

# 青藤碱透皮贴剂的含量及释放度测定

王婴<sup>1</sup>, 王岩<sup>2\*</sup>

(1. 广东药学院医药化工学院, 广东 中山 528458; 2. 广东药学院中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:测定青藤碱透皮贴剂的含量及体外释放度。方法:采用 HPLC, Hypersil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-乙二胺(50:50:0.25), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温室温, 检测波长 265 nm。结果:青藤碱透皮贴剂的平均回收率为 98.97%, RSD 1.90% (n=6); 暂定 6, 24, 72 h 的累积释放率分别为 9.6% ~ 14.4%, 30.4% ~ 45.6%, 45.2% ~ 67.8%。结论:建立的含量及释放度的测定方法简便、重复性好, 可用于该产品的质量的控制。

**[关键词]** 青藤碱; 透皮贴剂; 含量; 释放度

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0146-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013170146

## Content and Release Degree Determination of Sinomenine Transdermal Patch

WANG Ying<sup>1</sup>, WANG Yan<sup>2\*</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering,

Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the content and release degree of sinomenine transdermal patch. **Method:** HPLC analysis was adopted in the determination, and the chromatographic conditions were as follows: the column was Hypersil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol-water-ethylenediamine (50:50:0.25). The elution rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column was kept at room temperature. The detection wavelength was set at 265 nm. **Result:** The average recovery and RSD were 98.97% and 1.90% (n=6) respectively. The cumulative release ratio at 6, 24 and 72 hours was confirmed temporarily as 9.6%-14.4%, 30.4%-45.6% and 45.2%-67.8%. **Conclusion:** The methods for content and release degree determination are simple and repeatable, which could be used for the quality control of the preparation.

**[Key words]** sinomenine; transdermal patch; content; release degree

青藤碱(sinomenine)为治疗风湿及类风湿性关节炎的常用药物。由于其生物半衰期短,在体内消除较快,并且口服生物利用度较低,在一定程度上限制了临床的推广应用<sup>[1]</sup>。将青藤碱包封于脂质体内,制成透皮贴剂,可降低药物不良反应,减少用药次数,提高生物利用度,同时可在皮肤浅表部位形成

药物贮库,药物缓慢释放进入关节腔内,从而提高了临床用药的有效性及安全性。本文在前期完成青藤碱透皮贴剂制备工艺与透皮机制研究的基础上<sup>[2-3]</sup>,采用 HPLC 建立了其含量及释放度测定方法,为该产品质量标准的制定提供了依据。

### 1 材料

Summit P680 型高效液相色谱仪(德国 Dionex 公司), ZRS-4 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂), BP-211D 型电子分析天平(北京赛多利斯公司), Hypersil C<sub>18</sub> 反相柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。青藤碱对照品(批号 110774-200206, 中国药品生物制品检定所), 薄层色谱硅胶 G(青岛海洋化工有限

**[收稿日期]** 20120914(018)

**[第一作者]** 王婴, 硕士, 实验师, 从事药物新剂型与质量控制研究, E-mail: 1248322680@qq.com

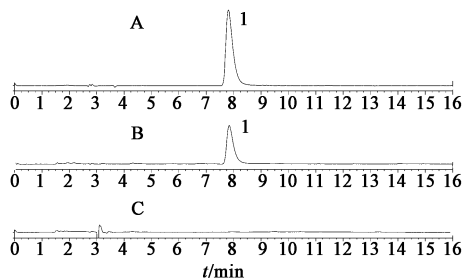
**[通讯作者]** \* 王岩, 博士, 教授, 从事药物新剂型与质量控制研究, Tel: 020-39352169, E-mail: gdpuwy@126.com

公司),青藤碱透皮贴剂(自制,批号 111021,111026,111102),甲醇(色谱纯,美国 Honeywell 公司),其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定

**2.1.1 色谱条件与系统适用性试验** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,甲醇-水-乙二胺(50:50:0.25)为流动相,检测波长 265 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温室温。理论板数按青藤碱吸收峰计算不低于 2 500<sup>[4]</sup>。色谱图见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 青藤碱

图 1 青藤碱透皮贴剂 HPLC

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取青藤碱对照品适量,加无水乙醇制成 0.272 8 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。

**2.1.3 提取条件的优化** 根据药物及基质的溶解特性,选择甲醇、异丙醇、80% 乙醇、无水乙醇进行了青藤碱提取率的比较研究,结果表明无水乙醇 50 mL 对青藤碱的提取率最高;另外,为优化贴剂中青藤碱的提取条件,对提取方法及提取时间进行了优化,结果表明超声处理 45 min 即可提取完全。

**2.1.4 供试品溶液的制备** 取质量差异项下的本品 1 片,除去保护层,剪成细条状,置具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 50 mL,称重,超声处理(250 W,频率 30 kHz)45 min,用无水乙醇补足减失的质量,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液<sup>[5]</sup>。

**2.1.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号 111102),分别于 0,2,4,6,8,10,12 h 进样,测定峰面积,结果 RSD 2.33%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.1.6 重复性试验** 取同一批贴剂 6 片(批号 111102),照上述方法进行测定,结果平均含量为 9.78 mg/片,RSD 1.88%,表明该法重复性良好。

**2.1.7 加样回收率试验** 取质量差异项下已知含量的本品(批号 111102,含量 9.78 mg/片)1 片,除去保护层,剪成细条状,置具塞锥形瓶中,精密加入 2.03 g·L<sup>-1</sup> 的青藤碱对照品无水乙醇溶液 5 mL,再精密加入无水乙醇 45 mL,称重,超声处理(250 W,

30 kHz)45 min,用无水乙醇补足减失的质量,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。分别精密吸取对照品及供试品溶液 10 μL 进样测定,结果见表 1。

表 1 青藤碱加样回收率测定(n=6)

取样量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
9.78	10.15	19.97	100.4		
9.78	10.15	19.82	98.92		
9.78	10.15	20.04	101.1	98.97	1.90
9.78	10.15	19.68	97.54		
9.78	10.15	19.91	99.80		
9.78	10.15	19.53	96.06		

**2.1.8 样品测定** 按照青藤碱透皮贴剂的制备工艺,制备不含青藤碱的阴性样品,同法制成阴性对照溶液,进样测定,结果在青藤碱吸收峰处无干扰。按上述方法对 3 批样品(批号 111021,111026,111102)进行测定,结果每片的平均含量为 9.90 mg,RSD 0.72%。

### 2.2 体外释放度测定

**2.2.1 释放介质的选择** 分别采用蒸馏水、pH 6.2 磷酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、1% 十二烷基硫酸钠溶液及 2% PEG-400 溶液作为释放介质进行测定,选择最佳的释放介质。量取经脱气处理过的释放介质 250 mL 注入溶出杯内,预温至(32 ± 0.5) °C。取贴剂 6 片,分别固定于两层不锈钢碟片的中央,释放面朝上,转速 100 r·min<sup>-1</sup>,于开始搅拌后 4,6,8,10,12,16,24,48,72 h 定时取样 25 mL,取样后立即补充等体积的空白释放介质<sup>[6]</sup>。将样品液置蒸发皿中,水浴蒸干,残渣加适量甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液。精密吸取对照品溶液 10 μL,供试品溶液 20 μL,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,按下式计算累计释放率(Q%)。结果见图 2。

$$Q\% = \frac{C_n \times 250 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 25}{D} \times 100\%$$

式中,C<sub>n</sub> 为第 n 个取样点测得的药物浓度(mg·mL<sup>-1</sup>);C<sub>i</sub> 为第 i(i ≤ n - 1) 个取样点测得的药物浓度(g·L<sup>-1</sup>);D 为每片贴剂中含青藤碱量(mg)<sup>[6]</sup>。结果表明,贴剂在介质中青藤碱的释放量顺序依次为 2% PEG-400 溶液 > 1% 十二烷基硫酸钠溶液 > pH 6.2 磷酸盐缓冲液 > pH 6.8 磷酸盐缓冲液 > 蒸馏水,故确定 2% PEG-400 溶液作为释放介质。

**2.2.2 释放度测定转速的选择** 目前,各国药典中

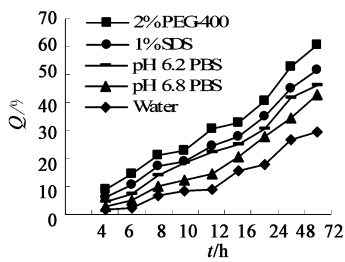


图 2 不同释放介质的累积释放率 ( $n=3$ )

收载的溶出度测定方法中的转速,一般不超过  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,转速过快,可能会导致对不同制剂溶出行为的区分能力差。本研究采用 2% PEG-400 溶液为释放介质,分别以 25, 50, 75,  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  不同转速进行释放度测定,考察转速对贴剂中药物释放量的影响<sup>[7]</sup>。同上法测定累积释放率  $Q\%$ ,结果见图 3。表明随着时间的延长,累积释放量呈递增趋势,转速为  $25 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  与  $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  时释放较慢,而  $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  与  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  差异不明显。最终确定释放度测定转速为  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

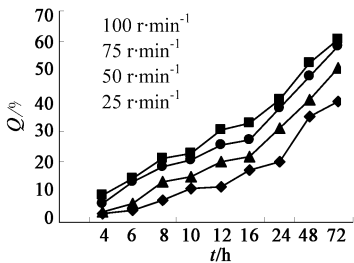


图 3 不同转速的累积释放率 ( $n=3$ )

**2.2.3 样品测定** 分别取 3 批贴剂,按照建立的释放度测定法测定,结果见表 2。以平均累积释放率  $Q\%$  对时间  $t(\text{h})$  分别按零级、一级以及 Higuchi 动力学方程进行线性回归<sup>[8-9]</sup>,阐释贴剂的释药机制,结果 Higuchi 方程拟合最优,符合骨架型缓释制剂的药物释放特征,见表 3。将  $Q\%-t$  方程转换为  $Q-t$  方程: $Q = 193.02t^{1/2} - 99.608$ ,得透皮速率常数  $J$  为  $193.02 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{1/2}$ 。根据样品测定结果,将释放度平均值浮动  $\pm 20\%$ ,暂定本品每片在 6, 24, 72 h 的释放量应分别为标示量的 9.6% ~ 14.4%, 30.4% ~ 45.6%, 45.2% ~ 67.8%。

表 2 样品累积释放率测定

No.	$Q/\%$								
	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	16 h	24 h	48 h	72 h
111021	8.02	12.19	17.64	22.11	26.39	30.23	36.99	51.67	54.94
111026	7.25	12.98	20.56	21.69	27.07	29.96	38.45	49.03	56.81
111102	8.04	10.86	19.07	22.05	29.22	33.41	38.59	48.13	57.84

表 3 释药动力学方程拟合

释放模型	$Q\%-t$ 方程	$r$
零级	$Q\% = 0.7164t + 12.14$	0.9171
一级	$\ln(1 - Q\%) = -0.0111t - 0.1142$	0.9572
Higuchi	$Q\% = 7.721t^{1/2} - 3.984$	0.9765

### 3 讨论

在含量测定方法的建立中,由于青藤碱的碱性较强,色谱峰易拖尾,在流动相加入适量的碱性物质抑制其电离,使峰形变尖锐<sup>[10]</sup>。曾对不同浓度的三乙胺、乙二胺、磷酸盐缓冲液等碱性试剂进行筛选,结果确定加入 0.25% 乙二胺,可排除杂质峰的干扰,色谱峰对称性较好。本文的前期研究表明,青藤碱的线性范围为  $0.2728 \sim 5.456 \mu\text{g}$ ,仪器精密度 RSD 1.54%<sup>[3]</sup>。

本品平均累积释放率  $Q\%$  与时间  $t(\text{h})$  的关系符合 Higuchi 动力学方程,说明该制剂为骨架型释药系统。由释放曲线可知,贴剂中的药物在 0 ~ 16 h 释放较快,16 ~ 72 h 释药趋于平稳。将释放度测定结果与经皮渗透试验相比较,药物的释放速度大于透皮速度,表明本品为由皮肤控制给药的制剂。

### [参考文献]

- [1] 周莉玲,李锐,周华,等. 制剂药理学试验中药物累积法与血药浓度法的相关性研究[J]. 中成药,1996,18(9):1.
- [2] 王岩,丛振娜,刘清飞,等. 青藤碱脂质体的处方优化及制备工艺研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):275.
- [3] 王岩,王婴,凌家俊,等. 青藤碱脂质体贴剂的经皮渗透行为研究[J]. 中国新药杂志,2008,17(24):2108.
- [4] 张英丰,于洋,周莉玲. 微透析技术-同位素示踪法联用进行青藤碱贴剂的皮肤局部药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):147.
- [5] 刘莉,穆晓敏,沈亦妙,等. 穴敷喘平凝胶贴剂质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):32.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 2010;附录 87.
- [7] 王岩,丛振娜. 格列吡嗪透皮贴剂的含量及体外释放度的测定[J]. 华西药学杂志,2011,26(5):475.
- [8] 张蜀,林华庆,邓红. 磷酸川芎嗪缓释透皮贴剂的制备及体外释放度测定[J]. 药品评价,2005,2(4):292.
- [9] 张伟,张玲,杨兆祥. HPLC 法测定草乌甲素贴释放度[J]. 云南中医学院学报,2010,33(3):21.
- [10] 杨蒙蒙,张琰,刘新友,等. 正交试验法优选祛风通络胶囊的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):45.

[责任编辑 顾雪竹]