

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.03.018

葛根素-壳寡糖共无定型制备与体外溶出度评价*

任丽佳¹, 李杰², 唐丽娜^{1△}

(1. 南京中医药大学江阴附属医院, 江苏 无锡 214400; 2. 南京中医药大学附属张家港医院, 江苏 张家港 215600)

摘要:目的 提高葛根素的生物利用度。方法 采用低温研磨法制备葛根素-壳寡糖共无定型(PUE-COS CM), 采用差示扫描量热法、X射线粉末衍射法、傅里叶红外光谱法、扫描电镜法对PUE-COS CM进行固态表征分析; 评价PUE-COS CM在漏槽和非漏槽2种条件下的体外溶出行为, 并考察其稳定性。结果 差示扫描量热法证实, PUE-COS CM中葛根素的晶体熔化峰完全消失, 并存在单一的玻璃化转变温度(95.7℃); X射线粉末衍射法证实, PUE-COS CM中无葛根素的晶体衍射峰; 傅里叶红外光谱法证实PUE-COS CM中葛根素与壳寡糖发生了潜在的分子间氢键相互作用; 扫描电镜法证实, PUE-COS CM呈不规则块状与颗粒状, 无葛根素原料药与壳寡糖的表面特征。在漏槽和非漏槽条件下, 与葛根素原料药相比, PUE-COS CM中葛根素的累积溶出速率更快, 溶出质量浓度更高, 且可长时间维持过饱和状态; PUE-COS CM在40℃条件下放置6个月的物理和化学稳定性均良好。结论 葛根素原料药与壳寡糖制备成共无定型, 可有效提高葛根素的体外溶出度及共无定型药物的稳定性。

关键词: 葛根素; 壳寡糖; 共无定型; 体外溶出度; 稳定性

中图分类号: R932; R283

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)03-0075-06

Preparation and *in Vitro* Evaluation of Puerarin - Chitosan Oligosaccharide Co - Amorphous

REN Lijia¹, LI Jie², TANG Lina¹

(1. Jiangyin Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Wuxi, Jiangsu, China 214400; 2. Zhangjiagang Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Zhangjiagang, Jiangsu, China 215600)

Abstract: Objective To improve the bioavailability of puerarin. **Methods** Puerarin-chitosan oligosaccharide co-amorphous (PUE-COS CM) was prepared by the cryomilling method. The solid-state characterization of PUE-COS CM was analyzed by differential scanning calorimetry (DSC), X-ray powder diffraction (XRPD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). The dissolution behavior of PUE-COS CM *in vitro* under sink and non-sink conditions was evaluated, and its

*基金项目: 江苏省药学会——天晴医院药学项目[Q201931]。

第一作者: 任丽佳, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为临床中药学, (电子信箱)76212837@qq.com。

△通信作者: 唐丽娜, 女, 大学本科, 副主任中药师, 研究方向为临床中药学, (电子信箱)2256128837@qq.com。

绿原酸具有广谱抑菌效果, 能有效抑制细菌及部分真菌的生长繁殖, 其抑菌活性明显优于新绿原酸和隐绿原酸^[11-12]。在样品制备过程中, 绿原酸损失的主要原因因为异构化, 次要原因因为在碱性环境下易水解。由图3至图5可知, 在弱酸条件下, 绿原酸的异构化反应程度较小; 减少煎煮时间、采用温和且有效的灭菌方式, 可抑制绿原酸的异构化反应。本研究中通过优化制备工艺, 在抑制绿原酸异构化的同时也有效抑制了其水解, 与法定工艺相比, 绿原酸总转移率提高24.95%, 有利于提高银黄口服液抗菌、消炎的功效。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 27.
- [2] 苏真真, 李娜, 曹亮, 等. 基于网络药理学方法探讨银黄口服液抗呼吸道感染的作用机制[J]. 计算机与应用化学, 2016, 33(9): 971-975.
- [3] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展[J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.
- [4] 黄丽瑛, 吕植祯, 李继彪, 等. 中药金银花化学成分的研究[J]. 中草药, 1996, 27(11): 645-647.
- [5] 张家燕. 中药金银花的药用成分及药理作用分析[J]. 中国医药指南, 2019, 17(17): 177-178.
- [6] 张炳仁, 马文惠, 陈宝, 等. 绿原酸对内毒素致热的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(5): 229-231.
- [7] 王世宽, 许艳丽, 潘明, 等. 甘薯叶中绿原酸的提取及抑菌作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5862-5863.
- [8] 涂北平, 赖卫华. 高纯度绿原酸的稳定性研究[J]. 江西化工, 2011(4): 52-54.
- [9] 李守信, 展金祥, 刘武占, 等. 基于指纹图谱的金银花物质组纯化工艺研究[J]. 中草药, 2015, 46(1): 55-60.
- [10] 李玉山. 绿原酸在天然植物中的分布和提取纯化工艺研究进展[J]. 解放军药学学报, 2012, 28(4): 355-359.
- [11] 林学政, 柳春燕, 陈靠山, 等. 不同地域牛蒡叶绿原酸的含量比较及其抑菌实验[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 328-330.
- [12] HARRISON HF, MITCHELL TR, PETERSON JK, et al. Contents of Caffeoylquinic Acid Compounds in the Storage Roots of Sixteen Sweetpotato Genotypes and Their Potential Biological Activity[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2008, 133(4): 492-500.

(收稿日期: 2021-02-05; 修回日期: 2021-07-08)

stability was investigated. **Results** DSC confirmed that the crystal melting peak of puerarin in PUE – COS CM disappeared completely, and there was a single glass transition temperature (95.7 °C). XRPD confirmed that there was no crystal diffraction peak of puerarin in PUE – COS CM. FTIR confirmed that there was a potential intermolecular hydrogen bond interaction between PUE and COS in PUE – COS CM. SEM confirmed that PUE – COS CM was irregular, lumpy and granular, without the surface characteristics of PUE active pharmaceutical ingredients (API) and COS. Under the sink and non – sink conditions, compared with PUE API, PUE – COS CM had a higher cumulative dissolution rate and dissolution mass concentration of PUE, and its supersaturation state could be maintained for a long time. PUE – COS CM had good physical and chemical stability after being stored at 40 °C for six months. **Conclusion** The preparation of PUE – COS CM can effectively improve the dissolution of PUE *in vitro* and the stability of CM drugs.

Key words: puerarin; chitosan oligosaccharide; co – amorphous; *in vitro* dissolution; stability

葛根素是中药葛根中提取的主要有效成分,是一种异黄酮类化合物,临床应用广泛,主要用于治疗心绞痛、高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病等疾病^[1-2]。但其水溶性差,口服生物利用度低,临床应用受到限制^[3-5]。无定型技术通过破坏药物晶格,可有效改善难溶性药物的溶解度/溶出度。无定型固体分散体(ASD)技术通过添加载体来提高无定型药物的物理稳定性^[6-7],载体包括高分子聚合物类和表面活性剂类,但其较强的引湿性均导致物理稳定性差,此外还有与药物混溶性差、胃肠道副作用等问题,且用量较大导致药物服用量大。共无定型技术具有更高的物理稳定性和更好的溶出表现,已成为ASD的替代技术。与单一无定型药物相比,共无定型药物除物理稳定性好外,当配体为活性成分时,还可产生协同治疗、较少副作用等联合治疗效果。壳寡糖也称几丁寡糖,是壳聚糖的水解产物,天然环保,相对分子质量小,水溶性良好,黏度低^[8],还具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗肿瘤等多种药理活性^[9-12]。壳寡糖作为一种生物利用度增强剂,可打开细胞间的紧密连接,提高药物的肠道吸收,增强药物的生物利用度^[11-12]。本研究中选择壳寡糖为共无定型的新型药物配体,与葛根素共同制备葛根素 – 壳寡糖共无定型(PUE – COS CM),采用多种固态表征方法进行分析,并评价其在漏槽和非漏槽2种条件下的体外溶出表现。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);Bromanyl C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);SPEX 6770型冷冻研磨机(美国SPEX公司);CPA 225D型电子分析天平(南京以马内利仪器设备有限公司,精度为十万分之一);Q2000型示差扫描量热仪(美国TA公司);D/max 2500型X – 射线粉末衍射仪(日本Rigaku公司);SNE – 4500型扫描电镜仪(日本Hitachi公司);Bruker – TENSOR37型红外光谱仪(德国Bruker Optics公司);HY68/RCY – 1型智能溶出试验仪(北京中西远大科技有限公司);LHH – 350CFS型综合药品稳定试验箱(上海凯朗仪器

设备厂);Milli – Q型超纯水系统(美国Millipore公司);KH – 500DE型数控超声清洗仪(昆山超声仪器有限公司,功率为250 W,频率为40 kHz);MX – F型涡旋仪(大龙兴创实验仪器股份<北京>有限公司)。

1.2 试药

葛根素原料药(上海泰坦科技股份有限公司,批号为5214C,纯度大于98%);壳寡糖(浙江金壳药业有限公司,批号为M – KG – 1708001,相对分子质量1 000,脱乙酰度大于90%);甲醇(色谱纯,美国Tedia有限公司);氢氧化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);葛根素对照品(批号为P111269,纯度大于98%),磷酸二氢钾(分析纯),均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 样品制备

PUE – COS CM:将总质量为1 g的葛根素与壳寡糖[质量比1:1(m/m)]混匀,采用低温研磨法制备PUE – COS CM。置充满液氮的低温室,以10 Hz的频率研磨5 min,冷却2 min,按此步骤循环,低温研磨30 min。样品置真空干燥箱中干燥24 h,保存于干燥器中,备用。同法制备低温研磨葛根素。

葛根素 – 壳寡糖物理混合物(PUE – COS PM):取总质量为1 g的葛根素与壳寡糖混合物[质量比1:1(m/m)],置50 mL离心管中,置涡旋仪上涡旋40 min,使葛根素和壳寡糖充分混匀,即得PUE – COS PM,保存于干燥器中,备用。

2.2 高效液相色谱法测定含量

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Bromanyl C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇 – 水溶液(51:49, V/V);流速:1 mL/min;柱温:30 °C;检测波长:250 nm;进样量:10 μL。

2.2.2 方法学考察

线性关系考察:取葛根素对照品4.825 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声(功率为250 W,频率为40 kHz)使溶解,定容,振荡摇匀,配制成质量浓度为482.5 μg/mL的对照品贮备液。精密吸取500 μL,

稀释成质量浓度分别为 1.88, 3.80, 7.54, 15.08, 30.16, 60.31, 120.63, 241.25, 482.50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。分别以葛根素质量浓度($X, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 40\,524 X - 3\,145.8$ ($R^2 = 0.999\,9, n = 9$)。结果表明,葛根素质量浓度在 1.88 ~ 482.50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:吸取线性关系考察项下质量浓度分别为 3.80, 60.31, 241.25 $\mu\text{g/mL}$ 的葛根素对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果葛根素峰面积的 RSD 分别为 2.53%, 0.98%, 1.14% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 PUE - COS CM 适量,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇超声(功率为 250 W,频率为 40 kHz)使溶解,振荡摇匀,定容,即得葛根素质量浓度为 62.16 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按拟订色谱条件进样测定。结果葛根素峰面积的 RSD 为 1.87% ($n = 6$),表明 PUE - COS CM 溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:按稳定性试验项下方法平行制备 6 份 PUE - COS CM 供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果葛根素含量的 RSD 为 1.76% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取 6 份已知含量的 PUE - COS CM 适量,精密称定,分别加入等量葛根素对照品,按稳定性试验项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果 PUE - COS CM 中葛根素的平均加样回收率为 96.05%, RSD 为 2.68% ($n = 6$)。

2.3 PUE - COS CM 表征分析

差示扫描量热法:分别取葛根素原料药、壳寡糖、PUE - COS PM、低温研磨葛根素、PUE - COS CM 各适量(5 ~ 10 mg),置铝坩埚中,置 Q2000 型示差扫描量热

仪中分析,测定条件为,升温速率 10 $^{\circ}\text{C/min}$,升温范围 50 ~ 250 $^{\circ}\text{C}$,氮气流速 50 mL/min 。结果见图 1 A。可见,葛根素原料药在 75.4 ~ 157.8 $^{\circ}\text{C}$ 间存在明显失水峰,在 191.4 ~ 219.2 $^{\circ}\text{C}$ 间有一尖锐吸热峰,该吸热峰为葛根素原料药的晶体熔化峰(图 1 a 波);壳寡糖在 50.0 ~ 145.8 $^{\circ}\text{C}$ 间存在明显失水峰,在 215.2 ~ 234.5 $^{\circ}\text{C}$ 间存在明显吸热峰,该吸热峰由壳寡糖发生降解所致(图 1 b 波);PUE - COS PM 在 191.4 ~ 234.5 $^{\circ}\text{C}$ 间存在吸热峰,该峰由葛根素原料药晶体熔化峰与壳寡糖降解峰叠加所致(图 1 c 波);低温研磨葛根素在 191.4 ~ 219.2 $^{\circ}\text{C}$ 间存在葛根素原料药的晶体熔化峰,表明通过低温研磨不能使葛根素原料药晶体完全转变成无定型状态(图 1 d 波);PUE - COS CM 中葛根素的晶体熔化峰完全消失,并存在单一的玻璃化转变温度(95.7 $^{\circ}\text{C}$),表明通过低温研磨成功制备为共无定型系统(图 1 e 波)。

X 射线粉末衍射法:分别取葛根素原料药、壳寡糖、PUE - COS PM、低温研磨葛根素、PUE - COS CM 各适量,平铺于载玻片上,置 D/max 2500 型 X - 射线粉末衍射仪分析,测定条件为, Cu 靶(40 kV, 40 mA),扫描范围 3 $^{\circ}$ ~ 40 $^{\circ}$ (2 θ),扫描速率 2 $^{\circ}/\text{min}$,步长 0.02 $^{\circ}$ 。结果见图 1 B。可见,葛根素原料药在 6.5 $^{\circ}$, 7.9 $^{\circ}$, 8.7 $^{\circ}$, 11.5 $^{\circ}$, 13.8 $^{\circ}$, 15.9 $^{\circ}$, 16.8 $^{\circ}$, 18.1 $^{\circ}$, 18.9 $^{\circ}$, 19.6 $^{\circ}$, 21.0 $^{\circ}$, 23.4 $^{\circ}$, 26.2 $^{\circ}$ 等处有较强的晶体衍射峰(图 1 f 波);壳寡糖在 3 $^{\circ}$ ~ 40 $^{\circ}$ 范围内无晶体衍射峰,表明壳寡糖以无定型形式存在(图 1 g 波);在 PUE - COS PM 中,葛根素原料药的晶体衍射峰仍然存在(图 1 h 波);低温研磨葛根素中,葛根素原料药的晶体衍射峰显著减弱,部分衍射峰消失,但仍存在部分晶体衍射峰,表明低温研磨仅能在一定程度上破坏葛根素原料药的晶格,不能完全使其晶体转变为无定型状态(图 1 i 波);PUE - COS CM 中,葛根素原料药的晶体衍射峰全部消失,表明成功制备了 PUE - COS CM(图 1 j 波)。

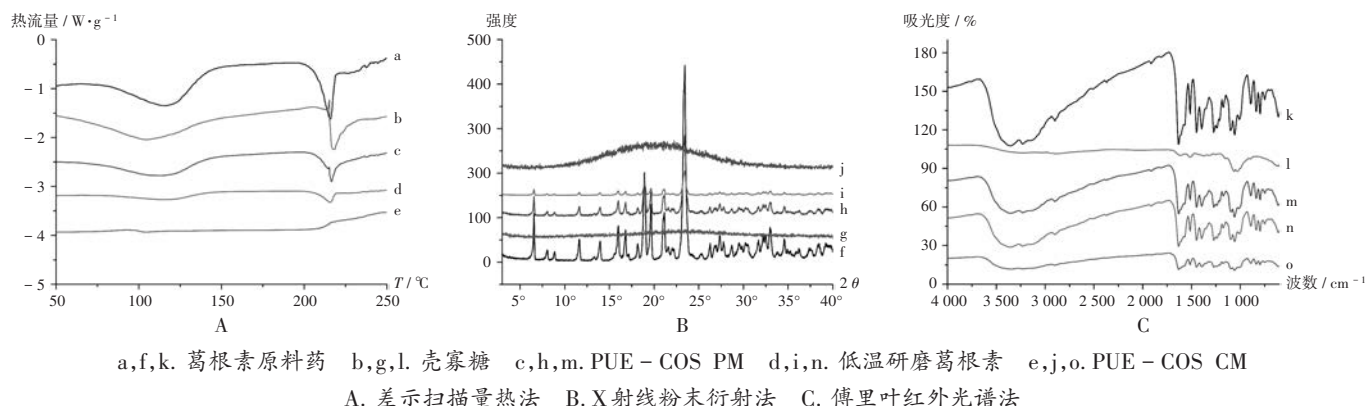


图1 表征分析图

a, f, k. PUE API b, g, l. COS c, h, m. PUE - COS PM d, i, n. PUE ground by the cryomilling method e, j, o. PUE - COS CM
A. DSC B. XRPD C. FTIR

Fig. 1 Phenograms of characterization analysis

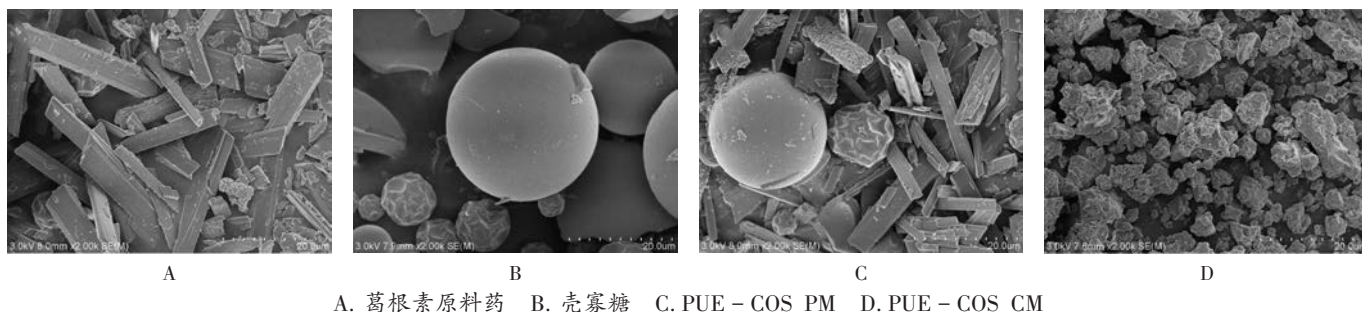


图2 扫描电镜图

A. PUE API B. COS C. PUE - COS PM D. PUE - COS CM

Fig. 2 SEM images

傅里叶红外光谱法:分别取葛根素原料药、壳寡糖、PUE - COS PM、低温研磨葛根素、PUE - COS CM各适量,采用Bruker - TENSOR37型红外光谱仪分析,测定条件为,扫描波数范围 $4\,000\sim600\text{ cm}^{-1}$,分辨率 2 cm^{-1} 。结果见图1 C。可见,葛根素原料药的主要特征吸收峰为于 $3\,379\text{ cm}^{-1}$ 波数处存在-OH的伸缩振动,在 $1\,628\text{ cm}^{-1}$ 波数处存在C=O的伸缩振动(图1 k波);壳寡糖的主要特征吸收峰为在 $1\,608\text{ cm}^{-1}$ 波数处存在酰胺 I 的C=O伸缩振动(图1 l波);PUE - COS PM中,葛根素和壳寡糖的主要特征吸收峰仍然存在(图1 m波),表明在物理混合物中,葛根素和壳寡糖间未发生相互作用;与葛根素原料药相比,低温研磨葛根素的红外吸收峰未发生明显变化(图1 n波);PUE - COS CM中,葛根素于 $3\,379\text{ cm}^{-1}$ 波数处的-OH特征峰消失,壳寡糖在 $1\,608\text{ cm}^{-1}$ 波数处的C=O伸缩振动明显减弱,表明葛根素与壳寡糖间发生了潜在的分子间氢键相互作用(图1 o波)。

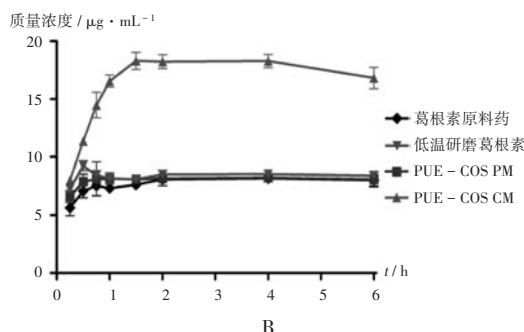
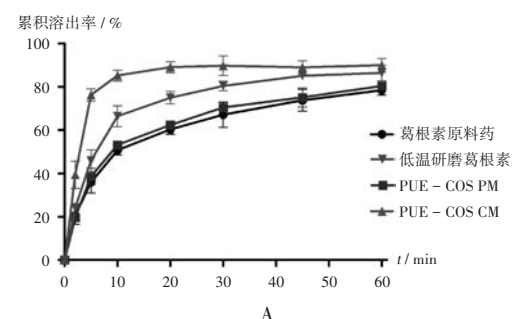
扫描电镜分析:分别取葛根素原料药、壳寡糖、PUE - COS PM、PUE - COS CM各适量,均匀撒于贴有导电胶带的样品座上,喷金5 min,用镊子取出,置SNE - 4500型扫描电镜仪,采用3 000 V的加速电压扫描其表面,并拍照。结果见图2。可见,葛根素原料药具有明显的长片状特征,形状规则(图2 A);壳寡糖为大小不一的规则球形(图2 B);PUE - COS PM中,葛根素原料药的长片状特征和壳寡糖的球形特征仍然存在(图2 C);PUE - COS CM呈颗粒状、不规则块状,且粒径减小,葛根素原料药的长片状特征和壳寡糖的球形特征均完全消失(图2 D)。

2.4 体外溶出试验

漏槽条件下:取葛根素原料药、PUE - COS PM、低温研磨葛根素、PUE - COS CM(相当于6 mg葛根素原料药)各适量,精密称定,按2015年版《中国药典(四部)》附录XC溶出度测定法进行体外溶出试验,溶出介质为磷酸盐缓冲液(pH 6.8),介质体积为900 mL,温度

为 $(37\pm0.5)^{\circ}\text{C}$,转速为50 r/min,分别于2, 5, 10, 20, 30, 45, 60 min时取样3 mL,并随即补足等温度、等量的溶出介质,经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,按2.2.1项下色谱条件进样测定3次,计算各时间点的葛根素累积溶出率。体外溶出曲线见图3 A。可见,在漏槽条件下,葛根素原料药与PUE - COS PM溶出曲线相似;与葛根素原料药相比,低温研磨葛根素的累积溶出率稍提高,主要是由于低温研磨后,葛根素原料药粒径减小,其与溶出介质的接触表面积增大;与葛根素原料药相比,PUE - COS CM的累积溶出率显著提高。5 min时,PUE - COS CM中葛根素的累积溶出率为76.25%,而葛根素原料药仅为35.97%($P<0.01$);10 min时,PUE - COS CM中葛根素的累积溶出率为85.26%,而葛根素原料药仅为50.79%($P<0.01$)。由于PUE - COS CM自由能更高,且药物粒径减小,导致PUE - COS CM中葛根素的累积溶出率显著提高。

非漏槽条件下:取葛根素原料药、PUE - COS PM、低温研磨葛根素、PUE - COS CM(相当于30 mg葛根素原料药)各适量,精密称定,按2015年版《中国药典(四部)》附录XC溶出度测定法进行体外溶出试验,溶出介质为磷酸盐缓冲液(pH 6.8),介质体积为200 mL,温度为 $(37\pm0.5)^{\circ}\text{C}$,转速为50 r/min,分别于0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00, 4.00, 6.00 h时各取样2 mL,并随即补足等温度、等量溶出介质,经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,用甲醇稀释1倍,按2.2.1项下色谱条件进样测定3次,计算各时间点葛根素的溶出质量浓度。体外溶出曲线见图3 B。可见,在非漏槽条件下,葛根素原料药与PUE - COS PM的体外溶出曲线相似,2 h后趋于稳定;低温研磨葛根素在0.5 h时的溶出质量浓度达最大值($9.25\text{ }\mu\text{g/mL}$),然后下降并趋于平衡,这是由于低温研磨后,葛根素粒径变小,并可能存在部分无定型葛根素,导致溶出质量浓度稍高于葛根素原料药,晶型发生转变后,溶出质量浓度趋向于葛根素原料药平衡状态下的溶出水平;与葛根素原料药和PUE - COS PM比



A. 漏槽条件下 B. 非漏槽条件下

图3 葛根素体外溶出曲线

A. Under sink condition B. Under non-sink condition

Fig. 3 Dissolution profiles of PUE in vitro

较,PUE-COS CM中葛根素的体外溶出质量浓度较高,且能长时间维持过饱和状态。在1.5 h时,PUE-COS CM中葛根素的溶出质量浓度达最大值($18.31 \mu\text{g/mL}$),是葛根素原料药($7.65 \mu\text{g/mL}$)的2.39倍($P < 0.01$);在1.5~6.0 h间,PUE-COS CM中葛根素的溶出质量浓度无明显下降,维持长时间的过饱和状态。

2.5 稳定性试验

物理稳定性:将PUE-COS CM置LHH-350CFS型综合药品稳定试验箱,在40℃条件下保存6个月。通过X射线粉末衍射法分析,判断PUE-COS CM是否发生晶型转变,以评价PUE-COS CM的物理稳定性。详见图4和图5。由图4可知,PUE-COS CM在40℃条件下保存6个月均未出现葛根素的晶体特征衍射峰,表明PUE-COS CM在6个月内未发生晶型转变,物理稳定性良好。可能由于在PUE-COS CM中,葛根素与壳寡糖分子间发生了氢键相互作用。由图5可知,PUE-COS CM放置6个月的溶出趋势与放置0 d基本一致,且溶出速率良好。这是由于低温研磨不会引起药物的热降解,且葛根素与壳寡糖分子间氢键相互作用较强,导致PUE-COS CM物理稳定性良好。

化学稳定性:按2.1项下方法制备PUE-COS CM,于40℃条件下放置6个月,按2.2.1项下色谱条件进样测定3次,记录峰面积,并计算含量。结果新鲜制备的PUE-COS CM中葛根素的含量为(0.506 ± 0.005)g/g,40℃条件下放置6个月的PUE-COS CM中葛根素的含

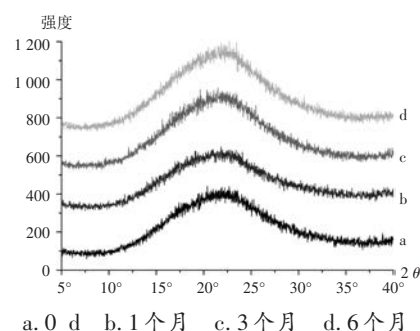


图4 PUE-COS CM 40℃条件下放置6个月的X射线

粉末衍射图

a. 0 d b. One month c. Three months d. Six months

Fig. 4 XRPD patterns of PUE-COS CM at 40℃ for six months

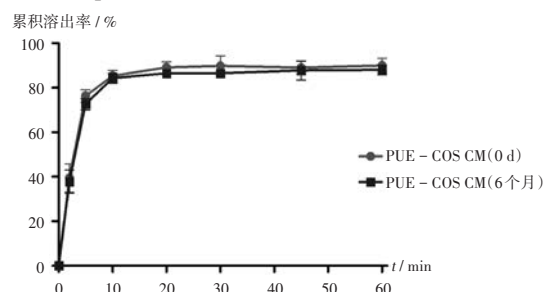


图5 PUE-COS CM 40℃条件下放置0 d和6个月的溶出曲线

Fig. 5 Dissolution profiles of PUE-COS CM at 40℃ for 0 day

and six months

量为(0.503 ± 0.008)g/g,表明PUE-COS CM在40℃条件下放置6个月的化学稳定性良好。

3 讨论

为了提高难溶性药物的溶解度/溶出度,有效方法之一为改变药物晶型,将药物由晶体状态转变为无定型状态^[13]。但无定型状态为高能态,热力学不稳定,随着时间的变化易发生重结晶,向稳定的晶型状态转变。目前,为了增加无定型药物的稳定性,通常将药物与高分子聚合物或表面活性剂等载体制备成ASD。当药物与载体混溶性较差时,为了达到药物的有效治疗剂量,一般使用大量的聚合物载体,造成服用量/体积较大。且大量聚合物易吸湿,引起药物转晶,降低ASD的稳定性。此外,使用大量高分子聚合物或表面活性剂还可能引起胃肠道毒性等问题^[14-16]。共无定型是一种新型药物递送系统,指由药物和药物或药物和小分子配体组成的二元无定型系统,可有效改善难溶性药物的溶解度/溶出度,且物理稳定性好^[17]。共无定型的小分子配体主要包括氨基酸(脯氨酸、精氨酸、苯丙氨酸等)、有机酸(柠檬酸、苹果酸、酒石酸等)等。其中,低分子量糖类(蔗糖、甘露醇、葡萄糖等)作为配体逐渐用于共无定型。壳寡糖为亲水性载体,天然环保,无毒副作用,生物相容性较好,且具有多种药理学活性,展现出作为共无定型优良配体的潜力,已被广泛用于药物制剂开发和

生物学领域,同时可作为吸收增强剂,提高难溶性药物的生物利用度。

本研究中,通过低温研磨成功将葛根素与壳寡糖制备成PUE-COS CM,方法简单易行,并采用多种表征分析技术对PUE-COS CM进行了分析。差示扫描量热和X射线粉末衍射分析结果表明成功制备了PUE-COS CM,这是由于低温研磨破坏了葛根素的晶格,导致其转变为无定型状态;傅里叶红外光谱分析发现,葛根素与壳寡糖分子间发生了潜在的氢键相互作用;扫描电镜观察发现,PUE-COS CM呈不规则块状与颗粒状,未见葛根素原料药的长片状和壳寡糖的球型特征。与葛根素原料药相比,PUE-COS CM在漏槽条件下葛根素的累积溶出速率更快,在非漏槽条件下的溶出质量浓度更高,且可长时间维持过饱和状态。这是由于PUE-COS CM中葛根素和壳寡糖发生了潜在的分子间氢键相互作用,抑制了共无定型中药物的成核和晶体生长^[17-18]。此外,在过饱和系统中,药物的浓度高于药物的平衡溶解度,会促进更多游离的药物被人体吸收,且过饱和状态时间维持越长,药物的吸收效果越好^[19]。

将葛根素原料药和壳寡糖制备成PUE-COS CM,可有效提高葛根素的体外溶出度,且可长时间维持过饱和状态,提高难溶性药物葛根素的生物利用度,且壳寡糖进一步扩大了共无定型的配体类型,为其他新型药用功能性辅料的开发和应用提供参考,也为解决其他难溶性药物的溶解度/溶出度及生物利用度问题提供新的思路。

参考文献

- [1] 雷华平,张珂榕,汪杰,等. 葛根素固体分散体制备方法的比较[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(3):354-357.
- [2] CHENG M, YUAN FY, LIU JL, et al. Fabrication of fine puerarin nanocrystals by box-behnken design to enhance intestinal absorption[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2020, 21(3):90.
- [3] 邓向涛,郝海军,贾幼智,等. 葛根素磷脂复合物及其固体分散体的药代动力学及生物利用度研究[J]. 中药材,2015, 38(9):1974-1976.
- [4] TU LX, CHENG M, SUN YB, et al. Fabrication of ultra-small nanocrystals by formation of hydrogen bonds; *In vitro* and *in vivo* evaluation[J]. Int J Pharm, 2020, 573:118730.
- [5] 张志,高雪梅,陈冰,等. 葛根素磷脂复合物的制备及表征[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2411-2413.
- [6] ANA EM, ANDREW SP, STEPHEN PB, et al. Amorphous solid dispersions containing residual crystallinity: Influence of seed properties and polymer adsorption on dissolution performance[J]. Eur J Pharm Sci, 2020, 146:105276.
- [7] ALQAHTANI F, BELTON P, WARD A, et al. An investigation into the use of low quantities of functional additives to control drug release from hot melt extruded solid dispersions for poorly soluble drug delivery[J]. Int J Pharm, 2020, 579:119172.
- [8] MOURYA VK, INAMDAR NN, CHOUDHARI YM. Chitooligosaccharides: Synthesis, characterization and applications [J]. Polym Sci Ser A, 2011, 53(7):583-612.
- [9] MUANPRASAT C, CHATSUDTHIPONG V. Chitosan oligosaccharide: Biological activities and potential therapeutic applications[J]. Pharmacol Ther, 2017, 170:80-97.
- [10] MURATA M, NAKANO K, TAHARA K, et al. Pulmonary delivery of elcatonin using surface-modified liposomes to improve systemic absorption: polyvinyl alcohol with a hydrophobic anchor and chitosan oligosaccharide as effective surface modifiers[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2012, 80(2):340-346.
- [11] ZHOU W, TAN XB, SHAN JJ, et al. Effect of chito-oligosaccharide on the intestinal absorptions of phenylethanoid glycosides in Fructus Forsythiae extract[J]. Phytomedicine, 2014, 21(12):1549-1558.
- [12] ZHOU W, SHAN JJ, TAN XB, et al. Effect of chito-oligosaccharide on the oral absorptions of phenolic acids of Flos Lonicerae extract[J]. Phytomedicine, 2014, 21(2):184-194.
- [13] LÖBMANN K, LAITINEN R, GROHGANZ H, et al. Coamorphous drug systems enhanced physical stability and dissolution rate of indomethacin and naproxen[J]. Mol Pharm, 2011, 8(5):1919-1928.
- [14] HU LD, SHI YJ, LI JH, et al. Enhancement of oral bioavailability of curcumin by a novel solid dispersion system [J]. AAPS Pharmscitech, 2015, 16(6):1327-1334.
- [15] BEYER A, GROHGANZ H, LÖBMANN K, et al. Influence of the cooling rate and the blend ratio on the physical stability of co-amorphous naproxen / indomethacin [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 109:140-148.
- [16] GNIADO K, MACFHIIONNGHAILE P, MCARDLE P, et al. The natural bile acid surfactant sodium taurocholate (NaTC) as a cofomer in coamorphous systems: Enhanced physical stability and dissolution behavior of coamorphous drug - NaTC systems[J]. Int J Pharm, 2018, 535(1/2):132-139.
- [17] WANG RN, HAN JW, JIANG A, et al. Involvement of metabolism-permeability in enhancing the oral bioavailability of curcumin in excipient-free solid dispersions co-formed with piperine[J]. Int J Pharm, 2019, 561:9-18.
- [18] HUANG R, HAN JW, WANG RN, et al. Surfactant-free solid dispersion of BCS class IV drug in an amorphous chitosan oligosaccharide matrix for concomitant dissolution *in vitro*-permeability increase[J]. Eur J Pharm Sci, 2019, 130:147-155.
- [19] BEVERNAGE J, BROUWERS J, BREWSTER ME, et al. Evaluation of gastrointestinal drug supersaturation and precipitation: strategies and issues[J]. Int J Pharm, 2013, 453(1):25-35.

(收稿日期:2021-02-04;修回日期:2021-07-20)