

[4]

周 妍. 柴板汤治疗流行性感胃表寒里热证的临床观察及对患者血清 IL-2 和 IFN-r 含量的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2010.

[5]

史鹏辉, 曲新艳, 周 喆, 等. 中药复方抗流感病毒的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(3): 1172-1175.

[6]

张琛武, 郭佳琪, 郭宝林. 紫苏中酚酸类成分研究进展 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(11): 1651-1658.

[7]

郝 洋, 张熙洁, 刘晓红, 等. HPLC 同时测定清胃黄连丸 5 种有效成分的含量 [J]. 中药材, 2016, 39(6): 1347-1349.

[8]

周 丹, 刘艾林, 杜冠华. 迷迭香酸的药理学研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(7): 594-598.

[9]

Wu Y, Li J Q, Kim Y J, et al. In vivo and in vitro antiviral effects of berberine on influenza virus[J]. Chin J Integr Med, 2011, 17(6): 444-452.

[10]

杨艳梅, 赵雨艳, 王东晗, 等. 均匀设计法优化姜黄素 TPGS/F127/P123 混合胶束的处方工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1556-1561.

[11]

阎力君, 洪 涛, 王福玲, 等. 黄芪多糖水提工艺的优化及其体外抗肿瘤活性 [J]. 中成药, 2017, 39(10): 2045-2049.

[12]

徐彦杰, 师先锋, 杨晓文, 等. 多目标遗传算法优化五味子提取工艺的研究 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(9): 669-673.

[13]

尹 斐, 杨洁红, 方雨晨, 等. 基于 2 种分析方法的补阳还五汤中有效成分提取工艺优化研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 135-141.

[14]

张常利, 杜永贵. 基于均匀设计的遗传算法及其应用 [J]. 软件, 2010, 31(11): 68-72.

[15]

侯晓军, 唐 菱, 袁 敏, 等. HPLC 法同时测定止吐软膏中小檗碱和巴马汀的含量 [J]. 应用化工, 2016, 45(4): 781-783; 788.

[16]

阳丽华. HPLC 测定不同产地紫苏叶中迷迭香酸的含量 [J]. 海峡药学, 2018, 30(5): 61-63.

[17]

鲁银均, 吴巧凤. 多目标遗传算法优选紫苏叶有效部位的提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(4): 769-771.

[18]

王耀文, 孟宪生, 包永睿, 等. 人参提取工艺的优化及其有效成分与药效学相关性分析 [J]. 中成药, 2012, 34(11): 2240-2242.

[19]

王思思, 包永睿, 孟宪生, 等. 麦冬有效组分的提取工艺及组分与药效相关性分析 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 559-561.

[20]

项 想, 孙成静, 宿树兰, 等. 丹参茎叶酚酮有效部位的提取纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 120-127.

甘草次酸球晶粒径与体外溶出行为的关系

吴亚楠¹, 史博文¹, 李 霜¹, 王文苹^{1,2,3*}, 杨增艳^{4*}

(1. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学, 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004; 3. 回医药现代化教育部重点实验室, 宁夏 银川 750004; 4. 广西国际壮医院, 广西南宁 530000)

摘要: **目的** 考察甘草次酸球晶粒径与体外溶出行为的关系。**方法** 溶剂扩散法在不同剪切条件下制备不同粒径球晶, 扫描电镜下观察其貌特征, 电子显微镜下观察乳滴动态收缩过程, 测定不同粒径球晶在 pH6.8 介质中的体外溶出行为, 并进行释放模型拟合。**结果** 所得甘草次酸球晶的粒径在 5~100 μm 之间; 乳滴在收缩过程中先慢后快, 最终得到外部紧实、内部疏松多孔的球晶; 球晶在介质中的溶出速率较原料药减缓 1.5~2 倍, 而且粒径小的球晶溶出相对较快。**结论** 甘草次酸球晶体外溶出速率随着其粒径减小而增大。

关键词: 甘草次酸; 球晶; 粒径; 体外溶出行为; 溶剂扩散法

中图分类号: R927.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)12-2841-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.003

收稿日期: 2019-02-26

基金项目: 国家自然科学基金 (81360644, 81660665)

作者简介: 吴亚楠 (1993—), 女, 硕士生, 从事药物制剂新剂型与新产品研发。Tel: (0951) 6980016, E-mail: 821403431@qq.com

* 通信作者: 王文苹 (1977—), 女, 博士, 教授, 从事新型载药材料及给药系统研究。Tel: (0951) 6880581, E-mail: 784490228@qq.com

杨增艳 (1975—), 女, 硕士生, 副主任药师, 从事中药活性成分研究。E-mail: 149885961@qq.com

Relationship between particle size and *in vitro* dissolution behaviors of glycyrrhetic acid spherical crystals

WU Ya-nan¹, SHI Bo-wen¹, LI Shuang¹, WANG Wen-ping^{1,2,3*}, YANG Zeng-yan^{4*}
(1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Ningxia Engineering and Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Ministry of Education Key Laboratory for Modernization of Hui Ethnic Medicine, Yinchuan 750004, China; 4. Guangxi International Zhuang Medicine Hosptial, Nanning 530000, China)

KEY WORDS: glycyrrhetic acid; spherical crystals; particle size; *in vitro* dissolution behaviors; solvent diffusion method

甘草次酸为五环三萜类化合物^[1], 是豆科植物甘草主要有效成分甘草酸水解后的活性产物, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种作用^[2]。但其生物利用度低, 从而限制了临床应用^[3]。

球晶造粒是通过控制重结晶中药物分子相互聚合过程来得到较大粒径球形药物颗粒的技术^[4], 可调整药物溶出速率, 并提高药物粉体学性质, 可用于直接压片, 其常用制备方法有溶剂扩散法、球形聚集法、氨扩散法、结晶共聚法^[5-7], 其中溶剂扩散法操作简单, 易于实施。因此, 本实验采用该方法制备甘草次酸球晶, 考察粒径与药物体外溶出行为之间的关系, 并初步研究其形成过程。

1 材料

ABS210S 电子天平 (德国 Sartorius 公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司); T10BS25 均质机 (德国 IKA 公司); QL-861 涡旋仪 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); TDL-40B 离心机 (上海安亭科学仪器有限公司); FD-1C 冷冻干燥机 (北京德天佑仪器有限公司); Phenix 生物倒置显微镜 (凤凰光学集团有限公司); Agilent 1260 Series 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); CM1850 冷冻切片机 (德国 Leica

公司); JSM-7500F 扫描电子显微镜 (日本电子株式会社); RCZ-8 M 溶出仪 (天大天发科技有限公司)。甘草次酸对照品 (含有量 98%, 批号 JZ2015082403, 南京景竹生物科技有限公司)。聚乙烯醇 (批号 G1509033, 上海阿拉丁试剂公司); 二氯甲烷、二氧六环为色谱纯 (美国 Fisher 公司)。

2 方法与结果

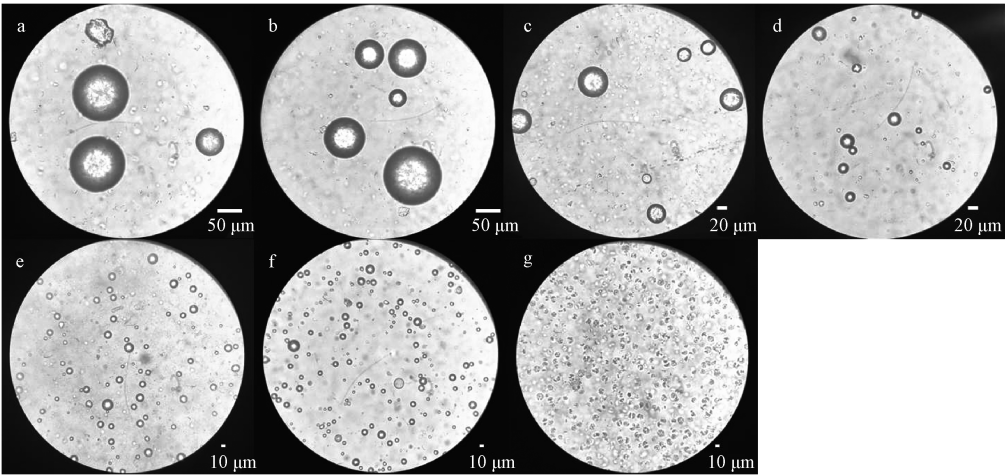
2.1 球晶制备 称取适量甘草次酸溶于二氯甲烷、二氧六环混合液 (3 : 2) 中, 作为有机相, 取 2 mL, 在剪切条件下加到 20 mL 1% PVA 溶液中, 持续剪切 1 min 得初乳。初乳倒入 80 mL 1% PVA 溶液中, 10 ℃ 下磁力搅拌 3 h 固化, 所得混悬液按照离心速度由小到大进行梯度离心, 收集不同粒径, 冷冻干燥, 即得。

2.2 球晶粒径与形态表征 在不同剪切条件下制备球晶, 于显微镜下观察所得产物粒径及形状, 结果见表 1、图 1。由此可知, 通过控制工艺条件可制得粒径 5~100 μm 之间的球晶, 剪切速率较低时, 生成部分不规则形状结晶^[8]; 剪切速率过高 (>10 000 r/min) 时可得到初乳, 但在固化过程中乳滴破裂, 未能聚集成球晶, 而是得到簇状结晶。

表 1 球晶形态及粒径

Tab. 1 Morphologies and particle sizes of spherical crystals

编号	剪切速率/ (r·min ⁻¹)	第一步收集条件			第二步收集条件			形态
		转速/(r·min ⁻¹)	(时间/min)	粒径估值/μm	转速/(r·min ⁻¹)	(时间/min)	粒径估值/μm	
a	220	0 静置	10	100	500	2	50	球形结晶、部分片状结晶
b	440	0 静置	10	70	500	2	50	球形结晶、部分片状结晶
c	880	0 静置	10	50	1 000	3	20	球形结晶
d	1 320	1 000	3	20	—	—	—	球形结晶
e	2 200	4 000	3	10	—	—	—	球形结晶
f	8 000	4 000	3	10	8 000	3	5	球形结晶
g	12 000	4 000	3	8	8 000	3	2	簇状结晶



注：a~g 为不同剪切条件（表 1）下制得的球晶

图 1 球晶显微图

Fig. 1 Microscopic images for spherical crystals

然后，通过扫描电子显微镜（SEM）观察所得球晶外观及截面特征。将导电胶粘在样品座上，样品粉末均匀撒布其上，镀膜后观察形态并拍照；将样品粉末经环氧胶包埋后以冷冻切片机切片制样，观察其内部构造，结果见图 2。由图可知，所

得球晶圆整度高，部分表面残留片状 PVA，可在球晶形成过程中起到稳定剂作用，也可使球晶表面光滑^[9]；球晶内部为疏松多孔的短棒状结晶聚集体，外部为结晶聚集成的致密壳层。

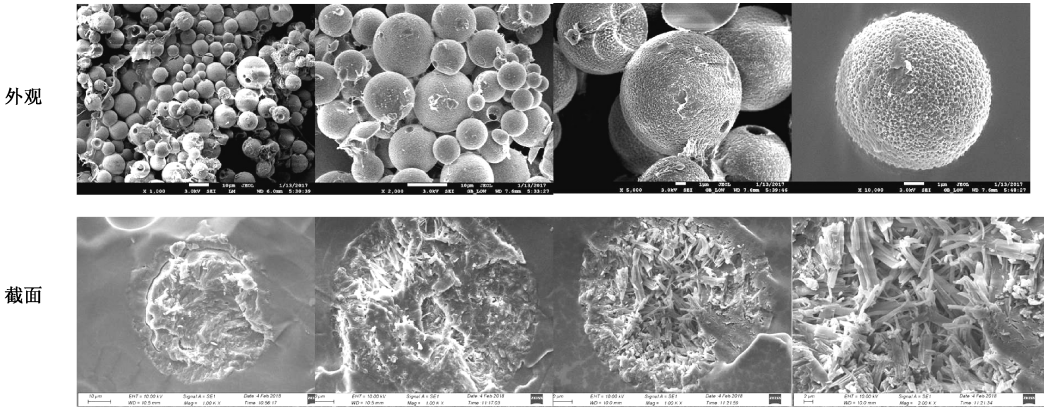


图 2 球晶 SEM 图

Fig. 2 SEM images for spherical crystals

2.3 固化成形过程观察 采用显微镜对单个液滴形成初期及固化期进行实时拍摄，观察液滴形态随有机溶剂扩散的动态变化过程，以及固化过程中药物结晶析出的动态变化。取一定量 1% PVA 溶液置于载玻片上，显微镜（100 倍）下调节视野，微量吸移管吸取适量“2.1”项下含药有机相溶液，注入上述 PVA 溶液中，实时观察并拍摄记录，结果见图 3。由图可知，随着乳滴中有机溶剂向水性介质中扩散，液滴逐渐收缩并析出结晶，15 min 时收缩率为 41%，30 min 时为 97%；收缩过程先慢后快，30 min 时乳滴收缩至最小；最外层药物析出

结晶后迅速聚集，而内部结晶较外部结晶聚集时间短，形成图 2 所示外部致密、内部疏松多孔的状态。

2.4 体外溶出度测定 参照 2015 年版《中国药典》四部溶出度与释放度测定法项下浆法，以 500 mL PBS 缓冲液（pH=6.8，含 0.2% 吐温-20）为介质，设定转速 50 r/min、温度（37±0.5）℃。取一定量球晶加到溶出杯中，于预定时间点各取样 2.5 mL，补充同体积等温介质，溶液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，弃去初滤液，HPLC 法测定续滤液中甘草次酸含有量，计算药物累积释放率，检测条件

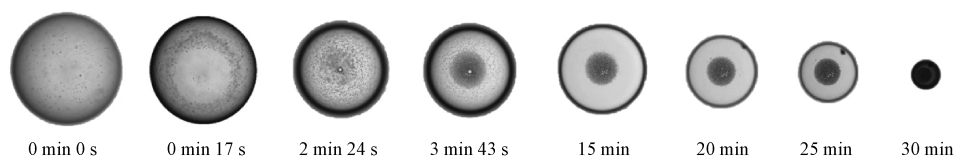


图 3 球晶成形过程

Fig. 3 Formation process of spherical crystals

为流动相甲醇-0.5%冰醋酸（86.5：13.5），体积流量 1 mL/min，检测波长254 nm^[10]，结果见图 4、表 2。

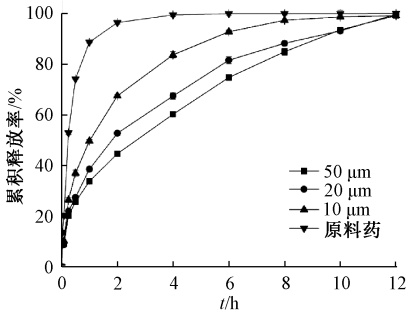


图 4 样品体外溶出曲线

Fig. 4 In vitro dissolution curves for samples

表 2 样品体外溶出行为参数

Tab. 2 In vitro dissolution behavior parameters for samples

指标	球晶粒径/ μm			原料药
	50	20	10	
2 h 累积释放量(Q_{2h})/%	44.59	52.69	67.44	96.35
4 h 累积释放量(Q_{4h})/%	60.20	67.39	83.64	99.37
8 h 累积释放量(Q_{8h})/%	84.84	88.15	97.26	99.88
零级释放相关系数(R^2)	0.934 7	0.888 1	0.771 9	0.774 9
一级释放相关系数(R^2)	0.904 7	0.876 7	0.993 6	0.893 4
Higuchi 释放相关系数(R^2)	0.997 4	0.985 5	0.926 6	0.928 4
扩散指数(n)	0.436 8	0.435 9	0.438 4	0.437 9

由此可知，原料药释放速率较快，30 min 累积释放率即超过 70%，而球晶释放显著减慢，并随着其粒径增大更明显；球晶及原料药释放趋势更趋于 Higuchi 释放，并且扩散指数均小于 0.45，表明药物以 Fick 方式扩散，即溶解后再释放到介质中。

3 讨论

含甘草次酸液滴在固化成球晶的过程中，初期乳滴粒径较大，比表面积小，乳滴中有机相扩散速度慢，外层结晶因聚集时间长而紧实；随着乳滴收缩，粒径变小，比表面积变大，有机相扩散速度快，内部结晶因聚集时间短而疏松。最终，得到外部紧实、内部疏松多孔结构的球晶。

文献 [9] 报道，球晶可提高药物溶出速率，故本实验制备甘草次酸球晶。其主要作用机制一方面

是球晶结构的外层为致密壳层，介质不易渗透并润湿球晶，使得药物溶解速率减慢；另一方面，甘草次酸结构中含有大量游离氢及羟基^[11]，制备成球晶的过程中溶剂及 PVA 的架桥剂作用可使药物分子之间形成氢键，药物溶出时其作用力变强。

4 结论

本实验采用溶剂扩散法制备甘草次酸球晶，发现其具有显著的缓释作用，并可通过调节球晶粒径来达到目标体外溶出行为，该方法丰富了球晶制备技术，为相关中药新型制剂的研发提供了思路。今后，可将其用于直接压片制备缓释片剂^[12]或肌肉注射用储库型注射剂。

参考文献：

[1] 金 敏, 吴红金. 甘草次酸药理作用的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(11): 1712-1715.

[2] 董月柳, 李雪莲, 陈江鹏, 等. 多成分环境下甘草次酸肠吸收行为的研究[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3396-3400.

[3] 马 媛, 石明辉, 戴均贵, 等. 18 β -甘草次酸的结构修饰及生物活性研究进展[J]. 西北药学杂志, 2018, 33(4): 563-567.

[4] 裴小玲, 嵇 扬. 药物的球形结晶技术[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 210-216.

[5] 杜 艳, 丁 红, 谢 茵, 等. 球晶造粒法制备硝苯地平缓释微球[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(9): 1253-1254.

[6] 杨明世, 崔福德. 球晶造粒技术在药剂学粒子设计中的应用与进展[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(2): 85-89.

[7] Chatterjee A, Gupta M M, Srivastava B. Spherical crystallization; A technique use to reform solubility and flow property of active pharmaceutical ingredients[J]. Int J Pharm Investig, 2017, 7(1): 4-9.

[8] Katta J, Rasmuson A. Spherical crystallization of benzoic acid [J]. Int J Pharm, 2008, 348(1-2): 61-69.

[9] Thakur A, Thipparaboina R, Kumar D, et al. Crystal engineered albendazole with improved dissolution and material attributes[J]. Cryst Eng Comm, 2016, 18(9): 1489-1494.

[10] 彭朝霞, 张运杰, 熊然英. HPLC 测定陈香露白露片中甘草次酸的含量[J]. 中国现代中药, 2007, 9(9): 18-20.

[11] 代 静. 甘草次酸结构改造的研究进展[J]. 山东化工, 2017, 46(24): 57-60.

[12] 尹 辉, 胡容峰, 高 宇, 等. 球晶造粒技术制备药用可直压微粒的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2010, 28(1): 3-6; 10.