

# 盐酸小檗碱微囊的制备及其体外释放研究

余 琰<sup>1\*</sup>, 范凌云<sup>1#</sup>, 高建德<sup>1</sup>, 魏舒畅<sup>1</sup>, 马立新<sup>2</sup>(1.甘肃中医学院, 兰州 730000; 2.兰州佛慈制药股份有限公司, 兰州 730046)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)01-0109-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.01.35

**摘要** 目的:为改善口感、减小对胃黏膜的刺激,制备盐酸小檗碱微囊,并考察其体外释药特性。方法:以阿拉伯胶、明胶为囊材,采用复凝聚法制备盐酸小檗碱微囊,以包封率、载药量、外形为指标,采用正交设计试验对囊心(盐酸小檗碱)-囊材质量比、囊材质量分数、搅拌速度进行优化,并进行验证。考察所制制剂的粒径分布及在人工肠液中5 h内的体外释药率。结果:最优处方为囊心-囊材质量比为1:3,阿拉伯胶和明胶的质量分数均为2.50%,搅拌速度为200 r/min,成囊温度为53 ℃。所制盐酸小檗碱微囊的包封率为38%,载药量为41.71%;微囊圆整光滑,无粘连,粒径均匀,外形评分50.6;80%以上分布在3~9 μm;3 h的累积释药率即达90%。结论:成功制得盐酸小檗碱微囊。

**关键词** 盐酸小檗碱;微囊;释药率;正交设计试验;制备

## Preparation of Berberine Hydrochloride Microcapsules and Its *in vitro* Release Behavior

YU Yan<sup>1</sup>, FAN Ling-yun<sup>1</sup>, GAO Jian-de<sup>1</sup>, WEI Shu-chang<sup>1</sup>, MA Li-xin<sup>2</sup>(1.Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China; 2.Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou 730046, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Berberine hydrochloride microcapsules, and to investigate *in vitro* release behavior of it in order to improve taste and decrease gastric mucosa irritation. METHODS: Berberine hydrochloride microcapsules were prepared by complex agglutination method using gum acacia and gelatin as capsule wall material. Using encapsulation efficiency, drug-loading amount and appearance as index, mass ratio of capsule core (berberine hydrochloride)-capsule wall material, the mass fraction of capsule wall material and mixing speed were optimized by orthogonal test, and it was validated. The particle size and *in vitro* release rate in 5 h of the preparation in simulated intestinal fluid were investigated. RESULTS: The optimal formulation was as follows: mass ratio of capsule core-capsule wall material was 1:3; the mass fraction of gelatin and arabic gum were both 2.50%; the stirring speed was 200 r/min; the temperature of forming microcapsules was at 53 ℃. The encapsulation efficiency, drug-loading amount and appearance scores of Berberine hydrochloride microcapsules were 38%, 41.71%, 50.6. The microcapsules were smooth round in shape without adhesions; particle size were distributed regularly, and more than 80% of them were space within the range of 3-9 μm; 3 h accumulative release rate reached 90%. CONCLUSIONS: Berberine hydrochloride microcapsules is prepared successfully.

**KEYWORDS** Berberine hydrochloride; Microcapsules; Release rate; Orthogonal test; Preparation

盐酸小檗碱具有显著的抑菌作用,常用来治疗细菌性痢疾、胃肠炎等疾病,疗效确切。但其味极苦,患者依从性差,将其制成微囊可改善药物口感,掩盖其苦味,还能减小盐酸小檗碱对胃黏膜的刺激。本试验以阿拉伯胶、明胶为囊材,采用复凝聚法制备盐酸小檗碱微囊,并以包封率、载药量、外形为指标,对方工艺进行正交设计试验优化,以期对相关制剂的研究提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱(HPLC)仪,包括600泵、2487双波长吸光度检测器、Empower色谱工作站(美国Waters公司);BSS223S电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);C-MAG HS7恒温加热磁力搅拌器(德国艾科仪器有限公司);XSP-C电子显微

镜(重庆光电仪器有限公司);KQ-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

盐酸小檗碱原料药(湖北康宝泰精细化工有限公司,批号:030969,纯度:98.1%);盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111595-20060,纯度:99.0%);药用明胶(青海明胶有限公司,批号:20140078);阿拉伯胶(郑州鸿翔化工有限公司,批号:20130654);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 盐酸小檗碱的含量测定

2.1.1 色谱条件。色谱柱:十八烷基键合硅胶柱(250 mm×4.6 mm, 0.45 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;柱温:30 ℃;检测波长:365 nm。该色谱条件下,理论板数按盐酸小檗碱峰计应不低于4 000。

2.1.2 对照品贮备液的制备。精密称取盐酸小檗碱对照品2.5 mg,置于25 ml量瓶中,用95%甲醇溶解并稀释至刻度,摇

\* 副教授,硕士。研究方向:中药新剂型与新制剂。电话:0931-8765391。E-mail:ldzxyuyan@126.com

# 通信作者:副教授,硕士。研究方向:中药新剂型与新制剂。电话:0931-8765391。E-mail:1073873145@qq.com

匀,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备。取盐酸小檗碱微囊,置于研钵中研磨后精密称取30 mg,置于具塞锥形瓶中,精密加入95%甲醇25 ml,超声处理30 min,放冷,称质量,补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过;再精密吸取5 ml,置于25 ml量瓶中,用95%甲醇定容,摇匀,即得。

2.1.4 阴性对照溶液的制备。取不含盐酸小檗碱的空白微囊,置于研钵中研磨后精密称取30 mg,按“2.1.3”项下方法制备成溶液,即得。

2.1.5 系统适用性试验。取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果表明,盐酸小檗碱能达到基线分离,样品中的其他成分对主成分峰的测定无干扰,色谱图见图1。

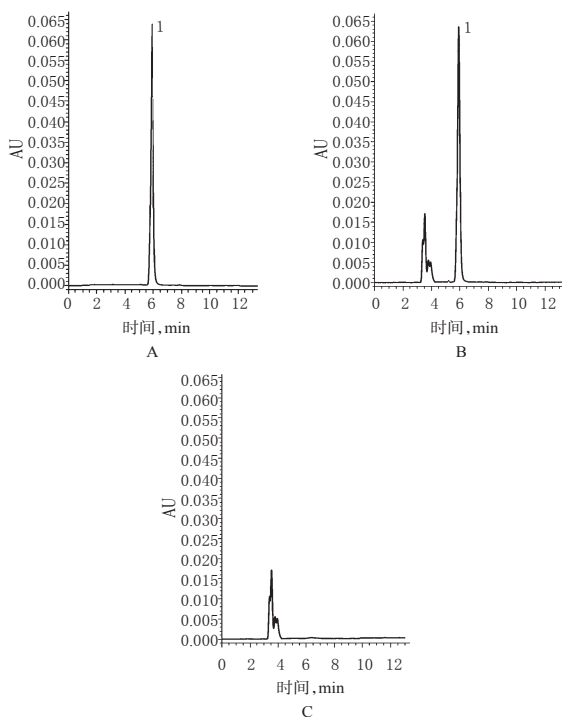


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 盐酸小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. berberine hydrochloride

2.1.6 线性关系考察。精密吸取对照品溶液1、2、3、4、5 ml,分别置于10 ml量瓶中,加95%甲醇稀释至刻度,摇匀。分别吸取20 μl,注入液相色谱仪,测定盐酸小檗碱的峰面积。以峰面积(y)对盐酸小檗碱的质量浓度(x)进行线性回归分析,得盐酸小檗碱回归方程为 $y=0.0109x+0.0003$ ( $r=0.9999$ ,  $n=5$ )。结果表明,盐酸小檗碱检测质量浓度的线性范围为0.01~0.05 mg/ml。

2.1.7 精密度试验。精密吸取0.03 mg/ml的盐酸小檗碱对照品溶液20 μl,重复进样6次,测定峰面积。结果峰面积的RSD为1.5%( $n=6$ ),表明本方法精密度良好。

2.1.8 重复性试验。取盐酸小檗碱微囊,按“2.1.3”项下方法分别制备6份供试品溶液,各吸取20 μl进样测定峰面积。结果峰面积的RSD为0.76%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.1.9 回收率试验。精密称取已知含量的盐酸小檗碱微囊,分别加入盐酸小檗碱对照品,按“2.1.3”项下方法制备成溶液,进样测定,记录峰面积,计算回收率。结果盐酸小檗碱的平均回收率为97.74%,RSD为1.48%( $n=6$ )。

2.1.10 稳定性试验。取同一供试品溶液,在0、2、4、6、8 h时分别进样20 μl,测定盐酸小檗碱峰面积。结果峰面积的RSD为0.73%( $n=5$ ),表明盐酸小檗碱微囊8 h内稳定性良好。

## 2.2 载药量和包封率的测定

取盐酸小檗碱微囊50 mg,精密称定,用95%甲醇洗涤3次,弃去洗涤液,用95%甲醇分3次研磨,每次超声提取10 min,提取液合并定容至100 ml,滤过。精密吸取续滤液1 ml,置于100 ml量瓶中,加95%甲醇定容,测定盐酸小檗碱的含量。按公式计算:载药量(%)=微囊中盐酸小檗碱的质量/微囊的总质量×100%,包封率=微囊中盐酸小檗碱的质量/投入盐酸小檗碱的总质量×100%。

## 2.3 复凝聚法制备盐酸小檗碱微囊<sup>[1-4]</sup>

精密称取盐酸小檗碱0.400 g,加入40 ml的阿拉伯胶溶液,磁力搅拌器搅拌,在一定温度下,加入等体积的明胶溶液,继续搅拌,待混匀后,用5%的醋酸溶液调pH为3~4,继续搅拌30 min;然后用200 ml温度稍低于溶液的蒸馏水稀释,搅拌30 min,冰水浴冷却至15℃以下,继续搅拌30 min;用37%的甲醛溶液固化1 h,抽滤,水洗至无醛味,阴干,得白色粉末状微囊。

## 2.4 单因素考察

采用单因素试验法分别考察了成囊温度、囊心(盐酸小檗碱)-囊材(阿拉伯胶和明胶)质量比、囊材质量分数、搅拌速度对盐酸小檗碱微囊成囊率和包封率的影响<sup>[6-7]</sup>。结果显示,在40~65℃范围内,随着温度的升高,微囊成囊率也增高;但由于盐酸小檗碱溶于热水,53℃以上药物的包封率降低;综合考虑,成囊温度定为53℃。囊心-囊材质量比大于1:2时,盐酸小檗碱未完全包裹,包封率低于25%;囊心-囊材质量比小于1:4时,药物包封率较高,大于30%;综合考虑,囊心-囊材质量比初步确定在1:2~1:4之间。囊材质量分数均小于2.50%时,微囊包封率低;当囊材质量分数均大于5%时,微囊粘连;综合考虑,囊材质量分数初步确定在2.50%~5.00%之间。当搅拌速度为50 r/min时,微囊粘连;当搅拌速度大于300 r/min时,部分微囊破裂,包封率下降;综合考虑,搅拌速度初步确定在100~300 r/min之间。

## 2.5 盐酸小檗碱的外形评价

电子显微镜下观察约800个盐酸小檗碱微囊,以外形圆整、表面光滑、无粘连、粒度分布均匀4个指标进行评价。每个指标满分为25分,按有瑕疵微囊百分比进行扣分,最终4个指标得分之和为外形评分。

## 2.6 正交设计试验优化处方工艺

根据有关文献<sup>[8-9]</sup>及单因素考察结果,以囊心-囊材质量比(A)、囊材质量分数(B)、搅拌速度(C, r/min)为因素,以包封率、载药量、外形为指标进行综合评分(综合评分=包封率×50%+载药量×40%+外形评分×10%),采用 $L_9(3^3)$ 正交设计试验筛选最优成囊处方工艺条件。正交设计试验因素水平取值见表1,结果与极差分析见表2,方差分析见表3。

由表2结果可知,3个因素对综合评分的影响大小依次为A>C>B,以综合评分确定的最优处方工艺为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,即囊

表1 正交设计试验因素水平取值

Tab 1 Factors and levels of orthogonal test

序号	A(m:m)	B,%	C,r/min
1	1:2	2.50	100
2	1:3	3.75	200
3	1:4	5.00	300

表2 正交设计试验结果与极差分析

Tab 2 Results of orthogonal test and range analysis

试验号	A	B,%	C,r/min	封装率,%	载药量,%	外形评分	综合评分
1	1	1	1	19.03	32.72	47	27.30
2	1	2	2	27.87	30.96	46	30.92
3	1	3	3	26.82	29.78	44	29.72
4	2	1	2	37.46	35.00	45	37.23
5	2	2	3	34.34	37.92	42	36.54
6	2	3	1	32.19	25.89	47	31.15
7	3	1	3	25.34	38.54	45	32.57
8	3	2	1	18.71	31.15	48	26.62
9	3	3	2	26.28	36.98	41	30.03
$K_1$	87.94	97.10	85.07				
$K_2$	104.92	94.08	94.77				
$K_3$	89.22	90.90	98.83				
R	16.98	6.20	13.76				

表3 正交设计试验结果方差分析

Tab 3 Variance analysis of orthogonal test results

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	59.605	2	29.803	293.494	<0.05
B	6.408	2	3.204	31.553	<0.05
C	40.181	2	20.091	197.851	<0.05
总计	8 947.412				

心-囊材质量比为1:3,囊材质量分数为2.50%,搅拌速度为300 r/min时,所制备的盐酸小檗碱微囊的封装率、载药量、外形均较理想。

由表3结果可知,3个因素的P均小于0.05,均具有统计意义,表明三者正交设计试验中对指标均具有显著影响。

### 2.7 验证试验

按照最优处方工艺制得3批次的盐酸小檗碱微囊,测得其封装率分别为37.58%、37.99%、38.43%,均值为38%;载药量分别为42.13%、41.17%、41.83%,均值为41.71%;微囊外形圆整,表面光滑,无粘连,粒度均匀,评分分别为49、51、52,均值为50.6。

### 2.8 药物的包裹情况

按照最优处方工艺制备盐酸小檗碱微囊和不含盐酸小檗碱的空白微囊,电子显微镜下观察空白微囊和盐酸小檗碱微囊,见图2。

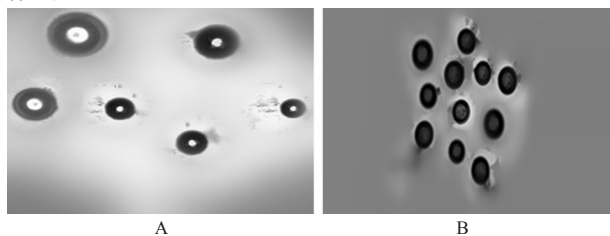


图2 电子显微镜图(×100)

A.空白微囊;B.盐酸小檗碱微囊

Fig 2 Electron microgram(×100)

A. blank microcapsules; B. berberine hydrochloride microcapsules

由图2可见,盐酸小檗碱成功包裹在微囊内。

### 2.9 盐酸小檗碱微囊的体外释放试验

由于盐酸小檗碱的抑菌作用主要在肠道,故以人工肠液为释放介质,按2010年版《中国药典》(二部)附录浆法测定微囊的体外释药率。按《中国药典》附录中磷酸盐缓冲液(含胰酶)法自制人工肠液,取1 000 ml人工肠液置于溶出杯中,加热,待温度稳定在(37±0.5)℃时,精密称取盐酸小檗碱微囊0.1 mg,置于溶出杯中,调节转速为100 r/min。分别于10、30、60、120、180、240、300 min吸取释放液5 ml,并补加等量等温的人工肠液。释放液用0.22 μm的微孔滤膜滤过,测定其中盐酸小檗碱的含量,计算释药率,绘制释药曲线。释药曲线见图3。

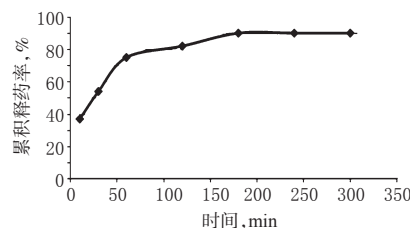


图3 盐酸小檗碱微囊在人工肠液中的释药曲线

Fig 3 Drug release curve of Berberine hydrochloride microcapsules in simulated intestinal fluid

由图3可知,盐酸小檗碱微囊在体外具有良好的释放效果,在人工肠液中2 h累积释药85%,3 h累积释药达到90%。

### 2.10 盐酸小檗碱微囊的粒径分布

用带有标尺的电子显微镜观察盐酸小檗碱微囊的形态,并测定约800个微囊的粒径分布,平行测定3次,结果见图4。

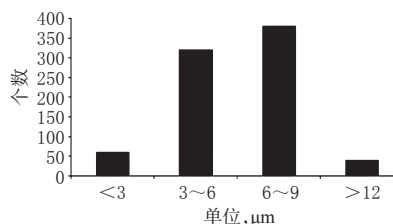


图4 盐酸小檗碱微囊的粒径分布

Fig 4 Particle size distribution of berberine hydrochloride microcapsules

由图4可以看出,微囊粒径分布基本呈正态分布,集中程度比较好,80%以上分布在3~9 μm,粒径均匀。

## 3 讨论

微囊制备方法目前采用复凝聚法的报道不多。有人采用流化床包衣法制备盐酸小檗碱微囊<sup>[10]</sup>,此法所制微囊平均粒径达到145 μm,10%超过200 μm,微囊粒径越大,在口腔中的沙砾感越明显。而笔者采用复凝聚法制得盐酸小檗碱微囊的粒径集中在6~9 μm,优势明显,但较流化床包衣法所制微囊载药量低。今后可进一步研究提高复凝聚法制备盐酸小檗碱微囊的载药量的方法。

### 参考文献

- [1] 喻樊.复凝聚法制备褪皮素微囊的工艺[J].中国医院药学杂志,2011,31(15):1 308.
- [2] 张辉,喻莉萍,彭国苙,等.芦丁钼二元配合物微囊制备工艺优选及其质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(13):314.

# 水杨酸微乳的制备及其体外透皮吸收研究

赵晶\*, 金凯, 宋光杰, 郝吉福<sup>#</sup>(泰山医学院药学院, 山东泰安 271016)

中图分类号 R943;R944.1\*7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)01-0112-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.01.36

**摘要** 目的:制备水杨酸微乳并考察其对离体小鼠皮肤经皮吸收的影响。方法:以聚山梨酯80为乳化剂、丙二醇为助乳化剂、油酸乙酯为油相,通过伪三元相图确定微乳的处方。采用激光粒度分析仪测定微乳的粒径分布;采用紫外分光光度法测定水杨酸含量;采用Franz扩散池法比较所制备的水杨酸微乳与市售水杨酸软膏的体外透皮速率。结果:水杨酸微乳的处方为5%水杨酸、6.8%油酸乙酯、32.4%混合乳化剂(聚山梨酯80-丙二醇之比为4:1)。所制得的水杨酸微乳为O/W型微乳,粒径为(70.35±17.78)nm;其与市售水杨酸软膏的稳定渗透速率分别为(573.72±8.94)、(310.52±7.11)μg/(cm<sup>2</sup>·h),渗透系数分别为(1.588±0.019)、(0.430±0.0012)cm/h,前者为后者的3.69倍;水杨酸微乳的透皮吸收行为符合零级动力学释放规律。结论:所制水杨酸微乳可促进水杨酸的透皮吸收,为制备胃肠道刺激性小、生物利用度高的水杨酸新剂型提供一定的理论依据。

**关键词** 水杨酸;微乳;透皮吸收;伪三元相图

## Preparation of Salicylic Acid Microemulsion and Its *in vitro* Percutaneous Permeation

ZHAO Jing, JIN Kai, SONG Guang-jie, HAO Ji-fu (School of Pharmacy, Taishan Medical College, Shandong Tai'an 271016, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Salicylic acid microemulsion, and to investigate its *in vitro* percutaneous permeation in isolated mice skin. METHODS: The microemulsion was prepared using tween-80 as emulsifiers, propylene glycol as assistant emulsifiers and ethyl oleate as oil phase. The formulation was optimized by pseudo-ternary phase diagram, and the distribution of particle size was determined by laser particle analyzer. The content of salicylic acid was determined by UV spectrophotometry. The *in vitro* percutaneous rates of prepared Salicylic acid microemulsion and commercially available Salicylic acid cream were determined by Franz diffusion cell. RESULTS: The formula of Salicylic acid microemulsion was as follows: 5% salicylic acid, 6.8% ethyl oleate, 32.4% mixture surfactant (tween-80/propylene glycol ratio of 4:1). The prepared Salicylic acid microemulsion was O/W microemulsion with particle size of (70.35±17.78) nm. Steady permeation rates of prepared microemulsion and commercially available cream were (573.72±8.94) μg/(cm<sup>2</sup>·h) and (310.52±7.11) μg/(cm<sup>2</sup>·h), respectively; the permeation coefficient of them were (1.588±0.019) cm/h and (0.430±0.0012) cm/h, and the former was 3.69 times of the latter. The percutaneous permeation behavior of Salicylic acid microemulsion was in line with zero-order kinetic release rules. CONCLUSIONS: Prepared Salicylic acid microemulsion can improve the percutaneous permeation of salicylic acid, and to provide theoretic basis for the preparation of new dosage form with less gastrointestinal irritation and high bioavailability.

**KEYWORDS** Salicylic acid; Microemulsion; Percutaneous permeation; Pseudo-ternary phase diagram

微乳(Microemulsion, ME)是由水相、油相、乳化剂和助乳化剂按适当比例形成的一种透明或半透明、低黏度、各相同性且热力学稳定的体系,是药物经皮转运的一种极具潜力的载

体,近年来用于酮洛芬等药物透皮给药制剂的研究<sup>[1-3]</sup>。水杨酸(Salicylic acid)为非甾体类解热镇痛药物,口服给药后会引起不同程度的胃肠道不良反应,将水杨酸制成透皮给药制剂,

- [3] 杨宜华,赵子明,刘妍,等.蔡普生微囊的制备及其质量考察[J].中国药房,2010,21(45):4271.
- [4] 董自亮,卢君蓉,高飞,等.芍药苷微囊的制备及其体外释药研究[J].中草药,2013,44(13):1756.
- [5] 舒予,李小芳,刘玲,等.五味子多糖微囊的制备及其体外释药特性考察[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(5):27.
- [6] 孙世,刘艺,燕雪花,等.甘草黄酮微囊的制备及其理化性

- 质的研究[J].新疆医科大学学报,2011,34(3):270.
- [7] 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.
- [8] 鲜敏,丁晓刚.正交设计法优选大蒜油微囊的制备工艺[J].时珍国医国药,2009,20(1):220.
- [9] 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.
- [10] 胡雪莲,黄华,李英博,等.流化床包衣法制备盐酸小檗碱掩味微囊[J].中国医药工业杂志,2013,44(4):362.

\* 硕士研究生。研究方向:药物新技术与新剂型。电话:0538-6229751

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士。研究方向:药物新技术与新剂型。电话:0538-6229751。E-mail: haojifu@163.com

(收稿日期:2014-07-14 修回日期:2014-09-03)

(编辑:邹丽娟)