

基于软材物性参数的黄芪总皂苷生物黏附微丸的制备和黏附性能评价

李磊¹, 沈岚^{1,2*}, 王晓柠³, 林晓^{1,2}, 洪燕龙⁴, 冯怡²

(上海中医药大学 1. 中药学院, 2. 中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 3. 上海高校中医内科学E-研究院, 4. 上海中医健康服务协同创新中心, 上海 201203)

摘要: 生物黏附制剂是以天然或合成高分子材料为制剂载体, 口服给药后可延长在肠道内滞留时间, 具有释药速率可控、促进药物黏膜吸收等优点。本文基于软材的物性参数和黏附性能, 提出一种有别于常规筛选最优处方的黏附处方筛选方法, 并以该法为指导, 采用挤出滚圆法制备黄芪总皂苷生物黏附微丸; 基于小动物活体成像技术和建立的猪胃黏蛋白模型, 对黏附微丸进行体内和体外黏附性能评价。通过对软材的物性参数与黏附微丸的成型性和黏附性的研究, 确定了5种物性参数: 硬度(Ha)、黏附性(Ad)、弹性(Sp)、内聚性(Co)和咀嚼性(Ch), 作为筛选最优处方的考察指标; 基于主成分分析统计学方法, 建立综合评价模型对拟定的黏附处方进行综合排名, 得出最优的处方: 微晶纤维素:(壳聚糖:卡波姆940=2:1), 其中黏附材料用量占辅料用量20%, 药辅比为1:4。所有动物实验获得上海中医药大学伦理学委员会批准。体内和体外黏附性能评价结果表明, 与黄芪总皂苷普通微丸相比, 生物黏附微丸具有明显肠道滞留优势, 证实了基于软材物性参数建立的黏附处方筛选方法是科学、可靠的。

关键词: 黄芪总皂苷; 生物黏附微丸; 软材; 物性参数; 猪胃黏蛋白; 黏附性

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)11-2093-07

Bioadhesive pellets of astragalosides: preparation and adhesive evaluation based on the physical properties of wet mass

LI Lei¹, SHEN Lan^{1,2*}, WANG Xiao-ning³, LIN Xiao^{1,2}, HONG Yan-long⁴, FENG Yi²

(1. School of Pharmacy, 2. Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine of Ministry of Education, 3. E-institute of Chinese Traditional Internal Medicine, 4. Shanghai Innovation Center of Traditional Chinese Medicine Health Service, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Bioadhesive preparation can be attached to specific sites to control drug release rate, increase drug concentration and increase efficacy, which is based on natural or synthetic polymer material. In this paper, based on the physical properties of wet mass, a method for screening adhesion formulation was proposed, which was different from conventional way of screening optimal formulation, and astragalosides loaded bioadhesive pellets were prepared by extrusion-spheronization method (extrusion speed 30 r·min⁻¹, spheronization speed 808 r·min⁻¹, spheronization time 7.5 min) based on this formulation screening method, small living animal imaging technology and mucin from porcine stomach model were used to evaluate the *in vivo* and *in vitro* adhesiveness behaviour of the pellets. According to the relationship between the physical properties of wet mass and the formability and adhesiveness of bioadhesive pellets, five key physical properties hardness (Ha), adhesiveness (Ad), springiness (Sp), cohesiveness (Co), chewiness (Ch) were selected as the index of screening optimal formulation, therefore a comprehensive evaluation model was established, which based on principal component analysis, to did digital ranking for these proposed adhesion formulation, the optimal formulation was determined: microcrystalline cellulose:

收稿日期: 2019-07-26; 修回日期: 2019-08-20.

基金项目: 上海市中医药事业发展三年行动计划 (ZY3-CCCX-3-5001).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-51323030, E-mail: alansusu@sina.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0604

(chitosan: Carbomer 940 = 2:1), the adhesive material dosage accounted for 20% of the excipient dosage, and the ratio of drugs to excipients was 1:4. All animal experiments have been approved by Ethics Committee of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine. The *in vivo* and *in vitro* adhesive evaluation results showed the pellets had a clear advantage in intestinal adhesion over normal pellets, its also proved the scientificity and reliability of the method of screening bioadhesive formulation.

Key words: astragalosides; bioadhesive pellet; wet mass; physical property; mucin from porcine stomach; adhesiveness

中药黄芪 (*Radix Astragali*) 为豆科植物黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge. 或蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* Bge. Hsiao 的干燥根, 是一味补中益气、益卫固表的要药, 具有增强免疫力、抗衰老、治疗高血压等功效^[1-3]。近年报道黄芪中有效部位黄芪总皂苷及其有效成分黄芪甲苷具有显著抗肝纤维化的作用。值得注意的是, 由于黄芪总皂苷较高的相对分子质量和低水溶性, 使其在胃肠道内膜通透性较差, 导致口服给药后吸收很不理想, 生物利用度低^[4-6]。黏附给药系统已广泛用于口腔黏膜、鼻腔黏膜及胃肠道黏膜等给药方式中, 其中口服给药为最主要的给药途径^[7-9]。生物黏附微丸作为最常见的一种黏附给药系统, 借助天然的或人工合成高分子黏附材料, 其口服给药后通过延长药物在肠道中的滞留时间和提高药物的膜通透能力, 从而提高药物生物利用度^[10,11]。

挤出滚圆法是制备微丸常用方法之一, 软材的制备是第一步也是至关重要的一步^[12]。本课题组前期研究表明, 微丸的成型性与软材的5种物性参数有明显关联, 按影响大小顺序依次为咀嚼性 (chewiness, Ch)、内聚性 (cohesiveness, Co)、硬度 (hardness, Ha)、弹性 (springiness, Sp) 和黏附性 (adhesiveness, Ad)^[13]。目前, 软材的好坏仍依靠经验以“手握成团, 轻搓即散”来评判, 未见考虑软材的物性参数与微丸质量之间的关系。常规处方筛选方法的指标主要以微丸的得率来评定处方优劣, 评价方式过于简单笼统, 这极大地影响了软材的质量及后续所制备的微丸的质量^[14,15]。本文从软材的物性参数角度出发, 在探寻生物黏附微丸黏附性能与软材物性参数内在关系的基础上, 筛选出对生物黏附微丸成型和黏附具有显著影响的关键物性参数, 并以此作为生物黏附微丸处方筛选的关键指标; 采用多元线性回归分析和主成分分析的统计学方法, 筛选出最优的黄芪总皂苷生物黏附微丸处方; 采用挤出滚圆法制备出黄芪总皂苷生物黏附微丸。基于小动物活体成像技术和猪胃黏蛋白模型对其进行体内和体外黏附特性评价, 旨在为提高黄芪总皂苷生物利用度提供一种可靠剂型选择, 提供一种有别于常规筛选最

优黏附处方的筛选方法。

材料与方法

主要仪器 物性测定仪 (TA.XT, 英国 SMS 公司); 紫外分光光度计 (UV-1800, 日本岛津公司); 挤出滚圆机 (E50-S250, 重庆英格造粒包衣技术有限公司); 小动物活体成像仪 (Lumina XR, 美国 Perkin Elmer 公司)。

试剂 黄芪总皂苷: 自制, 批号: 190103, 纯度: 以黄芪甲苷计为 51.65%; Cy7.5-N-羟基琥珀酰亚胺酯 (美国 Lumiprobe 公司); 猪胃黏蛋白 (美国 Sigma 公司); 微晶纤维素 (MCC)、羟丙基甲基纤维素 (HPMC) (安徽山河药用辅料股份有限公司); 壳聚糖 (CS, 浙江金壳药业有限公司); 卡波姆 940 (CP 940, 陕西正一药用辅料有限公司); 其余试剂均为分析纯。

动物 雄性 C57BL/6 小鼠 (6 周龄, 体重 16~20 g) 购自北京市维通利华实验动物技术有限公司 [清洁级, 合格证号: SCXK (沪) 2017-0011], 饲养于上海中医药大学动物实验中心。所有动物实验获得上海中医药大学伦理学委员会批准。

黄芪总皂苷普通微丸的制备 分别取黄芪总皂苷原料药与 MCC (药辅比为 1:4) 按等量递增法混合, 过筛, 加润湿剂不断捏合制备成软材。将软材置于单轴向螺杆挤出机中挤出 (筛网孔径为 0.6 mm, 挤出速度为 60 r·min⁻¹), 得到挤出物并置于滚圆机中, 滚圆速度为 1 500 r·min⁻¹, 滚圆时间为 3 min, 得到微丸置于鼓风烘箱中, 60 °C 下干燥 3 h, 即得黄芪总皂苷普通微丸。

黄芪总皂苷生物黏附微丸的制备 分别取黄芪总皂苷原料药、MCC、CS 和 CP 940 等按等量递增法混合, 过筛, 加润湿剂不断捏合制备成软材。将软材置于单轴向螺杆挤出机中挤出 (筛网孔径为 0.6 mm, 挤出速度为 30 r·min⁻¹), 得到挤出物并置于滚圆机中, 滚圆速度为 808 r·min⁻¹, 滚圆时间为 7.5 min, 得到微丸置于鼓风烘箱中, 60 °C 下干燥 3 h, 即得黄芪总皂苷生物黏附微丸。

微丸质量的评价

得率 称定软材 m_1 (折合成制剂原料、辅料质量 m_0), 取烘干后微丸过 24~60 目筛 (0.3~0.8 mm), 称定

过24目不过60目筛的微丸质量(m_2), 计算收率(Y)。

$$m_0 = m_1 / (1 + \text{润湿剂量}) \quad (1)$$

$$Y = m_2 / m_0 \quad (2)$$

圆整度 称取筛分后的微丸样品约1 g, 均匀铺于长为10 cm的光面玻璃板一端, 并缓缓抬起玻璃板另一端, 直到所有微丸样品开始滚动时, 测定玻璃抬起高度(h , cm), 则由反正弦求算倾斜平面与水平面所形成的夹角(θ)即平面临界角, 表征微丸的圆整度, θ 越小表明微丸的圆整度越好。

脆碎度 称取过筛后的微丸样品10 g, 置于片剂脆碎度测试仪中, 以25 r·min⁻¹转速将经脆碎度测试后的微丸样品过60目筛, 并称量通过60目筛的微丸及细粉的质量(w_1), 计算脆碎度(Fri)。

$$\text{Fri} = w_1 / 10 \quad (3)$$

软材的物性参数测定方法 将物性测试仪用于表征制剂软材的物理性质, 对挤出滚圆法制备微丸过程中软材的物理性质进行了多参数表征。采用A/B E型探头、TPA程序对软材进行反挤压测试, 同时测定软材的硬度、黏附性、弹性、内聚性、咀嚼性和回复性。

以各个不同处方制得的软材作为样品, 每次称取样品30 g置于样品杯中, 由于软材的多样性, 样品杯中软材的初始状态将对实验结果产生很大的影响。因此, 设置预压程序(go to force程序), 以保证不同软材的预试状态的一致性。预压程序参数设置如下: 测试前速度: 2 mm·s⁻¹, 测试速度: 5 mm·s⁻¹, 测试后速度: 5 mm·s⁻¹, 目标力: 1 500 ×g, 时间: 5.0 s, 触发力: 5 ×g, 然后执行TPA程序进行物性测定, 实验平行3次求得平均值。TPA实验参数: 测试前速度: 2 mm·s⁻¹, 测试速度: 5 mm·s⁻¹, 测试后速度: 5 mm·s⁻¹, 下压程度20%, 时间: 5.0 s, 触发力: 1 500 ×g; TPA测试曲线见图1。TPA曲线中各参数的定义为: F1表示第一次压缩时达到力的最大峰值; F2表示第二次压缩时达到力的最大峰值; Area 1表示第一次压缩所做正功; Area 2表示第二次压缩所做正功; Area 3表示第一次压缩曲线达到力量零点时再到第二次压缩曲线开始之间的曲线负面积; Area 4表示第一次压缩循环过程中探头的压缩耗能; Area 5表示第一次压缩循环过程中样品所释放的弹性性能; Length 1表示第一次的压缩变形量; Length 2表示第二次压缩中所测到的样品恢复高度; Ha即F1, Ad即Area 3, Co即Area 2/Area 1, 回复性(resilience, Re)即Area 5/Area 4, Sp即Length 2/Length 1, Ch即Ha×Co×Sp。

基于猪胃黏蛋白模型的软材体外黏附性能测定方法 利用不同黏附处方制得的软材或微丸与猪胃黏蛋白之间的结合能力的差异, 来衡量其体外黏附性能的

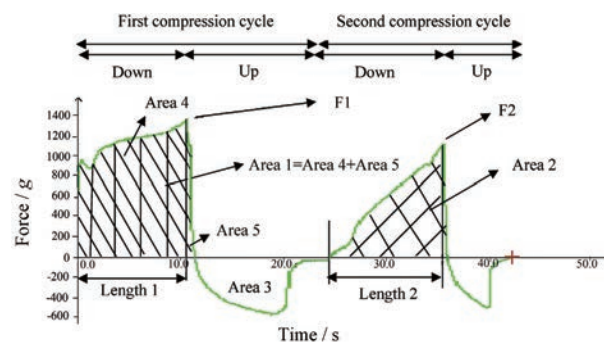


Figure 1 Typical TPA curve of back extrusion probe A/B E

强弱。通过测定添加不同对象前后猪胃黏蛋白溶液紫外吸光度(A)的变化值来测定。

精密称取猪胃黏蛋白15 mg, 分别另取适量软材、普通微丸(仅以MCC为辅料制备的微丸)和生物黏附微丸置于50 mL锥形瓶中, 加入pH 6.8磷酸盐缓冲液(PBS)50 mL, 摇匀, 于(37 ± 0.5) °C恒温水浴振荡30 min, 以5 000 r·min⁻¹离心10 min, 取上清液, 于258 nm波长处测定猪胃黏蛋白溶液的 A 值。所有实验平行3次。

猪胃黏蛋白含量测定方法的建立

方法专属性考察 按上述实验方法操作, 将猪胃黏蛋白和空白辅料分别溶于pH 6.8 PBS, 摇匀过滤, 在200~800 nm进行紫外扫描。

线性范围 精密称取猪胃黏蛋白适量, 置于25 mL量瓶中, 加入pH 6.8 PBS超声溶解30 min, 定容至刻度, 摇匀, 即得对照品储备液(1.006 mg·mL⁻¹)。分别精密吸取对照品储备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0和6.0 mL于10 mL量瓶中, 以pH 6.8 PBS稀释至刻度, 摇匀。取以上不同浓度的对照品, 测定其在258 nm处 A 值。

精密度 以质量浓度为0.300 6 mg·mL⁻¹猪胃黏蛋白溶液连续测定6次, 测定其在258 nm处 A 值。

稳定性 以同一黏附处方软材, 按上述实验方法操作, 于(37 ± 0.5) °C放置0、2、4、6、8、10和12 h, 定点取样, 测定其在258 nm处 A 值。

加样回收率 取同一黏附处方软材, 精密称取9份, 按上述实验方法操作, 分别按已知猪胃黏蛋白含量的50%、100%和150%加入猪胃黏蛋白, 制备低、中、高3个不同浓度的溶液, 每个浓度平行制备3份。

基于小动物活体成像技术的软材体内黏附性能评价 取C57BL/6小鼠12只, 实验前禁食12 h, 第1天剃去腹部毛发, 随机分为两组。第2天分别给予20粒黄芪总皂苷普通微丸和黄芪总皂苷生物黏附微丸(均与60 μg Cy7.5荧光染料混合制备), 采用自制微丸灌胃装置, 保证微丸以完整剂型到达小鼠体内, 于给药后0.5、

1、2、4、6、8和12 h,将小鼠放入小动物活体成像仪中观察微丸在体内的分布情况。

统计学分析 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。数据多组间比较采用方差分析 (one-way ANOVA) 进行统计分析; 两两比较采用 *t* 检验, 当 $P < 0.05$ 说明具有显著性差异; 数据标准化处理采用 Z 标准化方法。

结果

1 生物黏附微丸的黏附性能与软材的物性参数间的关系

1.1 基于猪胃黏蛋白模型的软材体外黏附性能测定方法学考察 通过对比猪胃黏蛋白和空白辅料在 200~800 nm 扫描结果, 发现猪胃黏蛋白在 258 nm 处有最大吸收峰, 而辅料则无此干扰。以猪胃黏蛋白溶液的浓度 (X) 为横坐标, 对应的 A 值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程: $A = 2.4761X - 0.0016$, $r^2 = 0.9999$, 表明猪胃黏蛋白在 $0.1006 \sim 0.6006 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内与 A 值线性关系良好。以质量浓度为 $0.3006 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的猪胃黏蛋白溶液连续进样 6 次, RSD 值为 0.27%; 样品溶液于 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 放置 0、2、4、6、8、10 和 12 h, 定点取样测定, RSD 值为 2.16%; 低、中、高 3 个浓度的方法回收率分别为 99.84%、98.92% 和 99.40%。结果表明, 该方法的准确度、精密度和重复性等均符合要求, 可用于后续实验测定。

1.2 生物黏附微丸的黏附性能与软材的物性参数间的关系 以黄芪总皂苷为原料药, MCC 作为赋形剂, 选取 CS、CP 940 和 HPMC 作为黏附材料, 药辅比为 1:4。根据黏附材料占辅料的用量 (20%、40%、60%、80%), 拟定了 56 种黏附处方制成软材作为研究对象, 依次进行软材的物性参数表征和体外黏附性能测定。以软材的物性参数 (Ha、Ad、Sp、Co、Ch、Re) 分别设为自变量 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 , 以 ΔA 值为因变量 Y , 进行多元线性回归分析。由结果可知, X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 与 ΔA 值关联度低, 对 ΔA 值没有影响; 逐步回归方程为: $Y = 0.306 + 0.002X_2 - 1.16 \times 10^{-5}X_1$ 。根据方差分析, $F = 11.038$, $P = 0.000$ 。回归方程具有统计学意义。从 *t* 检验回归系数可以看出, 变量 $P < 0.05$ 具有统计学意义, 从标准化回归系数可以看出, 对 Y 的影响顺序为: $X_2 > X_1$ 。因此, 影响生物黏附微丸黏附性的物性参数主要是 Ad 和 Ha。结合本课题组前期对软材的物性参数与微丸的成型性之间研究结果, 软材物性参数 Ch、Co、Ha、Sp、Ad 与微丸成型具有显著影响, 故制备既有良好成型性、又有较佳黏附性能的生物黏附微丸需针对这些关键物性参数 Ha、Ad、Sp、Co、Ch 进行综合考量。

2 黄芪总皂苷生物黏附微丸最优黏附处方的确定

上述研究发现, 当软材中黏附材料占辅料用量达 40% 及以下时, 制备的微丸质量较佳。故进一步从中选取黏附材料用量不超过 40% 的黏附处方 21 个为研究对象, 测定其对应的物性参数 Ha (X_1)、Ad (X_2)、Sp (X_3)、Co (X_4) 和 Ch (X_5)。

基于主成分分析法建立第一主成分模型 $F_1 = -0.0875X_1 - 0.0992X_2 + 0.2952X_3 + 0.2928X_4 + 0.3260X_5$, 第二主成分模型 $F_2 = 0.4279X_1 + 0.4570X_2 - 0.1277X_3 + 0.0881X_4 + 0.01902X_5$ 和综合主成分模型 $F = 0.1073X_1 + 0.1178X_2 + 0.1352X_3 + 0.2155X_4 + 0.2100X_5$, 对以上处方综合评分排序, 主成分分析结果如表 1 和表 2 所示。结果表明, 提取两个主成分 (82.33%) 基本可以反映所有指标的信息, 因此, 可用 2 个新变量 (F_1 、 F_2) 代替原来的 5 个变量 (Ha、Ad、Sp、Co、Ch)。以主成分矩阵中各物性参数得出的数据除以相对应的特征值的平方根, 得到第一/第二主成分模型对应的系数, 以各主成分对应的特征值占总特征值的比例作为权重系数, 在此基础上建立综合主成分模型。物性参数由 SPSS 标准化处理后输出的名称对应为: Ad、Sp、Co 和 Ch。确定了含 20% 黏附材料的 MCC: (CS: Cp 940 = 2: 1) 为最佳黏附处方。排序结果和模型方程如表 3 所示。

Table 1 The results of total variance explained of the alternative formulations

Component	Initial eigenvalue		
	Total	Percentage of variance/%	Cumulative/%
1	2.10615	52.12	52.12
2	1.41013	30.20	82.33
3	0.58749	11.75	93.08
4	0.52461	6.49	99.57
5	0.37162	0.43	100.00

Table 2 The results of component matrix of the alternative formulations. Ha: Hardness; Ad: Adhesiveness; Sp: Springiness; Co: Cohesiveness; Ch: Chewiness

Physical property	Component	
	1	2
Ha	0.27905	0.63093
Ad	-0.30528	0.64388
Sp	0.54519	-0.32942
Co	0.52323	0.15555
Ch	0.50788	0.23374

3 黄芪总皂苷生物黏附微丸的质量评价

依据上述确定的最优黏附处方, 采用挤出滚圆法制备棕黄色圆球形的黄芪总皂苷生物黏附微丸, 如图 2 所示, 粒径为 $521.02 \pm 6.64 \mu\text{m}$, 并对制得的微丸得率、圆整度和脆碎度进行测定, 结果为得率 45.88%、圆整度 23.17° 和脆碎度 0.86%。

Table 3 First/second composite principal component value of the alternative formulations. MCC: Microcrystalline cellulose; CS: Chitosan; CP 940: Carbomer 940; HPMC: Hydroxypropyl methylcellulose

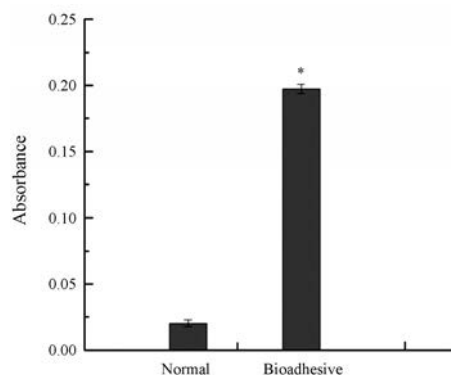
Formulation type		First principal component (F_1)	Ranking	Second principal component (F_2)	Ranking	Composite principal component (F)	Ranking
Constitute	Proportion of adhesive material/%						
MCC:(CS:CP 940=2:1)	20	0.978 1	1	0.832 0	4	0.923 0	1
MCC:(CS:CP 940=3:1)	20	0.182 4	8	0.841 2	3	0.431 4	2
MCC:(HPMC:CS:CP 940=1:1:1)	40	0.656 9	3	-0.102 3	13	0.369 9	3
MCC:(CS:CP 940=1:1)	30	-0.006 2	10	0.310 6	8	0.113 5	4
MCC:(CS:CP 940=2:1)	30	0.647 6	4	-0.786 9	17	0.105 4	5
MCC:(CS:CP 940=1:1)	20	-0.662 2	18	1.327 5	1	0.089 9	6
MCC:(HPMC:CS:CP 940=1:1:1)	30	0.034 7	9	0.160 6	10	0.082 2	7
MCC:(CS:HPMC=2:1)	40	-0.314 7	16	0.695 0	6	0.066 9	8
MCC:(CS:CP 940=3:1)	40	0.487 5	6	-0.656 2	16	0.055 2	9
MCC:(CS:CP 940=1:1)	40	0.235 0	7	-0.364 4	14	0.008 5	10
MCC:(CS:HPMC=1:1)	40	-0.175 9	14	0.207 0	9	-0.031 2	11
MCC:(HPMC:CS:CP 940=1:1:1)	20	-0.039 4	12	-0.020 5	12	-0.032 3	12
MCC:(CS:CP940=3:1)	30	0.581 0	5	-1.046 2	19	-0.034 0	13
MCC:(CS:HPMC=3:1)	40	-0.699 0	19	0.713 9	5	-0.165 0	14
MCC:(CS:HPMC=3:1)	20	-0.048 6	13	-0.488 9	15	-0.215 1	15
MCC:(CS:HPMC=3:1)	30	-0.362 7	17	0.006 8	11	-0.223 1	16
MCC:(CS:CP 940=2:1)	40	0.837 7	2	-2.036 8	20	-0.248 6	17
MCC:(CS:HPMC=1:1)	20	-0.280 1	15	-0.315 0	21	-0.293 4	18
MCC:(CS:HPMC=2:1)	20	-0.017 7	11	-0.802 3	18	-0.314 3	19
MCC:(CS:HPMC=2:1)	30	-0.869 4	20	0.583 2	7	-0.320 4	20
MCC:(CS:HPMC=1:1)	30	-1.164 9	21	0.941 8	2	-0.368 7	21

**Figure 2** The external appearance of bioadhesive pellets of astragalosides

4 黄芪总皂苷生物黏附微丸体内和体外黏附性能测定评价

4.1 体外黏附性能评价 基于猪胃蛋白模型对微丸体外黏附情况进行定量表征,如图3所示。相较于普通微丸,生物黏附微丸具有显著的体外黏附性能。以处方中黏附材料CS和CP 940作为高分子聚合物,可以与胃肠道黏膜黏液层的黏蛋白发生化学键合或机械结合,从而产生黏附效果,可延长其在肠道内滞留时间,为提高黄芪总皂苷的生物利用度提供保障。

4.2 体内黏附性能评价 基于小动物活体成像技术的体内黏附性能评价结果表明,生物黏附微丸的黏附性明显强于普通微丸,如图4所示。给药4 h后,普通微丸开始从小肠向结肠移动,8 h时微丸基本转运至结肠。此时,生物黏附微丸仍大量存在于小肠内,且前期

**Figure 3** Determination of the *in vitro* adhesiveness of different pellets ($n = 3, \bar{x} \pm s$). * $P < 0.05$ vs normal group

研究^[6]也证实黄芪总皂苷主要吸收部位为小肠且没有特定吸收肠段。因此,从物性参数角度筛选出的处方所制得的生物黏附微丸可达到延长在肠道中的滞留时间目的,也证明了筛选结果的有效性。

讨论

微丸作为最常用的多单元给药系统之一,具有良好的流动性、释放均一性和稳定性。由于微丸粒径小、比表面积大等优点,可使其与黏附材料相结合,通过与胃肠道黏膜的充分接触,最终达到延长胃肠道滞留时间的目的。此外,利用CS、CP 940等黏附材料可以提高药物的膜通透能力,进而实现提高药物生物利用度的目的^[17]。

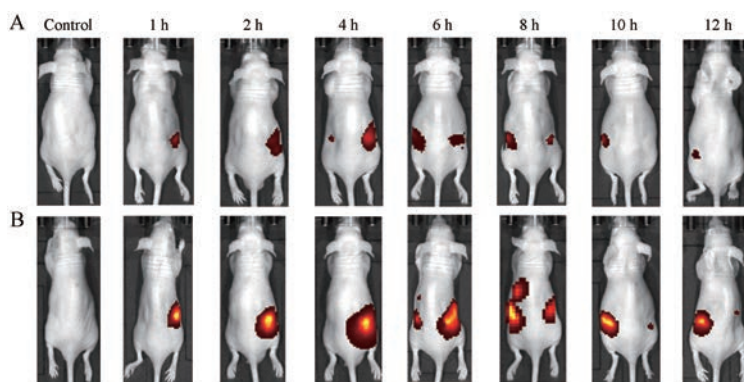


Figure 4 *In vivo* imaging of mouse with pellets at different time by small living animal imaging technology. A: Normal pellets group; B: Bioadhesive pellets group

研究中发现,随着黏附材料在辅料中比例的增大,软材的物性参数(Ha、Ad)呈现以下几种变化趋势:①当处方中同时存在黏附材料CS和CP 940时,且两者比值在1/2~1/3时,Ha值不断增大,Ad值逐渐减小。而当处方中仅含有黏附材料CP 940时,Ha值变小,Ad值则增大;②当处方中仅含有黏附材料CS时,Ha和Ad值与黏附材料的增加呈负相关。而当处方中同时存在黏附材料CS和CP 940时,且两者比值在2/1~3/1时,Ha和Ad值都逐渐减小;③当处方中同时存在黏附材料CS和HPMC时,且两者比值在1/1~3/1同时黏附材料占比为40%时,Ha和Ad值均达到最大值;两者比值在1/2~1/3同时黏附材料的占比为60%时,Ha与Ad值均达到最小值。其原因可能在于,CP 940本身的吸湿性强于CS和HPMC^[18],当处方中存在两种及以上黏附材料类别,且CP 940的占比较大时,加入少量润湿剂诱发CP 940极易吸湿,使得处方中各种辅料相互黏结成团块,Ha值变大,Ad值则逐渐变小。当处方中仅有CP 940时,随着黏附材料用量的增大,则需要不断地加入润湿剂,使得少量CP 940硬块逐渐软化、溶解,其间的黏合力慢慢变大,Ha值逐渐变小,Ad值不断变大。此外,因CS吸湿性较弱且其生物黏附作用更倾向于黏蛋白特异性结合,随着黏附材料用量的增大,润湿剂的用量也逐渐变大,所制备的软材含水量越来越大,则Ha和Ad值均不断变小。同理,当处方中同时存在CS和CP 940,且CS占比高于CP 940时,Ha和Ad值也呈现相同的变化趋势。另外,处方中存在HPMC和CS时,因HPMC上的羟丙基会与CS分子上的呋喃环或糖苷氧原子结合时产生新生成的氢键^[19],随着黏附材料用量的增大及两者之间比例的变化,使得制备的不同黏附处方软材中两者结合情况有所不同,出现Ha和Ad值达到极值这一现象。

在挤出滚圆法制备微丸过程中,常会对软材的质

量进行研究,从而评判所制得的微丸质量的好坏^[20],常规对软材质量的评价,是基于对相应软材指导下制备的微丸的质量进行评判,其包括得率、脆碎度和圆整度等,虽然此法操作性及可靠性较强,但需要前期大量的重复性实验来提供数据支撑,且针对性较差。为此,本文基于软材的物性参数,以不同黏附处方为研究对象,筛选出对软材黏附性能有显著影响的物性参数,并基于本课题组前期研究结果,确定对生物黏附微丸成型和黏附有影响的关键物性参数,并用于指导生物黏附微丸最优处方的筛选,从而为所制备的生物黏附微丸的良好黏附性和成型性提供了保证。同时,体内和体外黏附性能评价结果证实了这种基于软材物性参数建立的黏附处方筛选方法是科学、可靠的。

References

- [1] Qi L, Yu T, Li P, et al. Quality evaluation of Radix Astragali through a simultaneous determination of six major active isoflavonoids and four main saponins by high-performance liquid chromatography coupled with diode array and evaporative light scattering detectors [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1134: 162-169.
- [2] Xie W, Zhao Y, Du L. Emerging approaches of traditional Chinese medicine formulas for the treatment of hyperlipidemia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140: 345-367.
- [3] Yang Q, Chen K, Lu S, et al. Research progress on mechanism of action of Radix Astragalus in the treatment of heart failure [J]. *Chin J Integr Med (中国结合医学杂志)*, 2012, 18: 235-240.
- [4] Chen X, Peng LH, Shan YH, et al. Astragaloside IV-loaded nanoparticle-enriched hydrogel induces wound healing and anti-scar activity through topical delivery [J]. *Int J Pharm*, 2013, 447: 171-181.
- [5] Gu YC, Wang GG, Fawcett P. Determination of astragaloside IV in rat plasma by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 801: 258-288.

- [6] Xu M, Yin J, Xie L, et al. Pharmacokinetics and tolerance of total astragalosides after intravenous infusion of astragalosides injection in healthy Chinese volunteers [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20: 1105-1111.
- [7] Li Q, Huang W, Yang J, et al. Gastric retention pellets of edaravone with enhanced oral bioavailability: absorption mechanism, development, and *in vitro/in vivo* evaluation [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 119: 62-69.
- [8] Abd-Elsalam WH, ElKasabgy NA. Mucoadhesive olaminosomes: a novel prolonged release nanocarrier of agomelatine for the treatment of ocular hypertension [J]. *Int J Pharm*, 2019, 560: 235-245.
- [9] Laffleur F, Röttges S. Mucoadhesive approach for buccal application: preactivated chitosan [J]. *Eur Polym J*, 2019, 113: 60-66.
- [10] Li Y, Zhang Y, Zhu CY. Pharmacokinetics and correlation between *in vitro* release and *in vivo* absorption of bio-adhesive pellets of Panax notoginseng saponins [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15: 142-151.
- [11] Li GF, Zhao MM, Su XY, et al. Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of intestinal retention pellets of berberine chloride to enhance hypoglycemic and lipid-lowering efficacy [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2019, 14: 559-568.
- [12] Vervaet C, Baert L, Remon JP. Extrusion-spheronisation a literature review [J]. *Int J Pharm*, 1995, 116: 131-146.
- [13] Gao Y, Hong Y, Xian J, et al. A protocol for the classification of wet mass in extrusion-spheronization [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85: 996-1005.
- [14] Xu M, Sun M, Qiao H, et al. Preparation and evaluation of colon adhesive pellets of 5-aminosalicylic acid [J]. *Int J Pharm*, 2014, 468: 165-171.
- [15] Thapa P, Thapa R, Choi DH, et al. Effects of pharmaceutical processes on the quality of ethylcellulose coated pellets: quality by design approach [J]. *Powder Technol*, 2018, 339: 25-38.
- [16] Huang HP, Liu CX, Li YL, et al. Study on absorption kinetics of astragaloside IV in rat's intestines [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2008, 33: 1609-1611.
- [17] Grabnar I, Bogataj M, Mrhar A. Influence of chitosan and polycarbophil on permeation of a model hydrophilic drug into the urinary bladder wall [J]. *Int J Pharm*, 2003, 256: 167-173.
- [18] Zhao Z, Du SY, Lu Y, et al. *In vitro* and *in vivo* adhesion properties evaluation Carbomer six kinds bioadhesive material [J]. *Chin Pharm J (中国药理学杂志)*, 2014, 49: 2188-2192.
- [19] Ofori-Kwakye K, Fell JT. Biphasic drug release: the permeability of films containing pectin, chitosan and HPMC [J]. *Int J Pharm*, 2001, 226: 139-145.
- [20] Litster J, Ennis BJ. *The Science and Engineering of Granulation Processes [M]* // Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004: 4-10.