

• 药剂与工艺 •

三七总皂苷-丹参酮复合粒子的溶剂沉积法制备及其表征

付廷明, 杨丰云, 王天瑶, 王华美, 郭立玮*

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210029

摘要: 目的 为了解决粒子作为吸入载药系统, 药物复方能同步传递的效果, 制备出核/壳三七总皂苷-丹参酮复合粒子。方法 在三七总皂苷粒子表面利用溶剂沉积法包覆一层丹参酮。分别利用扫描电镜 (SEM)、X 射线衍射 (XRD)、差热分析 (DTA)、激光光散射粒径扫描、高效液相色谱 (HPLC) 对复合粒子进行表征。结果 通过上述表征, 证明采用溶剂沉积法可成功制备包覆式复合粒子, 即丹参酮包裹三七总皂苷复合粒子。结论 复合粒子的有效制备为粒子载药系统复方药物的同步传递提供了有力保障, 为复方粉雾剂的制备提供了技术支持。

关键词: 中药复方; 复合粒子; 表征; 丹参酮; 三七总皂苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)11-2216-05

Preparation of notoginseng total saponins-tanshinone composite particles by solvent deposition method and their characterization

FU Ting-ming, YANG Feng-yun, WANG Tian-yao, WANG Hua-mei, GUO Li-wei

School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To synchronously inhale Chinese materia medica compound using particle as inhalation drug delivery system, notoginseng total saponins-tanshinone composite particle was prepared. **Methods** The composite particle of notoginseng total saponins-tanshinone was prepared by solvent deposition method and was characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), differential thermal analysis (DTA), particle size analysis, and high-performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The notoginseng total saponins-tanshinone composite particle was successfully prepared by solvent deposition method, the results of characterization proved that tanshinone was coated on the notoginseng total saponins core particle. **Conclusion** The preparation of composite particle provides an effective way for synchronous inhalation of Chinese materia medica compound prescription and technical support for the preparation of compound dry powder inhalations.

Key words: Chinese materia medica compound prescription; composite particle; characterization; tanshinone; notoginseng total saponins

吸入给药因其具有“速效、定位”、肺部对多肽蛋白质药物通透率高和无肝脏首关效应等优势, 正在发展成为一种常规的给药方式。多种药物均可经吸入给予, 且在很多情况下甚至会替代口服给药和注射给药^[1-2]。干粉吸入剂是将微粉化的药物与适量辅料混匀, 装入特定的容器内, 使用时凭借患者的吸气气流将药物分散于呼吸系统内的制剂^[3]。由于它不使用抛射剂、药物以固体超微粒子形式存在、可以方便地控制释放和保护药物, 是极具前景的

药物研发领域。中药吸入给药历史悠久, 多能达到速释, 定位的目的。如复方丹参气雾剂、双黄连气雾剂等多能达到“速效、定位”的目的, 分别对心绞痛、呼吸道感染等疾病作用显著^[4-5]。尤其后者, 其生物药剂学指标 $t_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、AUC 等都与双黄连注射剂接近或一致, 在临床使用上可以取代双黄连注射剂^[6]。鉴于目前许多中药注射剂存在安全性差、不稳定等诸多问题, 吸入制剂如能替代相应的注射剂, 意义重大。

收稿日期: 2011-02-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973950)

作者简介: 付廷明 (1976—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: 13915948036 E-mail: futingming@gmail.com

*通讯作者 郭立玮 E-mail: guoliwei815@yahoo.com.cn

中药干粉吸入剂的研究遭遇了一个瓶颈,与单一成分主药组成的干粉吸入剂不同,中药药效物质具有多元性与整体性,主要由水溶性与脂溶性两类成分组成。而因为肺部给药途径的解剖学结构特点^[7],这两类成分在吸入过程中可停留在呼吸道不同的位置而造成“分离”现象,主要是水溶性成分不能同步到达肺泡。可见实现药物多组分的同步吸入,是目前中药复方干粉吸入剂迫切需要解决的共性关键问题。假如能将中药的多组分有序组合在单一的粒子中,制成核/壳型复合粒子,由于在每一个粒子不同组分是有机结合的,防止再吸入过程中的分离现象,显然能够达到多组分同步递送的目标。本实验以三七总皂苷为核,丹参酮为壳,不使用其他载体辅料,主要依靠中药组分的材料学性能(如表面结合能、荷电性等),使丹参酮与三七总皂苷结合成为核/壳复合粒子,并对其进行表征。

1 仪器与材料

Buchi B—290 小型喷雾干燥仪(瑞士步琪公司);JSM—6300 扫描电子显微镜(日本 JEOL 公司);Helos/Rodos 干法激光粒度仪(德国新帕泰克有限公司);差热分析仪 CPY—1P(上海精密科学仪器);Bruker Axs D8 Advance X 射线粉末衍射仪(瑞士 ARL 公司);Agilent 1100 型系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),包括 G1312A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器;85—1 恒温磁力搅拌机(金坛荣华仪器厂)。丹参酮 II_A(批号 110766-200619)、三七皂苷 R₁(批号 110745-200617)、人参皂苷 Rg₁(批号 110703-201027)、人参皂苷 Rb₁(批号 110704-200921)均购于中国药品生物制品检定所,三七总皂苷(批号 S20060722,质量分数 43%,昆明盛蕾生物科技有限公司),丹参酮(批号 B2007021,质量分数 35%,江西康盛堂药业有限公司);环己烷(分析纯,中国医药集团上海试剂公司),乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 复合粒子的制备

2.1.1 三七总皂苷核粒子的制备^[7-8] 称取三七总皂苷原料 10 g,溶于 100 mL 蒸馏水中配制成 0.1 g/mL 三七总皂苷溶液,喷雾干燥即得三七总皂苷核粒子。喷雾干燥条件:进口温度 160 ℃,出口温度 98 ℃,进样体积流量 0.4 mL/min,空气体积流量 60 m³/h。

2.1.2 溶剂沉积复合粒子的制备^[9] 将 0.25 g 丹参

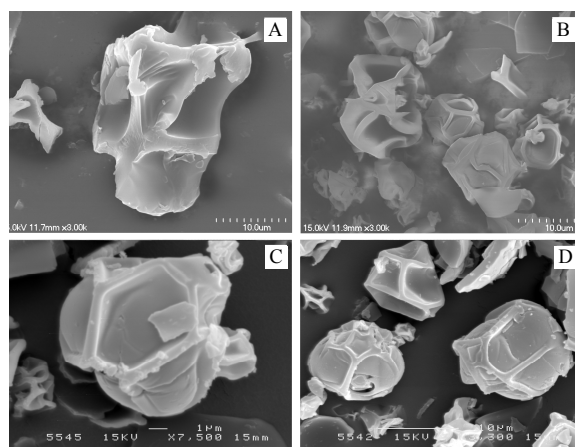
酮溶解在 50 mL 环己烷中得 0.005 g/mL 的丹参酮环己烷溶液。在上述丹参酮溶液中加入 3 g 上述制备的三七总皂苷核粒子,在磁力搅拌机上 50 ℃ 搅拌挥干溶剂,即得核/壳结构复合粒子。

2.2 复合粒子电镜扫描(SEM)

取三七总皂苷喷雾粒子和溶剂沉积复合粒子的少许粉末样品撒于电镜的样品台的双面胶上喷金,然后在真空条件下进行成像观察。图 1-A、1-B 为利用喷雾干燥法制备的三七总皂苷母核粒子。从粉末形态看表面显得粗糙、有许多的突起或的凹陷存在,形状并不是完正规则的球形,但分散性好,粒径分布均匀。图 1-C、1-D 为利用喷雾干燥法制备的核壳结构复合粒子。丹参酮沉积在三七总皂苷粒子表面,形成的沉积复合粒子。从形态上看,粒子表面有比较多的小颗粒和小粒子吸附,另外粒子比较平整,形状也比较规则。粒子表面虽然也有许多突起和凹陷,但是比较在三七总皂苷粒子表面比较严重的突起和凹陷,沉积粒子的表面已经比较平整。另外从粒子的平整角度来看,沉积粒子的表面平整度远大于三七总皂苷粒子母核。因此可以得出,丹参酮良好的包裹在三七总皂苷粒子母核表面,形成包覆层,改善了粒子的表面形态,这对改善粒子的流动性是有利的。

2.3 复合粒子 X 射线衍射(XRD)

采用 ARL X—TRA 型 X 射线衍射仪测试,Cu-K α 射线,衍射角度(2 θ)扫描范围为 3°~50°,扫描速度 10°/min,温度 20 ℃,管压 50 kV,管流 150 mA,

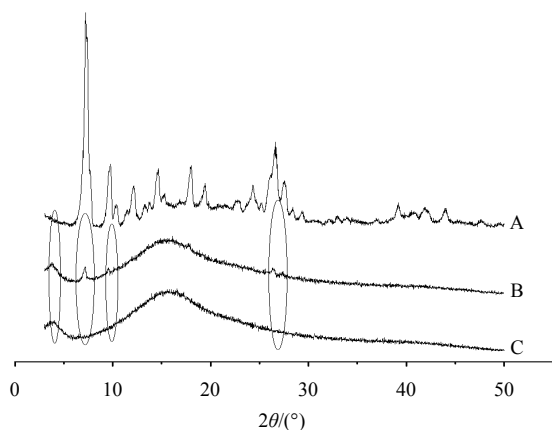


A、B-三七总皂苷喷雾单个粒子 C、D-溶剂沉积复合粒子
A, B-notoginseng total saponins spray drying particles
C, D-solvent deposition composite particles

图1 粒子的扫描电镜图

Fig. 1 SEM images of particles

对粒子进行 X 衍射扫描。由图 2 可见,单成分三七总皂苷母核粒子无明显 XRD 衍射峰,非晶态成分多糖造成其 X 衍射图谱呈弥散峰形。丹参酮原料图谱的特征性非常强,说明丹参酮晶型结构特征非常明显。丹参酮晶型谱图中有 21 个强衍射峰, 2θ 值分别为: 7.240° 、 9.760° 、 10.440° 、 11.500° 、 12.140° 、 13.260° 、 13.820° 、 14.680° 、 15.320° 、 18.0206° 、 19.460° 、 24.340° 、 25.240° 、 26.680° 、 27.600° 、 28.400° 、 29.320° 、 32.980° 、 39.200° 、 41.880° 、 44.020° 。复合粒子 XRD 图谱的特征与三七总皂苷的 XRD 类似,但是在复合粒子的 2θ 值为 3.840° 、 7.200° 、 9.560° 、 17.760° 、 26.380° 、 27.340° 分别出现 6 个对应于丹参酮的衍射峰。从沉积复合粒子谱图中发现,丹参酮的特征积分强度比较弱,被三七的弥散峰形有所掩盖了,但仍然能辨认。另外,沉积复合粒子谱图丹参酮的特征积分强度同样非常弱,这样得出结论,复合物中丹参酮处于一种高度分散无序的状态。丹参酮并不是以完整晶体的形态沉积在三七总皂苷母核表面,而是以无定形或微晶的状态沉积在三七总皂苷母核表面。



A-丹参酮 B-沉积复合粒子 C-三七总皂苷粒子
A-tanshinone B-deposition composite particles
C-notoginseng total saponins particles

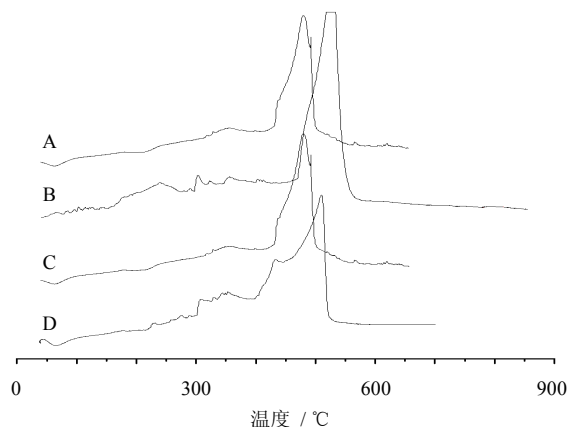
图 2 不同粒子 XRD 综合比较图谱

Fig. 2 XRD comparative patterns of different particles

2.4 差热分析 (DTA)

DTA 采用 CPY-1P 差示分析仪测试,将药品在 105°C 真空干燥至恒定质量,然后将药品置于坩埚中,以空气气氛,升温速率 $10.0^\circ\text{C}/\text{min}$,温度范围 $40\sim 800^\circ\text{C}$,样品用量 $0.1\sim 2.0\text{ mg}$ 。参比物为三氧化二铝,对粒子进行差热分析。由图 3 可知三七总皂苷就出现一个特征峰, 480.25°C 时出现特征

吸热峰。 480.25°C 时出现的特征吸热峰的起始值为 430.49°C ,终止温度为 505.13°C 。丹参酮同样只有一个特征峰, 517.47°C 是出现特征吸热峰。 517.47°C 时出现的特征吸热峰的起始值为 467.43°C ,终止温度为 579.25°C 。物理混合物出现了一个特征峰,在 508.86°C 。 508.86°C 时出现的特征吸热峰的起始值为 436.75°C ,终止温度为 563.70°C 。因此有吸热特征峰的区间可知。 508.86°C 的特征吸热峰是丹参酮和三七总皂苷的重叠峰。沉积复合粒子也出现了一个特征峰, 478.12°C 。 478.12°C 时出现的特征吸热峰的起始值为 432.35°C ,终止温度为 509.74°C 。沉积特征峰向前平移,另外由吸热特征峰的区间可知。 478.12°C 的特征吸热峰是形成了新的物质,或者形成了无定形状态。由 XRD 证明,为无定形状态,主要是丹参酮包覆于三七总皂苷的外面。



A-三七总皂苷 B-丹参酮 C-溶剂沉积复合粒子
D-三七总皂苷-丹参酮物理混合物
A-notoginseng total saponins B-tanshinone C-solvent
deposition composite particles D-physical mixture
of notoginseng total saponins and tanshinone

图 3 不同粒子 DTA 图

Fig. 3 DTA of different particles

2.5 粒径分析

用新帕泰克 Helos/Rodos 干法激光粒度仪,进行粒径测试。从图 4-A 喷雾干燥制备的三七总皂苷粒子粒径来看,粒子粒径范围成正态分布,主要粒径范围为 $1.80\sim 21.00\text{ }\mu\text{m}$,平均粒径 $5.68\text{ }\mu\text{m}$ 。有 10%的粒子粒径小于 $2.76\text{ }\mu\text{m}$,有 50%的粒子粒径小于 $9.00\text{ }\mu\text{m}$,有 90%的粒子粒径小于 $20.20\text{ }\mu\text{m}$ 。从图 4-B 溶剂沉积制备的复合粒子粒径来看,粒子粒径范围成正态分布,主要粒径范围为 $1.80\sim 30.00\text{ }\mu\text{m}$,平均粒径 $5.96\text{ }\mu\text{m}$ 。有 10%的粒子粒径小于

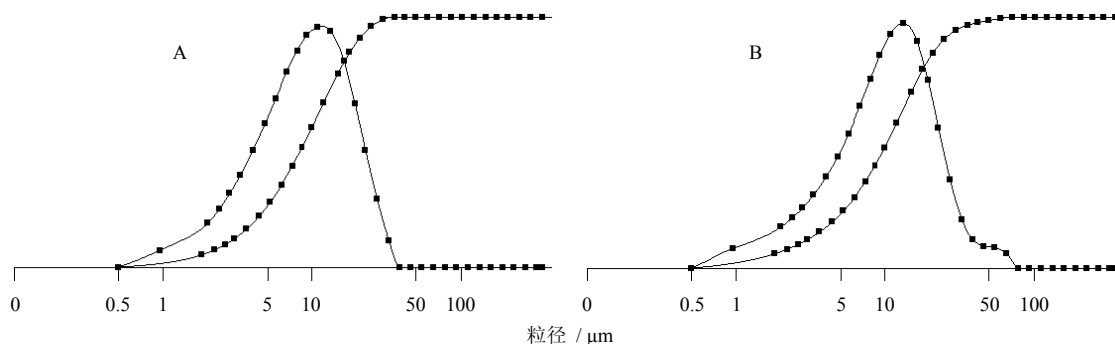


图 4 三七总皂苷喷雾干燥粒子 (A) 与溶剂沉积复合粒子粒径分布图 (B)

Fig. 4 Particle diameter distributions of notoginseng total saponins spray drying particle (A) and solvent deposition notoginseng total saponins-tanshinone composite particle (B)

2.72 μm , 有 50% 的粒子粒径小于 10.42 μm , 有 90% 的粒子粒径小于 24.18 μm 。溶剂沉积制备的复合粒子粒径与喷雾干燥制备的三七总皂苷粒子粒径比较看出, 溶剂沉积制备的复合粒子粒径要大于喷雾干燥制备的三七总皂苷粒子粒径。从而说明丹参酮成功的包覆于三七总皂苷粒子表面。

2.6 高效液相色谱检测^[10]

将对照品三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 和丹参酮 II_A 置 5 mL 棕色容量瓶中, 加 70% 甲醇水溶液形成混合对照品溶液 (4 种对照品质量浓度依次为 0.1、0.4、0.4、0.05 mg/mL)。准确称取 0.05 g 复合粒子用 70% 甲醇水溶液溶解并转移到 25 mL 棕色量瓶中定容, 超声提取 30 min, 放冷加入 70% 甲醇水溶液补足减失的质量, 配制成供试品溶液。溶液过 0.45 μm 滤膜, 即得供试品。

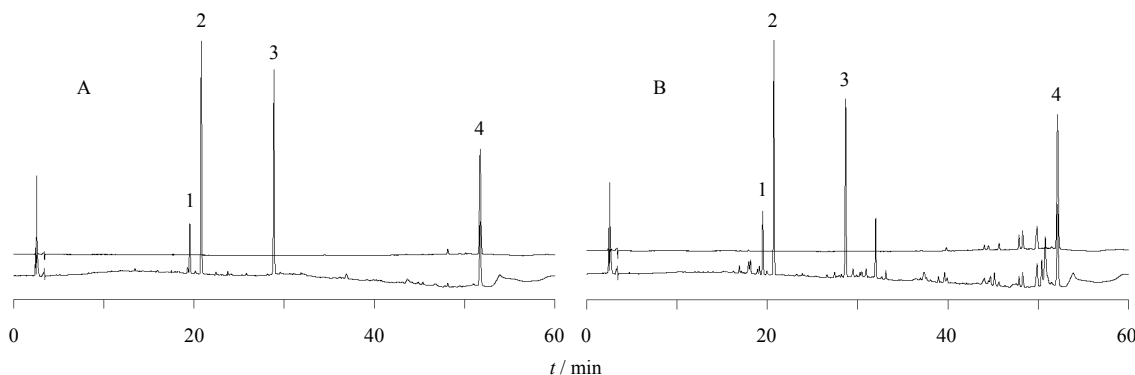
色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax C_{18} 柱 (250 $\text{mm} \times 4.6 \text{ mm}$, 5 μm); 流动相为 0.1% 磷酸水溶液

(A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~10 min, 10%~20% B; 10~15 min, 20%~25% B; 15~25 min, 25%~35% B; 25~35 min, 35~50% B; 35~45 min, 50%~80% B; 45~50 min, 80% B; 55~60 min, 10% B。检测波长为 203 nm (三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 和人参皂苷 Rb_1) 和 270 nm (丹参酮 II_A)。

从图 5 可以看出, 粒子中都存在一定量的三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 、丹参酮 II_A 4 种需要的成分, 其中复合粒子中三七总皂苷的量达到 40%, 丹参酮 II_A 的量达到 2.5%, 再次证明了复合粒子的真实存在性。

3 讨论

喷雾干燥是制备药物微粒的常用方法, 本实验通过喷雾干燥制备了三七总皂苷母核粒子^[11]。实验表明喷雾干燥的进口温度是控制微粒形貌的主要因素, 另外, 溶液的浓度、进风口温度、进料速率, 都能显著影响喷雾干燥粒子的粒径形貌。由于粒子



1-三七皂苷 R_1 2-人参皂苷 Rg_1 3-人参皂苷 Rb_1 4-丹参酮 II_A
1-notoginsenoside R_1 2-ginsenoside Rg_1 3-ginsenoside Rb_1 4-tanshinone II_A

图 5 对照品 (A) 与溶剂沉积复合粒子 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 5 HPLC chromatograms of reference substances (A) and solvent deposition notoginseng total saponins-tanshinone composite particle (B)

的空气动力学粒径对其吸入和在呼吸道内的沉积具有显著的影响,而表面形貌对粒子的空气动力学粒径又有决定性的作用^[12]。本实验首次利用喷雾干燥方法制备了表面褶皱形三七总皂苷粒子,这种特殊的结构可望降低粒子的空气动力学粒径,作为中药吸入给药的通用模型。

从溶剂沉积制备的包覆粒子来分析,选择合适的溶剂是最主要的一步。本实验选择了能溶解丹参酮但不溶解三七总皂苷的环己烷为溶剂,通过在50℃下缓慢挥发环己烷,使丹参酮析出并沉积在三七总皂苷粒子的表面。实验表明溶液的质量浓度,沉积的温度,搅拌的速率都是影响沉积的重要因素。SEM、XRD、以及粒径分析等手段证明丹参酮成功的包覆在三七总皂苷核粒子的表面,生成了三七总皂苷-丹参酮核/壳结构复合粒子。

参考文献

- [1] Schreier H, 应翔宇 (译). 药物靶向技术 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004.
- [2] 许海玉, 张铁军, 赵平, 等. 中药缓控释制剂的研究现状及研发思路 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(1): 30-35.
- [3] 屠锡德, 张钧寿, 朱家璧. 药剂学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [4] 范碧亭. 中药药剂学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [5] 徐凯建, 孙烤箱, 陆义成, 等. “双黄连”注射剂与气雾剂的人体生物利用度研究 [J]. 中国医院药学杂志, 1992, 12(11): 484-486.
- [6] 郭立玮, 黄芳. 中药药物动力学方法与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [7] 唐志书, 郭立玮, 谢伟, 等. 伴生物质对三七总皂苷喷雾干燥适应性的影响研究 [J]. 现代中医药, 2010, 30(4): 77-79.
- [8] 赵国巍, 廖正根, 陈绪龙, 等. 喷雾干燥法制备三七皂苷缓释微球 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(6): 676-678.
- [9] 罗昕, 徐月红, 陈宝, 等. 隐丹参酮固体分散体的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2005, 36(6): 839-842.
- [10] 韦英杰, 李萍, 李松林. 高效液相二极阵列检测法同时测定复方丹参制剂中7个成分的含量 [J]. 分析化学, 2006, 34(12): 1702-1706.
- [11] 房信胜, 王建华, 穆象山, 等. 丹参素微囊的喷雾干燥法制备及其体外释药的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(11): 1732-1735.
- [12] Chew N Y K, Chan H K. Use of solid corrugated particles to enhance powder aerosol performance [J]. *Pharm Res*, 2001, 18(11): 1570-1577.

欢迎订阅 2012 年《药学学报》

《药学学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目: 述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自1953年创刊以来,一直报道药学领域原始性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学学报》为我国自然科学核心期刊,据中国科学引文数据库的统计数据,在中国科技核心期刊排行表中,《药学学报》名列前茅,在药学类期刊中居首位;本刊已被世界主要检索系统收录,为我国药学界高水平的学术刊物,在国际上享有一定知名度。本刊1999年荣获首届“国家期刊奖”,2001年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊;2002年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”,并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖;2002~2009年连续8届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号;2008~2010年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助(B类);2011年荣获第二届中国出版政府奖期刊奖提名奖。

本刊为128页,月刊,大16开本。每期定价40元,全年定价480元。国内邮发代码:2-233,国外代码:M105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

- 通过当地邮局;
- 通过E-mail(yxxb@imm.ac.cn)或从网上(www.yxxb.com.cn)下载订阅单,填好后寄至编辑部;
- 通过本刊编辑部,联系人:李淑芬、张晓晔

电话:(010)63165208 传真:(010)63035012

编辑部地址:北京市先农坛街1号《药学学报》编辑部(邮编100050)