

芦丁壳聚糖缓释片体外释放度研究*

Study on the in Vitro Release Rate of Rutin Sustained-release Tablets Containing Chitosan

陈丽¹,葛为公²,裴世成¹,李慧萍¹,吴钢¹CHEN Li¹, GE Wei-gong², PEI Shi-cheng¹, LI Hui-ping¹, WU Gang¹

(1. 柳州医学高等专科学校,广西柳州 545006; 2. 桂林医学院,广西桂林 541001)

(1. Liuzhou Medical College, Liuzhou, Guangxi, 545006, China; 2. Guilin Medical College, Guilin, Guangxi, 541001, China)

摘要:以壳聚糖为骨架材料制备芦丁壳聚糖缓释片,并用高效液相色谱法考察其体外释放度。结果芦丁壳聚糖缓释片在 30min、60min、120min、180min、240min、360min、480min、720min 的体外释放度为 (11.37±0.96)%、(18.66±1.09)%、(28.26±0.94)%、(35.72±1.22)%、(41.37±1.20)%、(53.22±1.20)%、(60.66±0.85)%、(75.39±1.32)%。壳聚糖对芦丁具有缓释作用,药物的体外释放符合 Higuchi 方程。

关键词:释放度 缓释片 壳聚糖 芦丁 高效液相色谱法

中图分类号:O657.72,R284 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2009)04-0438-03

Abstract Chitosan was chosen as framework material for the preparation of rutin sustained-release tablet. Furthermore, the in vitro release rate was evaluated. Result The in vitro release rates of the self-preparation (rutin sustained-release tablets in chitosan framework material) were (11.37±0.96)%、(18.66±1.09)%、(28.26±0.94)%、(35.72±1.22)%、(41.37±1.20)%、(53.22±1.20)%、(60.66±0.85)%、(75.39±1.32)% , at 30min, 60min, 120min, 180min, 240min, 360min, 480min, 720min respectively. Chitosan can slower the release rate of rutin preparation when chitosan was chosen as the framework material. The release profile followed Higuchi kinetics formula.

Key words dissolution, sustained-release tablets, chitosan, Rutin, High Performance Liquid Chromatography

芦丁又称芸香苷,其效用同维生素 P,是一种从植物中提取出来的生物黄酮类化合物,具有降低毛细血管通透性和脆性,促进细胞增生和防止血细胞凝聚以及抗炎、抗过敏、利尿、解痉、镇咳、降血脂等方面的作用^[1]。临床上芦丁常用于防治脑血管出血、高血压、视网膜出血、紫癜、急性出血性肾炎、慢性气管炎等症,同时还用于预防和治疗糖尿病及合并高血脂症,效果肯定,副作用小,而且价廉易得^[2]。普通芦丁片需口服 3~4 次,每次 1~2 片,增加了药物的不良反应,降低了患者服药的依从性,使血药浓度不稳定。壳聚

糖是甲壳类动物、昆虫和其他无脊椎动物外壳中的甲壳质经脱乙酰化而制得。由于壳聚糖制备简单,来源丰富,在酸性物质中膨胀形成胶体粘稠物质而阻滞药物扩散和溶出,在国内外药学领域,壳聚糖应用于缓释、控释制剂的研究颇受人们关注^[3]。如吴婉莹^[4]、景秋芳^[5]、张国宏^[6]、杨红梅^[7]等分别以壳聚糖为骨架研制了金雀异黄素壳聚糖微球胶囊、葛根素缓释片、银杏叶缓释片、烟酸占替诺壳聚糖缓释片,缓释效果比普通制剂明显。因此我们用壳聚糖为骨架制备芦丁缓释片并进行了体外释放度的研究。

1 实验部分

1.1 材料

芦丁对照品(南京替斯艾么中药研究所生产,TCM027-071128);芦丁原料药(含量 95%,武汉合中

收稿日期:2009-04-17

修回日期:2009-06-15

作者简介:陈丽(1977-),女,硕士,主要从事药剂学、药理学教学工作。

* 广西壮族自治区卫生厅科研基金项目(N6 Z2007321)资助。

生化制造有限公司出品,企业标准);壳聚糖(福建东山生物技术公司出品,自测脱乙酰度为 78.37%);十二烷基硫酸钠(上海试四赫维化工有限公司出品,化学纯,批号: 070701);芦丁缓释片(自制,60mg片)

1.2 仪器

Agilent 1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司出品),UV9200紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司出品),TG328A(S)电子分析天平(上海精密科学有限公司出品),RC-8型溶出测试仪(天津市国铭医药设备有限公司出品),TDP1.5T单冲压片机(上海力超电机厂生产),78X-2片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器有限公司出品),其它均为常规仪器

1.3 缓释片的制备

主药与辅料均过 100目筛,采用湿法制粒压片。粘合剂 10% 淀粉浆中加入 1.5% 的壳聚糖醋酸液,将处方量芦丁细粉加入 0.5% 十二烷基硫酸钠溶液中,搅拌均匀后与处方量的淀粉混合均匀,分别加入含不同浓度壳聚糖醋酸液的粘合剂中制备成软材,过 16目筛制粒,40~50℃干燥,整粒后加入适量硬脂酸镁混匀,压片,每片含主药 60mg,片重(350±0.17)mg,片剂硬度约 6kg/mm²。

1.4 缓释片含量测定

1.4.1 芦丁标准曲线绘制^[8] 按照高效液相色谱法测定。以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-1%冰醋酸溶液(32:68)为流动相,检测波长为 257nm,柱温为 30℃,理论板数按芦丁峰计应不低于 2000 精密称取在 120℃减压干燥至恒重的芦丁对照品 0.0098g,加甲醇定容于 100ml 的容量瓶中,浓度 0.0980mg/ml,精密量取该液 0.5ml 1.0ml 2.0ml 3.0ml 4.0ml 6ml 分别放置于 10ml 的容量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀得不同浓度芦丁对照品溶液。分别取对照品溶液 10^μl 进样,测定其峰面积,以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,做线性回归,得回归方程为: $Y = 3343661.518X + 55086.925, V = 0.9996, n = 6$ 芦丁在 0.0049~0.0588mg/ml 浓度范围内,浓度与峰面积呈良好的线性关系(图 1)。

1.4.2 精密度及稳定性试验

取对照品溶液(0.0980mg/ml),分别等量 10^μl 进样 6 次,按上述实验方法项下的色谱条件测定芦丁的峰面积,得平均值为 384235.006, $RSD = 0.538%$ 。然后取此溶液分别在 0h 2h 4h 6h 8h 12h 24h 进样分析,记录峰面积,结果样品在 24h 内测定是稳定的 ($RSD = 0.82%, n = 6$)。

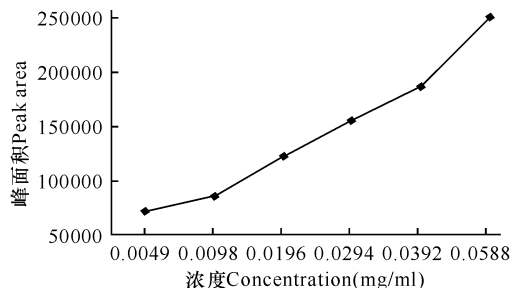


图 1 芦丁对照品标准曲线

Fig. 1 The standard curve of rutin

1.4.3 加样回收率试验

精密称取芦丁原料药(含量 95%) 10mg,共 5 份,分别精密加入浓度为 0.0980mg/ml 的芦丁对照品溶液 10ml,各取 10^μl 进样,测定峰面积并计算回收率。结果(表 1)测得平均回收率为 98.85%, $RSD = 0.46%, n = 5$ 。

表 1 加样回收率试验结果

Table 1 Recovery test results of added reference substance

芦丁原料药 Added (g)	芦丁对照品 Reference substance (g)	测得量 Found (g)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Mean (%)	RSD (%)
0.0102	0.00098	0.01103	98.66	98.85	0.46
0.0106	0.00098	0.01142	98.62		
0.0110	0.00098	0.01186	99.00		
0.0105	0.00098	0.01143	99.56		
0.0109	0.00098	0.01169	98.40		

1.4.4 芦丁壳聚糖缓释片含量测定

取芦丁壳聚糖缓释片 10 片,精密称定后研细,精密称取适量(约相当于芦丁 50mg),置 100ml 容量瓶中,加流动相定容,称定重量,超声处理 20min,放冷,再称定重量,用流动相补足遗失的重量,滤过,精密量取续滤液 1ml,置 50ml 容量瓶定容,取 10^μl 后按照 1.4.1 的方法测定其峰面积,代入标准曲线计算芦丁含量。

1.5 缓释片释放度测定

按照文献[9]的转篮法测定。取芦丁壳聚糖缓释片 6 片,溶出介质为人工胃液,量取 1000ml 于烧杯中,温度在 (37±0.5)℃,转速为 100r/min,分别于 30min 60min 120min 180min 240min 360min 480min 720min 取样 5ml,滤过后分别精密量取 2ml 于 10ml 容量瓶中,用甲醇-1%冰醋酸溶液(32:68)定容,同时向烧杯中补充相同体积相同温度的蒸馏水,取 10^μl 进样,测定峰面积,按标准曲线计算浓度,并计算累积溶出百分率。

2 结果

自制芦丁缓释片的累积释放百分率见表 2 将累

积释放百分率与时间分别用零级、一级和 Higuchi 方程进行拟合^[9]。由表 3 可知, 芦丁缓释片的释药模型拟合方程符合 Higuchi 方程。

表 2 芦丁壳聚糖缓释片的累积释放百分率 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Release rate of rutin sustained-release tablets			
时间 (min)	Time (min)	累积释放百分率 (%)	Cumulative release rate (%)
30	11.37 ± 0.96	240	41.37 ± 1.20
60	18.66 ± 1.09	360	52.73 ± 1.34
120	28.26 ± 0.94	480	60.66 ± 0.85
180	35.72 ± 1.22	720	75.39 ± 1.32

表 3 芦丁壳聚糖缓释片体外释放量拟合方程

Table 3 Release profile of rutin sustained-release tablets in vitro

释药模型 Drug release kinetics	数学方程式 Equation	r	拟合方程 Fitted equations
零级 Zero-order	$M_t/M_\infty = kt$	0.9863	$M_t/M_\infty = 798.59t - 85.37$
一级 One-order	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -kt$	-0.9973	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = 534.41t - 47.39$
Higuchi 方程 Higuchi equations	$M_t/M_\infty = kt^{1/2}$	0.9998	$M_t/M_\infty = 33.28t^{1/2} + 1.60$

3 讨论

由于壳聚糖的流动性差, 压片时会影响片子的质量, 所以实验中采用湿法制粒压片。由于采用的模型药物为水难溶性药物, 因此加入表面活性剂 0.5% 十二烷基硫酸钠以增大其溶解度。

壳聚糖是影响芦丁释放的主要因素。壳聚糖具有很强的亲水性, 可在酸性介质中膨胀形成胶体黏稠物质从而阻滞药物溶出及扩散^[10]。

自制芦丁壳聚糖缓释片在降解开始时释药速率较慢, 随壳聚糖的溶解释药速率增加, 故认为本缓释片中壳聚糖载体系统的释药速率与降解速率有关, 壳聚糖降解方式为本体降解^[11]。

芦丁壳聚糖缓释片在 720min 内能缓慢释放, 释药模型符合 Higuchi 方程, 说明自制芦丁壳聚糖缓释片具有缓释作用, 能为临床提供平稳的血药浓度, 减少不良反应的发生及给药次数, 提高患者的用药的依从性。

对于芦丁壳聚糖缓释片体内释药机制的影响因素及生物利用度等问题, 需进一步研究。

参考文献:

- [1] Patrizio R Oetti. Prevention of diabetes of increased aging effect on rat collagen linred fluorescence by aminoguanidine and rutin [J]. Diabetes, 1990, 37: 7961.
- [2] 陈代勇, 赵森, 臧志和, 等. 制片工艺对芦丁缓释骨架片释药机制影响研究 [J]. 西南国防医药, 2003, 13(6): 598-600.
- [3] 刘伟, 查晶, 胡一桥. 壳聚糖作为缓控释辅料研究的最新进展 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(3): 234-238.
- [4] 吴婉莹, 李云谷. 金雀异黄素壳聚糖微球胶囊的体内药动学研究 [J]. 中药材, 2003, 25(4): 282-284.
- [5] 景秋芳, 任福正, 沈永嘉, 等. 葛根素复合骨架缓释片释放度的研究 [J]. 华东理工大学学报, 2003, 29(2): 173-176.
- [6] 张国宏, 荆树汉, 潘丽春, 等. 银杏叶缓释片的工艺探讨 [J]. 广西医学, 2006, 28(5): 643-645.
- [7] 杨红梅, 葛为公, 曾立威. 烟酸占替诺壳聚糖缓释片的研制及释放量测定 [J]. 广西医科大学学报, 2005, 22(3): 384-386.
- [8] 国家药典委员会. 中国药典: 第一部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 246-247, XD, 184.
- [9] 国家药典委员会. 中国药典: 第二部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: XD, 184.
- [10] 王家远, 杨波, 赵榆林, 等. 壳聚糖一三七总皂苷缓释微囊的制备及体外溶出研究 [J]. 中国药业, 2006, 15(17): 28-29.
- [11] 罗华丽, 鲁在君. 壳聚糖作为药物载体的缓释机理的研究进展 [J]. 天中学刊, 2006, 21(2): 38-40.

(责任编辑: 邓大玉)