

苦参碱凝胶剂的制备及体外释药特性考察

徐和^{1,2}, 戴领^{1,2}, 沈成英^{1,2}, 白金霞^{1,2}, 申宝德², 袁海龙^{2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 中国人民解放军第三〇二医院, 北京 100039)

[摘要] 目的: 优选苦参碱凝胶剂的处方工艺并考察其体外释药特性。方法: 采用 HPLC 测定苦参碱含量, 流动相乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(6:94), 检测波长 210 nm。利用动态透析法测定苦参碱凝胶剂体外释放率, 以 1, 5, 10 h 累计释放率的综合评分为指标, 通过正交试验考察卡波姆-940 用量、苦参碱用量、氮酮用量及凝胶 pH 对处方工艺的影响。结果: 优选的处方工艺为卡波姆-940、苦参碱和氮酮用量分别为 1.0, 2.0, 0.5 g, pH 调节至 6.8; 苦参碱凝胶剂在 1, 5, 10 h 内的体外累计释放率分别为 (10.17 ± 0.35)%, (74.90 ± 0.70)%, (94.53 ± 0.74)%。结论: 优选的处方工艺稳定可行, 制备的苦参碱凝胶剂具有缓释特性。

[关键词] 苦参碱; 凝胶剂; 体外释放; 缓释制剂; 正交试验

[中图分类号] R944.9; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0008-04

[doi] 10.11653/syfy2014010008

Preparation and *in vitro* Release of Matrine Gels

XU He^{1,2}, DAI Ling^{1,2}, SHEN Cheng-ying^{1,2}, BAI Jin-xia^{1,2}, SHEN Bao-de², YUAN Hai-long^{2*}

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2. 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize formulation process of matrine gels and evaluate its *in vitro* release characteristics. **Method:** The content of matrine was measured by HPLC, mobile phase of acetonitrile-0.02 mol·L⁻¹

[收稿日期] 20130613(009)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09J12108-04C); 国家教育部留学归国人员科研启动基金项目(20101561)

[第一作者] 徐和, 在读硕士, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, Tel: 010-66933312, E-mail: xhyffs@163.com

[通讯作者] *袁海龙, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药新型给药系统研究, Tel: 010-66933367, E-mail: yhlpharm@126.com

- [5] ZHU A M, CHEN J H, LIU Q L, et al. Controlled release of berberine hydrochloride from alginate microspheres embedded within carboxymethyl chitosan hydrogels[J]. J Appl Polym Sci, 2011, 120(4): 2374.
- [6] 杨勇, 雷志英, 吴方评, 等. 小檗碱的抗菌作用研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(9): 1783.
- [7] 陈刚, 柯善栋, 王清睿, 等. 小檗碱对胃癌 AGS 细胞增殖和凋亡影响的初步研究[J]. 中西医结合研究, 2011, 3(1): 4.
- [8] 范妮, 薛伟明. 壳聚糖-海藻酸钙微球荧光标记反应对微球膜强度影响的研究[J]. 四川师范大学学报: 自然科学版, 2011, 34(2): 231.
- [9] 张玮, 张学农. 壳聚糖纳米粒制备技术研究进展[J]. 抗感染药学, 2008, 5(2): 65.
- [10] 孙培龙, 邵平, 孟祥河, 等. 壳聚糖微球固定化脂肪酶的制备工艺及应用性质研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(4): 189.
- [11] 向艳, 杨红. 壳聚糖在药物缓释载体中的应用[J]. 中国生化药物杂志, 2005, 26(1): 62.
- [12] 周纲, 牛天水, 张龙, 等. 巯基化壳聚糖包裹人参纳米颗粒的制备[J]. 生物技术, 2010, 20(5): 81.
- [13] ZHANG M, REN H X. Structural modification and application of chitosan[J]. J Clin Rehabil Tiss Eng Res, 2007, 11(48): 9817.

[责任编辑 全燕]

potassium dihydrogen phosphate solution (6:94), detection wavelength 210 nm. Dynamic dialysis method was adopted to determine *in vitro* release rate of matrine gels, taking composite score of cumulative release rates at 1, 5, 10 h as index, orthogonal test was applied to optimize formulation process with amounts of carbomer-940, matrine and azone, gels pH as factors. **Result:** Optimized formulation process of matrine gels was obtained, dosages of carbomer-940, matrine and azone were 1.0, 2.0, 0.5 g, respectively; Gels pH was adjusted to 6.8 eventually. *In vitro* cumulative release rate at 1, 5, 10 h were $(10.17 \pm 0.35)\%$, $(74.90 \pm 0.70)\%$ and $(94.53 \pm 0.74)\%$, respectively. **Conclusion:** This optimized process was simple and feasible, these prepared matrine gels had sustained release properties.

[**Key words**] matrine; gels; *in vitro* release; sustained release formulations; orthogonal test

苦参碱为豆科植物苦参、苦豆子和广豆根中有效的生物碱成分之一,具有抗心律失常、抑菌、抗炎、止痒、免疫抑制、抗肝纤维化、抗高血压血管重构、抗肿瘤等药理活性^[1],临床用于治疗皮炎、湿疹等以变态反应为特征的急性、亚急性或慢性炎症性皮肤病,且不易产生糖皮质激素样的不良反应^[2]。但常用的苦参碱制剂存在口服消除半衰期短、注射给药易造成局部疼痛等缺陷。

中药凝胶剂系指有效成分或提取物与适宜基质制成的具有凝胶特性的半固体或稠厚液体制剂,质地均匀细腻,具有良好的生物相容性和稳定性,制备工艺简单,展开后易于涂布,涂布在皮肤上能形成透明的薄膜,附着性强,滞留时间长,无油腻、气闷感,易洗除,不污染衣物,对皮肤和黏膜无刺激性,适合皮肤局部外用^[3-4],局部给药后易于吸收,能够产生缓释、控释及脉冲释药等作用^[5]。本实验拟采用正交试验优选苦参碱凝胶剂的处方工艺并考察其体外释药特性。

1 材料

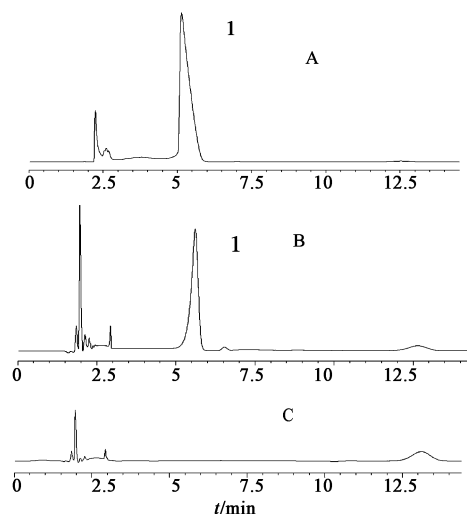
LC-20AT型高效液相色谱仪(SPD-M20A型紫外检测器,日本岛津公司),ZRS-6型智能溶出仪(天津市新天光技术开发有限公司),BAS-124S型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)。苦参碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号110805-200508),苦参碱原料药(纯度>98%,西安林禾生物技术有限公司),卡波姆-940(北京凤礼精求商贸有限责任公司),甘油、乙醇、二甲基硅油、氮酮、三乙醇胺(TEA)、尼泊金丙酯(国药集团化学试剂有限公司),乙腈为色谱纯,水为二次蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苦参碱的含量测定

2.1.1 色谱条件 Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.02 mol·

L⁻¹磷酸二氢钾溶液(6:94),检测波长 210 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 20 μL,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 苦参碱

图 1 苦参碱凝胶剂 HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱对照品 22 mg 置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得 0.22 g·L⁻¹的对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取适量卡波姆-940,加入甘油 32 g 润湿研磨,用适量水溶胀 24 h 作为凝胶基质。将二甲基硅油(2.0 g)、尼泊金丙酯(0.1 g)和一定量氮酮溶于 4.0 g 乙醇中。精密称取适量苦参碱,用适量水溶解后加入凝胶基质中,缓慢加入乙醇溶液,搅拌均匀,用三乙醇胺调节 pH 至一定值,加水至 100 g,研磨均匀,即得乳白色、均匀、细腻、半透明状的苦参碱凝胶。取适量苦参碱凝胶剂,加甲醇溶解并定容,配成一定质量浓度的供试品溶液。

2.1.4 空白溶液的制备 按 2.1.3 项下方法制成不含苦参碱的空白凝胶剂,加甲醇溶解并定容,即得。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取对照品储备液 1,

2,4,6,8,10 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,苦参碱质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 7\ 225X + 36\ 303$ ($r = 0.999\ 8$),表明苦参碱在 22 ~ 220 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.1.6 精密度试验 精密吸取质量浓度为 44 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苦参碱对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果峰面积的 RSD 1.29%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0,1,2,4,8 h 取样,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果峰面积的 RSD 2.06%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.1.8 回收率试验 按处方比例称取辅料,依次按处方量的 80%,100%,120% 加入苦参碱对照品,加甲醇定容至 10 mL 量瓶中,各平行制备 3 份,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果苦参碱平均回收率分别为 98.20%,100.02%,99.54%,RSD 分别为 1.50%,1.14%,1.62%。

2.2 体外释放试验 采用动态透析法测定^[6]。取适量凝胶(约相当于苦参碱 10 mg),置于处理好的透析袋(截留相对分子质量 > 7 000)中,两端系紧,固定于搅拌桨上,以 200 mL 磷酸盐缓冲溶液(PBS,

pH 7.4)为药物释放介质,于 $(37 \pm 0.5) \text{ } ^\circ\text{C}$,100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下进行体外释放试验,分别于 0.5,1,2,4,5,6,8,10 h 取释药介质 2 mL,并补充等量恒温、新鲜的缓冲溶液。将取出的释药介质经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算苦参碱凝胶剂的累计释放度。

2.3 处方工艺优选 在单因素试验基础上,选取卡波姆-940 用量、苦参碱用量、氮酮用量及 pH 为考察因素,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 1。采用综合评分法对正交试验数据进行分析^[7],以苦参碱在 1,5,10 h 的释放率为综合评价指标,综合评分 $(Y) = (X_1 - 20)(40 - X_1) + (X_2 - 50)(70 - X_2) + (X_3 - 80)(100 - X_3)$, X_1, X_2, X_3 分别为 3 个时间点的释放率,同时 1,5,10 h 的累计释放率应分别满足 20% ~ 40%,50% ~ 70%,80% ~ 100%,当释放率偏离区间外,表示对 Y 的贡献为负, Y 值越大,因素水平越好。试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 苦参碱凝胶剂处方工艺正交试验因素水平

水平	A 卡波姆-940/g	B 氮酮/g	C pH	D 苦参碱/g
1	0.5	0.5	6.8	1
2	1.0	1.0	7.2	2
3	2.0	2.0	7.4	3

表 2 苦参碱凝胶剂处方工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	累计释放率/%			综合评分
					1 h	5 h	10 h	
1	1	1	1	1	30.62	80.35	98.54	-187.439
2	1	2	2	2	35.64	82.58	94.89	-265.578
3	1	3	3	3	33.09	84.74	88.16	-325.001
4	2	1	2	3	18.79	62.89	81.73	97.591
5	2	2	3	1	21.35	70.96	90.35	104.933
6	2	3	1	2	18.41	69.47	95.77	42.698
7	3	1	3	2	21.77	52.89	80.32	88.013
8	3	2	1	3	23.54	50.13	80.25	65.789
9	3	3	2	1	17.58	47.08	83.36	-65.272
K_1	-778.018	-1.835	-78.951	-147.778				
K_2	245.222	-94.856	-233.260	-134.867				
K_3	88.529	-347.576	-132.055	-161.621				
R	341.080	115.247	51.436	8.918				

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	2.025×10^5	2	1 683.854	<0.01
B	2.134×10^4	2	177.433	<0.01
C	4.092×10^3	2	34.033	<0.05
D(误差)	1.202×10^2	2	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,影响凝胶剂释药性质的因素顺序为 $A > B > C > D$ 。以极值最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果显示因素 A, B 具有极显著意义, C 因素具有显著影响,确定最佳工艺条件为 $A_2B_1C_1D_2$,即卡波姆-940、苦参碱和氮酮的用量分别为 1.0, 2.0, 0.5 g, 凝胶剂 pH 6.8。按优选的处方工艺制备 3 批苦参碱凝胶剂,按 2.2 项下考察体外释放度,计算各时间点的累计释放率,累计释放曲线见图 2,结果表明优选的工艺稳定可行,苦参碱凝胶剂释放缓慢且均匀,在 1, 5, 10 h 内的累计释放率分别为 $(10.17 \pm 0.35)\%$, $(74.90 \pm 0.70)\%$, $(94.53 \pm 0.74)\%$,具有一定的缓释效果。

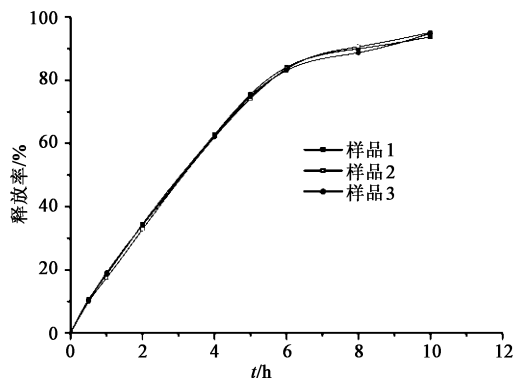


图2 苦参碱凝胶剂的体外释放曲线

3 讨论

将苦参碱制成凝胶剂可避免临床上常用苦参碱制剂引起的局部疼痛、胃肠道破坏及肝脏首过效应,减小血药浓度峰谷的变化,使药物释放缓慢均匀,同时降低药物毒副作用,提高苦参碱的生物利用度^[8]。卡波姆-940 具有易于涂展、黏附性好、易清洗、无油腻感、能吸收组织渗出液、对皮肤无刺激性

等特点,常作为凝胶剂骨架材料被广泛用于缓控释经皮制剂的制备,其用量会直接影响凝胶黏度和药物的释放,一般选用质量分数 0.5% ~ 2.0%^[9]。三乙醇胺用于调节凝胶剂 pH,可使凝胶剂性质更加均一稳定,也不易产生白色团块物质。氮酮具有高效、低毒、无刺激性、不影响凝胶性质等优点,能减少药物或活性添加剂在角质层中扩散阻力,对疏水、亲水性药物和活性成分均有明显的透皮促渗作用,常作为透皮制剂的渗透促进剂,但氮酮用量并不是越多越好^[10]。

[参考文献]

- [1] 张丽华,陈邦恩,潘明佳. 苦参碱药理作用研究进展[J]. 中草药,2009,40(6):1000.
- [2] 李俊山,陈小飞,冯端浩. 苦参碱凝胶的制备及质量控制[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(1):31.
- [3] 熊欣,刘淑芝,项佳音,等. 新型载体经皮凝胶剂的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):244.
- [4] 赖宝林,王利胜,张升,等. 中药凝胶剂的研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(2):211.
- [5] 张宁,徐艳明,祁永华,等. 外用凝胶剂研究进展[J]. 黑龙江医药,2010,23(1):92.
- [6] 邹东娜,张典瑞,张学顺,等. 苦参碱白蛋白微球的制备及性质[J]. 中国医药工业杂志,2006,37(12):824.
- [7] 施海英,陈钧,费超群,等. 水飞蓟宾缓释凝胶剂的制备及体外释药特性研究[J]. 中成药,2013,35(3):491.
- [8] 李洪松,张学顺,付春生,等. 苦参碱自微乳化制剂的制备工艺研究[J]. 中草药,2013,44(4):414.
- [9] Fonseca M J, Cabanes A, Alsina M A, et al. Design of a new formulation for sustained release of gentamicin: a Carbopol hydrogel [J]. Int J Pharm, 1996, 133 (1/2):265.
- [10] 朱如彩,周作的. 不同氮酮用量对复方苦参凝胶中苦参碱体外经皮渗透的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2006,13(11):39.

[责任编辑 全燕]