

· 论著 ·

芍药苷胃漂浮片的制备

贾家丽^{1,2}, 黄月英^{1,2}, 卞俊¹ (1. 解放军 411 医院药学科, 上海 200434; 2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004)

[摘要] 目的 制备芍药苷胃漂浮片, 优选芍药苷胃漂浮片的制备工艺。方法 采用湿法制粒压片制备芍药苷胃漂浮片, 以漂浮性能和体外累积释放率为考查指标, 采用单因素筛选及正交设计法, 优化芍药苷胃漂浮片处方。结果 以 HPMC K4M (20%) 为骨架材料、NaHCO₃ (15%) 为起泡剂、PVPP (7%) 为释放促进剂、乳糖 200 为填充剂制得的胃漂浮片能立即起漂, 持续漂浮 12 h 以上, 累积释放率达 90% 以上。结论 优选的芍药苷胃漂浮片达到了持续漂浮及缓慢释放的要求, 可操作性强。

[关键词] 芍药苷; 胃漂浮片; 体外累积释放率

[中图分类号] R944.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)02-0153-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.014

Preparation of paeoniflorin gastric floating tablets

JIA Jiali^{1,2}, HUANG Yueying^{1,2}, BIAN Jun¹ (1. Department of Pharmacy, No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective** To prepare paeoniflorin gastric floating tablets and to optimize the formulation. **Methods** Gastric floating tablets were prepared by wet granulation, with floating performance and *in vitro* cumulative release rate as evaluation indicators, single factor tests and orthogonal design test were adopted for the optimal formulation. **Results** With HPMC K4M 20% as reinforcing materials, NaHCO₃ 15% as gas agent, PVPP 7% as the release of accelerator, lactose as a filler, the obtained gastric floating tablet can immediately play bleaching, continued to float more than 12 hours, and the cumulative release rate was more than 90%. **Conclusion** The optimal formulation of paeoniflorin floating tablet has achieved a sustained and slow release request floating, the operability is good.

[Key words] paeoniflorin; gastric floating tablet; cumulative release rate *in vitro*

芍药苷为萜烷单贴苷类化合物, 有研究表明, 芍药苷具有免疫调节^[1,2]、神经保护^[3]、抗癌^[4]及扩张冠状动脉抗动脉粥样硬化作用^[5]。同时有学者研究发现, 芍药苷在肠道内无特定吸收部位, 符合一级吸收的被动扩散机制, 适合制成缓控释制剂^[6]。经对大鼠胃吸收实验结果表明, 芍药苷在胃中也有良好的吸收, 表明芍药苷在全消化道都可被吸收, 且其在酸性(pH 值 2~6)条件下稳定^[7], 因此可将芍药苷制成胃漂浮缓释制剂。本实验制备芍药苷胃漂浮片, 可延长芍药苷在胃部的停留时间并逐渐释放药物, 增加芍药苷在消化道中与黏膜的接触时间, 增强药物的吸收效果, 以达到提高其生物利用度、充分发挥药效的目的。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(美国 Waters), UV 分光光度仪(日本岛津), ZPS 系列旋转式压片机(上海天祥键台制药机械有限公司), ZRS-8G 智能溶出实验仪(天津天河医疗仪器有限公司), SE3001F 电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司), AB104-N 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), 78X-2 型片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器厂), 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所), 芍药苷原料药(南京泽朗医药科技有限公司), 羟丙甲基纤维素(K4M、K15M、K100M, 上海卡乐康包衣技术有限公司), 交联聚乙烯吡咯烷酮(美国 ISP 公司), 碳酸氢钠(上海虹光化工厂), 乳糖(GranuLac 200, 德国 Meggle), 微晶纤维素(Mcc101, JRS), 硬脂酸镁(湖州展望药业公司), 盐酸(上海化学试剂公司), 乙醇(国药集团化学试剂有限公司)。所用辅料均为药用级, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

[作者简介] 贾家丽, 硕士研究生. E-mail: jia_jljz@163.com

[通讯作者] 卞俊, 主任药师. 研究方向: 药物新剂型与新技术研究. Tel: 13585539301; E-mail: bianjun411@163.com

2 方法与结果

2.1 含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 磷酸-乙腈 (80:20); 检测波长 230 nm; 流速 1.0 ml/min; 柱温 30 ℃。

2.1.2 标准曲线 精密称定 5 mg 芍药苷, 置于 50 ml 容量瓶中, 甲醇溶解并定容, 得标准品母液, 吸取 0.2、0.4、1、2、3、3.5 ml 于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 分别过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液进 HPLC 仪, 以峰面积 Y 对浓度 (X) 进行回归, 回归方程: $Y=14\ 763\ X+584.9$, $r=1$ 。表明浓度在 2.215~35.439 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.1.3 精密度试验 分别取低 (2.215 μg/ml)、中 (18.458 μg/ml)、高 (35.439 μg/ml) 3 个浓度的标准溶液, 于 1 d 内重复测定 5 次, 计算日内精密度。连续测定 5 d, 计算日间精密度。结果表明, 日内精密度分别为 1.35%、0.54%、0.68%; 日间精密度分别为 0.70%、0.32%、0.71%。日内及日间精密度均 <2%, 表明本方法精密度良好, 符合实验要求。

2.1.4 稳定性试验 取“2.1.2”项下标准母液, 用甲醇稀释成浓度为 21.014 μg/ml 的样品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液进 HPLC 仪测定峰面积。结果表明, 将芍药苷溶液放置 12 h, 稳定性符合测定要求, RSD 为 0.89%。

2.1.5 加样回收率试验 称取已测定含量的胃漂浮片粉末 (约含芍药苷 5 mg), 精密称定, 置于 50 ml 容量瓶中, 加甲醇适量, 超声 40 min 后定容。精密吸取 1 ml 供试液于 10 ml 容量瓶中, 共 9 份, 分别加入相当于含 80%、100%、120% 芍药苷的本品标准溶液, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液进 HPLC 仪测定芍药苷含量, 计算回收率。结果显示, 低、中、高 3 种浓度溶液的加样回收率分别为 99.38%、99.90%、99.41%, 回收率均在 80%~120% 之间, 符合实验要求。

2.2 体外释放度测定方法的建立

2.2.1 紫外分析方法标准曲线 精密称定芍药苷 10 mg, 置于 50 ml 容量瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解, 超声 30 min, 放置室温后, 以 0.1 mol/L 盐酸稀释定容制得标准母液, 摇匀后精密吸取 0.5、1、2.5、5、7.5、8.75 ml 于 50 ml 容量瓶中, 以 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度, 配制成浓度分别为 1.802、3.604、9.010、27.030、31.535 μg/ml 的溶液, 分别过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液在 230 nm 波

长处测定吸光度, 绘制标准曲线。回归方程: $Y=0.028\ 9X+0.017\ 2$, $r=0.999\ 9$, 表明浓度在 1.802~31.535 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.2.2 精密度试验 取低 (1.802 μg/ml)、中 (18.020 μg/ml)、高 (31.535 μg/ml) 3 个浓度的标准溶液, 于 1 d 内重复测定 5 次, 计算日内精密度, 连续测定 5 d, 计算日间精密度。结果表明, 低、中、高 3 种浓度的日内精密度分别为 1.84%、0.76%、0.50%; 日间精密度分别为 0.89%、0.42%、0.19%, 日内及日间精密度均 <2%, 表明实验方法的精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 取“2.3.1”项下标准母液, 用 0.1 mol/L 盐酸稀释成浓度为 18.020 μg/ml 溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 内测定溶液的吸光度, 计算 RSD。结果表明, 吸光度的 RSD 为 0.59%, 芍药苷胃漂浮片释放液的放置稳定性符合要求。

2.2.4 加样回收率试验 称取已测定含量的芍药苷胃漂浮片粉末 (约含芍药苷 10 mg), 精密称定, 置于 50 ml 容量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸适量, 超声 40 min 后定容。精密量取 2.5 ml 供试液于 50 ml 容量瓶中, 取 9 份, 分别加入相当于含 80%、100%、120% 芍药苷的标准溶液。用 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度, 过 0.45 μm 微孔滤膜。取续滤液在 230 nm 波长处测定吸光度, 代入标准曲线测定芍药苷含量, 计算加样回收率。结果表明, 低、中、高 3 种浓度的平均回收率分别为 99.95%、100.09% 和 99.75%, 符合实验要求。

2.3 释放度测定方法 按照《中华人民共和国药典 (二部)》2010 年版附录 XD 法第一法, 以 900 ml 浓度为 0.1 mol/L 的盐酸溶液为释放介质, 温度 (37.0±0.5) ℃, 转速 100 r/min, 采用浆法。取芍药苷胃漂浮片 6 片, 分别置于 6 个溶出杯中, 在 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12 h 时, 分别取液 5 ml, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液为供试溶液, 并及时补充释放介质。将供试溶液在 230 nm 处测定吸光度, 代入标准曲线计算溶液中芍药苷含量, 计算累积释放率。

2.4 体外漂浮性能观察 以 900 ml 浓度为 0.1 mol/L 的盐酸溶液为释放介质, 温度 (37.0±0.5) ℃, 转速 100 r/min, 用秒表计时。以胃漂浮片放入溶出杯至片剂漂浮至液面的时间设为起漂时间 T₁(min), 从起漂开始至实验结束时的时间设为持续漂浮时间 T₂(h)。

2.5 芍药苷胃漂浮片的制备 芍药苷 30 mg (10%), 羟丙甲基纤维素 (HPMC K4M) 60 mg

(30%), 碳酸氢钠 45 mg (15%), 乳糖 141 mg (39%), 交联聚乙烯吡咯烷酮 21 mg (5%)。称取处方量的主药与辅料, 过 40 目筛, 95% 乙醇湿法制粒, 55 °C 烘干, 过 20 目筛整粒, 加适量硬脂酸镁 (1%) 混匀压片, 每片片重 0.3 g, 一次共压 20 片。

2.6 芍药苷胃漂浮片的处方单因素考察

2.6.1 骨架材料种类筛选

固定主药及辅料的量, 选择黏度由小到大的 3 种型号 (HPMC K4M、HPMC K15M、HPMC K100) 的骨架材料, 按照“2.5”项下方法制备芍药苷胃漂浮片, 考察不同黏度 HPMC 对片剂累积释放率及 T1、T2 的影响, 结果

见图 1、表 1。

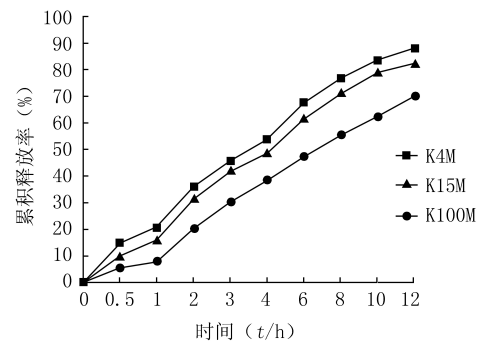


图 1 HPMC 黏度对释放率的影响

表 1 各考察因素对漂浮时间的影响

漂浮时间	HPMC 黏度			HPMC K4M 用量			NaHCO ₃ 用量			释放促进剂			填充剂	
	K4M	K15M	K100M	20%	25%	30%	5%	10%	15%	PVPP	CMS-Na	CCS	乳糖 200	微晶纤维素
T1(t/min)	3	8	15	3	4.5	4	15	9	2	3	3.5	3	2.5	5
T2(t/h)	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12	>12

结果表明, 选用不同型号的 HPMC 作为骨架材料时, 芍药苷片剂的累积释放率随着黏度的增大而减小。与此同时, 三者的 T2 均在 12 h 以上, 但 K4M 的 T1 较 K15M 和 K100M 更快, 故选择 HPMC K4M 作为骨架材料。

2.6.2 骨架材料用量考察

选择 HPMC K4M 为骨架材料, 乳糖 200 为填充剂补足片重, 按照“2.5”项下方法制备芍药苷胃漂浮片, 考察骨架材料用量 20%、25%、30% 对芍药苷片剂的累积释放率、T1 及 T2 的影响。结果见图 2、表 1。

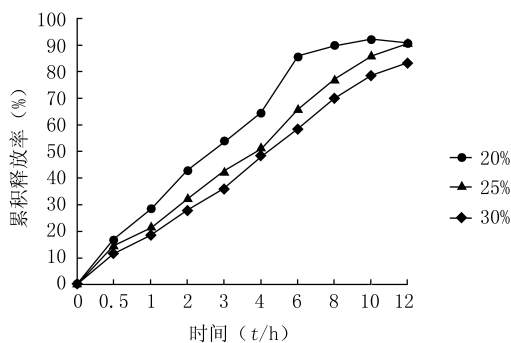


图 2 HPMC K4M 用量对释放率的影响

结果表明, 随着骨架材料 HPMC 用量的增大, 芍药苷片剂的累积释放率呈减小趋势, 3 种用量的 T1、T2 比较, 差异无统计学意义。结合累积释放率、T1 及 T2 综合考虑, 选择 HPMC K4M 20% 的用量符合要求。

2.6.3 起泡剂用量考察

保持主药及其他辅料种

类及用量不变, 分别考察起泡剂 NaHCO₃ 用量为 5%、10%、15% 时对芍药苷片剂的累积释放率、T1 及 T2 的影响。结果见图 3、表 1。

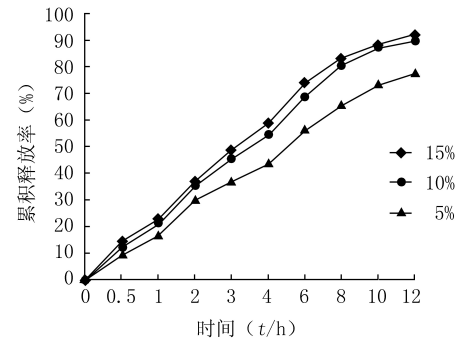


图 3 NaHCO₃ 用量对释放率的影响

结果表明, 随着起泡剂 NaHCO₃ 用量的增加, 芍药苷累积释放率增大, 同时, T1 随起泡剂用量增大而逐渐减小, 两者的 T2 均在 12 h 以上。故选择 NaHCO₃ 15% 作为起泡剂用量。

2.6.4 释放促进剂种类考察

保持主药及其他辅料的种类、用量不变, 分别考察释放促进剂交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP)、交联羧甲基淀粉钠 (CMS-Na)、交联羧甲基纤维素钠 (CCS) 三者对芍药苷释放率的影响。结果见图 4、表 1。

结果表明, 选择 3 种不同的释放促进剂对芍药苷的累积释放率、T1 及 T2 没有显著影响。由于预实验过程发现 PVPP 的堆密度比 CMS-Na 和 CCS 小, 即在相同质量前提下, PVPP 体积更大, 更利于在片剂

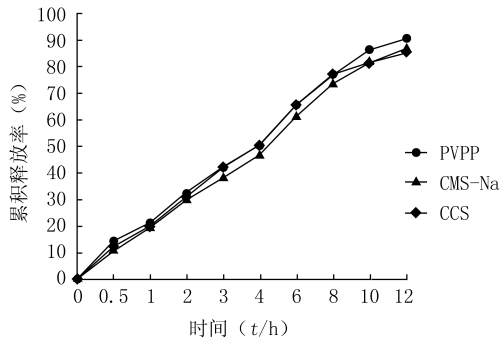


图4 不同释放促进剂对释放率的影响

中分布均匀,故选择PVPP作为释放促进剂。

2.6.5 填充剂种类考察 保持主药及其他辅料的种类、用量不变,考察填充剂乳糖200和微晶纤维素对芍药苷累积释放率的影响。结果见图5、表1。

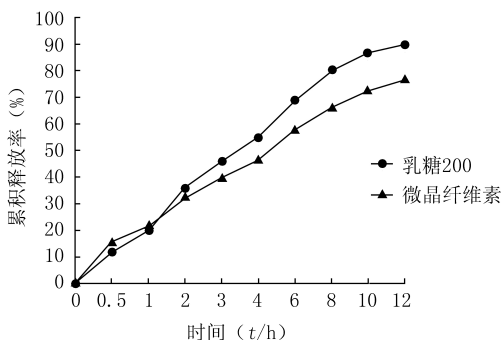


图5 不同填充剂对释放率的影响

结果表明,选择乳糖200或微晶纤维素作为填充剂,对芍药苷累积释放率有显著影响。以乳糖200作为填充剂,T1比微晶纤维素短,两者的T2均在12h以上。故选择乳糖200作为填充剂。

2.7 芍药苷胃漂浮片的处方优化

2.7.1 处方与工艺 芍药苷原料药:30 mg/片。工艺控制指标:冲模:11 mm 浅凹冲;片重:0.3 g;压片压力:15~20 kPa。

2.7.2 正交设计试验 根据单因素试验,确定3因素3水平的正交试验,以HPMC K4M、NaHCO₃、释放促进剂用量为因素,以2、6、12 h的芍药苷胃漂浮片累积释放率和T1为考察指标进行L₉(3⁴)正交试验(表2)。

表2 正交试验因素水平表

水平	A 因素	B 因素	C 因素
	HPMC K4M (%)	NaHCO ₃ (%)	释放促进剂 (%)
1	20	5	3
2	25	10	5
3	30	15	7

2.7.3 评价标准 ①硬度:压片压力控制在15~20 kPa。②起漂时间(T1/min)及赋值(F):1≤T1≤2,F=3分;2<T1≤4,F=2分;4<T1≤5,F=1分;T1>5,F=-3分。③体外释放:根据《中华人民共和国药典》2010年版附录缓控释制剂指导原则,采用2、6、12 h的累积释放率(Q)作为释放率评价指标,对于不同释放率给予不等分值。在前期预实验的基础上,我们发现2 h芍药苷累积释放率范围为(25±10)%,6 h累积释放率为(65±10)%,12 h累积释放率为80%~100%,体外释放总评分值(P)为2、6、12 h累积释放率评分值之和。释放率赋值见表3。

表3 释放率赋值表

时间(t/h)	累积释放率(Q/%)	分值
2	15% < Q ≤ 19%	1分
	19% < Q ≤ 22%	2分
	22% < Q < 28%	3分
6	55% < Q ≤ 59%	1分
	59% < Q ≤ 62%	2分
	62% < Q < 68%	3分
12	80% < Q ≤ 85%	-3分
	85% < Q ≤ 88%	1分
	88% < Q ≤ 90%	2分
	Q > 90%	3分

2.7.4 正交试验结果 对芍药苷胃漂浮片释放率的影响因素考察,正交试验及综合评分结果见表4。

表4 释放率的影响因素正交试验结果

水平	A	B	C	指标 F	指标 P	综合评分 Y
1	1	1	3	1分	6分	7分
2	2	1	1	-3分	1分	-2分
3	3	1	2	-3分	3分	0分
4	1	2	2	2分	5分	7分
5	2	2	3	2分	2分	4分
6	3	2	1	1分	3分	4分
7	1	3	1	3分	7分	10分
8	2	3	2	3分	8分	11分
9	3	3	3	2分	6分	8分
K1	24	5	12			
K2	13	15	18			
K3	12	29	19			
R	11	24	7			

由表4可知,各因素对指标的影响为B>A>C,即NaHCO₃对释放率的影响最大,其次是HPMC K4M,最后是释放促进剂,通过各个因素的均值得

到最佳处方为 A₁B₃C₃, 即 20% HPMC K4M, 15% NaHCO₃, 7% 释放促进剂, 10% 主药, 以乳糖 200 作为填充剂调节片重。

2.8 芍药苷胃漂浮片的处方验证 按照确定的处方及工艺制备 3 批(批号: 2014092501、2014092502、2014092503)芍药苷胃漂浮片, 以 0.1 mol/L 盐酸为释放介质, 测定各时间点的累积释放率, 结果见图 6。芍药苷胃漂浮片 3 个批次间的体外累积释放率无显著差异, 工艺重现性良好。

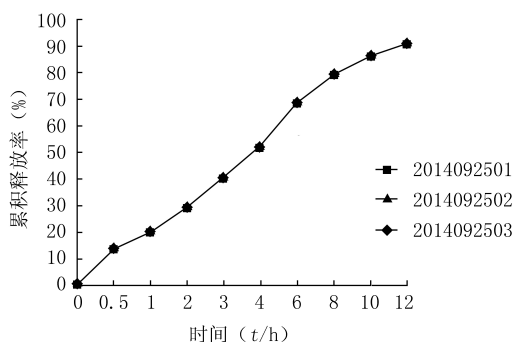


图 6 3 批芍药苷胃漂浮片累积释放率的处方验证

2.9 芍药苷胃漂浮片的释药机制考察 将已确定处方的芍药苷胃漂浮片进行体外释放实验, 把所得释放度数据分别按零级、一级、Hixson-Crowell 和 Higuchi 方程进行拟合, 比较各相关系数, 考察胃漂浮片的释药机制。结果见表 5。由拟合方程结果可知, 芍药苷胃漂浮片释放模型符合 Hixson-Crowell 模型, 即溶蚀模型, $r=0.9978$ 。

表 5 释放曲线拟合方程

模型	方程	r
零级	$Q=6.973 t+17.3$	0.947 6
一级	$\ln(100-Q)=-0.185 t-0.021 1$	0.994 6
Hixson-Crowell	$(100-Q)^{1/3}=-0.047 t-0.021 4$	0.997 8
Higuchi	$Q=26.808 t^{1/2}-16.214 9$	0.986 1

3 讨论与小结

在预实验阶段, 常用的润湿剂有水、乙醇、无水乙醇与水的混合物, 结果发现, 采用水或低浓度的乙醇湿法制粒, HPMC 会有结块现象, 未被水润湿的部分呈干粉状。分析原因可能是由于水分诱发了

HPMC 的黏性, 使辅料难以通过筛网造粒。在选择高浓度的乙醇造粒过程中, 辅料结团成块现象可以避免, 所以本实验选择了 95% 乙醇造粒。

体外释放实验一般选择转篮法或者浆法, 由于本实验是胃漂浮制剂, 在测定各时间段累积释放率的同时, 还需观察芍药苷胃漂浮片置人工胃液中的起漂时间及持续漂浮时间, 故选择浆法。此外, 如采用转篮法, 由于 HPMC 凝胶层的阻碍作用会导致转篮内与转篮外芍药苷浓度差别较大, 影响释放率数据的准确性, 综上所述原因选择浆法进行体外释放实验。

在单因素考察基础上, 通过正交试验优化制剂处方, 并确定芍药苷胃漂浮片的最终处方, 即以 20% HPMC K4M 为骨架材料, 15% NaHCO₃ 为起泡剂, 7% PVPP 为释放促进剂, 以乳糖 200 为填充剂补足片重, 压片压力控制在 15~20 kPa, 可以制得在 2~3 min 起漂, 持续漂浮 12 h 以上的芍药苷胃漂浮片。通过处方验证, 确证该工艺重现性良好, 符合实验目标。

【参考文献】

- [1] 张玲玲, 魏伟, 汪庆童, 等. 芍药苷对胶原性关节炎大鼠滑膜细胞 G 蛋白偶联信号的调节作用[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(3): 330-335.
- [2] 陈尹, 魏伟, 吴虹, 等. 芍药苷对佐剂性关节炎大鼠脾细胞产生抗体和 cAMP 水平的影响[J]. 药学报, 2007, 42(11): 1147-1151.
- [3] 陈广斌, 陈华萍, 吴铁, 等. 芍药苷对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织丙二醛、超氧化物歧化酶的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(16): 1272-1273.
- [4] Hung YJ, Yang CJ, Tsai MY, et al. Antiproliferative activity of paeoniflorin is through cell cycle arrest and the Fas/Fas ligand-mediated apoptotic pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(2): 141-147.
- [5] 杨琪伟, 杨莉, 熊爱珍, 等. 赤芍与白芍抗血小板凝集作用的 UPLC-MS 代谢组学初步研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 698-701.
- [6] 杨星钢, 张立波, 潘卫三, 等. 芍药苷大鼠在体肠吸收动力学的研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(11): 854-857.
- [7] 金利泰. 天然药物提取分离工艺学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2011: 10.

[收稿日期] 2015-02-08 [修回日期] 2015-12-02

[本文编辑] 李睿旻