

热熔挤出技术制备穿心莲提取物固体分散体^Δ

刘 磐*, 贺 倩, 邓丽红, 银杉杉, 潘伟增, 赖小平, 张 军[#](广州中医药大学新药开发研究中心, 广州 510006)

中图分类号 R284;R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2901-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.08

摘要 目的:采用热熔挤出技术(HME)制备穿心莲提取物的固体分散体,并对其进行体外评价。方法:以穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量为指标,采用单因素试验,分别对亲水性载体种类、穿心莲提取物与载体用量比例进行筛选,确定最优穿心莲提取物热熔挤出固体分散体的制备方法,并对形成的固体分散体进行体外溶出度试验和差式扫描量热分析、电镜扫描、X-射线衍射等物相鉴别。结果:穿心莲提取物热熔挤出固体分散体的最优制备工艺为:以Soluplus为载体,穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)混合,热熔挤出区段升温程序为130→135→140→130℃,螺杆转速为27 r/min,加料速度为15 g/min。物相鉴别试验显示穿心莲提取物在热熔挤出分散体中以无定形态分散。结论:HME能使穿心莲提取物以无定形态分散,提高穿心莲提取物的溶解度。

关键词 穿心莲内酯;脱水穿心莲内酯;Soluplus;热熔挤出技术;溶出度

Preparation of *Andrographis paniculata* Extract Solid Dispersion by Hot-melt Extrusion Technology

LIU Pan, HE Qian, DENG Li-hong, YIN Shan-shan, PAN Wei-zeng, LAI Xiao-ping, ZHANG Jun (New Drug Development Research Centre, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare *Andrographis paniculata* extract solid dispersion by using hot-melt extrusion (HME) technology, and to evaluate it *in vitro*. METHODS: The type of hydrophilic carrier and the proportion of *A. paniculata* extract to carrier were screened by single factor test using andrographolide and dehydroandrographolide as index. The preparation technology of *A. paniculata* extract solid dispersion was optimized. The dissolution rate *in vitro* was studied, and DSC, SEM, X-ray diffraction were used to analyze the solid dispersion. RESULTS: The optimal technology of *A. paniculata* extract solid dispersion by HME were as follows: choosing polyethylene caprolactam-polyvinyl acetate-soluplus as the carrier; the ratio of *A. paniculata* extract to soluplus was 1:2(m/m); the temperature-raising program of HME should be 130→135→140→130℃; the rotation rate of screw arbor was 27 r/min, feeding speed was 15 g/min. The results of physicochemical characterization experiment indicated that *A. paniculata* extract were in amorphous state in solid dispersion by HME. CONCLUSIONS: HME can disperse *A. paniculata* extract in amorphous state, and improve its solubility.

KEYWORDS Andrographolide; Dehydroandrographolide; Soluplus; Hot-melt extrusion method; Dissolution

热熔挤出技术(HME)又称熔融挤出技术(Melt extrusion technique),是近年来欧、美、日等国大力开发的一门新兴的固体分散技术。20世纪70年代从塑料工业应用中引入制药行业。HME具有分散效果好、药物损失少、不使用有机溶剂、安全无污染、可高效率地进行放大生产、工艺重现性高等优点^[1-2],已广泛用于提高难溶性药物的溶解度、溶出速率以及口

服生物利用度^[3-5]。

目前,穿心莲制剂多为片剂和胶囊,但其主要指标成分穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯等二萜内酯类成分疏水性强,因而大多存在体外溶出慢、生物利用度低的状况^[6-9]。本研究采用HME制备穿心莲固体分散体,通过抑制药物结晶,改善其理化性质,使其以无定形态分散在亲水性载体中,以期提高指标成

non-samll-cell lung cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2011, 11(10):1607.

[10] Garofalo C, Surmacz. Leptin and cancer[J]. *J Cell Physiol*

Δ 基金项目:“十二五”国家科技支撑计划课题(No.2011BAI01B01)

* 硕士研究生。研究方向:中药新药药学。电话:020-39358519。

E-mail: gzliupan@163.com

通信作者:研究员。研究方向:中药新药药学。电话:020-39358103。E-mail: zhjxsh@aliyun.com

ol, 2006, 207(1):12.

[11] Gao JL, Ji X, He TC, et al. Tetrandrine suppresses cancer angiogenesis and metastasis in 4T1 tumor bearing mice [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2013, 55(10):115.

[12] Liu R, Cao Z, Tu J, et al. Lycorine hydrochloride inhibits metastatic melanoma cell-dominant vasculogenic mimicry [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2012, 25(5):630.

(收稿日期:2013-09-25 修回日期:2013-12-16)

分溶出度和生物利用度。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A 高效液相色谱 (HPLC) 仪, 含 UV 检测器、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、Labsolution 色谱工作站 (日本岛津公司); CP225D 十万分之一分析天平、AB204-N 万分之一分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); 智能溶出仪、差示热分析仪 (日本 Shimadzu 公司); HITACHI S-3700N 扫描电子显微镜、HITACHI S-3700N 真空喷镀仪、锐影 X-射线衍射仪 (北京 Empryan 公司)。

1.2 试剂

穿心莲提取物 (柳州市绿翔生物技术有限公司); 穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110797-201108、110854-201007); KollidonVA64、Kollidon12PF、Soluplus、泊洛沙姆 188、PEG 6000 均购自天津市大茂化学试剂厂; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

2 方法

2.1 穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含量测定标准曲线的制备

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸 (55:45, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 穿心莲内酯 225 nm, 脱水穿心莲内酯 254 nm。

2.1.2 线性关系考察 (1) 对照品溶液的制备: 精密称定穿心莲内酯对照品 5.33 mg, 加甲醇制成每 1 ml 含 0.533 mg 的溶液, 作为穿心莲内酯贮备液; 精密称定脱水穿心莲内酯对照品 5.31 mg, 加甲醇制成每 1 ml 含 0.531 mg 的溶液, 作为脱水穿心莲内酯贮备液。精密量取穿心莲内酯贮备液与脱水穿心莲内酯贮备液各 2.0 ml, 置同一 10 ml 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得到每 1 ml 含穿心莲内酯 0.106 6 mg、脱水穿心莲内酯 0.106 2 mg 的混合对照品溶液。(2) 标准曲线的制备: 按“2.1.1”项下色谱条件, 分别精密吸取用微孔滤膜滤过的混合对照品溶液 2、4、8、10、16、20 μl 注入液相色谱仪, 测定峰面积。以对照品进样量 (x, mg) 为横坐标, 峰面积积分值 (g) 为纵坐标, 进行线性回归, 得穿心莲内酯回归方程为 $y=2\ 007\ 492.552\ 9x-683.052\ 6$ ($r=0.999\ 9, n=6$), 表明穿心莲内酯进样量在 0.213 2~2.132 0 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系; 脱水穿心莲内酯回归方程为 $y=1\ 473\ 196.839\ 8x-1\ 249.894\ 7$ ($r=0.999\ 9, n=6$), 表明脱水穿心莲内酯进样量在 0.212 4~2.124 0 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2 溶出度测定

根据 2010 年版《中国药典》(二部) 附录中相关规定^[10], 采用桨法进行试验。取固体分散体适量, 精密称定, 均匀撒布在溶出杯内, 介质为 0.2% 十二烷基硫酸钠 900 ml, 转速 100 r/min, 温度 (37 ± 0.5) °C。分别于 5、10、15、30、45、60 min 取样 1 ml, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液注入液相色谱仪中, 按“2.1.1”项下色谱条件测定穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯峰面积, 代入标准曲线计算相应的药物浓度, 并计算累积溶出百分比。

2.3 热熔挤出固体分散体制备

2.3.1 载体种类筛选 将穿心莲提取物与载体粉末分别过 80 目筛, 按药物: 载体 = 1:2 (m/m) 称取适量药物与载体, 置于聚乙烯袋中振荡混合充分 (约 10 min), 置加料斗中, 保持加料速

度为 15 g/min, 按表 1 中各载体制备热熔挤出固体分散体的最优参数调节温度与转速, 以条状挤出。待混合物挤出后置于干净玻璃板上冷却至室温, 然后取出用粉碎机粉碎, 过 80 目筛, 在 50 °C 以下干燥 10 h, 得到穿心莲提取物与不同载体制成的固体分散体, 以穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯含量及溶出度为指标进行载体种类筛选。

表 1 不同载体制备条件

Tab 1 Different carrier preparation conditions

载体种类	提取物:载体(m/m)	区段升温, °C	出料时间, min	转速, r/min
PEG6000	1:2	70→80→80→70	20	40
泊洛沙姆188	1:2	80→85→90→85	8	30
Kollidon12PF	1:2	125→130→135→130	12	27
KollidonVA64	1:2	170→170→170→170	11	27
Soluplus	1:2	130→135→140→130	15	27

2.3.2 药物与载体用量比例筛选 确定载体种类后, 分别将药物与载体按照 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 (m/m) 比例称取适量, 按“2.3.1”项下方法制成热熔挤出固体分散体, 以穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的工艺保留率及溶出度为指标进行药物与载体用量比例筛选。

2.4 热熔挤出固体分散体物相鉴别试验

2.4.1 差式扫描量热分析 将穿心莲提取物原料药、物理混合物和热熔挤出固体分散体各组样品分别装入铝坩埚中, 在静态空气环境下进行测定, 载样量为 5 mg, 升温速度为 5 °C/min, 温度范围 30~300 °C。

2.4.2 电镜扫描试验 将穿心莲提取物原料药、物理混合物和热熔挤出固体分散体各组样品均匀撒于贴有导电胶带的样品座上, 保持真空度 10 Pa、电流 20 mA, 喷金约 60 s, 用洁净的镊子取出, 置于电镜测试仪器内, 保持高压 15 kV, 打开计算机程序进行测试, 在放大 500 倍条件下观察。

2.4.3 X-射线衍射试验 将穿心莲提取物原料药、物理混合物和热熔挤出固体分散体各组样品分别置 Cu 靶 Kα 射线下进行衍射, 保持电压 40 kV、电流 40 mA, 发射狭缝 1/8°, 防散射狭缝 1/4°, 防散射狭缝 7.5 mm, 2θ 范围 5°~60°, 步长 0.02°, 每步停留时间 40 s。

3 结果

3.1 载体种类筛选结果

不同载体的热熔挤出固体分散体中, 穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯两指标成分的含量及累积溶出度试验结果分别见表 2、图 1。

表 2 不同载体热熔挤出固体分散体中指标成分含量结果

Tab 2 The indicators ingredients of different carrier systems of hot melt extrusion dispersion

载体种类	穿心莲内酯含量, %	脱水穿心莲内酯含量, %	指标成分含量之和, %
PEG6000	1.60	5.11	6.70
泊洛沙姆188	1.54	4.79	6.33
Kollidon12PF	0.96	5.82	6.78
KollidonVA64	0.20	6.74	6.93
Soluplus	1.01	5.75	6.76

表 2 结果显示, 不同载体的固体分散体中两指标成分含量差异不大; 累积溶出试验结果表明, 两指标成分在 Soluplus 组制成的固体分散体中溶出度高于其他载体, 并显著高于穿心莲提取物组。故确定采用 Soluplus 为载体, 相应热熔挤出区段升温程序为 130→135→140→130 °C, 螺杆转速为 27 r/min, 加

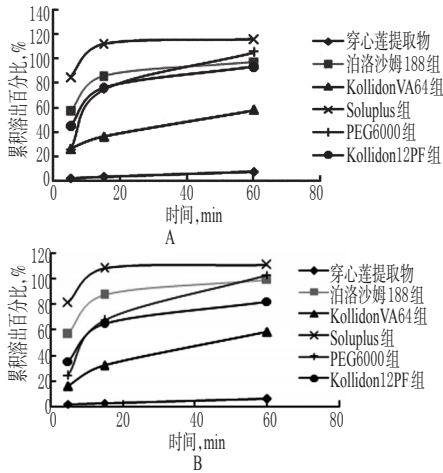


图1 不同载体热熔挤出固体分散体中穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的累积溶出曲线

A.穿心莲内酯;B.脱水穿心莲内酯

Fig 1 The cumulative dissolution curves of andrographolide and dehydroandrographolide in hot melt extrudate which prepared by different excipients

A.andrographolide;B.dehydroandrographolide

料速度为15 g/min。

3.2 药物与载体用量比例筛选结果

不同药物与Soluplus用量比所得的热熔挤出固体分散体和物理混合物中穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯两指标成分工艺保留率与累积溶出度结果分别见表3、表4、图2。

表3 不同比例固体分散体中指标成分工艺保留率

Tab 3 The retention rate of index ingredients in different proportions of solid dispersion

指标	穿心莲提取物, %	1:1分散体, %	1:2分散体, %	1:3分散体, %	1:4分散体, %	1:5分散体, %
穿心莲内酯	100.00	64.38	32.42	45.27	34.57	13.54
脱水穿心莲内酯	100.00	97.24	100.20	75.48	61.74	79.53

表4 不同比例物理混合物中指标成分工艺保留率

Tab 4 The retention rate of index ingredients in different proportions of physical mixture

指标	1:1物理混合, %	1:2物理混合, %	1:3物理混合, %	1:4物理混合, %	1:5物理混合, %
穿心莲内酯	96.38	99.56	94.78	90.59	92.16
脱水穿心莲内酯	97.48	100.85	97.74	90.98	94.83

综合表3、表4、图2结果显示,穿心莲提取物:Soluplus为1:1和1:2(m/m)时,穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯两指标成分的工艺保留率和体外溶出度较高,故最终选择穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)投料。

3.3 差式扫描量热分析试验结果

穿心莲提取物、Soluplus、穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)制成的热熔挤出固体分散体的差式扫描量热分析结果见图3。

图3结果显示,穿心莲提取物图谱中,在47 min左右出现明显吸热峰,提示穿心莲提取物中存在药物结晶;而在载体Soluplus与热熔挤出固体分散体图谱中,47 min处均未出现吸热峰,提示穿心莲提取物中原有的结晶成分在热熔挤出固体分散体中以微晶态或无定形态存在。

3.4 电镜扫描试验结果

电镜扫描试验结果见图4。

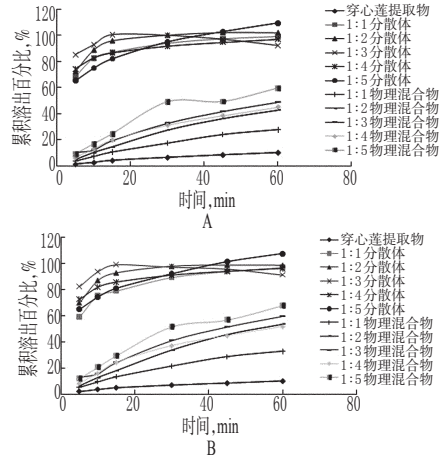


图2 不同剂型中穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的累积溶出曲线

A.穿心莲内酯;B.脱水穿心莲内酯

Fig 2 The cumulative dissolution curves of andrographolide and dehydroandrographolide in different dosage forms

A.andrographolide;B.dehydroandrographolide

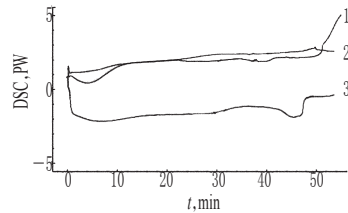


图3 差式扫描量热分析曲线图

1.穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)制成的热熔挤出固体分散体;2.Soluplus;3.穿心莲提取物

Fig 3 DSC curve

1. *A. paniculata* extract: Soluplus=1:2(m/m) prepared as hot melt extrusion solid dispersion; 2. Soluplus; 3. *A. paniculata* extract

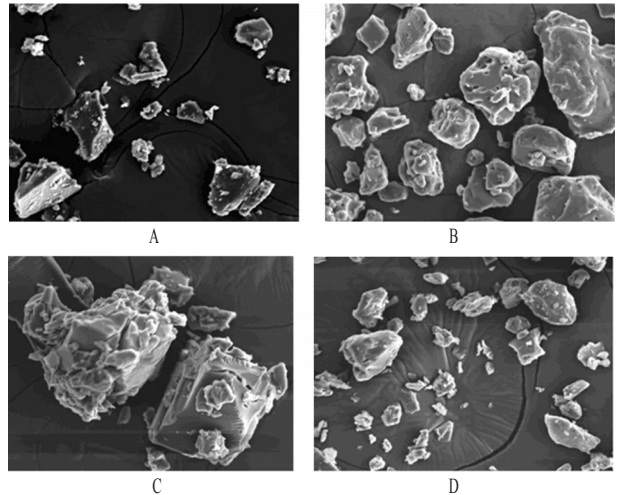


图4 电镜扫描试验结果

A.穿心莲提取物;B.Soluplus;C.穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)制成的热熔挤出固体分散体;D.穿心莲提取物:Soluplus=1:2(m/m)物理混合物

Fig 4 Results of electron microscope scanning

A. *A. paniculata* extract; B. Soluplus; C. *A. paniculata* extract: Soluplus=1:2(m/m) prepared as hot melt extrusion solid dispersion; D. *A. paniculata* extract: Soluplus=1:2(m/m) physical mixture

图4结果显示,穿心莲提取物呈不规则的棒状或柱状结晶,结构致密,形态清晰,立体感强;载体 Solupuls 呈疏松多孔的粒子;穿心莲提取物与 Solupuls 制成固体分散体后,分散体中无提取物结晶,取而代之的是较大体积的无定形蓬松物;而物理混合物中则只是 Solupuls 与提取物的简单结合,仍可见晶体稀释在 Solupuls 粒子中,且物理混合物粒子直径明显小于固体分散体。

3.5 X-射线衍射试验结果

X-射线衍射试验结果见图5。

以衍射图谱中 2θ 为 15.7° 、 14.9° 、 17.5° 左右出现的穿心莲提取物特征晶体衍射峰 I、峰 II、峰 III 的峰面积为指标,比较各剂型对药物晶体特征峰的削弱程度,见表5。

表5结果显示,穿心莲提取物在 2θ 为 15.7° 、 14.9° 、 17.5° 存在形态明显的3个晶体衍射峰,以 Solupuls 为载体,将穿心莲提取物制成固体分散体,可抑制穿心莲提取物中晶体衍射峰的形成,削弱程度依次为:药物:Solupuls = 1:2(m/m) 制成的热熔挤出固体分散体 > 药物:Solupuls = 1:2(m/m) 物理混合物。

4 讨论

药物与载体用量比例筛选试验中,穿心莲提取物:Solupuls 按 1:1(m/m) 投料时,穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯两

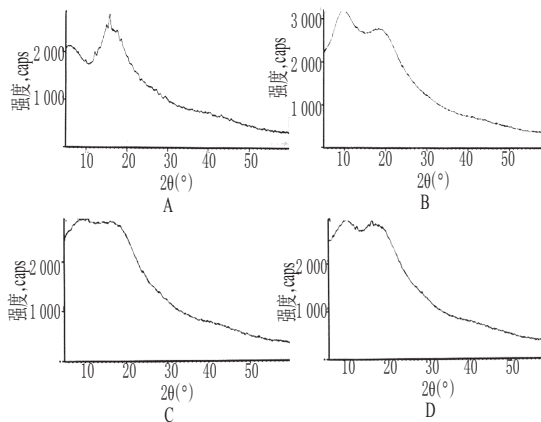


图5 X-射线衍射试验结果

A.穿心莲提取物;B.Solupuls;C.穿心莲提取物:Solupuls=1:2(m/m)制成的热熔挤出固体分散体;D.穿心莲提取物:Solupuls=1:2(m/m)物理混合物

Fig 5 Result of X-ray

A. *A. paniculata* extract; B. Solupuls; C. *A. paniculata* extract: Solupuls = 1:2(m/m) prepared as hot melt extrusion solid dispersion; D. *A. paniculata* extract: Solupuls = 1:2(m/m) physical mixture

表5 各剂型对穿心莲提取物晶体峰峰面积的削弱程度

Tab 5 The weakening effect of different dosage forms on peak area of *A. paniculata* extract crystal formulations

剂型	峰 I			峰 II			峰 III		
	提取物中	剂型中	削弱程度, %	提取物中	剂型中	削弱程度, %	提取物中	剂型中	削弱程度, %
穿心莲提取物:Solupuls(1:2,m/m)分散体	716.60	-	100.00	78.77	43.99	44.15	81.56	-	100.00
穿心莲提取物:Solupuls(1:2,m/m)物理混合物	716.60	56.95	96.23	78.77	553.25	*	81.56	-	100.00

注:“-”表示未出现此峰;“*”表示削弱程度无法计算

note:“-”means no peak;“*”means weakening effect can not be calculated

指标成分工艺保留率与累积溶出百分比均较高;但在热熔挤出操作过程中笔者发现,原料极易黏壁,挤出困难,导致收率明显下降。因此,综合考虑指标成分工艺保留率、累积溶出百分比和热熔挤出过程的收率,本试验最终选择药物与载体按 1:2(m/m) 投料。

体外溶出度试验说明,HME 具有提高穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯溶出度的作用;同时,通过差式扫描量热分析试验、电镜扫描试验、X-射线衍射试验说明,HME 可抑制原穿心莲提取物中药物的结晶作用,使药物由结构致密的结晶态转变为无定形态,增大药物的比表面积以及其与溶出介质的接触面积,为其溶解度和溶出度的提高提供了依据。

参考文献

[1] 唐星.口服缓控释制剂[M].北京:人民卫生出版社,2007:1.
 [2] Crowley MM, Zhang F, Repka MA, et al. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2007, 33(10):909.
 [3] 林瑶,顾宜,严筱楠,等.热熔挤出技术提高安宫牛黄固体分散体中黄芩苷溶出速率的研究[J]. *中成药*, 2012, 34(1):38.
 [4] 李慧,唐星.热熔挤出法制备联苯双酯固体分散体的工艺[J]. *沈阳药科大学学报*, 2008, 25(7):515.

[5] Tho I, Liepold B, Rosenberg J, et al. Formation of nano/micro-dispersions with improved dissolution properties upon dispersion of ritonavir melt extrudate in aqueous media[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 40(1):25.
 [6] Ye Ling, Wang Tao, Tang Lan, et al. Poor oral bioavailability of a promising anticancer agent andrographolide is due to extensive metabolism and efflux by P-glycoprotein [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(11):5 007.
 [7] Ye Ling, Liang Fugui, Yang Xiaoshan, et al. Oral bioavailability and intestinal disposition of dehydroandrographolide in rats[J]. *South Med Univ*, 2012, 32(8):1 074.
 [8] 魏存芳,姚媛,廖琼峰,等.穿心莲片中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的药物动力学研究[J]. *中成药*, 2009, 31(5):724.
 [9] 蔡文涛,韩凤梅,陈勇.穿心莲片中脱水穿心莲内酯在小鼠血浆中的药理学[J]. *湖北大学学报:自然科学版*, 2005, 31(4):398.
 [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录86.

(收稿日期:2013-09-30 修回日期:2013-12-03)