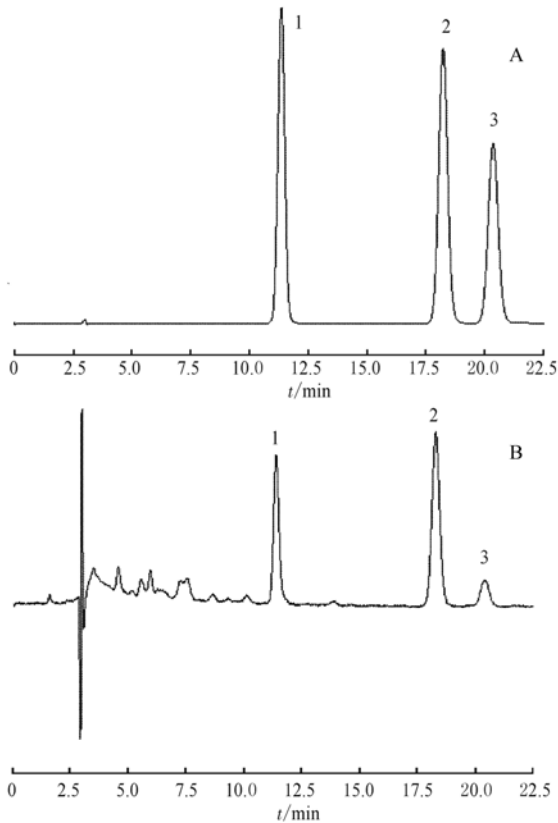


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; 1-槲皮素; 2-山奈素; 3-异鼠李素

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-quercetin; 2-kaempferide; 3-isorhamnetin

2.1.5 仪器精密度 精密吸取对照品溶液 20 μL , 连续进样 6 次, 记录各组峰面积, 求得 3 种组分的峰面积 RSD 分别为 1.17%, 0.25%, 0.52%, 仪器精密度良好。

2.1.6 回收率 取已知含量的样品内容物, 精密称取适量, 平行取 9 份, 分别精密加入各对照品适量, 按“2.1.3”项下方法制备溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 根据线性方程计算各组分的含量, 并求得加样回收率。结果 3 种组分的平均加样回收率分别为 99.40%, 100.20%, 99.83%, 符合要求。

2.2 体外释放度的测定方法

按照中国药典 2010 年版二部附录 XC 溶出度测定第 1 法, 介质为 pH 6.8 的磷酸缓冲液 900 mL, 转速 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度 $(37\pm0.5)^\circ\text{C}$, 于 1, 2, 4,

6, 8, 12 h 取样 10.0 mL(同时补加等温新鲜介质 10 mL), 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液按“1.2.3”项下处理后, HPLC 测定总黄酮苷含量 $\{C(\text{总黄酮苷})=[C(\text{槲皮素})+C(\text{山奈素})+C(\text{异鼠李素})]\times 2.51\}$ 。分别计算在不同时间的释放量, 绘制释放曲线。

2.3 微丸的制备工艺

2.3.1 微丸的制备 采用挤出制粒滚圆法制备微丸^[5]。将银杏叶提取物及蒺藜提取物(6:1)与辅料按处方量称取(总量 40 g), 过 100 目筛, 加入黏合剂制软材, 过 28 目筛制湿颗粒, 湿颗粒转入包衣锅中滚转制成小球状, 取出, 50 $^\circ\text{C}$ 干燥 1 h, 选出粒度在 18~28 目间的微丸。

单因素实验结果显示影响素丸质量的主要因素包括 MCC 的用量, 黏合剂的用量, 包衣锅转速等, 因素水平见表 1。本研究以微丸圆整度(X_1)、堆密度(X_2)、脆碎度(X_3)、收率(X_4)为质量指标, 采用正交设计, 综合评分法得出微丸形成条件。将质量指标采用极差正规化法处理成以大为好的无量纲指标后相加得综合评分^[6], 由实验结果可知, 影响素丸成型的因素主次关系为 $D>A>B>C$, 最佳工艺组合为 $A_3B_2C_2D_3$, 结果见表 2。

表 1 正交试验因素水平表

Tab 1 Factors and levels

水平	试验因素			
	MCC/%	PVP70%乙醇液/%	滚转时间/min	转速/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$
1	30	1	20	30
2	40	2	30	35
3	50	3	40	40

表 2 正交试验设计表及结果

Tab 2 Results of orthologonal test

试验号	A	B	C	D	X_1	X_2	X_3	X_4	评分
1	1	1	1	1	24.5	0.603	2.01	56.0	0.64
2	1	2	2	2	22.7	0.605	1.60	63.3	1.79
3	1	3	3	3	23.8	0.641	1.52	57.4	1.96
4	2	1	2	3	20.3	0.574	1.65	69.2	1.84
5	2	2	3	1	20.7	0.590	1.90	66.7	1.62
6	2	3	1	2	24.8	0.620	1.48	58.8	1.43
7	3	1	3	2	19.9	0.601	2.25	69.4	1.87
8	3	2	1	3	18.0	0.615	1.40	76.1	3.32
9	3	3	2	1	23.5	0.612	1.15	59.5	1.83
K1	1.463	1.450	1.797	1.363					
K2	1.630	2.243	1.820	1.697					
K3	2.340	1.740	1.817	2.373					
R	0.877	0.793	0.023	1.010					

根据正交试验结果, 确定微丸的最佳处方组成及工艺为: MCC 占处方比例为 50%; 黏合剂为

2% PVP 的 70%乙醇溶液; 转速为 40 r·min⁻¹, 仰角 35°, 滚转时间为 30 min。按优化的工艺条件制备 3 批样品, 其外观形态见图 2, 微丸呈深褐色, 粒径均一, 圆整度良好。微丸的粉体学性质及收率结果见表 3。微丸在 pH 6.8 的磷酸缓冲液中释放迅速, 30 min 基本释放完全, 结果见图 3。

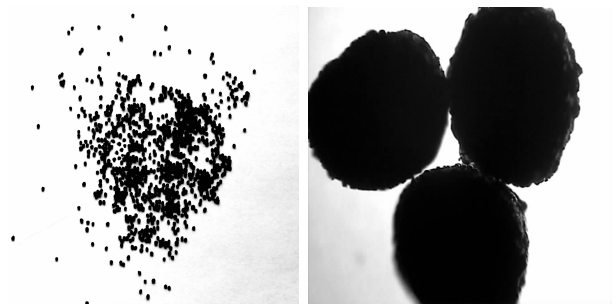


图 2 微丸的形态
Fig 2 Morphology of pellets

表 3 微丸工艺验证结果

试验号	圆整度(Φ)	堆密/g·mL ⁻¹	脆碎度/%	产率/%
1	16.8	0.628	1.33	75.3
2	18.1	0.610	1.48	72.5
3	17.8	0.619	1.52	74.4
均值	17.5	0.619	1.44	74.1

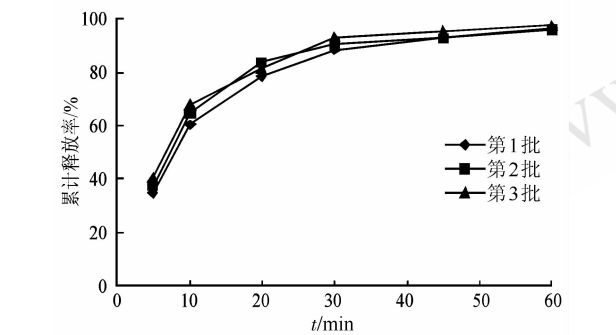


图 3 3 批微丸的体外释放曲线
Fig 3 The release profiles of the total flavonoid glycosides from three batches

2.3.2 微丸包衣 采用流化床底喷包衣工艺对微丸进行包衣。经优化的包衣液组成为: 5%乙基纤维素(EC)的无水乙醇溶液, DBP 为增塑剂, 用量为 EC 的 20%, PEG4000 作为致孔剂, 用量为 EC 的 4%。包衣参数为雾化压力 0.1 MPa, 风机流量 10 m³·h⁻¹, 进风温度 35 °C, 流速 2.0 mL·min⁻¹, 包衣增重 10%。根据上述工艺条件制备 3 批缓释微丸, 其体外释放曲线见图 4, 3 种银杏黄酮苷元的释放曲线见图 5。

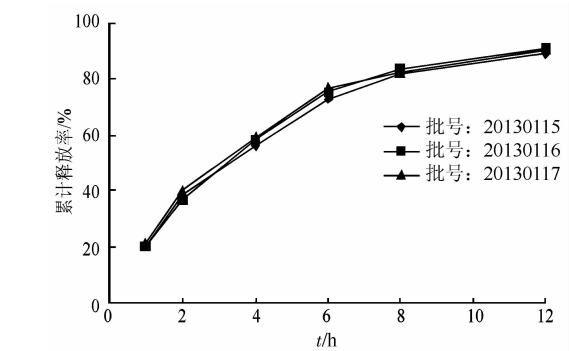


图 4 3 批包衣微丸总黄酮醇苷释放曲线
Fig 4 The release profiles of the total flavonoid glycosides from three batches of coated pellets

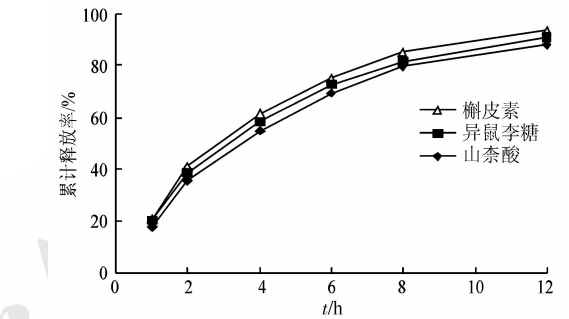


图 5 3 种银杏黄酮苷元的释放曲线
Fig 5 The release profile of three kinds of aglycones of the optimal formulation

体外释放结果显示, 所制备的 3 批缓释包衣微丸在 1 h 释放量约为 20%, 无明显突释现象; 4 h 释放量约为 55%, 8 h 可达 80%以上, 基本符合中国药典对缓释制剂的要求。3 批样品的释放行为无明显差异, 表明包衣处方和工艺稳定。

2.3.3 微丸释药机制的考察 将制备的 3 批微丸的体外释放数据用常见的动力学模型(零级、一级、Higuchi 模型、Ritger-Peppas)进行拟合, 结果见表 4。结果显示一级动力学方程拟合的 *r* 值最接近 1, 表明 GBE- GSTT 缓释微丸的释放较符合一级动力学模型, 微丸的药物释出主要通过包衣膜微孔的扩散。

3 讨论

微丸的圆整度是微丸的重要特征之一, 与微丸的流动性、包衣膜的附着能力和完整性有着密切联系, 因此本实验将其作为重要的评价指标之一。微丸圆整度的评价方法有多种, 包括测定休止角, 测定微丸长、短径之比, 计算机辅助成像分析等, 本实验采用微丸的临界滑动角来进行评价。具体测定方法为将 10 g 微丸置于平板上, 缓缓将平板一侧抬起, 测定在微丸开始滚动前倾斜平面与水平面所形成的夹角。临界滑动角越小, 圆整度越好^[7]。

表 4 3 批微丸的体外释药模型拟合结果

Tab 4 Drug release model of pellets *in vitro*

模 型	批号: 20130115		批号: 20130116		批号: 20130117	
零级方程	$Q=6.0837t+26.342$	$r=0.9365$	$Q=6.3971t+25.527$	$r=0.9343$	$Q=6.0877t+28.204$	$r=0.9256$
一级方程	$\ln(100-Q)=-0.1825t+4.4837$	$r=0.9925$	$\ln(100-Q)=-0.2039t+4.5331$	$r=0.9951$	$\ln(100-Q)=-0.1933t+4.4687$	$r=0.9916$
Higuchi 方程	$Q=28.575t_{1/2}-2.8547$	$r=0.9809$	$Q=30.083t_{1/2}-5.2513$	$r=0.9797$	$Q=28.748t_{1/2}-1.3486$	$r=0.9747$
Ritger-Peppas 方程	$\ln Q=0.5766\ln t+2.7151$	$r=0.9349$	$\ln Q=0.6046\ln t+2.6584$	$r=0.9363$	$\ln Q=0.5668\ln t+2.77$	$r=0.9267$

GBE-GSTT 缓释微丸中的有效成分较为复杂, 包括银杏总黄酮、总内酯、蒺藜皂苷、蒺藜黄酮等, 本研究为了简化操作, 在体外释放实验中选择了银杏总黄酮作为指标性成分, 测得缓释微丸中该成分呈现良好的缓释, 其余各指标性成分的释放行为还有待于进一步检测完善。

目前, 临床上常用的银杏叶片规格为每片 0.22 g(含总黄酮 9.6 mg, 萜类内酯 2.4 mg), 给药方案为口服 2 片·次⁻¹, 3 次·d⁻¹。有文献报道^[8]将银杏叶提取物制成缓释微丸胶囊 2 次·d⁻¹ 给药, 每粒装 0.4 g, 每粒含总黄酮不少于 28.8 mg, 萜类内酯不少于 7.2 mg。经测定, 本实验制得的缓释 GBE-GSTT 微丸中总黄酮的含量为 11.4%, 按上述的给药方案计算, 能制成每粒含有 250 mg 微丸的胶囊进行给药, 2 次·d⁻¹, 可有效降低给药剂量。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010) Vol I(中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 296.

[2] CAO H L, CHEN H H, XU S K. Research development of *Tribulus terrestris* L. and its active composition [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2001, 23(8): 58-61.

[3] WANG Y J, HAN W, LI H, et al. Application of traditional chinese medicine pellets in sustained-release and controlled-release preparation [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(24): 256-259.

[4] ZHONG L, XU X H, YANG S Y, et al. Advance in the pharomic study of t raditional Chinese medicine pellets [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(2): 369-372.

[5] LIU Y, ZHANG Z R, HAN J, et al. Preparation and *in vitro* release of colon adhesive sustained release pellets of 6-mercaptopurine [J]. China New Drugs J(中国新药杂志), 2008, 17(17): 1515-1518.

[6] HU R F, ZHU J B, PENG D Y, et al. Optimization of formulation of Fufang Danshen immediate release tablet by colligation score [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 31(5): 380-382.

[7] ZHANG Y W, YI C G. Preparation of compound orange Qinlian pellets by extrusion spheronization [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2007, 29(10): 1437-1439.

[8] YANG X, SU M W, ZHAO J. Study on the extraction process of extractum folium ginkgo siccus sustained release pellets [J]. China Pharm(中国药业), 2008, 11(11): 1286-1288.

收稿日期: 2013-08-28

二氢杨梅素胃内漂浮片处方研究

王金玲, 阎雪莹*, 李春燕(黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 为了延长二氢杨梅素在胃内停留的时间, 延缓药物的释放, 将其制备成胃内漂浮片。方法 采用粉末直接压片法制片, 运用单因素的平行实验和 L₉(3⁴)正交设计, 以起漂时间、漂浮持续时间及释放度为指标选择最佳处方。结果 最佳处方: 片剂重量为 300 mg, 其他各成分的含量分别为: HPMC K4M 75 mg, PVP K30 40 mg, NaHCO₃ 40 mg, 主药 80 mg, 乳糖 65 mg, 该制剂在 37 ℃的人工胃液中立即起漂, 12 h 释放>90%, 持漂时间>10 h。结论 制备的胃漂浮片具有优良的漂浮能力和释药行为, 可增加二氢杨梅素在胃部的滞留时间, 提高药物的稳定性, 增强保肝作用。

关键词: 二氢杨梅素; 胃内漂浮片; 制备工艺

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)02-0182-05

Formula Study on Gastric-retention Tablets of Dihyromyricetin

WANG Jinling, YAN Xueying*, LI Chunyan(College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China)

作者简介: 王金玲, 女, 硕士生 Tel: 15051178859 E-mail: wangjinling198786@126.com *通信作者: 阎雪莹, 女, 博士, 教授, Tel: (0451)87266988 E-mail: 15159267@qq.com