

黄芩苷温敏凝胶的处方筛选及体外释放研究

朱铁梁^{1,2}, 胡霞³, 张莉^{1,2*}, 陈孝储^{1,2}, 郭一沙^{1,2}, 陈莉^{1,2}, 张岭^{1,2}

1. 武警后勤学院 药剂学教研室, 天津 300162

2. 武警后勤学院附属医院 药剂科, 天津 300162

3. 武警湖北总队医院 药剂科, 湖北 武汉 430060

摘要: 目的 制备黄芩苷温敏凝胶并考察其体外释放特征。方法 以黄芩苷为主药, 泊洛沙姆 407 和泊洛沙姆 188 为凝胶材料, 甲基纤维素为黏度调节剂, 制备黄芩苷温敏凝胶; 考察黄芩苷用量、凝胶材料比例以及黏度调节剂对胶凝温度的影响; 采用 UV 法考察其体外释放规律。结果 所制黄芩苷温敏凝胶胶凝温度为 35.3 ℃。体外释放结果显示黄芩苷温敏凝胶在 120 min 累积释放率为 78.06%。结论 将黄芩苷制成温敏凝胶能加快药物的溶出速率, 通过调整黄芩苷用量、温敏凝胶材料比例以及黏度调节剂可制得性状优良的温敏凝胶剂。

关键词: 黄芩苷; 温敏凝胶; UV 法; 胶凝温度; 体外释放率

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2164-04

Preparation optimization and *in vitro* release of baicalin thermosensitive gel

ZHU Tie-liang^{1,2}, HU Xia³, ZHANG Li^{1,2}, CHEN Xiao-chu^{1,2}, GUO Yi-sha^{1,2}, CHEN Li^{1,2}, ZHANG Ling^{1,2}

1. Department of Pharmacy, Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

2. Department of Pharmacy, Hospital of Logistics University of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China

3. Department of Pharmacy, Hubei Municipal Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Force, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To prepare the thermosensitive *in situ* gel of baicalin and investigate the *in vitro* drug release behavior of baicalin. **Methods** The thermosensitive *in situ* gel was prepared with baicalin as main component, Poloxamer 407 and Poloxamer 188 as the gel matrixes, together with methyl cellulose as thickening agent. The effects of baicalin dosages, gel matrix ratios, and viscosity regulator on gelatinization temperature were investigated and the *in vitro* drug release was determined by UV. **Results** The gelatinization temperature for thermosensitive *in situ* gel of baicalin was 35.3 ℃. The *in vitro* accumulate release ratio of baicalin in the thermosensitive gels was 78.06% after 120 min. **Conclusion** The preparation of baicalin into thermosensitive *in situ* gel could accelerate drug dissolution rate. Thermosensitive gel of baicalin with qualified characteristics could be prepared through regulating the baicalin dosage, gel matrix ratios, and viscosity regulator.

Key words: baicalin; thermosensitive *in situ* gel; UV; gelatinization temperature; *in vitro* release rate

黄芩苷(baicalin)为黄酮类化合物, 主要来源于唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi。其对革兰氏阳性和阴性细菌有抑制作用, 能杀灭阴道毛滴虫, 并发现其具有抗 HIV-1 活性, 因而具有潜在的开发应用价值^[1-4]。但黄芩苷经 iv 给药后, 体内分布较快, 半衰期短, 血药浓度下降迅速, 生物利用度低; 口服黄芩苷吸收较慢, 肝脏首关效应明显^[5-6]。所以改良剂型以避免以上诸多副作用是十分

必要的。

温敏凝胶是指一类以溶液状态给药, 当暴露于机体生理状态后, 立即在用药部位发生相转变, 成为半固体的凝胶状态^[6-7]。其与黏膜具有良好的偶合和水合效果, 有较好的生物相容性。可较长时间与作用部位紧密黏附, 从而延长药物在机体给药部位的滞留时间, 有利于药物充分吸收, 提高药物的生物利用度, 且安全性良好^[8]。因而本研究制备了黄

收稿日期: 2012-03-14

基金项目: 武警医学院面上项目(WY-2008-17)

作者简介: 朱铁梁(1968—), 男, 硕士, 副主任药师, 主要从事医院药物新制剂的研究与开发。Tel: (022)60578717 E-mail: zhutl@eyou.com

*通讯作者 张莉 Tel/Fax: (022)60578196 E-mail: zhli62tianjin@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-09-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120920.1602.004.html>

芩苈阴道给药温敏凝胶, 并考察其体外释放特征, 为其临床应用提供参考。

1 仪器与材料

RCZ—5A 智能溶出仪(天津大学精密仪器厂); UV1800 紫外可见分光光度计(日本岛津); JA3003 型上皿电子天平(上海精科天平); AT250 1/100 000 天平(Mettler); SH—2 型恒温加热磁力搅拌器(北京金北德工贸有限公司); 透析袋(进口分装, D 25 mm, 截留相对分子质量 M_w 为 12 000, 北京鼎国生物技术有限责任公司)。黄芩苷原料药(批号 AKHQ1206, 临沂爱康药业有限公司, 质量分数为 91%); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110715-200514); 泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 188(德国 BASF 公司); 海藻酸钠(化学纯, 上海化学试剂公司), 甲基纤维素(西安惠安化工厂), 乙醇(分析纯, 天津康科德试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷温敏凝胶的制备

将黄芩苷 2 g 溶于磷酸盐缓冲液中, 边搅拌边

加入泊洛沙姆 407 和泊洛沙姆 188, 混合均匀; 再加入黏度调整剂, 混匀后于 4 ℃ 放置至可自由流动的半透明溶液, 即制成黄芩苷温敏凝胶。

2.2 胶凝温度的测定

参考文献方法^[9]采用搅拌子法测定温敏凝胶的胶凝温度。取相同量的储存于冰箱中的不同质量浓度的含药凝胶液于烧杯中, 将温度计插入凝胶溶液中。将烧杯置于可加热的磁力搅拌器上, 缓慢升温, 升温速率为 1 ℃/min, 磁力搅拌子完全停止转动的温度即为胶凝温度, 平行测定 3 次, 取均值。

2.3 影响温敏凝胶胶凝温度的因素研究

2.3.1 黄芩苷用量对胶凝温度的影响 按照表 1 处方制备温敏凝胶, 采用“2.2”项下方法测定胶凝温度。结果表明, 随着黄芩苷用量的增加, 胶凝温度略有降低。

2.3.2 温敏凝胶组成比例对胶凝温度的影响 按照表 2 处方比例制备温敏凝胶, 采用“2.2”项下方法测定胶凝温度。测定结果表明, 随着泊洛沙姆 407 比例增加, 胶凝温度降低; 随着泊洛沙姆 188 比例

表 1 黄芩苷用量对温敏凝胶胶凝温度的影响

Table 1 Effects of baicalin dosages on gelatination temperature of thermosensitive gels

试验号	处方组成 / %				胶凝温度 / ℃
	黄芩苷	泊洛沙姆 407	泊洛沙姆 188	磷酸盐缓冲液	
1	1	16	2	81	35.3
2	2	16	2	80	34.3
3	3	16	2	79	34.0
4	4	16	2	78	33.3

表 2 不同比例凝胶组成对温敏凝胶胶凝温度的影响

Table 2 Effects of gel matrix ratios on gelatination temperature of thermosensitive gels

试验号	处方组成 / %						胶凝温度 / ℃
	黄芩苷	泊洛沙姆 407	泊洛沙姆 188	海藻酸钠	甲基纤维素	磷酸盐缓冲液	
1	2	16	1	0	0	81	33.3
2	2	16	2	0	0	80	34.3
3	2	16	3	0	0	79	36.0
4	2	18	1	0	0	79	32.3
5	2	18	2	0	0	78	34.6
6	2	18	3	0	0	77	35.3
7	2	20	1	0	0	77	32.0
8	2	20	2	0	0	76	34.3
9	2	20	3	0	0	75	35.0
10	2	16	3	0.5	0	78.5	34.3
11	2	16	3	0	2.0	77	35.3

的增大,胶凝温度升高。

2.4 优选黄芩苷温敏凝胶的制备

根据影响温敏凝胶胶凝温度的研究结果,确定黄芩苷温敏凝胶最优处方:黄芩苷 2 g,泊洛沙姆 407 16 g,泊洛沙姆 188 3 g,甲基纤维素 2.0 g,磷酸盐缓冲液(pH 7.4) 77 g。按“2.1”项方法共制备3份黄芩苷温敏凝胶,采用“2.2”项下方法测定胶凝温度分别为 35.3、35.4、35.3 ℃。

2.5 体外释放研究

2.5.1 检测波长的选择 精密称取黄芩苷对照品 2.5 mg 配制成 100 μg/mL 黄芩苷对照品的乙醇溶液。精密量取 1 mL 对照品溶液配制成 10 μg/mL 黄芩苷对照品溶液,于波长 200~600 nm,以 1 nm 为单位进行全波长扫描,图谱显示黄芩苷在 276 nm 波长处有最大吸收,故选择 276 nm 作为紫外检测波长,与文献报道^[10]一致。按“2.1”项下的方法制备空白温敏凝胶,精密量取 0.25 mL 加至 250 mL 量瓶中,然后在 200~600 nm 进行全波长扫描,结果表明辅料在 276 nm 波长处无干扰。

2.5.2 线性关系考察 分别精密量取“2.5.1”项下的黄芩苷对照品溶液 0.1、0.4、1.0、1.6、2.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配制成 1、4、10、16、20 μg/mL 的系列对照品溶液,以水为空白溶液,在 276 nm 波长处测定吸光度(A)值,以质量浓度为横坐标(C),A 值为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $A=0.063\ 1\ C-0.013\ 3$, $r=0.999\ 7$ 。表明黄芩苷在 1~20 μg/mL 线性关系良好。

2.5.3 精密度试验 精密量取适量黄芩苷对照品溶液,配制成质量浓度分别为 1、10、20 μg/mL 的对照品溶液,每个质量浓度配制 3 份,测定 A 值,结果 3 个质量浓度对照品溶液 A 值的 RSD 分别为 0.97%、0.49%、0.14%。

2.5.4 稳定性试验 取“2.5.6”项下体外释放研究获得的释放液,分别在 0、2、4、6、8 h 内对其 A 值进行测定,计算其 RSD 为 0.25%,表明释放介质中黄芩苷在 8 h 内稳定。

2.5.5 回收率试验 精密量取适量黄芩苷对照品溶液,配制成质量浓度分别为 5、10、20 μg/mL 的对照品溶液,每个质量浓度 3 份,测定 A 值,计算黄芩苷的量,与加入量进行比较,计算回收率得 3 个质量浓度的平均回收率分别为 100.57%、101.95%、100.34%,RSD 为 0.86%。

2.5.6 体外释放研究^[11-12] 黄芩苷温敏凝胶与原料

药体外释放速率的比较方法采用《中国药典》2010 年版^[13]桨法测定,转速为 100 r/min,温度为 (37±0.5) ℃,以 500 mL 蒸馏水为溶出介质。称取 10 mg 黄芩苷原料药粉以及优选黄芩苷温敏凝胶适量(相当于黄芩苷 10 mg)各 3 份置透析袋中,用塑料夹封口,置于溶出介质中。分别在 5、10、15、20、30、60、120、240、360、420 min 取样 5 mL,立即用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液 4 mL 待测,同时补充相同温度下保存的新鲜介质 5 mL。在 275 nm 波长下测定续滤液中黄芩苷的量,计算黄芩苷的累积释放量。结果表明温敏凝胶能明显提高黄芩苷的释药速率(图 1)。黄芩苷原料药的 120 min 时累积释放率只有 52.61%,而黄芩苷温敏凝胶的 120 min 体外累积释放率为 78.06%。

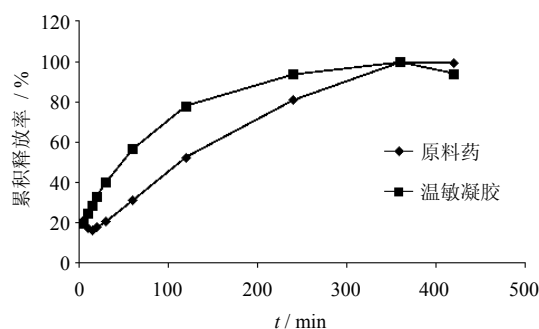


图 1 黄芩苷体外释放曲线

Fig. 1 *In vitro* release curves of baicalin

3 讨论

温敏凝胶制剂的关键在于获得较适宜的胶凝温度,而胶凝温度取决于所应用的温敏材料。泊洛沙姆 407 和泊洛沙姆 188 是最常用的两种温敏材料,其配合使用可获得优良的温敏凝胶剂。本研究也证实,当两者合用时,随着泊洛沙姆 407 比例增加,凝胶体系的胶凝温度降低;随着泊洛沙姆 188 比例的增大,胶凝温度升高,这与文献报道相一致^[14]。

本实验参照文献方法^[9]研究黄芩苷温敏凝胶时发现,黄芩苷的用量对温敏凝胶的胶凝温度有影响;且进一步研究发现,采用常用的温敏凝胶的处方,黄芩苷由于溶解度问题,制备的凝胶剂在放置过程中会出现沉淀,很难保持制剂的均匀性。因而在制备该制剂时,采用的溶剂为 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液。

制剂中载药量的选择既要考虑临床治疗浓度,还要考虑所制备制剂的稳定性,如果黄芩苷在本处方组成所制备的制剂中超过 2%时,放置一段时间

后会有黄芩苷晶体析出,既影响制剂的外观,又影响治疗效果。而结合临床用药需要可在给药体积上进行选择,即选定2%黄芩苷的温敏凝胶,每次给予几毫升。

另外,由于考虑药物制剂在黏膜或腔道的黏附性,通常在制剂中添加一些黏度调节剂,以增加药物在用药部位的滞留性,提高药物吸收量。而添加的黏度调节剂通常为海藻酸钠和纤维素衍生物^[15]。本实验发现,添加海藻酸钠和甲基纤维素会降低温敏凝胶的胶凝温度,因而在添加黏度调节剂的温敏凝胶制剂时,应当考虑适当增加一些能够提高胶凝温度的物质。

黄芩苷温敏凝胶体外释药研究发现,本实验所采用温敏材料对难溶性药物黄芩苷的溶出有促进作用,能加快黄芩苷的溶出速率,这可能与泊洛沙姆407和泊洛沙姆188均有表面活性作用有关。

总之,制备温敏凝胶剂,要对所加入的成分对胶凝温度的影响进行全面的考察,并考察添加成分对药物溶解度的影响,这样,才能保证制剂的温度敏感性和稳定性,从而制备优良的温敏凝胶剂。由于温敏凝胶原位胶凝的特点,所制备的黄芩苷温敏凝胶在使用上优于本课题组前期制备的黄芩苷脂溶性栓剂和水溶性栓剂^[16-17]。

参考文献

- [1] Srinivas N R. Baicalin, an emerging multi-therapeutic agent: pharmacodynamics, pharmacokinetics, and considerations from drug development perspectives [J]. *Xenobiotica*, 2010, 40(5): 357-367.
- [2] 杨得坡,胡海燕,黄世亮,等. 黄芩甙元和黄芩甙对皮肤真菌与细菌抑制作用的研究 [J]. *中药材*, 2000, 23(5): 272-274.
- [3] Hirunuma M, Shoyama Y, Sasaki K, *et al.* Flavone-catalyzed apoptosis in *Scutellaria baicalensis* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(8): 752-760.
- [4] Li-Weber M. New therapeutic aspects of flavones: the anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents wogonin, baicalein and baicalin [J]. *Cancer Treat Rev*, 2009, 35(1): 57-68.
- [5] Lai M Y, Hsiu S L, Tsai S Y, *et al.* Comparison of metabolic pharmacokinetics of baicalin and baicalein in rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(2): 205-209.
- [6] Ma S W, Zhao M, Liu H X, *et al.* Pharmacokinetic effects of baicalin on cerebral ischemia-reperfusion after iv administration in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(1): 53-57.
- [7] 郝吉福,赵雪梅,王建筑,等. 温度敏感型盐酸小檗碱眼用原位凝胶的制备研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(4): 550-555.
- [8] 陈美婉,余思琴,杨志文,等. 纳米银温敏喷雾凝胶的毒性试验研究 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(3): 174-178.
- [9] 宋成君,王莹,王春艳,等. 黄芩温度敏感凝胶剂的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(6): 628-631.
- [10] 光琴,袁慧,周亚球. 紫外分光光度法测定柴黄丸的溶出度 [J]. *安徽医药*, 2008, 12(11): 1036-1038.
- [11] Gaudin K, Barbaud A, Boyer C, *et al.* *In vitro* release and stability of an artesunate rectal gel suitable for pediatric use [J]. *Int J Pharm*, 2008, 353(1/2): 1-7.
- [12] 申去非,张莉,朱铁梁,等. 黄芩苷含量测定方法研究进展 [J]. *中医药信息*, 2009, 26(4): 14-16.
- [13] 中国药典 [S]. 二部. 2010.
- [14] 鞠凤阁,朱照静,王丽娟,等. 双氯芬酸钠眼用温敏凝胶的处方优化及体外释放 [J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(7): 541-545.
- [15] Choi H K, Jung J H, Ryu J M, *et al.* Development of *in situ*-gelling and mucoadhesive acetaminophen liquid suppository [J]. *Int J Pharm*, 1998, 165(1): 33-44.
- [16] 朱铁梁,张磊,张莉,等. 黄芩苷水溶性栓剂的制备及体外释放特性研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(8): 1-3.
- [17] 朱铁梁,张磊,张莉,等. 黄芩苷脂溶性栓剂的制备与质量控制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4): 16-18.