

- 量[J]. 亚太传统医药, 2008, 4(11): 44
- [8] Nagumo S, Kishi S, Inoue T, *et al.* Saponins of *Anemarrhenae Rhizoma* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1991, 111(6): 306-306
- [9] 于健东, 马凌云, 马双成, 等. 知母中知母皂苷 BII 的 TLC 鉴别及 HPLC 法含量测定[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(12): 1436-1436
- [10] 原源, 陈万生, 孙连娜, 等. 同产地知母中皂苷类成分的测定[J]. 中草药, 2006, 37(10), 1574-1576

龙胆泻肝丸物质组释放动力学特征研究

郭 桢^{1,2}, 凌 映^{1,2}, 张继稳², 葛卫红¹, 石森林^{1*}

(1 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053; 2 中国科学院上海药物研究所 药物释放系统研究中心, 上海 201203)

摘要:目的 研究龙胆泻肝丸的物质组释放动力学特征。方法 按《中国药典》桨法 100 r/min 测定龙胆泻肝丸的释放度, 运用紫外吸收光谱法结合 Kalman 滤波法对龙胆泻肝丸物质组进行定量, 并绘制释放曲线, 获得龙胆泻肝丸的物质组释放动力学特征和多维释放特征。结果 龙胆泻肝丸的缓释特征明显, 动力学特征符合 Weibull 和 Higuchi 释放模型。结论 龙胆泻肝丸的释放机制可能属于骨架溶蚀型, 提示传统丸剂具有明显的缓释特征。

关键词: 龙胆泻肝丸; 中药物质组; 释放动力学; 紫外吸收光谱法

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)11-1806-03

Materiomic release kinetics of Longdan Xiegan Pill

GUO Zhen^{1,2}, LING Die^{1,2}, ZHANG Jiwen², GE Weihong¹, SHI Senlin¹

(1 College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China;

2 Center for Drug Delivery System, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Objective** To study materiomic release kinetics of Longdan Xiegan Pill. **Methods** The materiomics release kinetics, the release profiles, and the multidimensional release characteristic of Longdan Xiegan Pill were determined by the paddle method with a rotate speed at 100 r/min in *Chinese Pharmacopoeia*, and the materione was quantified by UV-vis combined Kalman filter method. **Results** Longdan Xiegan Pill behaved typical sustained release profile which was consistent with Weibull and Higuchi release models. **Conclusion** The sustained release profile of Longdan Xiegan Pill is depicted quantitatively by materiomic release dynamics in this paper, which demonstrates the obvious sustained release characteristic of the traditional pills.

Key words: Longdan Xiegan Pill; materione of Chinese materia medica; release dynamics; UV-vis

龙胆泻肝丸系由龙胆草、黄芩、栀子、泽泻、木通、车前子、生地、当归、柴胡、甘草等制成的水泛丸, 泻肝而不伤肝, 利湿而不伤阴, 除用于治疗高血压、急性胆囊炎、尿路感染等症外, 现在常用于乙型肝炎等慢性肝病的治疗。龙胆泻肝丸针对的病症多需长期服药, 因此深入研究龙胆泻肝丸多组分缓释机制具有较大的实用意义。对于龙胆泻肝丸全组分或多组分释放/溶出度研究更未见报道, 仅针对某个或少数组分进行定量分析, 如以龙胆苦苷作为

指标成分研究龙胆泻肝丸的溶出度^[1]; 亦或以龙胆苦苷、黄芩苷、栀子苷作为指标性成分研究龙胆泻肝丸的溶出度^[2], 这几乎忽略了剂型因素、辅料及其他环境因素可能给制剂释放特征带来的影响, 难以对龙胆泻肝丸中多组分释放/溶出动力学进行全面监控^[3-5]。中药物质组释放动力学及其同步性评价方法的基础是设定多组分中药的物质组成特征、各分量的量之间的相互关系为中药作用整体性的量化指

①收稿日期: 2010-02-09

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2006AA02Z336); 国家科技支撑计划项目(2006BA1098B08-08); 中国科学院上海药物研究所新药团队基础研究项目(07G603F015)

作者简介: 郭 桢, 男, 硕士, 2007年毕业于中国药科大学, 研究方向: 中药新剂型、制剂新技术研究与新药开发。

E-mail: guozhen10012002@yahoo.com.cn

* 通讯作者 石森林 E-mail: pjstone@163.com.cn

标,以指定剂量下中药制剂中所含有的物质组各组分间的量特征关系为标准谱,以样本的物质组谱特征为依据,采用 Kalman 滤波法计算^[6],获得释放介质中的物质组的量^[3,7],对多组分中药的释放特征进行量化评价,获得其物质组释放度特征,实现对中药制剂多组分释放特征的定量描述,然后运用向量夹角法^[8]实现对中药制剂多组分多维释放特征的定量描述。运用中药物质组释放动力学评价方法,可以简洁、直观、定量地评价中药多组分释放度、释放同步性等动力学特征,并且已取得良好的成果^[7]。因此本实验以中药物质组释放动力学理论为基础考察了龙胆泻肝丸的物质组释放动力学特征。

1 仪器与试药

UV2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津);Avanti J-26XP 高速离心机(美国 Beckman);RCZ-6C2 型溶出仪(上海黄海药检仪器有限公司);龙胆泻肝丸(吉林省辉南天泰药业股份有限公司,批号 070403,水丸)。

2 方法与结果

2.1 储备液的制备:精密称取龙胆泻肝丸 10 g,加 50 mL 脱气蒸馏水研匀,再取 450 mL 脱气蒸馏水将混悬药液洗入溶出杯,桨法 100 r/min, 37 ± 0.5 °C 条件下搅拌 10 h,使各组分充分释放。以蒸馏水补足至 500 mL。取溶液适量,5 000 r/min 离心 15 min,上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液 5 mL,置 250 mL 量瓶内,用蒸馏水稀释至刻度,即得储备液。

2.2 检测方式:用紫外-可见分光光度计对龙胆泻肝丸各样本物质组溶液进行检测,各样本以蒸馏水为空白对照,在 220~400 nm 紫外波长范围内扫描,输出每 1 nm 波长处的吸光度,即得龙胆泻肝丸物质组紫外测定谱。

2.3 物质组浓度标准谱:根据标准储备液在紫外和可见光波长范围内的吸收特征,选取 220~400 nm 的吸收光谱为龙胆泻肝丸的物质组浓度标准谱,并记录每 1 nm 波长处的吸光度物质组浓度标准谱,即得。以波长为横坐标,各波长点的吸光度为纵坐标,得龙胆泻肝丸物质组紫外浓度标准谱图(图 1)。

2.4 线性关系考察:移取储备液 6.25、12.50、25.00、50.00、75.00、100.00 mL,置 100 mL 量瓶内,加蒸馏水稀释至刻度,混匀,即得 0.025、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40 mg/mL 供试液。用 UV-vis 法检测,并与物质组浓度标准谱相比较,以 Kalman 滤波法计算获得各标准系列溶液的物质组浓度,考察评价方法的线性。以丸重标示的配制质量浓度与

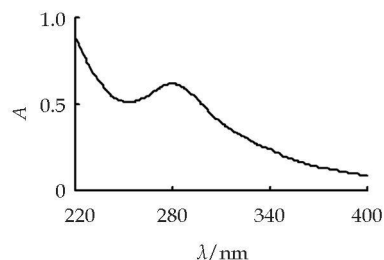


图 1 龙胆泻肝丸物质组紫外标准谱

Fig. 1 Standard spectrum of Longdan Xiegan Pill determined by UV-vis

物质组浓度测定值进行最小二乘法线性回归,得紫外检测结果相关方程 $G = 0.0098X + 0.0214$ ($r = 0.9996$),结果表明丸重标示浓度在 0.025~0.4 mg/mL 与物质组浓度测定值线性关系良好。

2.5 精密度试验:分别平行取 0.05、0.20、0.40 mg/mL 的供试液各 6 份,依法测定物质组浓度,以考察试验评价方法的精密度。与龙胆泻肝丸物质组标准谱相比较,获得高、中、低 3 个水平的龙胆泻肝丸物质组浓度,各水平物质组浓度的 RSD 分别为 0.65%、1.71%、3.33%,表明物质组浓度测定方法的精密度良好。

2.6 稳定性试验:取 0.05、0.20、0.40 mg/mL 的供试液,分别避光密封放置,于 0、1、2、4、8、12 h 取样,和在 (37 ± 0.5) °C 下恒温保存,于 0、1、2、4、8、12 h 取样,依法测定其物质组浓度,以考察不同浓度供试液的稳定性。高、中、低 3 个水平的龙胆泻肝丸物质组溶液在 24 h 内的物质组浓度变化较小,各浓度 RSD 分别为 0.10%、0.15%、0.34%,说明龙胆泻肝丸物质组溶液在 24 h 内稳定。

2.7 释放度的测定:采用桨法装置^[9],介质:蒸馏水,温度: (37 ± 0.5) °C,转速 100 r/min,取样时间:30、60、120、240、360、480、600、720 min,取样量:10 mL(补加等量蒸馏水),5 000 r/min 离心 15 min,上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,精密移取续滤液 1.0 mL 加蒸馏水稀释 50.0 mL,依法测定各样品液的物质组浓度,并计算其物质组释放度。以时间为横坐标,累计释放度为纵坐标,得释放度曲线图(图 2),龙胆泻肝丸在释放介质中,呈现缓释的释放特征。

分别用零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi 模型、Weibull 模型(《中国药典》2005 年版)对龙胆泻肝丸体外释放度的紫外检测结果进行拟合,结果见表 1。龙胆泻肝丸释放度与 Weibull 模型相关性最佳, $r = 0.9980$;与 Higuchi 模型相关性较差, $r = 0.9706$ 。

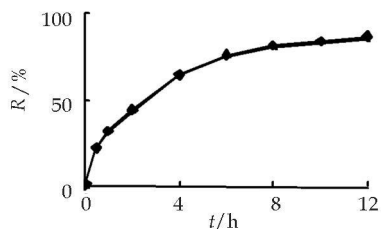
图2 紫外检测的龙胆泻肝丸物质组释放度($n=6$)Fig. 2 Materiomc release of Longdan Xiegan Pill determined by UV-vis ($n=6$)

表1 释放曲线拟合结果

Table 1 Results of curve fitting

模型	回归方程	R ²
零级动力学模型	$Q = 0.0645t + 0.2342$	0.8310
一级动力学模型	$\ln(1-Q) = -0.116t - 0.2207$	0.9607
Higuchi 模型	$Q = 0.2583t^{1/2} + 0.0573$	0.9706
Weibull 模型	$\ln[-\ln(1-Q)] = 0.674 \ln t - 0.9255$	0.9960

2.8 多维释放特征缓控释模型的拟合: 分别以龙胆泻肝丸每个紫外吸收波长在 12 h 处的物质组释放度为最大释放度, 建立零级动力学模型方程, 在 220~400 nm 共建立 181 条零级动力学模型曲线, 为零级动力学模型多维特征(式 1)。

$$\begin{cases} k = R_{\max} / T_{\max} \\ f(t) = kT \end{cases} \quad (\text{式 } 1)$$

其中, k 为常数, R 为释放度, T 为取样时间, i 为紫外吸收波长。

同理, 建立一级动力学模型多维特征(式 2)和 Higuchi 模型多维特征(式 3)。

$$\begin{cases} k = \ln(1 - R_{\max}) / T_{\max} \\ f(t) = 1 - \exp(-kT) \end{cases} \quad (\text{式 } 2)$$

$$\begin{cases} k = R_{\max} / T^{1/2} \\ f(t) = kT^{1/2} \end{cases} \quad (\text{式 } 3)$$

运用多维释放特征相似度评价的方法^[10], 评价龙胆泻肝丸紫外扫描释放度特征与各缓控释模型的相似度, 结果零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi 模型的相似度分别为 0.949 6、0.983 0、0.995 5。结果显示, 龙胆泻肝丸物质组紫外扫描多维释放特征与 Higuchi 模型拟合相似度最高。

3 讨论

本实验选择了较剧烈的搅拌条件, 以保证龙胆泻肝丸在 12 h 能完全释放。实验结果表明, 龙胆泻肝丸具明显缓释特征, 其释放曲线符合 Weibull 和

Higuchi 释放模型, 与 Weibull 模型拟合度更高, 提示其释放速率常数与扩散系数成正比, 并随着时间的变化而变化。在释放过程中, 介质的温度、体积、溶解性均未发生改变, 可以推测龙胆泻肝丸的释放机制可能为非溶蚀型的 Fick's 扩散。根据多维释放特征的缓控释模型拟合结果显示, 释放曲线与 Higuchi 模型具有较高的相似度, 因此, 龙胆泻肝丸的释放机制可能属于骨架溶蚀型。

龙胆泻肝丸由处方中 10 味药粉碎成细粉后采用水泛法制备而得, 因此含有大量的不溶性纤维素, 如《中国药典》2005 年版规定了龙胆泻肝水丸的显微鉴别标准, 纤维束周围薄壁细胞含草酸钙方晶, 形成晶纤维; 韧皮纤维淡黄色, 梭形, 壁厚, 孔沟细。这可能是龙胆泻肝丸具有骨架型溶蚀释放特征的原因。说明传统的丸剂具有明显的缓释特征, 是缓控释给药系统的雏形。

制剂工艺的不同, 如药物粉末的粒径, 辅料的加入等, 这些都是影响药物释放特征的因素, 如研究发现, 水泛丸用水溶解后, 细粉的粉末粒径在 1~150 μm , 其中 1~74 μm 范围为 19%~53.6%, 说明水泛丸中含有部分超微粉^[11], 这说明粒径的大小是可控的, 提示还可以从制剂工艺角度来研究中药传统丸剂的缓控释特征。

参考文献:

- [1] 冯亦颖, 王巨存, 徐学锐. 龙胆泻肝丸中龙胆苦苷的溶出度研究[J]. 天津药学, 2008, 20(2): 15-16
- [2] 田书霞, 蒋 晔, 郝 福. RP-HPLC 同时测定龙胆泻肝丸中 3 种有效成分的溶出度[J]. 中成药, 2006, 28(11): 1578-1581
- [3] 陈立兵, 张继稳, 顾景凯, 等. 中药制剂及给药系统的物质组释放/溶出动力学原理[J]. 中草药, 2008, 39(5): 641-644
- [4] 张继稳, 陈立兵, 顾景凯, 等. 多组分中药化合物组释放同步性评价方法[J]. 药学报, 2008, 43(6): 647-651
- [5] 曹 艺, 朱丹妮, 林志宏, 等. 归苓片血清药物化学研究(1)[J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(6): 519-522
- [6] 相秉仁. 计算药理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990
- [7] 陈立兵, 王中华, 傅丹丹, 等. 应用化合物组释放动力学方法评价银翘解毒片的释放特征[J]. 中国天然药物, 2008(6): 456-460
- [8] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫淼, 等. 一种评价中药色谱指纹谱相似性的新方法: 向量夹角法[J]. 药学报, 2002, 37(9): 713-717
- [9] 中国药典[S]. 二部. 2005
- [10] 张 宇, 刘雨东, 计 钊. 向量相似度测度方法[J]. 声学技术, 2009(4): 532-536
- [11] 肖 娟, 彭小花, 张水寒. 10 种市售水泛丸粉末粒径检测[J]. 湖南中医杂志, 2005, 2(5): 92