

白芍总苷缓释滴丸的制备研究

李 宁,冯兆佳,叶秀金,高崇凯*

(广东药学院,广东 广州 510006)

摘要:目的 通过优化设计,研究白芍总苷缓释滴丸的处方和制备方法。方法 以滴丸的硬度、圆整度和黏连度为评价指标,采用正交试验考察影响滴丸成型的因素。以 12 h 的累积释放度为指标,采用均匀设计试验确定渗透性丙烯酸树脂缓释包衣的最佳工艺和包衣组成。结果 白芍总苷缓释包衣滴丸和体外释放符合缓释设计的要求,体外 12 h 间隔的释放度符合一级动力学缓释特征。结论 以渗透性丙烯酸树脂包衣的白芍总苷缓释滴丸制备工艺简便,具有良好的缓释特征。

关键词:白芍总苷缓释滴丸;处方优化;正交试验;体外释放;均匀试验

中图分类号:R286.02 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)09-1388-05

Preparation of sustained-release dropping pills of total glucosides in *Radix Paeoniae Alba*

LI Ning, FENG Zhao-jia, YE Xiu-jin, GAO Chong-kai

(Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

Abstract : Objective To optimize the formulation in preparation of dropping pills with total glucosides in *Radix Paeoniae Alba* and evaluate its accumulative release percentage *in vitro*. **Methods** With the hardness, roundness, and adhesion as the evaluation, orthogonal design was conducted. With dissolution rate of 12 h as the indices, according to the uniform design, the optimum coating formulation of Eudragit RL and RS was established. **Results** The dropping pills met the criterion of formulation, and the preparation release met the characteristics of the sustained release of the first order kinetics. **Conclusion** The optimal formulation is simple, which provides the basis for further development of new preparations of total glucosides in *Radix Paeoniae Alba*.

Key words : sustained release dropping pills of total glucosides in *Radix Paeoniae Alba*; prescription optimizing; orthogonal test; release *in vitro*; uniform test

白芍总苷是从毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根中提取精制得到的主要有效部位,能多途径抑制自身免疫反应,对免疫性炎症疾病疗效良好,还具有保肝、止痛功效^[1]。白芍总苷胶囊主要用于治疗风湿性关节炎、系统性红斑狼疮,每日需服 2~3 次,但是腹泻的不良反应发生比例较高^[2,3]。将白芍总苷制成 12 h 控制释放的缓释滴丸,可以维持体内平稳血药浓度,降低不良反应发生的频率和强度。因此本实验利用固体分散体技术,采用正交试验法筛选处方,使用滴制法制备白芍总苷滴丸,并进行包衣,以均匀设计法优选包衣条件,控制溶出的最佳条件,使其具有体外缓释的动力学特征,为白芍总苷新制剂的开发提供了依据。

1 仪器与试药

滴丸机(自制);智能溶出试验仪(天津天大天发科技有限公司);UV—1700 紫外分光光度计(Shimadzu 公司);Shimadzu 公司高效液相色谱仪,包括 LC—10ATVP 泵、SPD—10AVP 紫外检测器;HW—2000 色谱工作站(南京千谱软件有限公司);BY—40U 型糖衣机(泰州市金台制药机械有限公司)。

白芍总苷原料药(深圳三九医药股份有限公司,含芍药苷 39.7%);芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110736-200527);甲醇、乙腈为色谱纯,其他均为分析纯试剂,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 白芍总苷的紫外分光光度法测定

* 收稿日期:2008-11-15

作者简介:李 宁(1959—),女,辽宁沈阳人,副教授,1983 年毕业于沈阳药科大学化学制药专业,留校担任物理化学教师,1993—2003 年在三九集团医药研究院从事新药开发,现在广东药学院药物分析教研室进行教学与科研工作,主要研究方向为色谱方法学研究及药物新剂型和质量标准研究。Tel:(020)39352136

* 通讯作者 高崇凯 Tel:(020)39352117 E-mail:godck@tom.com

2.1.1 测定波长的选择:通过紫外扫描,白芍总苷在 220 nm 有最大吸收,故选择此波长为测定波长。按各处方比例称取辅料配制成水溶液,在 200~400 nm 扫描,辅料无干扰。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 至恒重的芍药苷对照品约 19.40 mg,置 25 mL 量瓶中,用蒸馏水溶解并稀释至刻度,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后,吸取 2 mL 该溶液置 25 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。

2.1.3 线性关系和回归方程:精密吸取芍药苷对照品储备液 1.2、1.5、1.8、2.1、2.4、2.7 mL 于 10 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度;以水作为空白对照,于 220 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $C = 51.5133A - 1.3217$, $r = 0.9996$,线性范围为 17.2~38.9 μg/mL。

2.2 芍药苷的高效液相色谱法测定^[4]

2.2.1 色谱条件:Diamondsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-水-冰乙酸(10:10:80:0.1);体积流量:1.0 mL/min;柱温:35℃;检测波长:230 nm;进样量:10 μL。

2.2.2 标准曲线的制备:称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 芍药苷对照品约 5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度。分别吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,依次进样 10 μL,测定峰面积。以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $A = 4.963C + 1.0168$, $r = 0.9999$ 。结果表明芍药苷在 20~100 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.3 溶出度的测定:采用《中国药典》2005 年版二部附录溶出度测定法第一法转篮法,经脱气处理的 900 mL 水作为溶出介质,转速为 100 r/min,温度为 (37 ± 0.5)℃,分别在 2、4、6、8、10、12 h 时吸取溶液 8 mL,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,以蒸馏水为空白在 220 nm 处测定吸光度,代入回归方程,计算白芍总苷的累积溶出度。

2.4 硬度的测定:使用游标卡尺测定 10 粒滴丸的粒径,然后取 10 粒滴丸置一个平面放置,于滴丸上放一玻片,然后在玻片上加适当质量的砝码,放置 10 min 后,测定滴丸的粒径。根据粒径变化确定硬度。粒径变化越小,说明硬度越大。

2.5 滴丸制备工艺的优化:本实验以聚乙二醇 6000(PEG6000)为备选基质。根据白芍总苷及滴丸剂基质的理化性质特点,经过预试验表明,以聚乙二

醇 6000(PEG6000)作基质并加入少量的聚乙二醇 400(PEG400)防止滴丸龟裂,滴丸的硬度和耐热性均较好,故选择了 PEG6000 作为基质,滴丸成型情况较好。将白芍总苷与基质不同比例混合制备滴丸,其他条件固定,观察指标,结果合适的比例范围为药物与基质的质量比为 1:8。

2.5.1 滴丸的制备:按处方称取相应的白芍总苷原料和 PEG6000,将 PEG6000 在 80℃ 水浴中熔融,再加入白芍总苷无水乙醇液,充分混匀,加热挥发乙醇,保温减压脱乙醇,药液放入保温储液罐中,80℃ 保温下将熔化的混合物滴入到冷凝的二甲基硅油(冷凝液上部温度为 50℃,中部温度为室温,底部温度为 0℃)中,滴距为 5 cm,滴速为 (20 ± 3) 滴/min,冷凝固化成丸,取出沥干后,滤纸吸取剩余的二甲基硅油,即得白芍总苷滴丸。

2.5.2 正交设计筛选滴丸处方:在预试验的基础上,选出对滴丸成型影响较明显的 3 个因素,采用 L₉(3⁴) 正交表进行试验,以滴丸的丸重差异系数和外观质量作为评价指标。因素水平选择见表 1,实验结果见表 2,方差分析见表 3。

滴丸的质量考核包括溶散时间、丸重差异和外观质量等。外观质量包括圆整度、黏连度、硬度等。

表 1 滴丸处方选择的因素与水平

Table 1 Factors and levels in selection of dropping pills prescription

水平	因素		
	A PEG6000 与 PEG400 比例/(g·g ⁻¹)	B 药物与基质 比例/(g·g ⁻¹)	C 料温/℃
1	1:0.05	1:7.5	75
2	1:0.15	1:8	80
3	1:0.30	1:8.5	85

表 2 处方选择的正交试验优化及结果

Table 2 Orthogonal test and results in selection of dropping pills prescription

试验号	A	B	C	D	丸重变异系数/ % (n=20)	外观质量			综合评分
						圆整度	黏连度	平均得分	
1	1	1	1	1	3.0	9	7	8.0	11.0
2	1	2	2	2	2.7	1	1	1.0	3.7
3	1	3	3	3	5.3	4	2	3.0	8.3
4	2	1	2	3	7.1	2	8	5.0	12.1
5	2	2	3	1	4.7	7	3	5.0	9.7
6	2	3	1	2	4.6	8	5	6.5	11.1
7	3	1	3	2	8.5	5	6	5.5	14.0
8	3	2	1	3	3.6	3	9	6.0	9.6
9	3	3	2	1	6.0	6	4	5.0	11.0
K ₁	23.0	37.1	31.7	31.7					
K ₂	32.9	23.0	26.8	28.8					
K ₃	34.6	60.4	32.0	30.0					
R	3.87	4.70	1.73	0.97					

圆整度即滴丸的最短径/最长径,数值越接近 1,质量越好。根据所得数据由圆到不圆分为 1~9 级,黏连度也由好到差分为 1~9 级。因实验结果的硬度差别不大,且溶散时间均在 15 min 内,故硬度和溶散时间不作为评价指标。综合评分越低,质量越好。

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	26.16	2	13.08	18.42	$P < 0.05$
B	33.16	2	16.58	23.35	
C	56.80	2	2.84	4	
D	1.41	2	0.71		

$$F_{0.05}(2,2) = 19.00 \quad F_{0.01}(2,2) = 99.00$$

可见影响滴丸成型的主次因素为 $B > A > C$, B 因素对其有显著性影响。最佳条件为 $A_1B_2C_2$, 即 PEG6000 与 PEG400 比例为 1:0.05, 药物与基质比例为 1:8, 料温为 80℃。

2.6 工艺验证试验:按照优选出的工艺条件,重复制备 3 批白芍总苷滴丸,所得滴丸外观质量和丸重差异符合《中国药典》2005 年版附录滴丸的质量标准。

2.7 缓释包衣滴丸制备:称取适量乙基纤维素(ethylcellulose, EC)和丙烯酸聚合物(Eudragit RL100 和 RS100)加入 95%乙醇溶液中,超声直至溶解后,加入适量邻苯二甲酸二乙酯,搅拌混合溶解,即得。

称取适量的白芍总苷滴丸置包衣锅内,控制转速(10 r/min)和温度(30~35℃),以一定速度喷液包衣。包衣完成后,在 30℃鼓风固化 12 h,即得包衣滴丸。

根据预试验结果,选择一个有代表性的处方:白芍总苷与 PEG 6000 质量比为 1:8,包衣液的处方为 EC、Eudragit RL、Eudragit RS、95%乙醇的质量比为 5:2:3:190,DEP 的固含量为 10%,进行缓释滴丸的单因素考察。

2.7.1 包衣材料性质和用量对释放度的影响:包衣材料中加入 EC 可以调整药物的释放速度,加入增塑剂可调整 EC 的渗透性。药物释放遵守 Fick's 定律,经过给定时间,药物扩散的速度取决于缓释膜的厚度和表面积。改变剂型溶出性能的一个有效办法即改变包衣材料的用量,EC 加入量的增加使药物释放度明显降低,见图 1。

2.7.2 丙烯酸树脂对释放度的影响:虽然含季铵基团的渗透型树脂在水中不溶,但季铵盐基具有很强的亲水性,使其具有一定的水渗透溶胀性质。季铵基团比例越高,渗透性越大,故渗透型树脂分为丙烯

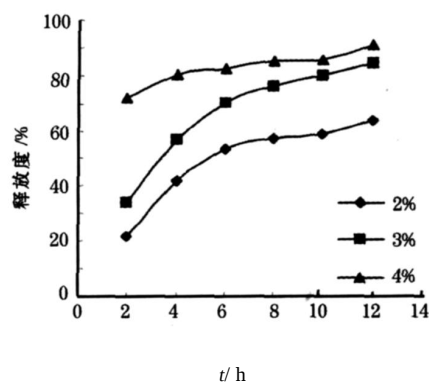


图 1 包衣材料用量对释放度的影响

Fig 1 Effect of different coating material consumption on drug release

酸树脂(Eudragit) RL 和 RS 两种,它们只存在对水渗透性的差异。混合两种材料是获得理想释放曲线的有效途径,见图 2。结果表明 RL 与 RS 的质量比为 1:2.5 时,释放曲线较为理想。

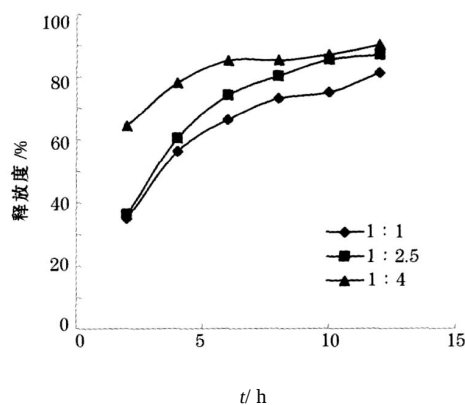


图 2 Eudragit RL、RS 的不同比例量对释放度的影响

Fig 2 Effect of different ratios of Eudragit RL and RS on drug release

2.7.3 增塑剂用量对释放度的影响:增塑剂对薄膜衣形成及最终结构有关键作用。增塑剂可增加包衣材料的渗透性能,并影响药物通过衣膜的分配和扩散,增塑剂的添加量对药物的释放有显著的影响,增塑剂的增加使药物的释放显著加快。结果见图 3。

2.7.4 均匀设计筛选处方:确定考察 EC 的用量(A)、Eudragit RL 和 RS 的质量比(B)、邻苯二甲酸二乙酯的用量(C)以及衣膜的增重(D) 4 个因素。将因素 B 分成 9 个水平,因素 A、C、D 不便等分成 9 个水平,只均分成 3 个水平,各循环 3 次拟合成 9 个水平,见表 4。

采用 $U_9(9^4)$ 均匀设计表,根据 $U_9(9^4)$ 的使用表,选用第 1、2、3、5 列,将对应的各因素的水平填入表内,试验方案见表 5。均匀设计试验释放结果见图 4。

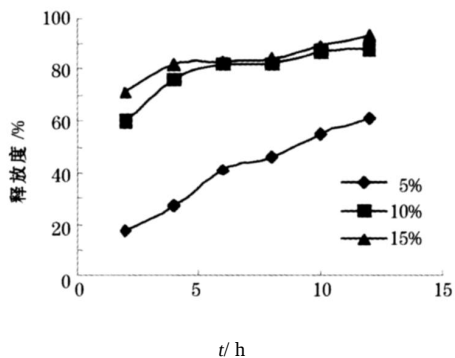


图 3 增塑剂用量对释放度的影响

Fig 3 Effect of different plasticizer ratios on drug release

表 4 缓释滴丸处方考察的因素水平

Table 4 Factors and levels in selection of sustained-release dropping pills prescription

水平	因 素			
	A/ g	B/ (g · g ⁻¹)	C/ %	D/ %
1	3	1 1.0	5	2
2	4	1 1.5	10	3
3	5	1 2.0	15	4
4	3	1 2.5	5	2
5	4	1 3.0	10	3
6	5	1 3.5	15	4
7	3	1 4.0	5	2
8	4	1 4.5	10	3
9	5	1 5.0	15	4

表 5 缓释滴丸处方考察 U₉(9⁴) 均匀设计试验方案及结果

Table 5 U₉(9⁴) Uniform design and test results in investigation of sustained-release dropping pills prescription

试验号	A	B	C	D	紫外法测定	
					结果 (Y ₁)	结果 (Y ₂)
1	1(3)	2(1 1.5)	5%	2%	57.41	70.49
2	2(4)	4(1 2.5)	10%	3%	5.56	11.86
3	3(5)	6(1 3.5)	15%	4%	65.89	58.62
4	4(3)	8(1 4.5)	5%	2%	5.84	8.39
5	5(4)	1(1 1.0)	10%	3%	43.26	28.99
6	6(5)	3(1 2.0)	15%	4%	46.35	49.29
7	7(3)	5(1 3.0)	5%	2%	102.6	107.96
8	8(4)	7(1 4.0)	10%	3%	6.68	10.13
9	9(5)	9(1 5.0)	15%	4%	70.10	68.14

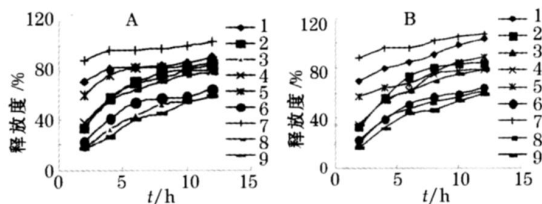


图 4 UV(A) 和 HPLC(B) 测定均匀设计试验释放结果

Fig 4 Release results of uniform design determined by UV (A) and HPLC (B)

优化指标 $Y = |Y_2 - 35| + |Y_6 - 67| + |Y_{10} - 80|$ 。利用 BASIC 语言编制的多元回归程

序,在微机上,将表 5 中各因素的水平对 HPLC 法测定结果进行回归处理,得到回归方程: $Y = 952.17 + 161.3 X_1 - 21.8 X_2 - 1100 X_3 + 1566.7 X_4$, $R = 0.9415$, $F = 7.806 > F_{0.05} = 6.39$, $S = 0.9956$ ($n = 9$)。UV 法: $Y = 1003.21 + 182.1 X_1 - 24.7 X_2 - 943.5 X_3 + 1244 X_4$, $R = 0.8912$, $F = 7.452 > F_{0.05} = 6.39$, $S = 0.9220$ 。方程显著有效。最佳处方: $X_1 = 4$, $X_2 = 1$, $X_3 = 10$, $X_4 = 3$, 即 EC 的用量为 4 g, 丙烯酸树脂 RL 和 RS 的质量比为 1:4, 邻苯二甲酸二乙酯的用量为 10%, 衣膜的增重为 3%。优化试验结果见图 5。

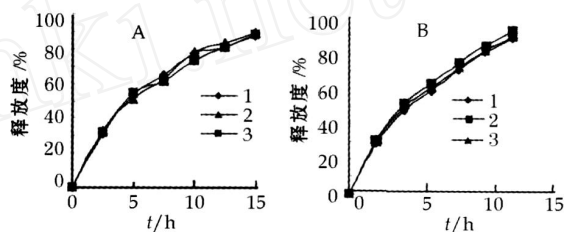


图 5 HPLC 法(A) 和 UV 法(B) 测定的优化试验结果

Fig 5 Optimum of test results by HPLC (A) and UV (B) methods

用不同的动力学方程对芍药苷的释放度与时间进行拟合,结果零级方程 $r = 0.9787$; Higuchi 方程 $r = 0.9929$; 一级方程 $r = 0.9952$ 。所以缓释滴丸中芍药苷的释放符合一级动力学过程。结果显示以芍药苷为指标性成分的 HPLC 法和以总苷成分的紫外分光光度法测定的药物释放度均具有良好的致性。

3 讨论

采用正交试验优化缓释滴丸制备工艺时,处方筛选普遍采取两种方案:一种是以药物释放度为指标,同时兼顾圆整度、硬度,筛选速释、缓释基质;另一种是以圆整度、硬度、易滴制程度为主要指标筛选成型基质,再以药物释放度为指标确定药物与基质配比。以成型性为出发点制备的滴丸的成型性较好,且较易滴制。

白芍总苷原料除了活性成分芍药苷外,仍保留一部分低相对分子质量的多糖,这些成分遇湿后,极易胶化成团,所以其他途径的制粒工艺对于该药均不适合,而滴丸工艺简便易行,工艺重现性好。但滴丸药物的容纳量低是不足之处。

以 Eudragit RL 和 RS 型为渗透性包衣材料,调整两者间的比例来控制药物的释放速度。由于滴丸基质熔点较低,在包衣中容易融化造成滴丸黏连,加入乙基纤维素可明显改善这一缺陷,而且,乙基纤维

素在膜中可调节药物的释放速度。

参考文献:

- [1] 谷满仓,钱亚芳,吕圭源,等. 白芍的化学成分及质量控制方法研究进展[J]. 科技通报,2006,22(3):337-341.
[2] 陈丽华. 白芍总苷治疗类风湿性关节炎[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(7): 444-446.

- [3] 闵伟琪,魏 琴,李洪毓. 白芍总苷治疗类风湿关节炎的多中心临床研究[J]. 中华风湿病学杂志,2005,9(8):487-491.
[4] 李 宁,刘 利,高崇凯. 白芍总苷微孔渗透泵片中芍药苷的含量测定[J]. 广东药学院学报,2007,23(6):633-634.

高速逆流色谱分离纯化钩吻中钩吻素己和 1-甲氧基钩吻碱

沈 洁,苏燕评,许 盈,刘 浩,刘 铭,俞昌喜*

(福建医科大学药学院 药理学系,福建 福州 350004)

摘 要:目的 建立高速逆流色谱技术分离纯化钩吻素己和 1-甲氧基钩吻碱的方法。方法 采用高速逆流色谱分离技术分离纯化钩吻生物碱单体,以氯仿-甲醇-0.1 mol/L HCl(4:4:2)为溶剂体系;高效液相色谱技术分析所提产物的质量分数;核磁共振谱、质谱分析确证单体的化学结构。结果 从 300 mg 钩吻总碱中经过一次高速逆流色谱技术分离纯化获得 19.4 mg 钩吻素己和 21.2 mg 1-甲氧基钩吻碱,质量分数分别为 95.4%、98.6%;经过电喷雾质谱及核磁共振的结构鉴定分析,证实分离得到的两种生物碱分别是钩吻素己和 1-甲氧基钩吻碱。结论 高速逆流色谱技术可高效分离纯化钩吻素己和 1-甲氧基钩吻碱,为钩吻生物碱的研发提供了制备技术。

关键词:钩吻;钩吻素己;1-甲氧基钩吻碱;高速逆流色谱

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1392-04

Isolation and purification of gelsenicine and gelsevirine from *Gelsemium elegans* by high-speed counter-current chromatography

SHEN Jie, SU Yan-ping, XU Ying, LIU Hao, LIU Ming, YU Chang-xi

(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract : Objective To establish a new technique of high-speed counter-current chromatography (HSCCC) for isolation and purification of gelsenicine and gelsevirine. **Methods** The compounds were isolated and purified by HSCCC, using chloroform-methanol-0.1 mol/L hydrochloric acid (4:4:2) as the two-phase solvent system. The purity of the compounds was analyzed by HPLC. The structures of the compounds were confirmed by ESI-MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR. **Results** Gelsenicine (19.4 mg) and gelsevirine (21.2 mg) were successfully obtained from crude extract (300 mg) of *G. elegans* in one-step separation, with purities of 95.4% and 98.6% by HPLC, respectively. The structures of gelsenicine and gelsevirine were identified by ESI-MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR. **Conclusion** These results indicate that HSCCC is a very powerful technique for the isolation and purification of gelsenicine and gelsevirine.

Key words: *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth; gelsenicine; gelsevirine; high-speed counter-current chromatography (HSCCC)

钩吻为马钱科钩吻属植物钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth. 全草,盛产于闽、粤、桂等地,具有广泛的临床药用价值,但因其毒性大一直以外用治疗为主。钩吻的主要有效成分为吲哚类生物碱。钩吻总生物碱具有显著的抗肿瘤、镇静、镇

痛、促进造血、抑制血小板聚集、免疫抑制等作用^[1-2],但其有效量与中毒量较为接近,限制了临床应用。钩吻素己(图 1-A)为钩吻生物碱中毒性最强的单体^[3]。1-甲氧基钩吻碱(图 1-B)为甲氧基取代钩吻素甲,其药理作用未见文献报道。用于分离纯

* 收稿日期:2009-02-06

基金项目:福建省科技计划重点项目(2007Y0018);福建医科大学教授学术发展基金资助项目(JS06027)

作者简介:沈 洁(1983—),女,福建长汀人,硕士研究生,主要从事神经精神药物药理学研究。

*通讯作者 俞昌喜 Tel/Fax:(0591)83569311 E-mail:changxiyu@mail.fjmu.edu.cn