

# 吸波面积法测定乌头二元释药颗粒的体外释放度

杨霖, 李孝栋\*

(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

**[摘要]** **目的:**建立吸波面积法测定乌头二元释药颗粒中碱性物质的体外释放度。**方法:**开展乌头普通颗粒及其聚丙烯酸树脂包衣颗粒的体外释放度研究,于不同时间点获得含药释放介质,通过调节释放介质 pH 和三氯甲烷萃取处理获得供试液,利用 Origin 8.0 软件求算扫描后的吸波面积,换算供试液中不同碱性物质的混合浓度,绘制乌头二元释药颗粒的累积释放曲线,比较二者的释药趋势。**结果:**吸波面积法用于测定碱性物质体外释放度的方法稳定可行、结果准确,线性方程为  $Y = 0.1454X + 3.2404$  ( $r = 0.9993$ ),平均加样回收率 106.25% (RSD 6.2%)。体外累积释放曲线表明普通颗粒碱性物质在酸性介质中快速释放,在第 10 min 累积释放率达 54.55%,第 45 min 达 94.51%,而聚丙烯酸树脂包衣颗粒在酸性介质中仅少量释药,模拟肠液中释药明显,第 210 min 释放率达到了 90.26%,具有较好的二元释药结果。**结论:**三氯甲烷萃取较好地呈现了不同颗粒中碱性成分的释放趋势,吸波面积法可用于乌头二元释药颗粒的体外释放度测试,为其他碱性物质中药制剂的释放度及体内外相关研究提供了良好借鉴。

**[关键词]** 吸波面积法; 乌头注射液; 二元释药; 体外释放度; 乌头碱; 颗粒剂

**[中图分类号]** R283.6; R284.1; R945; R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)15-0015-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150015

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170427.1039.018.html>

**[网络出版时间]** 2017-04-27 10:39

## Determination of *in Vitro* Release of Wutou Binary-released Granules by Area Under Absorbance-wavelength Curve

YANG Lin, LI Xiao-dong\*

(School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish determination of *in vitro* release of alkaline substances from Wutou binary-released granules by the method of area under absorbance-wavelength curve (AUAWC). **Method:** The studies on *in vitro* release for Wutou ordinary granules and Wutou polyacrylic acid resin coated granules were researched. Release medium containing drug was obtained at different time points, the individual sample solutions were obtained through chloroform extraction after pH adjusting. The AUAWC were calculated by Origin 8.0 software, and the mixed concentration of different alkaline substances in sample solutions was obtained. Then, the cumulative release curve of Wutou binary-released granules was drawn and the drug release trends of these two granules were compared. **Result:** This established AUAWC was stable, feasible and accurate with the linear equation of  $Y = 0.1454X + 3.2404$  ( $r = 0.9993$ ) and the average recovery of 106.25% (RSD 6.2%). The cumulative release curve of *in vitro* release showed that alkaline substances from ordinary granules in the acidic medium was rapid release, which was 54.55% at the 10<sup>th</sup> min and 94.51% at the 45<sup>th</sup> min. While the release of those from Wutou polyacrylic acid resin coated granules in acid medium was only a little release, but it released

**[收稿日期]** 20170116(001)

**[基金项目]** 福建省科技厅引导性项目(2017Y0052)

**[第一作者]** 杨霖,在读硕士,从事中药制剂及质量控制研究, Tel:15205030446, E-mail:330600592@qq.com

**[通讯作者]** \*李孝栋,博士,教授,硕士生导师,从事中药物质基础、药物制剂及其药代动力学的研究, Tel:0591-22861135, E-mail:lxdtcm@163.com

significantly in the simulated intestinal fluid with cumulative release rate of 90.26% at the 210<sup>th</sup> min. **Conclusion:** The chloroform extraction shows a good release trend of the alkaline substances in different granules. AUAWC can be used for the determination of *in vitro* release of Wutou binary-released granules, it will provide a good instruction for the study of release of alkaline substances in other Chinese materia medica preparations and their *in vitro* and *in vivo* researches.

**[Key words]** area under absorbance-wavelength curve; Wutou injection; binary-release; *in vitro* release; aconitine; granules

胃癌、肝癌是我国常见的恶性肿瘤,发现时多为晚期<sup>[1]</sup>,此时,严重影响患者生活质量的是癌痛。乌头注射液具有镇痛、强心、抗炎作用,临床多用于治疗胃癌、肝癌等消化系统晚期癌症疼痛<sup>[2-5]</sup>,具有起效快的优点,但由于其药效成分为乌头碱等生物碱类,治疗窗窄,注射后的药物快速到达心脏等部位,易引发心律失常等副反应<sup>[6-7]</sup>,若将其改为二元的口服制剂,通过药物胃中速释与肠道定位迟释的二元合理配比,可保证药物有效浓度的平稳,避免峰谷现象,加之药物本身对于胃癌和肝癌的治疗,使制剂达到长效、安全的目的<sup>[8-9]</sup>。

目前,在中药多元制剂的释放度研究中,大多采用紫外吸光度法与高效液相色谱法 2 种方法进行测定,且多以制剂中单一成分的含量为指标评价制剂体外释放度情况<sup>[10-14]</sup>。吸波面积法是药物经紫外-可见吸收光谱全波长扫描后,通过获得的吸光度与波长曲线下的面积来求算整体药物浓度的一种分析方法,前期研究表明吸波面积和中药复方中整体成分的总浓度成正比,可用于复杂体系中中药制剂的体外和体内研究<sup>[15-24]</sup>。本实验拟在课题组对碱性物质含量测定的基础上<sup>[25]</sup>,开展乌头二元释药颗粒的体外释放度研究,即通过对比乌头普通颗粒和其经聚丙烯酸树脂包衣的颗粒中碱性物质的不同释药趋势,检验吸波面积法用于测定乌头二元颗粒的可行性,为复杂体系多成分中药二元制剂的进一步体内外研究提供参考。

## 1 材料

RCZ-6C1 型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器厂),TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),AR-2140 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),VXH-3 型微型旋涡混合器(上海跃进医疗器械厂),TDL-80-2B 型低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

乌头二元释药颗粒(普通颗粒、聚丙烯酸树脂包衣颗粒)由福建中医药大学中药制剂实验室自制,其原料川乌、草乌均购自安徽协和成药业饮片有

限公司,经福建中医药大学中药鉴定教研室杨成梓教授鉴定,分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的干燥母根、毛茛科植物北乌头 *A. kusnezoffii* 的干燥块根;聚丙烯酸树脂 II 型(安徽山河药用辅料股份有限公司,批号 160601),十二烷基硫酸钠(SDS,西陇化工股份有限公司,批号 150601),乌头碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110720-200410,纯度 $\geq 98\%$ ),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 释放介质的配制** 精密吸取盐酸 9 mL,加水稀释并定容至 1 L,得 0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸。称取磷酸二氢钠 31.2 g,加水溶解并定容至 1 L,加入 SDS 5.0 g,加热溶解,得含 0.5% SDS 的 0.2 mol·L<sup>-1</sup>磷酸盐缓冲液<sup>[20]</sup>。

**2.2 溶出条件<sup>[26]</sup>** 取乌头普通颗粒适量,按 2015 年版《中国药典》(四部)溶出度与释放度测定法项下第一法(篮法),以 0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸(900 mL)为溶出介质,温度(37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C,转速 100 r·min<sup>-1</sup>,分别于第 5,10,20,30,45,60,90,120 min 取样 5 mL,同时补充等温介质 5 mL,过滤,取续滤液备用。取聚丙烯酸树脂包衣颗粒适量,以 0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸(750 mL)为溶出介质进行耐酸试验,分别于第 15,60,120 min 取样 5 mL,同时补充等温介质 5 mL,过滤,取续滤液备用。120 min 后往介质中加入等温含 0.5% SDS 的 0.2 mol·L<sup>-1</sup>磷酸盐缓冲液(用 NaOH 调 pH 6.8)250 mL,分别于第 125,130,140,150,165,180,210,240 min 取样 5 mL,同时补充等温介质 5 mL,过滤,取续滤液备用。

**2.3 对照品溶液的制备** 精密称定乌头碱对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,加三氯甲烷溶解并定容,得 200 mg·L<sup>-1</sup>对照品溶液。

**2.4 溶液的制备** 取 2.2 项下续滤液 1 mL 置于 10 mL 离心管中,用 10% 氨水调节 pH 10~11,静置,精密加入三氯甲烷 3 mL,涡旋 2 min,3 800 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取三氯甲烷层,得供试品溶液。取各空

白介质溶液 1 mL, 同法操作(其中聚丙烯酸树脂包衣颗粒的空白介质溶液加入与包衣颗粒同等量的聚丙烯酸树脂), 分别获得空白参比溶液。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 标准曲线的制备** 精密移取乌头碱对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加三氯甲烷定容至刻度, 得系列质量浓度的对照品溶液。以三氯甲烷作参比, 在 200 ~ 500 nm 进行紫外扫描, 得全波长扫描图, 见图 1, 利用 Origin 8.0 软件计算吸波面积。以吸波面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程  $Y = 0.1454X + 3.2404 (r = 0.9993)$ , 结果表明乌头碱对照品溶液在 10 ~ 200 mg·L<sup>-1</sup> 与吸光度与波长曲线下的面积(AUAWC)线性关系良好。

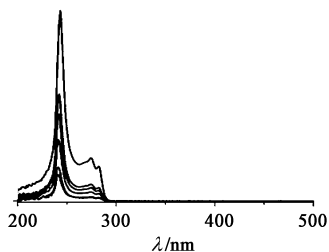


图 1 乌头碱对照溶液的 UV

Fig. 1 UV of reference solution of aconitine

**2.5.2 精密度试验** 取 80 mg·L<sup>-1</sup> 乌头碱对照品溶液, 在 200 ~ 500 nm 连续测定 6 次, 计算乌头碱 AUAWC 的 RSD 1.1%, 表明仪器精密度良好。

**2.5.3 重复性试验** 取同一乌头普通颗粒同一时间点(60 min) 续滤液 6 份, 按 2.4 项下方法制得供试品溶液, 于 200 ~ 500 nm 进行紫外扫描, 计算颗粒中碱性物质 AUAWC 的 RSD 2.4%, 表明该方法重复性良好。

**2.5.4 稳定性试验** 精密吸取乌头普通颗粒 60 min 的续滤液, 按 2.4 项下方法制得供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进行紫外扫描, 计算颗粒中碱性物质 AUAWC 的 RSD 3.0%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

**2.5.5 加样回收率试验** 精密吸取乌头普通颗粒 60 min 的续滤液 0.5 mL, 加入 120 mg·L<sup>-1</sup> 乌头碱对照品溶液 0.5 mL, 混匀, 按 2.4 项下方法操作, 平行 6 份, 在 200 ~ 500 nm 扫描, 计算加样回收率和 RSD 分别为 106.25% 和 6.2%。

**2.6 颗粒中碱性物质总样的测定** 称取乌头普通颗粒和聚丙烯酸树脂包衣颗粒适量, 分别按 2.2 项下各自溶出条件下溶出, 取样过滤, 按 2.4 项下方法

制得供试品溶液, 在 200 ~ 500 nm 扫描, 计算每 1 g 颗粒所含的三氯甲烷萃取后碱性物质总样分别为 423.6, 574.7 mg。

**2.7 释放度试验** 分别称取乌头普通颗粒和聚丙烯酸树脂包衣颗粒 202.2, 221.4 mg, 按 2.2 项下方法操作得续滤液, 按 2.4 项下方法制得供试品溶液, 在 200 ~ 500 nm 扫描, 利用 Origin 8.0 软件计算 AUAWC, 并计算累积释放率, 见表 1。

$$\text{累积释放率} = \frac{C_n \times V_{\text{溶出液总量}} + \sum_{i=1}^{n-1} C_{n-i} \times V_{\text{取样量}}}{W_{\text{总样含量}}} (n \geq 2)$$

由表 1 可知, 普通颗粒在第 10 min 累积释放率达 54.55%, 第 45 min 时则达 94.51%; 聚丙烯酸树脂包衣颗粒在加入缓冲盐后第 90 min(即 210 min) 释放率达 90.26%, 达到了良好的二元释药效果, 即普通颗粒在盐酸介质中快速释药, 而聚丙烯酸树脂包衣颗粒中绝大部分药物只在缓冲盐加后的模拟肠液中才释药迅速。同时, 结合上述 2 种颗粒的累积释放率, 模拟绘制 2 种颗粒混合的同步释放趋势曲线, 见图 2。

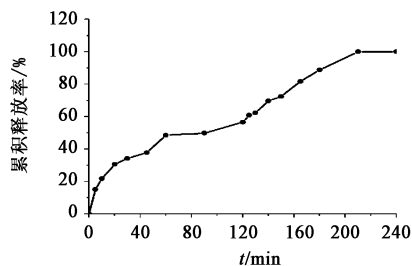


图 2 乌头二元释药颗粒的模拟释放曲线

Fig. 2 Simulated release curve of Wutou binary-release granules

## 3 讨论

本文研究的乌头二元释药颗粒达到了普通材料制得的普通颗粒酸性介质中释药、肠溶材料制得的聚丙烯酸树脂包衣颗粒在模拟肠液中释药的预期结果, 说明吸波面积法可较好地用于测定乌头中整体碱性物质的释放趋势, 有助于目前还未找到解决方法的复杂体系下中药制剂多元药物体外释放度的测定, 而体外释放度测试是固体制剂质量检测的重要项目之一, 因此, 该方法的应用将可能会促进中药固体制剂质量标准的提高, 为中药制剂的现代化发展提供很好的指导作用。

本文聚丙烯酸树脂包衣颗粒中的聚丙烯酸树脂增重为 10%<sup>[9, 27-29]</sup>, 其在盐酸介质中出现少部分药物溶出, 平均溶出量 7.59%, 符合 2015 年版《中国

表 1 2 种乌头颗粒不同时间点的累积释放率 (n=3)

Table 1 Cumulative release rates of two granules at each time point (n=3)

乌头颗粒	t/min	AUAWC 平均值	溶出液质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	溶出质量/mg	累积释放率/%
普通	5	4.949 8	35.26 ± 0.86	31.7 ± 0.8	37.78 ± 0.92
	10	5.699 2	50.72 ± 3.18	45.8 ± 2.9	54.55 ± 3.42
	20	6.697 3	71.31 ± 5.10	64.6 ± 4.6	76.91 ± 5.45
	30	7.084 3	79.30 ± 11.90	72.2 ± 10.7	85.90 ± 12.77
	45	7.466 7	87.20 ± 5.31	79.7 ± 4.9	94.51 ± 5.25
	60	8.265 2	103.66 ± 6.09	94.9 ± 5.4	100
	90	8.385 8	106.08 ± 1.33	97.6 ± 1.1	100
	120	9.010 8	119.04 ± 4.38	109.8 ± 3.9	100
聚丙烯酸树脂包衣	15	3.016 8	0	0	0
	60	3.734 5	10.19 ± 2.25	7.6 ± 1.7	6.01 ± 1.33
	120	3.861 3	12.81 ± 0.93	9.7 ± 0.7	7.59 ± 0.55
	125	4.146 7	18.70 ± 3.06	18.8 ± 3.1	14.78 ± 2.41
	130	4.287 5	21.60 ± 2.87	21.8 ± 2.9	17.13 ± 2.27
	140	5.032 0	36.97 ± 1.97	37.3 ± 1.9	29.29 ± 1.52
	150	5.304 3	42.59 ± 0.25	43.1 ± 0.3	33.85 ± 0.22
	165	6.254 3	62.17 ± 4.25	62.9 ± 4.3	49.40 ± 3.36
	180	6.952 2	76.57 ± 3.56	77.6 ± 3.6	60.95 ± 2.81
	210	8.742 2	113.5 ± 13.03	114.9 ± 13.1	90.26 ± 10.28
	240	10.043 3	140.35 ± 2.54	142.3 ± 2.6	100

药典》肠溶制剂项下的溶出要求<sup>[26]</sup>,溶于酸性介质的原因是流化床包衣过程中颗粒碰撞产生的药粉附于衣层表面所致,该现象也导致测试包衣颗粒总样的载药量比普通颗粒总样的载药量更高。结合前期研究结果可知,吸波面积法用于体外释放度的研究表现的是整体药物的释放行为,与中药多成分复杂体系的整体观一致,通过与体现个体药物分析的高效液相色谱法相结合,将有助于复杂体系中中药整体成分体内外研究的方法学的建立。

[参考文献]

[1] 徐学新,张炜.晚期胃癌的治疗进展[J].中国肿瘤临床与康复,2011,18(6):574-576.  
 [2] 付雯雯,江一川,张虹,等.乌头注射液对不同阶段炎症动物模型的抗炎作用[J].吉林大学学报:医学版,2015,41(3):568-572.  
 [3] 辛子明.几种常用有毒中药饮片毒性与药效使用分析[J].中国卫生产业,2014,11(2):181,183.  
 [4] 王彦.中药不良反应的影响因素[J].吉林中医药,2008,28(5):375-376.  
 [5] 付雯雯,江一川,张虹,等.乌头注射液对小鼠免疫功能的影响[J].人参研究,2015,27(2):25-27.  
 [6] 李谦,过立农,郑健,等.乌头属药用植物的研究进展

[J].药物分析杂志,2016,36(7):1129-1148.  
 [7] 饶冉.乌头属药用植物研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(29):14227-14230.  
 [8] 佟婉红,刘钰.缓释制剂的剂型特点及用药方法[J].甘肃医药,2012,31(3):219-220.  
 [9] 陈斌,萧伟,贾晓斌,等.通脉复方微丸多元释药系统中丹酚酸速释单元的制备工艺研究[J].中药材,2012,35(7):1140-1143.  
 [10] 惠颖,朱津津,杨星钢,等.多单元双嗜达莫胃漂浮缓释制剂的制备及其处方优化[J].沈阳药科大学学报,2011,28(2):105-111.  
 [11] 陈斌,萧伟,贾晓斌,等.通脉复方微丸多元释药系统中丹酚酸缓释单元的制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):39-42.  
 [12] 李丹,宋洪涛,初阳,等.多元定时释药技术制备复方丹参缓释胶囊的研究[J].中草药,2009,40(4):544-548.  
 [13] 魏元锋,张宁,林晓,等.大川芎方多元释药系统的体外释药特征和大鼠体内药动学研究[J].药学学报,2011,46(9):1150-1155.  
 [14] 郁丹红,黄洋,贾晓斌,等.通脉微丸多元释药系统释药特性评价[J].中国中药杂志,2012,37(19):2889-2893.

- [15] 张丽红,肖晓金,杨真真,等. 吸波面积法对养血注射液在大鼠体内药代动力学的研究[J]. 中医临床研究,2013,5(22):9-11.
- [16] ZHANG L H, XIAO X J, YANG Z Z, et al. A new method of area under the absorbance-wavelength curve for rats total metabolomic pharmacokinetics from Yangxue injection with multicomponents [J]. J Spectrosc, 2013, doi:10. 1155/2013/919023.
- [17] 赖宏强,胡悦,李孝栋. 基于吸波面积法对川芎组方片整体成分溶出度的考察及其体内外相关性的研究[J]. 药学学报,2015,50(6):788-792.
- [18] 赖宏强,胡悦,李孝栋. 吸波面积法与 HPLC 法同步测定川芎组方制剂大鼠体内绝对生物利用度[J]. 中草药,2015,46(16):2421-2427.
- [19] 胡悦,赖宏强,范哲贤,等. 2 种方法分析白花蛇舌草组方胶囊在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(16):83-87.
- [20] 杨真真,姜梦丽,李孝栋. 吸波面积法对组方中药白花蛇舌草肠溶胶囊中多成分体外释放度的研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(1):197-204.
- [21] 李孝栋,李素云,张丽红,等. 吸光度-波长曲线下面积和药物浓度的线性关系及其在中药药动学中的应用[J]. 福建中医药大学学报,2012,22(6):26-31.
- [22] ZHANG L H, LI S Y, LI X D, et al. Pharmacokinetic studies of mixture composed of sodium ferulate and tetramethylpyrazine hydrochloride in rats [C]//上海市学位委员会,上海交通大学. 上海市研究生学术论坛——中医药发展与未来论文集:2012 年卷. 上海:上海市学位委员会,2012:125-129.
- [23] 胡悦,赖宏强,范哲贤,等. 吸波面积-HPLC 结合法测定白花蛇舌草组方胶囊中整体和个体成分溶出度[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(14):4-7.
- [24] 杨霖,范哲贤,李孝栋. 等量附子不同组方中药制剂中碱性物质质量比较研究[J]. 中草药,2016,47(24):4364-4369.
- [25] 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,2015:121.
- [26] 范哲贤,胡悦,赖宏强,等. 中药复方制剂整体复杂成分体内外含量测定的方法学研究[J]. 中医临床研究,2016,8(13):11-15.
- [27] 刘执健,王洪光. 恩诺沙星缓释颗粒的处方筛选及体外释放的研究[J]. 中国抗生素杂志,2015,40(9):685-689.
- [28] 张伟,宋洪涛,张倩. 采用多元定时释药技术制备雷公藤胃漂浮缓释胶囊的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(22):2867-2871.
- [29] 宋洪涛,郭涛,康鲁平,等. 多元定位释药技术制备舒胸缓释胶囊的研究[J]. 中草药,2005,36(7):993-998.

[责任编辑 刘德文]