

· 药剂与工艺 ·

麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸的体外释放度研究

宋洪涛¹, 郭涛¹, 张汝华², 马燕², 李铤², 毕开顺²

(1. 沈阳军区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 考察麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸的体外释放度。方法 分别以 HPMC, Eudragit[®] L-30D-55, Eudragit[®] L100/S100 为包衣材料制备 pH 依赖型梯度释药微丸, 以冰片和人参总皂苷为检测指标, 按照《中国药典》2000 年版溶出度测定法, 在模拟人体胃肠道 pH 变化条件下进行释放度实验。结果 冰片和人参总皂苷释放度的 f_2 值为 79.6。结论 脂溶性成分冰片和水溶性成分人参总皂苷在缓释的同时基本上达到了同步释放。

关键词: 麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸; 冰片; 人参总皂苷; 体外释放度

中图分类号: R927.11 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-0978-04

Studies on release of pH-dependent gradient-releasing heart-protecting musk pellets *in vitro*

SONG Hong-tao¹, GUO Tao¹, ZHANG Ru-hua², MA Yan², LI Xian², BI Kai-shun²

(1. Department of Pharmacy, Shenyang Military General Hospital, Shenyang Liaoning 110016, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang Liaoning 110016, China)

Abstract Object To investigate the release of pH-dependent gradient-releasing heart-protecting musk pellets (GRHPMP) *in vitro*. **Methods** The pH-dependent GRHPMP was prepared by coating with hydroxy propylmethyl cellulose, Eudragit[®] L-30D-55 and Eudragit[®] L100/S100, respectively. The release of borneol and total ginsenoside from GRHPMP were determined according to method described in Chinese Pharmacopoeia (2000 ed) at simulated gastrointestinal pH conditions. **Results** The f_2 value of release data of borneol and total ginsenoside was 79.6. **Conclusion** The result suggested that, *in vitro*, the liposoluble borneol and watersoluble total ginsenoside could release simultaneously at a sustained rate.

Key words pH-dependent gradient-releasing heart-protecting musk pellets (GRHPMP); borneol; total ginsenoside; *in vitro* release

麝香保心丸由麝香、人参、冰片、蟾酥等 7 味中药组成, 具有芳香温通、益气强心之功能, 现代临床多用于心肌缺血引起的心绞痛、胸闷及心肌梗死^[1]。麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸是在将原处方中的 7 味药材提取精制制成微丸剂的基础上, 依据人体自然的生理条件, 采用可在不同 pH 条件下溶解的辅料作为包衣材料, 制备而成的 pH 依赖型包衣微丸, 以期随着微丸在人体胃肠道的转运而在不同的生理部位梯度释药, 从而达到缓释的目的。为考察复方中药中理化性质差异显著的各成分在缓释的同时是否达到同步释放, 本文以脂溶性成分冰片和水溶性成分人参总皂苷为测定指标, 对麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸进行了体外释放度研究

1 仪器与试药

GC-8A 型气相色谱仪, 日本岛津; UV-160A 型紫外分光光度计, 日本岛津; ZRD6-A 型药物智能溶

出度仪, 上海黄海药检仪器厂; TGL-16B 型高速台式离心机; YKHH 型液体快速混合器; AS5150A 型超声波清洗机; 微型流化床式包衣机, 自制

麝香保心微丸, 自制; Eudragit[®] L-30D-55, Eudragit[®] L100, Eudragit[®] S100 型甲基丙烯酸树脂, 德国 Rohm 公司; 60RT5 型羟丙基甲基纤维素 (HPMC, 粘度 5 cps), 肥城瑞泰精细化工有限公司; D101 型大孔吸附树脂, 天津制胶厂; 冰片、人参皂苷 Re, 中国药品生物制品检定所; 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 pH 依赖型梯度释药微丸的制备: 将适量麝香保心微丸加入微型流化床式包衣机的流化室内, 分别采用 60RT5 型 HPMC 水溶液、Eudragit[®] L-30D-55 水分散体和 Eudragit[®] L100/S100 水分散体进行包衣, 包衣完成后取出包衣微丸, 置 40℃ 恒温箱内烘干 2 h, 将 3 种包衣微丸按等量混合均匀即得。

2.2 冰片的测定方法

2.2.1 色谱条件: 固定液: 10% PEG-20M; 担体: chromosorb w Aw-DMCS 80~100目; 柱: 螺旋形玻璃柱 2.6 mm×3 m; 柱温: 145℃; 气化室温度: 210℃; 检测器: FID; 检测温度: 210℃; 氮气压力: 98 (OT) kPa; 氢气压力: 68.6 kPa; 空气压力: 49 kPa; 内标: 萘。

2.2.2 制剂中冰片的含量测定: 标准曲线的绘制: 精密吸取冰片对照品乙醇溶液 (2.06 mg/mL) 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05 mL置于5 mL容量瓶中, 各加入内标萘乙醇溶液 (2.00 mg/mL) 0.2 mL, 用无水乙醇稀释至刻度, 混匀, 进样 1 μ L, 在拟定色谱条件下进行测定, 以被测组分与内标的峰面积比为纵坐标, 以被测组分与内标的质量比为横坐标, 绘制标准曲线, 结果冰片在 20.6~412 μ g/mL范围内线性关系良好, 冰片 (以异龙脑与龙脑的峰面积和计算) 的相对校正因子为 1.4271, $RSD=1.1\%$ ($n=5$), 回归方程为 $Y=0.70502X+7.4916\times 10^{-3}$, $r=0.9999$

加样回收率实验: 精密量取冰片对照品溶液适量, 加入到样品粉末中, 混匀, 按样品含量测定法测定, 加样回收率为 98.6%, $RSD=1.3\%$ ($n=3$)

样品含量测定: 分别精密称取麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸 200 mg, 置 15 mL具塞离心管中, 加无水乙醇 10 mL, 超声提取 30 min, 过夜, 次日离心 10 min (2500 r/min), 上清液用微孔滤膜 (0.45 μ m) 过滤, 吸取续滤液作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 4.0 mL, 置 5 mL容量瓶中, 加内标溶液 0.2 mL, 补加乙醇至刻度, 混匀, 进样 1 μ L 测定峰面积, 计算其含量

2.2.3 在模拟人体胃肠道 pH 变化条件下制剂中冰片的释放度测定: 标准曲线的绘制: 量取释放介质 0.7 mL, 精密加入浓度分别为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/mL 的冰片对照品乙酸乙酯溶液各 10 μ L, 混匀, 精密加入萘乙酸乙酯溶液 (0.02 mg/mL) 290 μ L, 涡旋混匀 5 min, 离心 (5000 r/min) 10 min, 吸取上清液 1 μ L 进样进行 GC 测定, 以被测组分与内标的峰面积比为纵坐标, 以被测组分与内标的质量比为横坐标, 标准曲线回归方程为 $Y=0.73007X-2.6804\times 10^{-3}$, $r=0.9998$ 回收率为 99.1%, $RSD=1.8\%$ ($n=3$)

释放度测定法: 按《中国药典》2000年版二部溶出度测定法第三法装置, 将溶出杯密闭, 温度 (37±0.5)℃, 转速 100 r/min, 释放介质 300 mL, 分别在 pH 1.2 条件下实验 3 h, pH 6.6 条件下实验 2 h, pH

7.5 条件下实验 3 h, 并分别于设定时间经 0.8 μ m 的微孔滤膜滤过取样, 取样量为 1.0 mL, 同时补加 1.0 mL 同温介质。精密吸取样品溶液 0.7 mL, 精密加入萘乙酸乙酯溶液 (0.02 mg/mL) 0.3 mL, 涡旋混匀 5 min, 离心 (5000 r/min) 10 min, 吸取上清液 1 μ L 进样进行 GC 测定。以样品中实际含量为 100%, 计算冰片的累积释放百分率, 见图 1

2.3 人参总皂苷的测定方法

2.3.1 制剂中人参总皂苷的含量测定: 标准曲线的绘制: 精密吸取人参皂苷 Re 对照品甲醇溶液 (1.00 mg/mL) 20, 40, 80, 120, 160, 200 μ L, 分别置于 6 支具塞磨口试管中, 低温挥去溶剂, 加入 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL, 高氯酸 0.8 mL, 于水浴 60℃ 保温 15 min, 取出, 置冰浴中冷却 2~3 min, 再加入冰醋酸 5 mL, 摇匀, 随行试剂空白, 在 560 nm 波长处测定吸光度。以吸光度 (Y) 对质量 (X, μ g) 绘制标准曲线。结果, 人参皂苷 Re 在 20~200 μ g 范围内线性关系良好, 回归方程为 $Y=4.538\times 10^{-3}X-0.03498$, $r=0.9999$

加样回收率试验: 取样品粉末数份, 分别精密加入适量人参皂苷 Re 对照品, 依法提取测定, 计算加样回收率为 97.2%, $RSD=1.7\%$ ($n=3$)

样品含量测定: 称取麝香保心 pH 依赖型梯度释药微丸适量, 研细, 精密称取粉末 5 g, 加无水乙醇 100 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸至约 5 mL 时加入 2 g 硅藻土拌匀, 蒸干, 置索氏提取器中, 用氯仿加热回流脱脂 2 h, 脱脂粉末再用甲醇连续回流提取 5 h, 回收甲醇至干, 残渣用适量水溶解, 移入已净化处理的氧化铝 -D₁₀ 型大孔吸附树脂柱上, 加水冲洗至无多糖反应为止, 再用 70% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 定量转移至 10 mL 量瓶内, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 40 μ L, 依法测定, 计算含量

2.3.2 在模拟人体胃肠道 pH 变化条件下制剂中人参总皂苷的释放度测定: 按《中国药典》2000年版二部溶出度测定法第三法装置, 释放介质 300 mL, 温度 (37±0.5)℃, 转速 100 r/min, 分别在 pH 5.0 条件下实验 3 h, pH 6.6 条件下实验 2 h, pH 7.5 条件下实验 3 h, 并分别于设定时间经 0.8 μ m 的微孔滤膜滤过取样, 取样量为 2.0 mL, 同时补加 2.0 mL 同温介质。样品溶液用 10 mL 氯仿分 3 次萃取, 弃去氯仿液, 水溶液过已净化处理的氧化铝 -D₁₀ 型大孔吸附树脂柱, 水冲洗后再用 70% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣按照人参总皂苷的测定方法进行

UV测定。以样品中实际含量为100%,计算人参总皂苷的累积释放百分率,释放度曲线见图1。

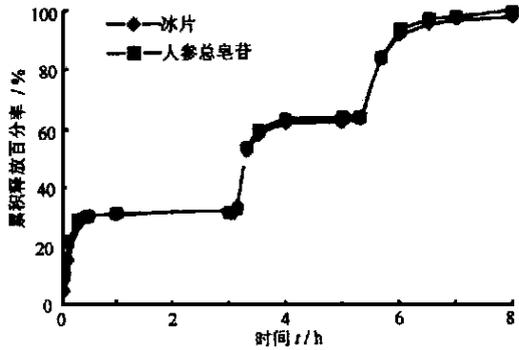


图1 在模拟人体胃肠道pH变化条件下麝香保心pH依赖型梯度释药微丸中冰片和人参总皂苷的释放度曲线

2.4 冰片和人参总皂苷体外释放的相关性:比较某一制剂与参比制剂释放度差异或两条释放曲线差异性的方法有多种,如比较释药时间($t_{50\%}$)、平均溶出时间(MDT $_{50\%}$)法,相似因子(f_2)或差异因子(f_1)法,以及模型依赖法等,其中 f_2 是一种较好的区分释放度差异的方法^[2-4]。计算 f_2 的公式如下:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{i=1}^n W_i (R_i - T_i)^2 \right]^{0.5} \times 100 \right\}$$

其中, R_i 为对照制剂 t 时间的累积释药百分率, T_i 为试验制剂 t 时间的累积释药百分率, n 为释放度试验的取样次数, W_i 为权重因子(所有数据点同等对待时 $W_i = 1.0$)。

f_2 值可灵敏地反映出制剂的释放度差异, f_2 值越大,两种制剂的体外释放度越接近, $f_2 = 100$ 时,两种制剂的释放度完全相同。随 f_2 值减小,两制剂的释放度差异增大。这种比较释放度相似性的方法已为美国FDA的“药物评价与研究”中心”采纳,认为当 f_2 值在50~100之间时两种制剂释放度相似。本文采用 f_2 值比较释药曲线的差异。

结果,人参总皂苷与冰片释放度的 f_2 值为79.6,二者在模拟人体胃肠道pH变化条件下的释放度无显著性差异。

3 讨论

迄今为止,复方中药缓释制剂的研究一直未取得突破性进展,究其原因,关键在于如何使复方中药中理化性质差异显著的各成分在缓释的同时达到同步释放。麝香保心微丸由7味中药材组成,其化学成分非常庞杂,理化性质差异巨大,既有水溶性成分,如人参总皂苷等,又有脂溶性成分,如冰片、麝香酮

等。这些成分治疗冠心病心绞痛的机制互不相同,各有千秋,只有在体内同步释放、吸收才能达到复方中药君臣佐使相互协同、相辅相成的目的,也才能与中医用药的整体观相吻合,将其中的任何一个环节割裂开来,均会违背中医药的基本理论与用药精髓,影响药物疗效的发挥与临床治疗效果。

通过pH敏感无线电遥测技术,现在已基本了解了人体胃肠道的pH变化情况,胃内的pH一般在1.2~5之间,十二指肠pH值一般为 6.63 ± 0.53 ,空肠pH值一般为 7.4 ± 0.36 ,回肠pH值一般为 7.49 ± 0.46 ,结肠pH值一般为 6.63 ± 0.67 ^[5,6]。此外,已有文献报道,微丸的平均胃排空时间在禁食状态下一般为1~3h,标准餐后一般为2~4h;小肠平均转运时间一般为3h左右,禁食与否对微丸的小肠转运时间影响不大;微丸口服后平均结肠到达时间为5~7h^[7]。

为此,我们根据人体自然的生理条件,采用在不同的pH条件下溶解的pH依赖型辅料丙烯酸树脂作为包衣材料^[8,9],制备了二种包衣微丸,一种采用Eudragit[®]L-30D-55包衣,在 $pH > 5.5$ 时溶解,以期在十二指肠部位崩解释药;一种采用Eudragit[®]L100与Eudragit[®]S100的混合物作为包衣材料,使其在 $pH > 6.8$ 时溶解,以期在空回肠部崩解释药。另外一部分微丸包以水溶性辅料HPMC,以期在胃内崩解释药。上述3种微丸按一定比例混合装入胶囊中,制备成一种具有pH依赖性质的可望梯度释药的缓释制剂。

由于人参皂苷在pH1.2的盐酸溶液中可发生水解^[10],故对于HPMC包衣微丸,采用的释放介质为pH5.0磷酸盐缓冲液,通过冰片的释放实验可知,介质的pH对HPMC薄膜衣的溶解几乎没有影响,故可以预计,HPMC包衣微丸中人参总皂苷的释放在pH5.0与在pH1.2介质中没有差异。人参总皂苷的释放速率稍快于冰片,这与人参总皂苷水溶性较大是有关的。通过在模拟人体胃肠道pH变化条件下的释放度实验证明,由于pH依赖型梯度释药微丸的溶出是受pH控制的,故水溶性的人参总皂苷与脂溶性的冰片除在释放开始时有所差异外,在其它时间段的释放是基本同步的,由此也可以推测,麝香保心pH依赖型梯度释药微丸中性质差异很大的各种成分基本上可以在缓释的同时达到同步释放,从而使最初的设想得以实现。

参考文献:

[1] 中国药典[S].2000年版.一部.

- [2] Pillay V, Fassihi R. Evaluation and comparison of dissolution data derived from different modified release dosage forms: an alternative method[J]. *J Contr Rel*, 1998, 55: 45-55.
- [3] Moore JW, Flanner H H. Mathematical comparison of dissolution profiles[J]. *Pharm Technology*, 1996, 20(6): 64-74.
- [4] Polli J E, Reki G S, Augsburg L L, *et al.* Methods to compare dissolution profiles and a rationale for wide dissolution specifications for metoprolol tartrate tablets [J]. *J Pharm Sci*, 1997, 86(6): 690-700.
- [5] Evans D F, Pye G, Bramley R, *et al.* Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects [J]. *Gut*, 1988, 29: 1035-1041.
- [6] Peter J Watts, Lisbeth I. Colonic Drug Delivery [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 1997, 23(9): 893-913.
- [7] Clarke G M, Newton J M, Short M B. Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density [J]. *Int J Pharm*, 1995, 114: 1-11.
- [8] Khan M Z, Prebeg Z, Kurjakovic N. A pH-dependent colon targeted oral drug delivery system using methacrylic acid copolymers. I. Manipulation of drug release using Eudragit L 100-55 and Eudragit S100 combinations [J]. *J Contr Rel*, 1999, 58(2): 215-222.
- [9] Khan M Z, Stedul H P, Kurjokovic N. A pH-dependent colon-targeted oral drug delivery system using methacrylic acid copolymers. II. Manipulation of drug release using Eudragit L 100 and Eudragit S100 combinations [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2000, 26(5): 549-554.
- [10] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins-IV. Decomposition of ginsenoside-Rg₁ and Rb₁ in the digestive tract of rats [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 31(10): 3691-3697.

HPLC法测定麻黄汤分煎及合煎汤剂中甘草酸含量

曹佩雪¹, 梁光义¹, 徐必学¹, 靳风云², 贺祝英²

(1. 中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 测定麻黄汤分煎、合煎汤剂中甘草酸含量。方法 采用 HPLC法测定麻黄汤分煎与合煎液中甘草酸的含量。选 Hypersil C₁₈柱, 流动相: 乙腈-0.1% 乙酸水溶液 (33: 67), 检测波长 254 nm。结果 分煎液甘草酸平均回收率为 102.43%, *RSD* = 2.65%; 合煎液甘草酸平均回收率为 99.4%, *RSD* = 3.1%。结论 方法简便、准确, 复方中其它成分对测定无干扰。

关键词: 甘草酸; 麻黄汤; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-0981-03

Determination of glycyrrhizic acid in MAHUANG DECOCTION* by HPLC when decocted separately or as a whole

CAO Pei-xue¹, LIANG Guang-yi¹, XU Bi-xue¹, JIN Feng-yun², HE Zhu-ying²

(1. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products, Chinese Academy of Sciences, Guiyang Guizhou 550002, China; 2. Guiyang College of TCM, Guiyang Guizhou 550002, China)

Abstract Object To determine the content of glycyrrhizic acid obtained when each individual ingredient in MAHUANG DECOCTION was decocted separately and then mixing the extracts with boiling water in comparison with that obtained by decocting the total composition together as a whole in the traditional way. **Methods** The contents of glycyrrhizic acid was determined by HPLC. Hypersil C₁₈ column was used, with acetonitrile: 0.1% acetic acid (33: 67) as the mobile phase and detected at the wavelength of 254 nm. **Results** The average recovery of glycyrrhizic acid when separately decocted was 102.43%, *RSD* = 2.65%, while that of decoction in whole was 99.4%, *RSD* = 3.1%. **Conclusion** The method was simple and accurate and was not interfered by other constituents in the prescription.

Key words glycyrrhizic acid; MAHUANG DECOCTION (*Ephedra* decoction); HPLC

* MAHUANG DECOCTION (*Ephedra* decoction) was composed of *Herba Ephedrae*, *Ramulus Cinnamomi*, *Semen Armeniacae Amarum*, and *Radix Glycyrrhizae Praeeparata*.

收稿日期: 2001-03-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39960083)

作者简介: 曹佩雪, 女, 98级在读研究生, 1995年毕业于贵阳中医学院药学院, 主要研究方向为中药复方化学成分的研究

*通讯联系人