

• 制剂与质量 •

珍珠菜总黄酮渗透泵控释片的制备研究

游本刚, 潘海敏, 许琼明, 唐丽华*, 杨世林

(苏州大学医学部药学院, 江苏 苏州 215123)

摘要: 目的 制备珍珠菜总黄酮提取物渗透泵控释片。方法 以芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷为指标, 通过体外释放度试验对衣膜处方及孔变量进行单因素考察, 并通过均匀设计对衣膜处方进行优化。结果 衣膜增重、衣膜中 PEG400 及邻苯二甲酸二丁酯的用量是影响药物释放的主要因素, 二者用量分别为醋酸纤维素的 45% 及 8.5%, 所制得的渗透泵控释片呈现良好的零级释药特征。结论 该处方工艺简便可行, 所制得渗透泵控释片释药行为稳定, 重现性好。

关键词: 珍珠菜总黄酮; 渗透泵控释片; 均匀设计

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)08-1266-05

Preparation of osmotic pump controlled release tablets of total flavones in *Lysimachia clethroides*

YOU Ben-gang, PAN Hai-min, XU Qiong-ming, TANG Li-hua, YANG Shi-lin

(School of Pharmacy, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract: **Objective** To prepare osmotic pump controlled release tablets of total flavones in *Lysimachia clethroides*. **Methods** Two components of the extract from *L. clethroides*, rutin and naringenin-7-O-glucoside were used to evaluate the release behavior of osmotic pump controlled release tablets. Single factor investigation was carried out on the membrane compositions and orifice variables, and uniform design was used to optimize the formulation of coating membrane. **Results** The membrane weight, PEG400 content, and dibutyl phthalate (DBP) content were the main factors influencing the drug release, and based on 45% and 8.5% of cellulose acetate, respectively, to prepare osmotic pump controlled release tablets could achieve the desired zero-order release profile. **Conclusion** The formulation and technology are simple and easy to be carried out. Osmotic pump controlled release tablets have a stable drug release behavior and a good reproducibility.

Key words: total flavones of *Lysimachia clethroides* Duby; osmotic pump controlled release tablets; uniform design

珍珠菜总黄酮(total flavones of *Lysimachia clethroides* Duby)是珍珠菜抗肿瘤有效提取部位, 具有良好的抗肿瘤效果^[1-3]。口服渗透泵控释片以渗透压作为释药动力, 具有释药速度恒定、受释药环境影响较小等特点, 被认为是迄今为止口服控释制剂中最为理想的一种^[4-5]。由于肿瘤患者需频繁、长期给药, 因此可以减少给药次数、降低不良反应的抗肿瘤缓控释制剂的研究十分必要, 且具有广阔的应

用前景。本实验以珍珠菜总黄酮片芯为基础, 以芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷为质控指标, 通过体外释放度试验考察并优化了渗透泵控释片的衣膜处方及工艺, 制备出具有零级释药特征的渗透泵控释片, 以为中药渗透泵控释制剂的研制提供参考。

1 材料与仪器

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0809002, 质量分数>98%); 柚皮素-7-O-葡萄糖苷

* 收稿日期: 2009-10-21

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2006BAI06A01-01); 国家自然科学基金资助项目(30873362); 苏州市社会发展科技项目(SSY0703); 苏州大学医学发展基金项目(EE132609)

作者简介: 游本刚(1977—), 男, 江苏建湖人, 讲师, 硕士, 2000年毕业于山东医科大学药学院药物化学专业, 2000—2001年在苏州大学药学系工作, 2004年获得沈阳药科大学药学院药剂学专业硕士学位, 2004年至今在苏州大学药学院任教, 研究方向为药物新技术与新剂型。Tel: (0512) 61128277 E-mail: youbengang@suda.edu.cn

* 通讯作者 唐丽华

对照品(实验室自制,质量分数>98%);乙腈(色谱纯,Tedia公司);醋酸纤维素(CA,国药集团化学试剂有限公司);聚乙二醇系列(PEG400、PEG1500、PEG4000、PEG6000,化学纯,国药集团化学试剂有限公司);邻苯二甲酸二丁酯(DBP,分析纯,国药集团化学试剂有限公司);其余试剂均为分析纯。

RC-6 溶出度测定仪(天津市新天光分析仪器技术有限公司);TDP 型单冲压片机(上海天祥健台制药机械有限公司);BY-300A 型小型包衣机(上海黄海药检仪器厂);高效液相色谱仪(配备 SPD-M20A 型二极管阵列检测器,LC-20AT 型泵,CTO-10AS_{VP}型温控柱温箱,LCsolution 型色谱工作站,日本岛津仪器公司);激光打孔机(天津镭释力医药科技开发有限公司)。

2 方法与结果

2.1 渗透泵控释片的制备

2.1.1 片芯的制备:将处方量的珍珠菜总黄酮、NaCl、淀粉和乳糖等辅料过 80 目筛并混合均匀,以水作黏合剂制软材,过 20 目筛制粒,在 40℃ 下干燥后用 20 目筛整粒,加入适量 NaHCO₃ 和滑石粉混合均匀,填充于直径 8 mm 浅冲模内压得片质量为 (200±10) mg 片芯。

2.1.2 包衣液的配制:将适量 CA 溶于丙酮中,配制一定浓度的 CA 丙酮溶液,加入一定量的增塑剂,即得。

2.1.3 渗透泵片的制备:将珍珠菜总黄酮片芯置于包衣锅(直径 30 cm)内,在滚动条件下喷入包衣液,固定包衣体积流量 2.5 mL/min,喷雾压力 1 kg/m²,包衣温度 40℃ 和包衣锅转速 40 r/min,至包衣膜增重达要求后烘干,激光打孔即可。

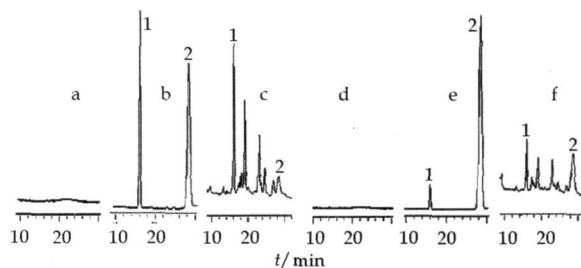
2.2 有效成分的 HPLC 法测定

2.2.1 色谱条件:Diamondsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:以乙腈为流动相 A,0.1% 磷酸为流动相 B;采用梯度洗脱:0~18 min, 83%~80% B;18~30 min, 80%~86% B;检测波长:芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷分别为 254 nm 和 281 nm;体积流量 1.0 mL/min;柱温 35℃;进样量 20 μL。

2.2.2 线性关系考察:精密量取对照品溶液适量,用甲醇稀释,分别制得 1.00、2.00、4.00、8.00、16.00、24.00、48.00 μg/mL 芦丁系列对照品溶液和 0.64、1.26、2.52、5.13、10.18、20.36、40.72 μg/mL 柚皮素-7-O-葡萄糖苷系列对照品溶液,进样测定。以质量浓度对峰面积进行线性回归,得芦丁的回归方程为: $A = 35\,748.6C + 3\,889.1$ ($r = 0.9993$),线性范围为

1.00~48.00 μg/mL;柚皮素-7-O-葡萄糖苷的回归方程为: $A = 44\,434.4C + 4\,646.0$ ($r = 0.9998$),线性范围为 0.64~40.72 μg/mL。

2.2.3 专属性试验:分别制备对照品溶液、供试品溶液、阴性对照(辅料)溶液注入色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。可见辅料对于药物的测定无干扰。



1- 芦丁 2- 柚皮素-7-O-葡萄糖苷

1- rutin 2- naringenin-7-O-glucoside

图 1 阴性对照(a、d)、对照品(b、e)和样品(c、f)

在 254 nm(a、b、c) 和 281 nm(d、e、f) 的色谱图

Fig 1 Chromatograms of negative sample (a, d), reference substance (b, e), and sample (c, f) at 254 nm (a, b, c) and 281 nm (d, e, f)

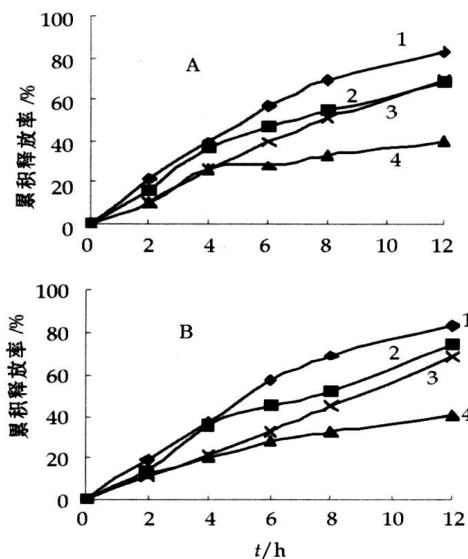
2.3 体外释放度的测定与评价:取珍珠菜总黄酮渗透泵控释片,按照《中国药典》2005 年版二部附录 XC 第三法测定,以 250 mL 0.5% SDS 水溶液为溶出介质,转速 100 r/min,温度 (37±0.5)℃,分别于第 2、4、6、8、12 h 取样 3 mL(取出后迅速补加等量的新鲜介质),经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液经 HPLC 分析求得芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷的质量浓度并计算其累积释放率。采用 f_2 相似因子法对制剂体外释药曲线的相似性进行评价^[6,7]。若两条曲线完全相同, f_2 为 100;随着两条曲线近似程度的降低, f_2 趋近于 0。如果 $50 \leq f_2 \leq 100$ 则认为两制剂的释放度相似,反之,则认为不相似。

$$f_2 = 50 \times \lg \{ [1 + (1/n) \sum (R_i - T_i)^2]^{-0.5} \times 100 \}$$

式中 R_i 和 T_i 分别代表参比制剂和受试制剂在时间 t 的释放度, n 为时间点的个数

2.4 衣膜处方的选择:选用 CA 为衣膜材料,以丙酮为溶剂制备浓度为 2% 的溶液,分别考察 PEG 种类、PEG 用量、DBP 用量、衣膜厚度对药物体外释放的影响。

2.4.1 PEG 种类对药物释放的影响:固定包衣液中 DBP 的量为 20% (相当于 CA 的质量),向 2% CA 的丙酮溶液中分别加入相当于 CA 质量 50% 的 PEG400、PEG1500、PEG4000 和 PEG6000 制备系列包衣液,包衣、打孔,包衣增重和孔的大小相同,考察不同种类 PEG 对药物释放的影响,结果见图 2。



1-PEG400 2-PEG1500 3-PEG4000 4-PEG6000

图 2 不同种类 PEG 对芦丁(A)和柚皮素 7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

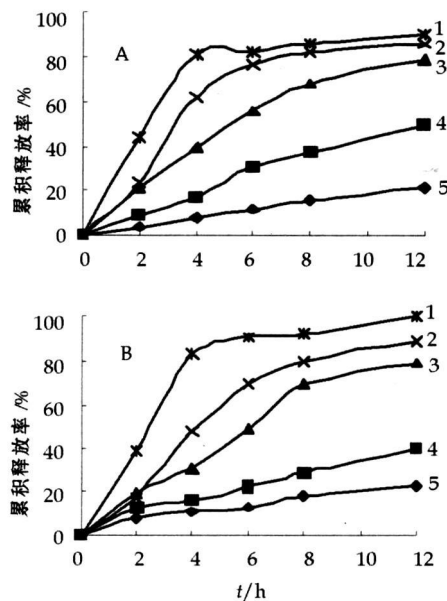
Fig. 2 Effect of different types of PEG on rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) drug release

采用相似因子法进行相似性判定, 结果表明 PEG 的种类对药物的释放存在显著影响。结合药物释放曲线, 以 PEG400 为增塑剂, 药物释放呈现明显的缓释特征, 且 12 h 释放较为完全。

2.4.2 PEG 用量对药物释放的影响: 固定包衣液中 DBP 的量为 20% (相当于 CA 的质量), 向 2% CA 的丙酮溶液中分别加入相当于 CA 质量 20%、40%、50%、60%、80% 的 PEG400 制备系列包衣液, 包衣, 打孔, 考察 PEG400 用量对药物释放的影响, 结果见图 3。可见随着 PEG400 用量的增加, 药物的释放加快, 可能是由于 PEG400 用量较高时产生致孔作用。相似因子法判定结果表明, 包衣液中 PEG400 的用量对药物的释放有显著影响。

2.4.3 DBP 用量对药物释放的影响: 固定包衣液中 PEG400 的用量为 50% (相当于 CA 的质量), 向 2% CA 的丙酮溶液中分别加入相当于 CA 质量 10%、20%、30% 的 DBP 制备系列包衣液, 包衣, 打孔, 考察 DBP 用量对药物释放的影响, 结果见图 4。可见随着 DBP 用量的增高, 药物释放呈减慢趋势, 主要是由于 DBP 是疏水性的增塑剂, 其用量的增高导致衣膜的透水性下降。相似因子法判定结果表明, 10% DBP 与 20%、30% DBP 相比药物的释放存在明显差异。

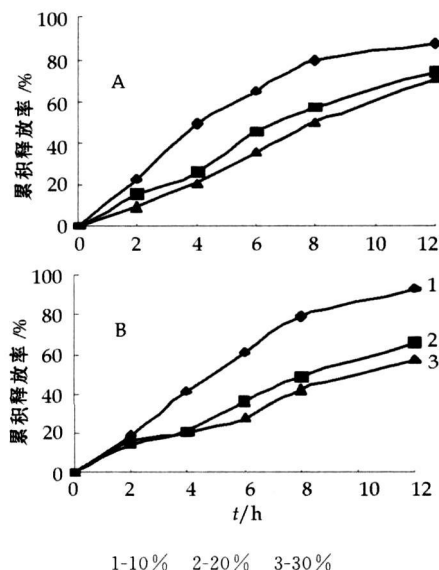
2.4.4 衣膜增重对药物释放的影响: 以 2% CA-10% DBP-50% PEG400 的衣膜处方制备控释片, 衣



1-20% 2-40% 3-50% 4-60% 5-80%

图 3 不同用量的 PEG400 对芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

Fig. 3 Effect of different PEG400 amount on rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) drug release



1-10% 2-20% 3-30%

图 4 不同用量的 DBP 对芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

Fig. 4 Effect of different DBP amount on rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) drug release

膜增重比率分别为 3%、5%、7%, 考察衣膜增重对释药行为的影响, 结果见图 5。可见随着衣膜增重的增加, 药物释放减慢。相似因子法判定结果表明, 衣膜增重对药物的释放有比较显著的影响。衣膜厚度的增加, 降低了水分向膜内的渗透速率, 从而使药物向膜外释放的速率减慢。

2.5 孔变量的选择: 以 2% CA-10% DBP-50%

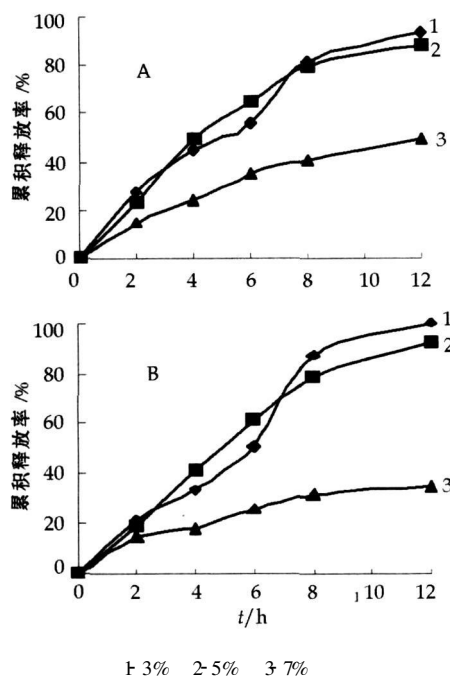


图5 衣膜增重对芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

Fig. 5 Effect of membrane weight on rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) drug release

PEG400的衣膜处方对片芯进行包衣,衣膜增重为5%。包衣后的片剂采用激光打孔,考察释药孔的大小、位置、数目对药物体外释放的影响。

2.5.1 释药孔径对药物释放的影响:在包衣片的一面分别打0.8、1.0、1.2 mm的释药孔,考察释药孔径大小对药物释放的影响,结果见图6。可见在考察范围内孔径大小对药物释放没有显著的影响;但孔径较小时容易被堵塞,而孔径较大时则略有突释现象,最终选择1.0 mm的释药孔径。

2.5.2 释药孔位置及数量对药物释放的影响:控制释药孔径为1.0 mm,分别在包衣片一面中央打一孔、片剂两面中央各打一孔和片剂侧面打一孔,考察释药孔位置及数量对药物释放的影响,结果见图7。可见释药孔的位置和数量对药物释放没有显著影响。由于在片子中央一面打孔较两面打孔及侧面打孔容易,故选择在片剂中央一面打孔。

2.6 处方优化

2.6.1 均匀试验设计及结果:衣膜处方中PEG400的用量(A)、DBP的用量(B)及衣膜增重(C)对药物的释放影响较显著。将上述3个因素分成7个水平,根据 $U_7(7^3)$ 均匀试验设计表安排试验。

参照《中国药典》2005版二部附录XIX D缓释、控释和迟释制剂指导原则,采用综合加权评分法^[8]来评价试验结果,对4个指标进行考察:①2 h的释

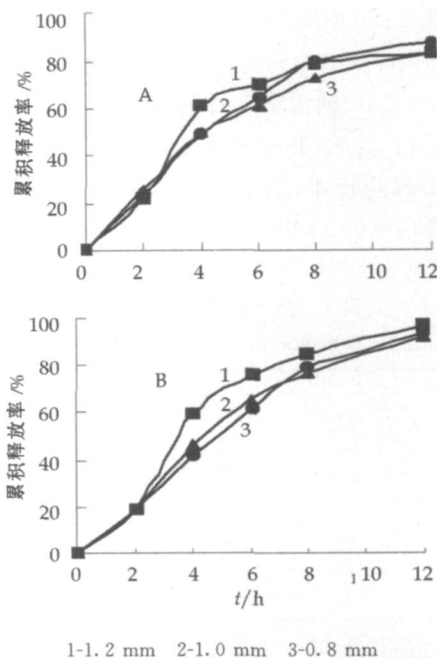


图6 孔径大小对芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

Fig. 6 Effect of pore size on rutin (A) and naringenin-7-O-glucoside (B) drug release

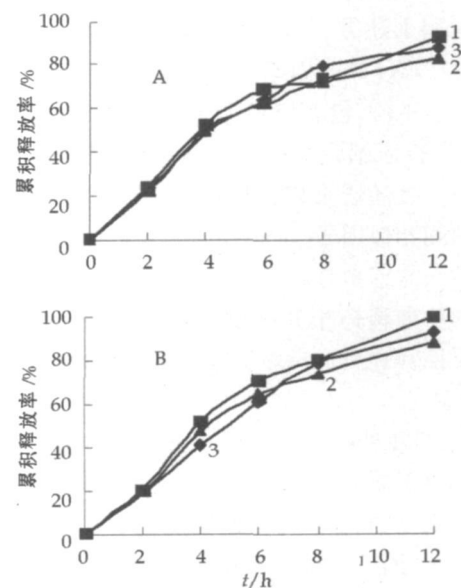


图7 释药孔位置及数量对芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放的影响

Fig. 7 Effect of pore position and amount on rutin (A) and naringenin-7-O-glucoside (B) drug release

放度(L_{2h}),考察药物是否有突释,以20%为指标,权重系数为1;②6 h的释放度(L_{6h}),考察释药特性,以50%为指标,权重系数为1;③12 h的释放度(L_{12h}),考察药物是否释放完全,以95%为指标,权

重系数为1; ④相关系数(r), 考察药物是否遵从零级释药规律, 以1为指标, 权重系数为2。分别计算芦丁得分(L_A)、柚皮素-7-O-葡萄糖苷的得分(L_B)和综合得分($L_{综合}$)。L值越小, 表示释药效果越好, 越接近零级释药规律, 结果见表1。

$$L_A \text{ 或 } L_B = |L_{2h} - 20\%| \times 100 \times 1 + |L_{6h} - 50\%| \times 100 \times 1 + |L_{12h} - 95\%| \times 100 \times 1 + |r - 1| \times 100 \times 2; L_{综合} = (L_A + L_B) / 2$$

表1 均匀试验设计及结果

Table 1 Schemes and results of uniform design				
试验号	A/ %	B/ %	C/ %	$L_{综合}$
1	35	4	3.5	66.10
2	40	6	4.0	72.27
3	45	8	4.5	49.71
4	50	10	5.0	53.89
5	55	12	5.5	9.04
6	60	14	6.0	47.66
7	65	16	6.5	51.83

对上述结果进行线性回归^[9-10], 得回归方程为:
 $Y = 27.192 - 4.087 X_1 + 1.733 X_2 + 42.703 X_3 + 0.294 X_1 X_3 - 3.069 X_2 X_3$ ($R = 0.994$), $F = 17.324$, $P = 0.180 > 0.05$, 有显著性, 结果表明该回归模型具有统计学意义。

运用上述方程进行预测的最佳处方为 $X_1 = 45$, $X_2 = 8.5$, $X_3 = 4.8$, 即 PEG400 用量为 45%, DBP 用量为 8.5%, 包衣增重为 4.8%。

2.6.2 验证试验和释药机制初探: 按照上述优化处方制备3批渗透泵控释片, 释药结果见图8。释放曲线两两间相似因子 f_2 在 50~80, 表明批间重现性良好。零级方程拟合结果表明, 芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷的体外释药相关系数分别为 0.976、0.982, 表明渗透泵控释片呈现良好的零级释放特征。

3 讨论

芦丁和柚皮素-7-O-葡萄糖苷在蒸馏水中的平衡溶解度较低, 难以满足溶出实验的漏槽条件, 所以本研究在处方前溶解度研究的基础上选择了 0.5% SDS 的水溶液作为渗透泵控释片的释放介质。

单因素考察结果发现, 释药孔的位置和数目对渗透泵片释药行为没有显著的影响; 而衣膜处方中 PEG400、DBP 的用量, 衣膜增重等对药物释放有较显著的影响。释药速率随 PEG400 用量的增加而升高, 说明 PEG400 在衣膜中除了具有增塑作用外, 还具有一定的致孔作用, 在用量较高时致孔作用则更为明显。由于 DBP 属于疏水性增塑剂, 其用量增加则可显著减慢药物的释放。衣膜厚度对药物的释放具有规律性影响, 随衣膜厚度的增加药物释放逐渐减慢。

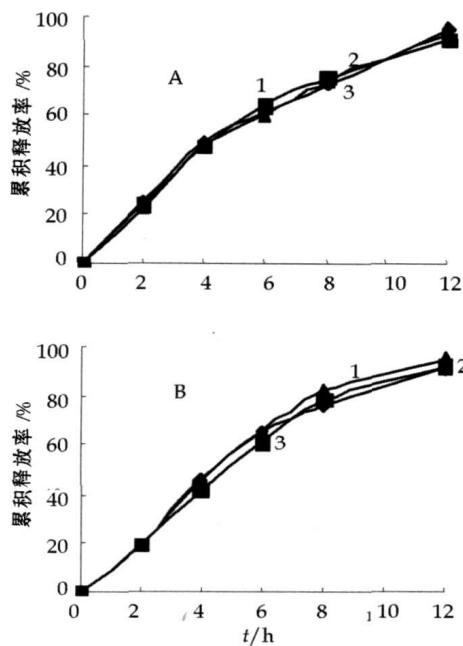


Figure 8 shows the cumulative release percentage of rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) over time (t/h). Both graphs show three curves (1, 2, 3) representing different batches, all exhibiting a sigmoidal release profile, indicating zero-order release characteristics.

图8 样品中芦丁(A)和柚皮素-7-O-葡萄糖苷(B)释放曲线

Fig 8 Drug release curves of rutin (A) and naringenin 7-O-glucoside (B) in samples

均匀试验结果发现衣膜增重对药物释放的影响最大, 其次是 PEG 的用量, DBP 的用量对药物释放影响较小, 回归方程预测的优化处方与单因素试验结果接近。根据优化处方制备的珍珠菜提取物渗透泵控释片, 12 h 释药曲线用零级方程进行拟合, 呈良好的零级释药特征。

参考文献:

- [1] 常海涛, 孔维梁, 屠鹏飞. 珍珠菜属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 295-298.
- [2] 王祎茜, 唐丽华, 梁中琴, 等. 珍珠菜提取物 ZE4 对宫颈癌抑制作用的初步研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(7): 925-929.
- [3] 唐丽华, 王祎茜, 梁中琴, 等. 珍珠菜提取物对肝癌抑制作用的研究[J]. 中草药, 2009, 40(1): 108-111.
- [4] Herbig S M, Cardinal J R, Korsmeyer R W, et al. Asymmetric membrane tablet coating for osmotic drug delivery[J]. J Controlled Release, 1995, 5: 127.
- [5] Guedes J P, Couet W. Simulation of the effect of variable duration of absorption on steady-state plasma levels of drugs administered orally as zero-order delivery systems[J]. J Controlled Release, 1997, 46: 197.
- [6] Maggio R M, Patricia M C, Kaufman T S. A new principal component analysis-based approach for testing "similarity" of drug dissolution profiles[J]. Eur J Pharm Sci, 2008, 34(1): 66-77.
- [7] Adams E, De Maesschalck R, De Spiegeleer B, et al. Evaluation of dissolution profiles using principal component analysis[J]. Int J Pharm, 2001, 212(1): 41-53.
- [8] 赵晓宏, 陈迪华, 斯建勇, 等. 多指标综合评价法研究中药新药片剂成型处方[J]. 中成药, 2002, 24(8): 579-581.
- [9] 张丹, 孙英华, 刘艳, 等. 均匀设计法制备苦参碱渗透泵型控释片[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(1): 16-19.
- [10] 张翠娟, 常建晖, 袁敏, 等. 均匀设计优化盐酸丁咯地尔渗透泵型控释片的处方[J]. 华西药学杂志, 2004, 19(4): 277-278.