

正交试验优化天山雪莲骨架缓释片处方

刘桂花¹, 邢建国², 薛桂蓬², 王新春^{1,3*}, 当学良¹, 张亚辉¹

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004;
3. 石河子大学医学院一附院, 新疆 石河子 832008)

[摘要] 目的: 优化天山雪莲缓释片制备工艺并探讨药物释药机制。方法: 采用正交实验法, 以绿原酸、芦丁累积释放度综合评分 K 值为指标, 优选 HPMC 用量、淀粉:乳糖的比例和微晶纤维素用量, 采用数学模型拟合释放曲线。结果: 最佳处方为 HPMC K15M 用量为 17%, 淀粉:乳糖为 2:1, MCC 用量为 1%; 优化后的处方释放模型符合 Higuchi 方程。结论: 天山雪莲缓释片体外释放性能良好, 为处方设计合理性提供了依据。

[关键词] 天山雪莲; 正交设计; 缓释片; 释放度

[中图分类号] R 283.6

[文献标识码] B

[文章编号] 1005-9903(2010)06-0017-03

Optimum of *Saussurea involucrate* Gel Sustained-release Matrix Tablets by Orthogonal Design

LIU Gui-hua¹, XING Jian-guo², XUE Gui-peng², WANG Xin-chun^{1,3*}, DANG Xue-liang¹, ZHANG Ya-hui¹

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Xinjiang Institute of Meteria, Urumqi 830004, China;

3. The First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the *Saussurea involucrate* sustained-release tablets and to study the release mechanism of the mainactive composition of *Saussurea involucrate*. **Method:** The amount of HPMC and MCC, the ratio of starch with lactose were screened by using method of orthogonal design and by selecting cumulative release of chlorogenic acid and rutin as index. Mathematic models were used to imitate the drug release. **Result:** The optimum formula was as follows the amount of HPMC K15m was 17%, the ratio of starch with lactose was 2:1 and the amount of MCC was 1%. The release of chlorogenic acid and rutin was conformed to Higuchi equation. **Conclusion:** The release of two mainactive composition of *Saussurea involucrate* could be well described in *vitro* and give good foundation for rationality of formula design.

[Key words] *Saussurea involucrate*; orthogonal design; sustained-release tablets; dsissolution

天山雪莲主要用于风湿、类风湿性关节炎及其他各类炎性疼痛治疗^[1]。缓释制剂具有稳定体内血药浓度, 提高血药浓度的谷峰比值(T/P), 减少给药次数, 方便患者服用的优势。为探讨维药口服缓释制剂的研究, 本文采用湿颗粒压片法, 制备每片含 300 mg 天山雪莲提取物的骨架缓释片, 通过测定主

成分绿原酸、芦丁的体外释放度, 探讨其体外释药特性。

1 仪器与材料

SPD-10AVP 型高效液相色谱仪(日本岛津制造所); VFP-7 旋转式变速压片机(常州市龙城晨光药化机械有限公司); JM-B2003 电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司); ZRS-8G 型智能溶出仪(天津大学无线电厂); YPD-200C 型片剂硬度仪(上海黄海药检仪器厂); DHG-9023A 电热恒温鼓风干燥箱(上海申贤恒温设备厂)。

天山雪莲浸膏粉(芦丁质量分数为 11.27%, 绿原酸质量分数为 4.76%, 新疆西部加斯特药业有限

[收稿日期] 2009-10-13

[基金项目] 石河子大学科学技术研究发展计划项目 (gxj2008-zdgg05)

[通讯作者] *王新春, Tel: (0993) 2855827; E-mail: cwjwxc@163.com

公司);羟丙基甲基纤维素(HPMCK15M,上海卡乐康公司提供);微晶纤维素(德国瑞登梅尔父子公司,批号 10179645);聚乙烯吡咯烷酮(德国 BASF,批号 061010);绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200413);芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0080-9705);色谱乙腈、甲醇(美国 Fisher);其他辅料均由北京凤礼精求商贸有限公司提供,均为药用规格,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 缓释骨架片的制备 按处方量称取药粉(占片重 16.67%)、HPMC、乳糖、淀粉、MCC 等各种辅料过 100 目筛,混匀后加入润湿剂(90%乙醇溶液)适量,制软材,制粒(20 目),50℃干燥,整粒,加入硬脂酸镁,混匀,压片,每片含天山雪莲提取物 300 mg。

2.2 含量测定方法

2.2.1 色谱条件^[2] 色谱柱 Kromasil ODS-1 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.4%磷酸(B),梯度洗脱(0 min, 13% A; 15 min, 13% A; 16 min, 15% A; 40 min, 15% A);双波长检测 257 nm(检测芦丁), 327 nm(检测绿原酸);流速 1 mL·min⁻¹;柱温 35℃;进样量 10 μL;按上述色谱条件测定。

2.2.2 标准曲线的制备 取绿原酸对照品约 8 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 153.3 μg·mL⁻¹对照品储备液。分别精密吸取绿原酸对照品储备液 0.5, 1.5, 3.0, 5.0, 7.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加 0.5% 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液稀释至刻度,摇匀。取芦丁对照品约 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 192.3 μg·mL⁻¹对照品储备液。精密吸取芦丁对照品储备液 0.5, 1, 3, 5, 7 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加入 0.5% SDS 溶液稀释至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液 10 μL,分别注入高效液相色谱仪中,以对照品浓度 $X(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,得到绿原酸和芦丁的回归方程分别为: $Y = 3.322 \times 10^4 X + 1.820 \times 10^4$, $r = 0.9997$; $Y = 1.840 \times 10^4 X - 6.754 \times 10^2$, $r = 0.9996$ 。绿原酸在 7.665 ~ 107.31 μg·mL⁻¹,芦丁在 9.615 ~ 134.61 μg·mL⁻¹线性关系良好。

2.3 体外释放度测定 按《中国药典》^[1],以 0.5% SDS 溶液 100 mL(磷酸盐调节 pH 7.00 ± 0.05)为释

放介质,温度(37 ± 1)℃,转速(100 ± 1)r·min⁻¹,分别于 2, 4, 6, 8, 12 h 取样 3 mL(同时补充同温等量介质),用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液进入液相色谱仪,以外标法计算绿原酸和芦丁的累积释放度。

2.4 正交试验优化处方 以不同时间点缓释片中绿原酸、芦丁的累积释放度综合评分 K 值^[3] 为指标,进行体外释放度研究,考察 HPMC 用量(A)、淀粉:乳糖的比例(B)和 MCC 用量(C)对 K 值的影响。计算公式为: $K = Q_{12} - [(Q_2 - 20)^2 + (Q_6 - 50)^2]^{1/2}$,其中 Q_2, Q_6, Q_{12} 分别为 2, 6, 12 h 的累积释放度。正交试验表按 $L_9(3^4)$ 设计,见表 1。

表 1 因素水平

No.	A HPMC 用量 /%	B 淀粉:乳糖	C MCC 用量 /%
1	14	1:2	1
2	17	1:1	5
3	20	2:1	10

表 2 正交实验

No	A	B	C	D	$K_{\text{绿原酸}}$	$K_{\text{芦丁}}$
1	1	1	1	1	58.84	70.20
2	1	2	2	2	60.35	72.62
3	1	3	3	3	65.37	78.44
4	2	1	2	3	75.05	77.60
5	2	2	3	1	78.25	85.72
6	2	3	1	2	76.50	87.01
7	3	1	3	2	68.26	79.94
8	3	2	1	3	69.69	78.39
9	3	3	2	1	71.08	83.11
$K_{\text{绿原酸1}}$	184.56	202.15	205.03	208.17		
$K_{\text{绿原酸2}}$	229.80	208.29	206.48	205.11		
$K_{\text{绿原酸3}}$	209.03	212.95	211.88	210.11		
$R_{\text{绿原酸}}$	15.08	3.60	2.83	1.67		
$K_{\text{芦丁1}}$	221.26	227.74	235.60	239.03		
$K_{\text{芦丁2}}$	250.33	236.73	233.33	239.57		
$K_{\text{芦丁3}}$	241.44	248.56	244.10	234.43		
$R_{\text{芦丁}}$	9.69	6.94	3.59	1.71		

由直观分析可知,3 个因素对缓释片释放效果的影响顺序为 $A > B > C$,各因素的最佳组合是 $A_2B_3C_3$ 。方差分析表明,A 因素对指标的影响具有显著性,而 B, C 无显著性影响。因此,依据试验结果及结合实际生产经济性要求,确定最优处方为 $A_2B_3C_1$,即 HPMC 用量为 17%,淀粉:乳糖为 2:1, MCC 用量为 1%。

表 3 方差分析

变异来源	SS		V		MS		F		P	
	绿原酸	芦丁	绿原酸	芦丁	绿原酸	芦丁	绿原酸	芦丁	绿原酸	芦丁
A	1 025.61	443.78	2.00	2.00	221.89	512.81	27.81	80.70	0.03	0.01
B	58.69	218.08	2.00	2.00	109.04	29.34	13.67	4.62	0.07	0.18
C	26.06	64.47	2.00	2.00	32.23	13.03	4.04	2.05	0.20	0.33
误差	12.71	15.96	2.00	2.00	7.98	6.35				
总变异	1 123.07	742.28	8.00	8.00						

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

2.5 处方验证及释放曲线拟合 按照优化的处方,进行 3 批样品放大实验,分别测定天山雪莲缓释片中绿原酸及芦丁在 2,4,6,8,12 h 的释放度,计算累积释放率,并进行释放曲线拟合,结果分别见表 4~7 及图 1。

表 4 绿原酸体外累积释药率 ($n=3$) /%

样品	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	K 值
1	32.89	52.27	67.81	83.69	95.25	75.05
2	31.67	53.14	66.39	82.47	94.49	74.10
3	32.13	52.01	65.97	82.57	94.12	74.55

表 5 芦丁体外累积释药率 ($n=3$) /%

样品	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	K 值
1	22.21	46.32	59.23	73.57	91.01	83.01
2	23.02	45.23	57.23	73.78	91.67	82.99
3	22.34	46.9	58.64	74.56	90.54	84.10

表 6 天山雪莲缓释片绿原酸体外释药拟合方程

Model	Equation	r
Zero-order	$Mt/M\infty = 0.0628t + 0.2426$	0.9789
One-order	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.2545t + 0.2952$	0.9885
Higuchi	$Mt/M\infty = 0.3145t^{1/2} - 0.12$	0.9962

表 7 天山雪莲缓释片芦丁体外释药拟合方程

Model	Equation	r
Zero-order	$Mt/M\infty = 0.0645t + 0.1625$	0.9789
One-order	$\ln(1 - Mt/M\infty) = -0.1927t + 0.1894$	0.9955
Higuchi	$Mt/M\infty = 0.3232t^{1/2} - 0.2106$	0.9971

验证实验结果表明,优化处方制备 3 批样品的指标 K 值具有较高的重复性,说明处方合理。释放曲线拟合结果显示,天山雪莲缓释片中绿原酸及芦丁的释药行为较好地符合 Higuchi 方程。依据 Peppas 方程: $Mt/M\infty = Kt^n$; $\ln(Mt/M\infty) = n\ln t + C$, 进行直线方程拟合,得到绿原酸及芦丁的方程分别为: $\ln(Mt/M\infty) = 0.6267\ln t - 1.5651$, $r = 0.9965$, $n = 0.6267$ 及 $\ln(Mt/M\infty) = 0.7626\ln t - 1.9372$, $r = 0.9913$, $n = 0.7626$ 。由绿原酸及芦丁的释放机制的特征参数 n 可以看出,绿原酸及芦丁的释放机

制为非 Fick 扩散,释放过程是药物扩散与骨架溶蚀的协同效果(图 1)。

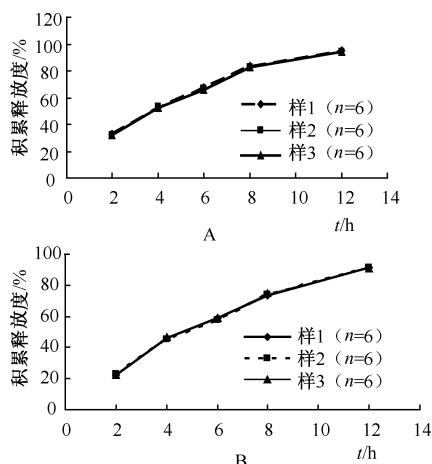


图 1 3 批样品绿原酸(A)及芦丁(B)累计释放度曲线

3 讨论

体外释放度测定结果表明,天山雪莲缓释片中的活性成分绿原酸及芦丁的释放较符合 Higuchi 方程,说明药物从骨架片的释放取决于药物的扩散性和水的渗透性。经 Peppas 方程拟合,天山雪莲缓释片中的绿原酸及芦丁的释放是由药物扩散与骨架溶蚀作用的结果。骨架中 HPMC 用量的增加,片剂水化速率加快,可在片剂表面迅速形成凝胶层,且凝胶层增厚,强度增大,从而使药物释放速度减慢,达到缓释的效果。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社, 2005:36.
[2] 翟科峰,邢建国,杨伟俊,等. HPLC 法同时测定天山雪莲中紫丁香苷、绿原酸和芦丁的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(5): 762.
[3] 陆兵,徐国杰,张汝华. 偏离度-缓控释制剂处方优化的指标[J]. 中国医药工业杂志, 1999, 30(8): 348.

[责任编辑 全燕]