基于工业化生产苦参碱微丸制剂工艺研究

胡亚刚[1*],韩小娟[1],何志鹏[1],郑伶俐[2]
(1.陕西国际商贸学院,陕西 咸阳 712046;
2.步长制药工程技术中心制药工程技术部,陕西 咸阳 712000)

摘 要:采用全自动挤出滚圆设备制备苦参碱微丸。在单因素实验基础下,以挤出速率、滚圆速率、滚圆时间作为考察因素,以工艺收率为评价指标,最终确定相关参数分别是挤出速率35 Hz,滚圆速率为45 Hz,滚圆时间为6 min。运用中心组合设计-响应面法优化制备苦参碱微丸的工艺条件,摸索苦参碱微丸的最佳制剂工艺。方差分析表明,影响微丸制备收率的因素显著性顺序分别是滚圆速率(B)>挤出速率(A)>滚圆时间(C)。综合分析表明所筛选出来的成型工艺条件制成的微丸,成型率较高,符合《中国药典》中关于微丸剂质量标准的要求,所确立工艺参数具有应用价值。

关键词:苦参碱微丸;制剂工艺;响应曲面

苦参碱是由豆科植物苦参的干燥药用部位经溶剂提取制成的苦参总生物碱,现代研究表明其有效成分主要有苦参碱、槐果碱、氧化槐果碱、槐定碱等,其中以苦参碱和氧化苦参碱含量最高。我国传统中医明确苦参具有清热燥湿,杀虫,利尿功效[1]。常用于临床中慢性病毒性肝炎及局部抗病毒的治疗。苦参碱的抗病毒作用十分安全有效,与中药传统理论的清热解毒功效一致;现代研究表明,苦参碱的药理作用广泛,具有抗炎作用,抗病毒,抗肿瘤作用,心血管系统,抗肝损伤作用具有保护作用,对于治疗心脑血管疾病、抗降血脂等治疗发挥的效果显著。

苦参碱作为临床常用药,苦参碱制剂主要包括传统制剂和现代制剂,其传统制剂型有注射剂、肠溶片、胶囊、滴丸制剂、栓剂等;现代制剂主要有靶向制剂,包括脂质体剂、隐形脂质体剂、微粒和微丸制剂、微球制剂、纳米粒制剂;凝胶剂,缓控释制剂,透皮吸收制剂,包括醇质体剂、微乳制剂[2]。特别是在治疗慢性病的时候,与适宜成分组成复方制剂配合使用,效果更好。

现代对于中药微丸制剂研究表明,针对中药微丸和容易携带的特点,并且具有药性大的特点,在口服下,可以对药性有效的释放,且对身体的五脏六腑的刺激很小。这对苦参碱制剂的研发提供了显著作用。笔者将对苦参碱微丸制剂工艺进行科学优化,通过考察其辅料种类的选择,采用挤出滚圆法进行微丸的制备。通过正交试验对其挤出速度、滚圆速度、滚圆时间的单因素考察,最终确定苦参碱微丸制剂的最佳工艺,为苦参碱制剂今后的新剂型研发和制备提供依据。

微丸是指直径不超过2.5 mm的小型球状口服剂型,属于多单元释药体系,由于其特有的优越性质,逐渐成为目前缓控释制剂研究的热点之一[3]。微丸制剂常用的挤出滚圆法属于压缩制丸法范畴,它具备载药均匀、外形美观、圆整度高、物理性能好等特点,特别是改善药物表面积和吸湿性,从而增加制剂的稳定性。

1 仪器及试药

表1 仪器设备

仪器	型号	生产厂家
电子分析天平	QUINTIX224-1CN	赛多利斯科学仪器(北京)有限公司
槽型混合机	CH-10型	江苏泰兴市药机制造厂
数显实验多功能微丸机	200	深圳市信宜特科技有限公司
高精度水分测定仪	MA-100	赛多利斯科学仪器(北京)有限公司
流化床干燥实验装置	JK-GZ/LHC	湘潭金凯化工装备技术有限公司
数显鼓风干燥箱	DHG-9140B	上海琅玕实验设备有限公司

收稿日期:2020-08-05 修回日期:2020-09-10
基金项目:陕西国际商贸学院2020年校级课题。
第一作者简介:胡亚刚(1985-),男,陕西彬县人,本科,医学学士,工程师,中药学。

表 2　原辅料及试剂

试剂名称	生产厂家
苦参碱	西安通泽生物科技有限公司
微晶纤维素(MCC)	湖州市菱湖新望化学有限公司
羧甲基纤维素钠(CMC)	天津市红岩化学试剂厂
乙醇	天津市红岩化学试剂厂

2　实验方法与设计

2.1　微丸的制备工艺

原辅料均过 5 号筛备用，准确称取苦参碱 15 g，微晶纤维素 34 g，羧甲基纤维素钠 1 g，充分混合，用 5% 乙醇适量制软材，迅速将制好的软材投入加料口，用 1 mm 模具出条，设置挤出速度 40 Hz、滚圆速度 40 Hz、滚圆时间 8 min，将微丸下料，置于鼓风干燥箱进行干燥 3 h，进行 20 ~ 30 目筛网筛分，称量，计算收率，记录数据对所得微丸进行质量评价。

2.2　响应曲面实验设计

笔者在单因素实验考察基础上，进一步考察挤出速率、滚圆速率、滚圆时间对微丸成型的影响，优化苦参碱微丸的制剂工艺，以挤出速率(A)、滚圆速率(B)、滚圆时间(C)为自变量，考察对于苦参碱微丸制剂的影响，以微丸收率作为响应值评价指标，响应曲面设计因素水平表见表 3。

表 3　响应曲面设计因素水平

水平	因素		
	挤出速度(A)/Hz	滚圆速度(B)/Hz	滚圆时间(C)/min
-1	30	40	3
0	35	45	6
1	40	50	9

3　实验结果及数据分析

3.1　苦参碱微丸制备工艺单因素试验

3.1.1　稀释剂的考察　在苦参碱微丸制备过程中，稀释剂既要发挥成型、分散的特点，又不影响主药的顺利释放，稀释剂的筛选显得尤为重要，本文分别选用淀粉、糊精、微晶纤维素、乳糖作为稀释剂，在主药与辅料 3∶7 的相同比例下，按照 2.1 微丸制备方法进行考察，结果发现，采用淀粉、乳糖和糊精作为稀释剂的微丸成型效果相对较差，微晶纤维素更适合微丸的制剂。结果如图 1 所示。

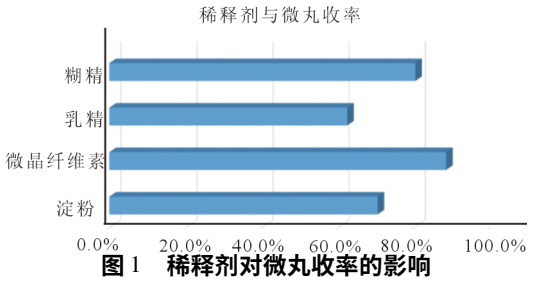

图 1　稀释剂对微丸收率的影响

3.1.2　黏合剂的考察　苦参碱由于遇水可能存在水解吸潮的现象，不仅影响药物疗效的发挥，而且影响着制剂稳定性；在黏合剂的筛选中，重点考察水和乙醇，对不同浓度的乙醇和水的配比进行考察。拟用水、5%、15%、25%、35% 浓度的乙醇，按照 2.1 项下制备方法进行微丸制剂的制备，实现结果表明 5% 的乙醇水溶液即可满足制剂要求；结果如图 2 所示。

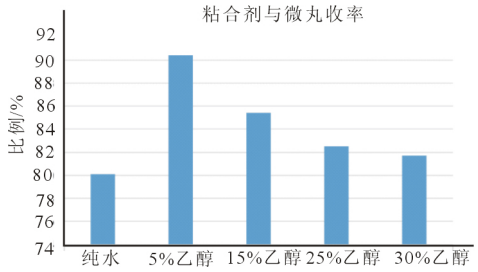

图 2　稀释剂对微丸收率的影响

3.1.3　主药比例的考察　主药比例，首先得满足治疗效果的需要，即要在工艺完美度和主药承载量进行平衡；通过预试验，随着主药比例的不断增大，微丸的外观指标趋于下滑态势，拟选择载药量 20%、30%、40%、50%、60%，按照 2.1 所示方法进行制剂考察，以微丸收率作为评价指标，结果如图 3 所示。

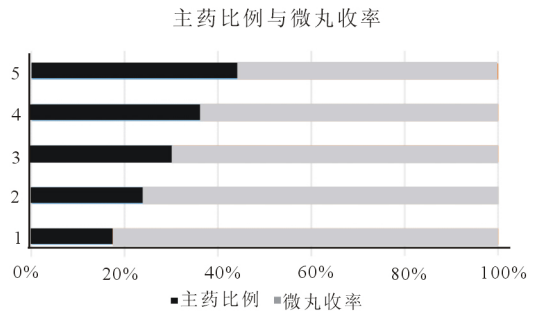

图 3　主药比例对微丸收率的影响

3.2　响应曲面实验结果及分析

3.2.1　响应曲面实验结果　响应曲面实验结果见表 4，通过响应曲面 Box-Behnken 法实验设计对苦参碱微丸制剂工艺实验结果进行多元回归拟合分析，以挤出速率(A)滚圆速率(B)和滚圆时间(C)为自变量，微丸收率为响应值，建立多元线性回归模型：$W = -645.395 + 15.14505A + 20.31035B + 5.89550C - 0.10660AB + 0.18483AC - 0.17117BC$

-0.17104A2 -0.16684B2 -0.46761C2。通过回归方程分析得出,影响制备符合要求微丸的三个因素分别是滚圆速率(B) > 挤出速率(A) > 滚圆时间(C)。方差分析表明,各模型显著性 $P < 0.0001$,极具显著性,回归方程符合实际情况,可以用此模型对微丸制剂得率进行统计分析。结果见表5所示。

表4 响应曲面实验设计及结果

序号	A: 挤出速率/Hz	B: 滚圆速率/Hz	C: 滚圆时间/min	收率 100%
1	0	0	0	94.65
2	0	0	0	94.64
3	0	0	0	94.59
4	-1	1	0	94.05
5	1	1	0	83.65
6	1	0	-1	83.46
7	-1	0	1	83.05
8	-1	0	-1	94.25
9	0	0	0	94.63
10	0	1	1	83.28
11	0	-1	1	83.25
12	0	-1	-1	83.85
13	0	1	-1	94.15
14	-1	-1	0	83.15
15	0	0	0	94.05
16	1	0	1	83.35
17	1	-1	083.41	

3.2.2 方差分析

表5 重复试验方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值(P > F)	显著性
A-挤出速率	53.20	1	53.20	1 078.99	< 0.0001	*
B-滚圆速率	57.62	1	57.62	1 008.10	< 0.0001	*
C-滚圆时间	64.87	1	64.87	1 091.87	< 0.0001	*
AB	28.41	1	28.41	1 229.17	< 0.0001	*
AC	30.75	1	30.75	538.33	< 0.0001	*
BC	26.37	1	26.37	582.64	< 0.0001	*
A2	76.99	1	76.99	499.66	< 0.0001	*
B2	73.25	1	73.25	1 458.84	< 0.0001	*
C2	74.57	1	74.57	1 388.07	< 0.0001	*
模型	512.47	9	38.03	1 413.14	< 0.0001	*
残差	0.37	7	0.053			
失拟项	0.10	3	0.034	0.50	0.7031	-
纯误差	0.27	4	0.067			
合计	512.84	16				

注: * 表示显著, - 表示不显著

3.2.3 响应面分析 响应曲面软件中,软件所生成的等高线图可以直观反映各因素对响应值交互作用的显著性,3D响应曲面图可以显示各因素对苦参碱微丸收率的交互效应影响。

图4、图5为挤出速率与滚圆速率的交互作用情况,可以看出,随着挤出速率、滚圆速率的加快,微丸收率呈现曲线提升状态,大约在挤出速率35 Hz,滚圆速率45 Hz时,微丸得率较高。

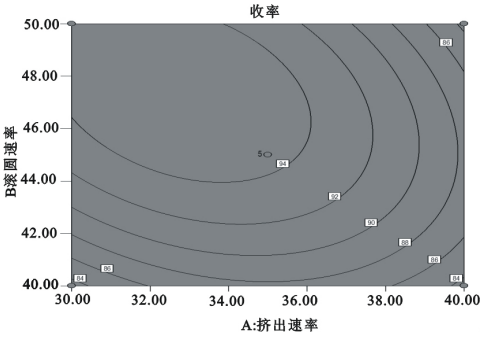

图4 挤出速率和滚圆速率的交互作用等高线

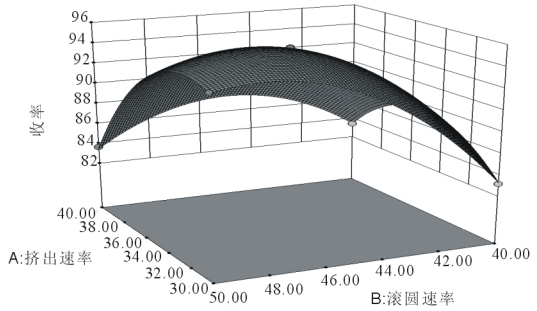

图 5　挤出速率和滚圆速率的交互作用响应曲面

图 6、图 7 为挤出速率与滚圆时间的交互作用情况，可以看出，随着挤出速率、滚圆时间的加快，微丸收率呈现曲线提升状态，大约在挤出速率 35 Hz，滚圆速率 6 min 时，微丸得率较高。

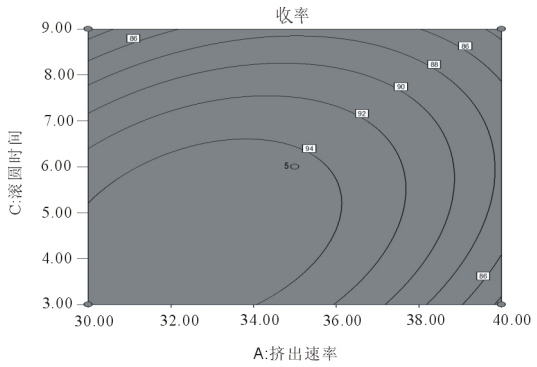

图 6　挤出速率和滚圆时间的交互作用等高线

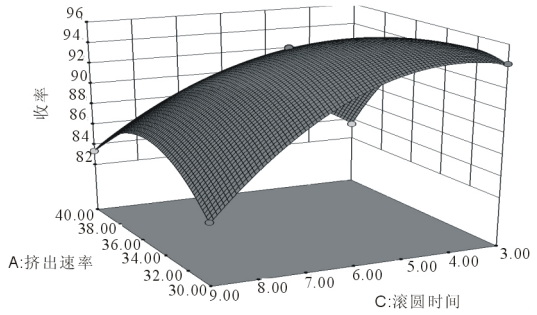

图 7　挤出速率和滚圆时间的交互作用响应曲面

图 8、图 9 为滚圆速率与滚圆时间的交互作用情况，可以看出，随着滚圆速率、滚圆时间的增加，微丸收率呈现曲线提升状态，大约在滚圆速率 45 Hz，滚圆时间 6 min 时，微丸得率较高。

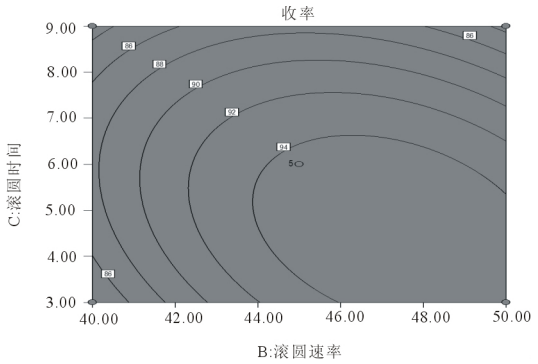

图 8　滚圆时间和滚圆速率的交互作用等高线

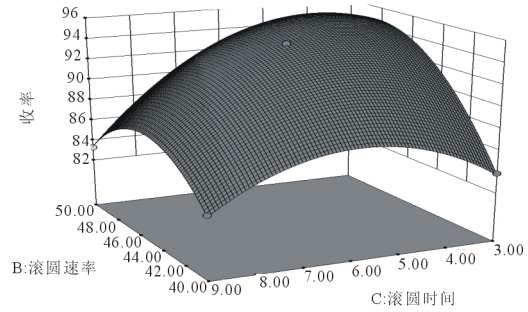

图 9　滚圆时间和滚圆速率的交互作用响应曲面

4　验证试验

采用最佳工艺参数，制备苦参碱微丸样品 3 批，对外观进行观察对比，检查有无异型、双粒等情况；利用流化床实验设备进行脆碎度测定，15 min 内称量计算减失重量比例；参照中国药典丸剂项下溶散时限检查方法，120 min 之内，样品全部容散；三批样品均通过质量检查，符合规定，结果表明实验所优选制剂工艺切实可行。结果见表 6。

表 6　验证试验结果

批号	外观	水分/%	脆碎度(15min)/%	溶散时限(120min)	收率/%
200301	圆整，无异型，细粉少	3.55	3.5	完全溶解	93.55
200302	圆整，无异型，细粉少	1.68	2.8	完全溶解	93.85
200303	圆整，无异型，细粉少	1.76	3.1	完全溶解	94.02

5　结论与讨论

通过大量预实验摸索，详细考察原辅料比例及种类，应用响应曲面设计对设备挤出速率、滚圆速率、滚圆时间参数进行综合分析，优化苦参碱微丸的制剂工艺，经过实验与分析，最终确定苦参碱制剂工艺为原料辅料比例 3∶5，采用 5% 乙醇制备软材，设备挤出速率 35 Hz、滚圆速度 45 Hz、滚圆时间 6 min，苦参碱微丸的各项指标均符合规定。CMC 的加入方法可以采用干混，或者溶解后作为黏合剂喷入，后者较前者效果较好；用量不宜

（下转第 52 页）

NA 的转基因植株，褐飞虱取食转基因水稻后其体内对应基因的表达量下降了 40% ~70%。

我们先前克隆了飞虱 V - ATPase D 和 V - ATPase H 亚基基因片段，利用重组 PCR 获得融合基因 VAD - H，通过体外转录 dsRNA 饲喂褐飞虱并引起飞虱死亡率增加，在此基础上构建了针对该融合基因的 RNAi 植物表达载体，获取体外稳定表达 dsRNA 的纯合株系，进一步检测转基因植物对飞虱生理水平的影响。当褐飞虱的初孵幼虫接种到转基因植株上，取食 VAD - H 转基因水稻后，其 1 龄若虫的发育历期有所延长，而且飞虱若虫总发育历期，相比对照也明显延长（图 3）。此外我们对取食 dsRNA 的褐飞虱靶基因转录水平，进行荧光定量 PCR，结果表明飞虱体内靶基因表达水平均发生不同程度降低，并且降低水平随饲喂时间延长显著性下降（图 5）。表明摄入表达融合基因 dsRNA 的转基因植物，能够引发褐飞虱体内 RNAi 效应。

Li 等研究在转基因水稻表达产生高浓度 dsRNA 时才能引发高效率的环境性 RNAi，并且可以阻碍褐飞虱的生长发育甚至能够导致褐飞虱死亡[8]，因此当外界不能持续提供 dsRNA 时，干扰效果会受到限制。笔者研究中飞虱取食转基因水稻后尽管生长发育相比对照受到一定的影响，但没有出现明显的致死表型，出现上述问题可能由于飞虱摄取 dsRNA 的量不足，或实验体系不能引发 RNAi 强穿透能力，使得飞虱未出现死亡。因此在利用 RNAi 技术培育转基因抗虫植物时，需注意包括基因类型，基因片段大小，表达载体选择等影响干扰效率的因素，从而充分发挥其干扰效应在害虫防治方面的作用[7]。

参 考 文 献：

[1] Endo H，Tanaka S，Imamura K，et al. Cry toxin specificities of insect ABCC transporters closely related to lepidopteran ABCC2 transporters [J]. PEPTIDES，2017，98(SI)：86-92.

[2] Tabashnik B E，Brevault T，Carriere Y. Insect resistance to Bt crops：lessons from the first billion acres [J]. NATURE BIOTECHNOLOGY，2013，31(06)：510-521.

[3] Hussain T，Aksoy E，Caliskan M E，et al. Transgenic potato lines expressing hairpin RNAi construct of molting-associated EcR gene exhibit enhanced resistance against Colorado potato beetle(Leptinotarsa decemlineata，Say) [J]. TRANSGENIC RESEARCH，2019，28(01)：151-164.

[4] 杨颖，王爱娜。双价 RNA 干扰载体的构建及 dsRNA 体外饲喂褐飞虱的研究 [J]. 陕西农业科学，2019，65(12)：25-28.

[5] LIVAK K J，SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2? ΔΔCT method [J]. Methods，2001，25(04)：402-408.

[6] Baum J A，Bogaert T，Clinton W，et al. Control of coleopteran insect pests through RNA interference [J]. Nat Biotechnol，2007，25(11)：1 322-1 326.

[7] Zha W，Peng X，Chen R，et al. Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect Nilaparvata lugens [J]. PLoS One，2011，6(05)：e20504.

[8] Li J，Wang X P，Wang M Q，et al. Advances in the use of the RNA interference technique in Hemiptera [J]. Insect Sci，2013，20(01)：31-39.

（上接第 40 页）

超过 1%，过量滚圆时不宜切断，甚至出现双胞胎、哑铃、异型等[4]；制备软材过程中粘合剂的选用，单纯用水，粘性过大，软材容易粘连设备，挤出困难且成型效果差，增加清场难度；选用低浓度乙醇后，所制出软材粘性适中，出丸效果较好，制备的微丸不仅外观理想、而且圆整度高。但是随着乙醇浓度提高，所制备的软材越松散，粘性较差，软材不容易成型，制剂效果不理想。

苦参碱微丸的收率考察是微丸制剂的前提条件，普遍采用筛析法进行评价。在生产实践中，苦参碱微丸不是最终产品，根据需要后续进行制剂需要适当加工，比如缓控释包衣或复方成分填充，因此其脆碎度需达到规定要求，如果沿用片剂脆碎度检查方法进行微丸的脆碎度考察针对性不强，根据文献报道，暂无丸剂法定的脆碎度检查方法本文暂采用流化床实验设备进行测定[5]。

参 考 文 献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部）[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：203.

[2] 和欢，尚新悦，宋少江. 苦参碱及其制剂的研究进展 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化，2016，18(07)：1 099-1 107.

[3] 李小芳，汤贯光，邱爽. 中药微丸制备工艺研究进展 [J]. 中成药，2009，31(03)：450-452.

[4] 陈红霞，贾晓斌，陈彦，潘国梁，成旭东. 挤出滚圆法制备复方杞芪微丸的处方及工艺优化 [J]. 中国中药杂志，2006(22)：1 862-1 865.

[5] 汪晶，吕志阳，吴晓燕，狄留庆，董宇，蔡宝昌. 不同辅料对通塞脉浸膏粉体物理性质及其微丸成型性的影响研究 [J]. 中国中药杂志，2011，36(01)：37-40.