

灯盏乙素缓释片的制备及其体外释放度的考察^{*}

张惠玲¹, 刘石磊², 汤秀梅¹, 孙思颖¹, 杨海涛¹

(1. 云南省药物研究所/云南白药集团创新研发中心/云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111;
2. 三七资源保护与利用技术国家地方联合工程研究中心, 云南 昆明 650106)

摘要: **目的** 制备灯盏乙素亲水凝胶骨架片, 并考察其体外释放行为。**方法** 以 HPMC 为基本骨架材料, 采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计优选处方; 体外释放以灯盏乙素为评价指标, 采用 UV 法进行测定。**结果** 灯盏乙素亲水凝胶骨架片的最佳制备工艺为 $A_2B_1C_3$ (HPMC 的用量为 45mg, HPMC 选用 E4M, 填充剂用量为 182mg); 批间工艺重现性良好。体外释放接近 Higuchi 释放特征。**结论** 优选出的灯盏乙素亲水凝胶骨架片制备工艺可行, 重现性好, 有明显的缓释特征。

关键词: 灯盏乙素; 亲水凝胶骨架缓释片; 正交试验; 体外释放度

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)03-0083-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.03.020

灯盏花是菊科植物短亭飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 的干燥全草, 别名灯盏细辛、东菊等, 有活血化淤、祛风除湿、通经活络、消炎止痛等功效^[1]。灯盏花素是从灯盏花中提取的黄酮类有效成分, 含大量灯盏乙素和少量灯盏甲素。灯盏乙素具有改善脑血循环, 降低血管阻力和抗血小板凝聚等作用, 临床主要用于心脑血管疾病, 如冠心病、心绞痛等^[2-3]。然而灯盏乙素分子结构母核平面性强, 水溶性较差^[4-5], 研究开发灯盏乙素缓释片可改善其体内半衰期短及普通制剂生物利用度差的缺点。

亲水凝胶骨架缓释片是应用亲水性聚合物为骨架材料制成的缓控释制剂, 因其在缓控释制剂中具有开发周期短、制备成本低、生产工艺简单、释药性能好、质量稳定等特点而日益受到重视^[6-7]。羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 以其良好的理化特性, 优良的流动性和可压性以及多种不同类型药物的良好控释能力, 为亲水凝胶骨架片最常用的骨架材料^[8-9]。故本文选用灯盏乙素为模型药物, 以 HPMC 作为基本骨架材料, 用正交试验优选了制剂处方, 制备灯盏乙素亲水凝胶骨架缓释片^[9]; 并考察其体外释放的药动学过程。

1 仪器与试药

UV-250 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司); ZP-19 旋转式压片机 (上海第一制药机械厂); DZF-605 真空干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); YPD-200C 片剂硬度仪 (上海黄海药检仪器厂); ZRS-8G 智能溶出试验仪 (天津大学无线电厂); 92SM-202A 精密天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); ZHZ-82 恒温振荡器 (金坛市富华仪器有限公司)。

灯盏乙素 (纯度为 96%, 云南植物药业有限公司); 羟丙基甲基纤维素 (HPMC) (K4M、K15M、K100LV、E50、E4M, 美国陶氏化学); 蔗糖粉 (云南德宏裕安龙江糖业有限公司); 微晶纤维素; 乳糖 (青岛天新食品添加剂有限公司); 无水亚硫酸钠 (国药集团化学试剂有限公司); 乙二胺四乙酸二钠 (ED-TA), 氢氧化钠 (西陇化工股份有限公司); 磷酸二氢钾 (天津市风船化学试剂科技有限公司); 硬脂酸镁 (国药集团化学试剂有限公司); pH6.8 的磷酸盐缓冲液: 取 $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾 250mL, 加 $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 118mL, 用水稀释至 1 000mL, 摇匀即得。

^{*} 基金项目: 云南省科技厅青年基金项目 (2013FD067)

收稿日期: 2017-04-18

作者简介: 张惠玲 (1987-), 女, 云南剑川人, 硕士, 工程师, 主要从事中药药剂学研究。E-mail: zhlanne@126.com

2 方法与结果

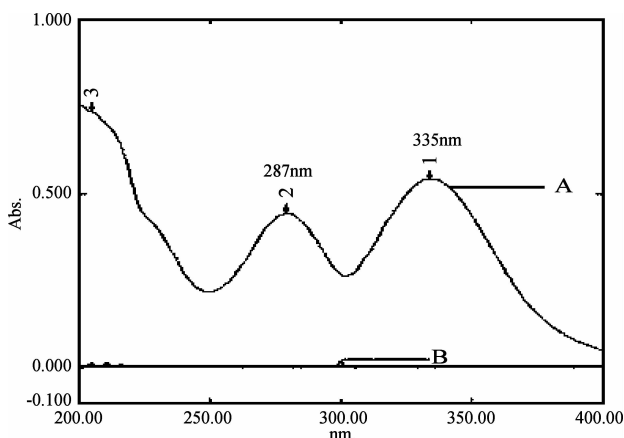
2.1 骨架缓释片的制备^[10]

取适量灯盏乙素、HPMC 及其它辅料,分别过 60 目筛,充分混匀后,加适量 85%乙醇溶液制软材,过 20 目筛制粒。于 50℃干燥 6h,将干颗粒过 18 目筛制粒,最后加入适量硬脂酸镁,充分混匀后,用 9mm 冲头压片(压力保持在 $4\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$),即得灯盏乙素亲水凝胶骨架缓释片,每片含灯盏乙素 120mg。

2.2 灯盏乙素缓释片体外释放方法的建立

2.2.1 测定波长的选择

精密称取灯盏乙素 10mg,以 pH6.8 的磷酸盐缓冲液为溶剂,配置成浓度为 $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,以相应的溶剂为空白对照,按紫外可见分光光度法在 200~400nm 波长范围内进行扫描。同时将制剂所用辅料按处方比例用同种方法稀释,经 $0.45\mu\text{m}$ 的水相微孔滤膜过滤后进行紫外扫描。结果表明,灯盏乙素分别在 287nm 和 335nm 处有最大吸收;在 200~400nm 波长范围内辅料均无干扰。扫描结果见图 1,最终选择 335nm 作为测定波长。



A. 灯盏乙素; B. 空白对照

图 1 紫外吸收扫描图谱

2.2.2 方法学考察

精密称取 105℃干燥至恒重的灯盏乙素(含量以 96%计)9.6mg,置于 100mL 容量瓶中,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲液,溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品储备液。分别精密吸取贮备液 1.0、2.0、2.5、3.0、4.0mL,分别置于 25mL 容量瓶中,用 pH6.8 的磷酸盐缓冲液稀释,制备得浓度为 3.84、7.68、9.60、11.52、15.36 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。以 pH6.8 的磷酸盐缓冲液为空白对照,于 335nm 波长处测定吸光度 A,以浓度 C 对吸光度 A 进行线性回归,得标准曲线方程:

$y=0.0569x-0.0143$ ($r=1$),线性范围为 3.84~15.36 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;精密度 RSD=0.82%;30h 样品稳定性 RSD=0.83%;加样回收率为 100.31%,RSD=1.06%。

2.2.3 体外释放度的测定^[11]

采用《中国药典》2015 版四部通则 0931 溶出度与释放度测定法第二法(浆法)测定^[12],释放介质为 pH6.8 磷酸盐缓冲液 900mL,转速为 $75\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 $(37.0\pm 0.5)^\circ\text{C}$,分别于 1h、2h、4h、8h、15h、25h 取样 10mL,同时补充等体积同温介质,经 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,于 335nm 波长处测定吸光度,代入标准曲线方程计算释药浓度,计算累积释放度(Q_n ,%),计算公式如下:

$$Q_n = \frac{C_n \times 900 + \sum_{i=0}^{n-1} C_i \times 10}{\text{含药量}} \times 100\%,$$

其中 $C_0=0$, $C_n = \frac{A_n}{A_i} \times C_i$ 。

同时以累积释放度 Q_n 对时间 T 作释药曲线。

2.3 正交试验设计优选处方

2.3.1 因素水平设计

通过前期对亲水凝胶骨架缓释片基质的考察及单因素试验,确定了影响缓释片的主要因素有 3 个:HPMC 用量(A)、HPMC 黏度(B)、填充剂用量(C),运用 $L_9(3^4)$ 正交实验对这些因素进行优化,优选最佳处方。其因素水平表见表 1。

2.3.2 正交试验

按照表 2 安排实验,按照 2.1 方法制备缓释片,依照 2.2.3 方法测定缓释片分别于 1h、2h、4h、8h、15h、25h 的释放度。

参照中华人民共和国药典 2015 版四部通则 9013 缓释、控释和迟释制剂指导原则的规定及文献^[11-14],采用综合评分法,对各处方 2h、4h、8h、15h 四个时间点的释放度进行评分,再将评分结果进行加权相加后得出总分,最后采用直观分析的方法对正交设计的结果进行分析。其中 4 个评价指标为:(1)药物 2h 的累积释放度 F_2 ,以 0.10 为标准;(2)药物 4h 的累积释放度 F_4 ,以 0.20 为标准;(3)药物 8h 的累积释放度 F_8 ,以 0.40 为标准;(4)药物 15h 的累积释放度 F_{15} ,以 0.75 为标准。将各指标的权重系数定为 1,得到计算公式: $K = |F_2 - 0.10| \times 1 \times 100 + |F_4 - 0.20| \times 1 \times 100 + |F_8 - 0.40| \times 1 \times 100 + |F_{15} - 0.75| \times 1 \times 100$,K 值越小,与所定标准越接近,因素的水平数越佳。数据

分析结果见表2,结果表明,各因素对药物释放影响程度由大到小为: $A>C>B$ 。由直观分析结果拟定最佳工艺处方为A2B1C3,即HPMC的用量为45mg,HPMC选用E4M,填充剂用量为182mg。

表1 $L_9(3^4)$ 实验设计因素水平表

水平	因素		
	A (mg)	B	C (mg)
1	30	E4M	82
2	45	K4M	132
3	60	K15M	182

表2 亲水凝胶骨架缓释片处方筛选的正交试验设计及结果

NO.	A	B	C	D	K
1	1	1	1	1	60.45
2	1	2	2	2	80.95
3	1	3	3	3	51.16
4	2	1	2	3	22.52
5	2	2	3	1	20.52
6	2	3	1	2	25.51
7	3	1	3	2	24.54
8	3	3	1	3	31.54
9	3	3	2	1	31.34
$\bar{I}_j$	64.187	35.837	39.167	37.437	
$\bar{II}_j$	22.850	44.337	44.937	43.667	
$\bar{III}_j$	29.140	36.003	32.073	35.073	
R	41.337	8.500	12.864	8.594	

2.3.3 工艺验证

按照最佳工艺处方A₂B₁C₃制备灯盏乙素亲水凝胶骨架缓释片,照释放度测定方法测定3批样品的体外释放度,考察处方与工艺的重现性,结果见表3和图2。由图可见,3批灯盏乙素缓释片的处方和工艺重现性良好。

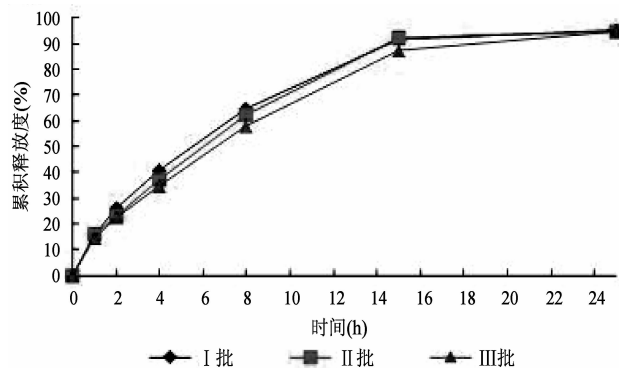


图2 3批缓释片的释放曲线

表3 缓释片批间重现性结果

t (h)	I 批	II 批	III 批	$\bar{x} \pm SD$
1	15.7	15.5	14.3	15.2 ± 0.79
2	26.31	23.19	22.14	23.9 ± 2.17
4	40.71	37.41	34.71	37.6 ± 3.01
8	64.93	62.03	57.67	61.5 ± 3.65
15	91.93	92.27	87.56	90.6 ± 2.62
25	95.16	94.91	94.46	94.8 ± 0.35

2.4 灯盏乙素缓释片释药曲线拟合^[11-15]

分别用零级、一级和Higuchi方程对最优处方制备的灯盏乙素缓释片体外释药曲线进行拟合,用相关系数 r 判断其拟合度,结果见表4。由拟合结果可以看出,Higuchi方程的相关系数 r 接近1,说明其释药拟合程度最高,可见本制剂体外释放动力学过程更符合Higuchi动力学过程。

表4 释药曲线拟合结果

模型	方程	相关系数(r)
零级	$M_t/M_\infty = kt$	0.9298
一级	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -kt$	0.9844
Higuchi	$M_t/M_\infty = kt^{1/2}$	0.9847

3 讨论

为了得到较理想的缓释效果,本研究在正交试验前期进行了单因素考察。结果发现,HPMC的种类、用量以及填充剂的用量对缓释片的释放行为有显著的影响。HPMC的粒径在前期释放时影响较小,但对后期释放影响较大,这与何燕^[10]等在灯盏花素亲水凝胶骨架缓释片的研究中所得结论基本一致;另外,较细的粒径(如140目以上)因表面积大,水化速度快,易在片剂表面形成凝胶层,使药物释放速率变慢,因此在制备缓释片的过程中要注意批间的HPMC粒径要严格保持一致。填充剂的种类对药物释放影响不大,但乳糖的释放速率相对于淀粉、微晶纤维素、蔗糖粉稍快。在试验的压片压力范围内,压力越小,药物的释放速率越快,但压力过小,片子骨架疏松、易碎,不宜采用;当压力增大到一定值时,骨架紧密,空隙率随压力变化不大,对药物释放影响不大。

在进行灯盏乙素缓释片体外释放度测定方法的单因素考察中^[16-17],转速分别为 $50r \cdot \min^{-1}$, $75r \cdot \min^{-1}$, $100r \cdot \min^{-1}$ 时,不同释放装置(转篮法和浆法)对自制的灯盏乙素缓释片体外释放行为影响不大(释放度

相似因子 $f_2 > 75$), 为便于观察, 故选择桨法进行测定。而释放装置固定时, 比较转速为 $50\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $75\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $100\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时灯盏乙素缓释片的体外释放度 ($f_2 > 50$), $50\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时释放速率减小, $75\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $100\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 无明显变化, 但一般模拟正常人体内的胃肠蠕动时, 常采用 $75\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速, 故本法采用 $75\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速进行释放度的测定。

参考文献:

- [1] 刘勤, 张红宇, 工璐. 灯盏花药理作用研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(2): 61-64.
- [2] 张春霞, 康立源, 胡利民, 等. 灯盏细辛中黄酮类成分药理活性的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(2): 110-113.
- [3] 刘华, 廖维靖, 魏黎, 等. 灯盏细辛对脑缺血再灌注后血脑屏障通透性及脑代谢物质的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(2): 208-211.
- [4] 颜承, 徐冠玲, 谢梦, 等. 野黄芩苷和野黄芩素制备研究进展[J]. 中成药, 2015, 37(8): 1785-1790.
- [5] 居文政, 许美娟, 谈恒山. 灯盏乙素药动学研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(9): 1440-1443.
- [6] 颜耀东. 缓释控释制剂的设计和开发[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2006: 68-99.
- [7] 王博, 张来华, 李苑新, 等. 亲水凝胶骨架缓释片释药机制评价方法的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(10): 782-786.
- [8] 唐星. 口服缓控释制剂[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 42-45.
- [9] 孙方, 杜坡. 格列齐特凝胶骨架缓释片的研制[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(6): 618-621.
- [10] 何燕, 张馨欣, 潘卫三. 灯盏花素亲水凝胶骨架缓释片的研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 41(2): 119-122.
- [11] 李杰, 杨欣怡, 许昆仑, 等. 瑞替加滨胃漂浮型缓释片的制备及体外释放研究[J]. 中南药学, 2015, 13(1): 12-16.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [13] 梁宇红, 陈丽, 吴钢, 等. 柿叶黄酮缓释片的制备及其释放度测定[J]. 中成药, 2013, 35(10): 2134-2137.
- [14] 陈亚龙, 李昭, 曹林林, 等. 正交实验优选视口服液纯化工艺[J]. 长春中医药大学学报, 2015, 31(6): 1115-1118.
- [15] 熊欣, 项佳音, 尹晓琴, 等. 灯盏花素不同脂质载体凝胶体外经皮渗透性评析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3554-3557.
- [16] 武慧超, 陆洋, 杜守颖, 等. 益智亲水凝胶骨架片体外释放度的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(7): 484-489.
- [17] 周新腾, 姜斯博, 石晓东, 等. 格列吡嗪控释片体外药物释放特征和体内外相关性研究[J]. 国际药学研究杂志, 2009, 36(6): 443-446.

(编辑: 徐建平)

Preparation of Scutellarin Sustained-release Tablets and Its Release Study in Vitro

ZHANG Huiling¹, LIU Shilei², TANG Xiumei¹, SUN Siying¹, YANG Haitao¹

(1. Yunnan Institute of Materia Medica; Yunnan Bai Yao Group Innovation and R&D Center; Yunnan Province Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming, 650111 China;

2. National United Engineering Research Center for Notoginseng Resource Conservation and Utilization, Kunming, 650106 China)

ABSTRACT: **Objective** To prepare scutellarin Hydrophilic Matrices sustained release tablet, and to investigate its release characteristics in vitro. **Methods** Using hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) as the matrix material. By $L_9(3^4)$ orthogonal design to study the best preparation technology of scutellarin Hydrophilic Matrices sustained release tablet; the assay of the release in vitro was valued by UV spectrophotometry with breviscapin as evaluating indicator. **Results** The optimum preparation conditions of scutellarin Hydrophilic Matrices sustained-release tablet were $A_2B_1C_3$ (The amount of HPMC was 45 mg, E4M HPMC was selected, filler dose of 182 mg); the repeatability of three batches were good. Its release in vitro is similar with Higuchi release characteristics. **Conclusion** The preparation procedure of scutellarin Hydrophilic Matrices sustained-release tablet is feasible and repeatable. The tablets have obviously sustained property.

KEY WORDS: scutellarin; hydrophilic matrices sustained-release tablet; orthogonal design; release in vitro