

治疗冠心病中药复方缓释制剂均衡释放度的研究*

□朱盛山** 袁旭江** 李苑新 (广东药学院中药开发研究所 广州 510240)

摘要:目的:研究治疗冠心病中药复方缓释制剂的均衡释放度。方法:采用高效液相色谱法和气质联用法进行测定。结果:以丹酚酸 B 为指标的水溶性成分的溶出符合 Higuchi 方程,以丹参酮 II A 为指标的脂溶性成分的溶出符合 Higuchi 方程,挥发性成分冰片的溶出符合一级方程和 Higuchi 方程。结论:高效液相色谱法具有快速、简便稳定等特点,可用于评价中药复方缓释制剂体外释放度,气质联用法可用于评价冰片的释放度。

关键词:缓释制剂 释放度 HPLC GC-MS

中药复方成分复杂,如何科学评价中药缓释制剂体外释药过程是一个急待解决的问题。2005 年版中国药典一部没有中药复方相关的缓释制剂及其释放度收载,故笔者在中国药典第二部附录 XIX D 项的指导原则下对以丹参、三七、冰片组方^[1]研制出的中药复方缓释制剂为例进行初步研究,并试图阐明中药复方缓释制剂多种成分的释放行为。对以丹酚酸 B 为指标的水溶性成分采用高效液相色谱指纹图谱法进行测定;脂溶性成分特别是挥发性成分采用萃取法联合高效液相色谱法对丹参酮 II A 进行测定,采用萃取法联合气质联用技术对冰片进行测定和评价。

一、实验部分

1. 材料与仪器

HPL100 高效液相色谱仪;四元泵,在线脱气体,自动进样器,柱温箱,可变波长检测器,HPCHEM 色谱工作站;气相(6890N)-质谱(5973N)联用仪,美国惠普公司;BP211D 电子天平,德国 Sartorius;ZRS-8G 智能溶出试验仪,天津大学无线电厂。

丹参酮 II A 对照品、丹酚酸 B 对照品,美晨药业有限公司提供;甲醇、乙腈为色谱试剂,其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。丹参提取物、三七提取物、冰片、复方缓释制剂,由广东药学院中药开发研究所研制提供。

2. 高效液相色谱法

(1)水溶性成分测定。

对照品溶液的制备:分别取丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁ 对照品适量,精密称取,加甲醇溶解并稀释制成浓度为每 mL 含 98、180 μ g,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:取复方缓释制剂适量,碾

收稿日期:2005-10-19

修回日期:2005-12-10

* 国家自然科学基金项目(30472198):中药复方缓释制剂复杂成分均衡释放的研究,负责人:朱盛山;国家中医药管理局项目(2004-05ZP50):治疗冠心病中药复方缓释制剂均衡释放的研究,负责人:朱盛山;广东省自然科学基金项目(04105450):治疗冠心病中药复方缓释制剂复杂成分均衡释放的研究,负责人:朱盛山。

** 联系人:朱盛山,研究员,广东药学院中药开发研究所所长,主要从事中药新药与新剂型的研究,袁旭江,主要从事中药新药开发研究, Tel:020-34074782, E-mail: xjyuan.xj@163.com。

44 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

碎,加水 1000 mL,搅拌至全部溶解,取 1 mL 水液用 0.45 μ 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

色谱条件:色谱柱 HpODS 柱 (4.6mm \times 150 mm, 5 μ m);流动相乙腈-0.05%酸水溶液(按一定的比例洗脱);流速 1.0ml/min;柱温 30 $^{\circ}$ C。通过比较不同波长的分析图谱,以 203nm 为分析测定波长,能够同时对丹酚酸和人参皂苷等多种成分进行测定、分析评价,效果良好,故确定测定波长为 203nm。对照品和样品图谱见图 1、图 2 和图 3。

(2)脂溶性成分测定。

①丹参酮 II A 测定:对照品溶液的制备:取丹参酮 II A 对照品适量,精密称取,加甲醇溶解并稀释制成含量为每 1mL 含 48 μ g,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:取复方缓释制剂适量,碾碎,加水 1000mL,搅拌至全部溶解,溶液呈均匀状态,吸取溶液 10mL,置 60mL 锥形分液漏斗中,每次加入氯仿 5mL 萃取 3 次,合并萃取液,0.45 μ 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

色谱条件:色谱柱 Hp ODS 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m);流动相甲醇-水(20:80);流速 1.0 ml/min;柱温 30 $^{\circ}$ C;测定波长为 270 nm。对照品和样品见图 4、图 5。

②冰片气质联用法。HP-5MS Capillary 30.0 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m;进样口温度 250 $^{\circ}$ C,接口温度 280 $^{\circ}$ C;载气为氦气,流速 1.3 mL/min;分流比 40:1,进样量 2.0 μ L;升温程序:柱温 70 $^{\circ}$ C 保持 3 min,7 $^{\circ}$ C/min 程升至 120 $^{\circ}$ C,保持 3min,可达到较好分离效果。通过分析和处理,确定冰片成分,对峰面积进行内标校正处理,计算峰总面积值。冰片色谱图如图 6。

3. 溶出度测定

取复方缓释制剂,精密称定重量并作记录。按照《中国药典》2005 年版二部附录 XD 释放度测定第一法,先加 1000mL 水为溶出介质,密封溶出杯,于 1,2,4,6,8,10,12h 分别取样 12mL(取样时搅起杯底沉淀物使溶液均匀,同时补充相同温度体积的水)。分取 2mL 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,滤液吸取 10 μ L 注入高效液相色谱仪依法进行测定,检测丹酚酸 B 等水溶性成分的含量;余溶出液 10mL,置 60mL 锥形

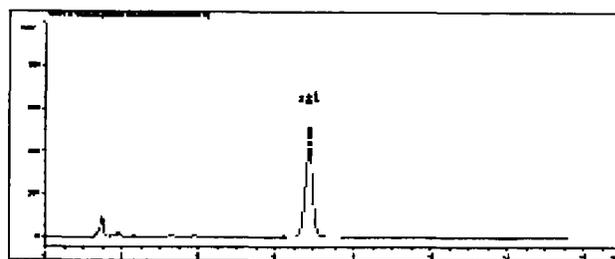


图 1 Rg1 标准对照品的 HPLC 图谱

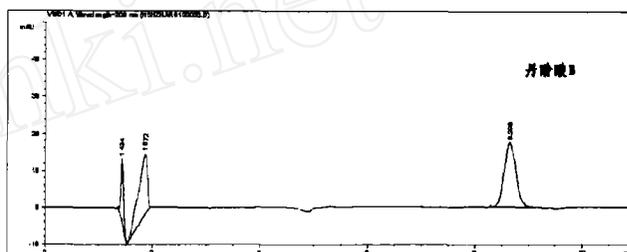


图 2 丹酚酸 B 的 HPLC 图谱

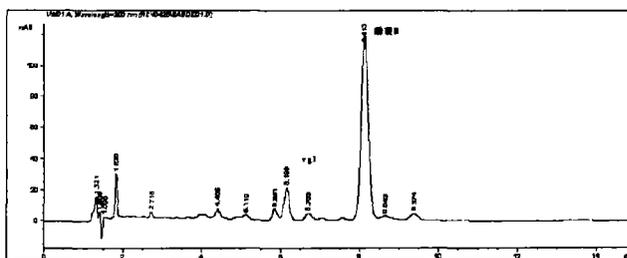


图 3 水溶性成分的 HPLC 图谱

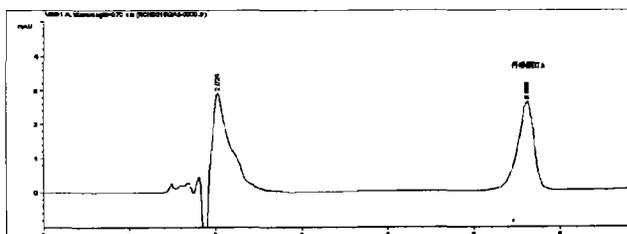


图 4 丹参酮 II A 的 HPLC 图谱

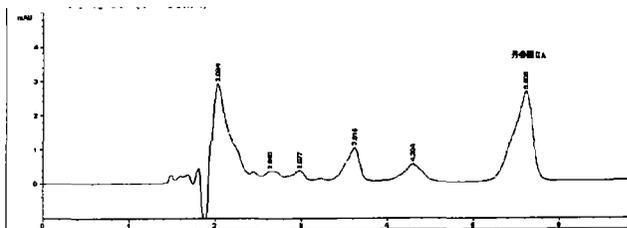


图 5 缓释剂中丹参酮 II A 的测定

分液漏斗中,每次加入氯仿 5mL 萃取 3 次,合并萃取液,吸取 2 μL 注入气质联用仪依法进行测定,检测冰片的含量;余氯仿萃取液吸取 10mL 水浴挥干,甲醇定容至 5mL,吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪依法进行测定,检测丹参酮 II A 的含量。以样品中各成分实际含量为 100%,分别计算各个色谱峰的累积释放百分率。

二、实验结果与分析

该制剂释放时间为约 10h,水溶性成分共测得 9 个主要色谱峰。所得 9 个色谱峰的峰面积不同时间点累积结果见表 1,不同时间点的高效液相图谱比较见图 7,Peak7 为人参皂苷 Rg1,Peak8 为丹酚酸 B,对 9 个大峰进行分析比较,以样品中各成分实际含量为 100%,计算并描绘出累积释放百分率-时间的体外释放曲线,结果见图 8。

释药模型的拟合。以主要有效成分丹酚酸 B、人参皂苷 Rg1、丹参酮 II A 和冰片为评价指标,以样品中各成分实际含量为 100%,计算累积释放百分率,计算并描绘出累积释放百分率-时间的体外释放曲线,如图 10,并进行零级方程、一级方程和 Higuchi 方程释药模型的拟合,见表 2。

结果表明,丹酚酸 B、人参皂苷 Rg1、丹参酮 II A、冰片均较符合 Higuchi 方程,该中药复方缓释制剂中水溶性成分、脂溶性成分和挥发性成分释放度一致,体现均衡释放行为。

三、讨论

中药成分复杂多样,成分不同性质不同,在研究中药复方缓释制剂的过程中发现,三七成分、丹参成分以及冰片各自的释放行为存在很大的差别,有些成分释放快,有些成分释放慢,这必定影响制剂的疗效,给中药复方缓释制剂的制备和评价带来了很大的难度。因此,在评价复方缓释制剂体外释放度时采用了成分均衡释放法进行研究。单独一个成分的释放行为难以体现整个片剂中成分的释放行为,如果能使制剂中大多成分甚至全部成分都稳定、一致、平衡地释放出来,将更有利于控制整个制剂的质量。

本文研究的复方缓释制剂中所含成分主要可以分为水溶性成分(丹酚酸类和皂苷类成分)和水难溶性成分(冰片和丹参酮类等)两大类,具有很高的难度。通过对制剂处方的不断筛选和精制,应用多种方法联合进行了复方缓释制剂释放度测定,研究成分的均衡释放应该具有一定的可行性。本文采用 HPLC 法和 GC-MS 联用法进行测定,结果表明,以丹酚酸 B 为指标的水溶性成分的溶出符合 Higuchi 方程,以丹参酮 II A 为指标的脂溶性成分的溶出符合 Higuchi 方程,挥发性成分冰片的溶出符合一级方程和

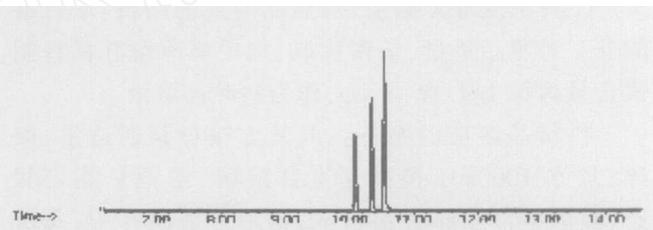


图 6 冰片的 GC-MS 图谱

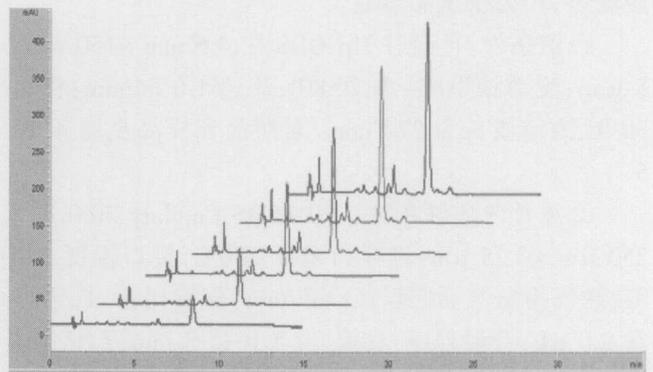


图 7 水溶性成分释放的 HPLC 测定

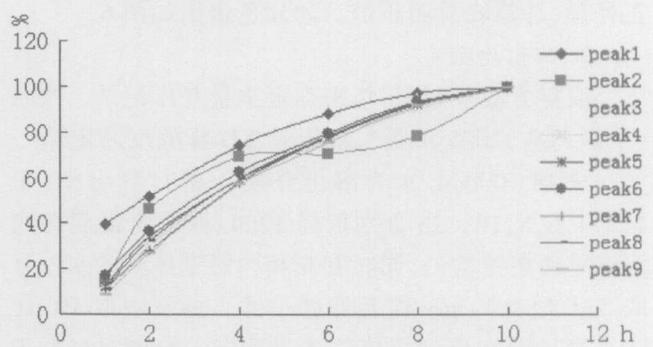


图 8 主要水溶性成分的体外释放曲线

表1 9个主要色谱峰的峰面积随时间累积结果

Time/h	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9
1	65.30	8.00	16.54	20.00	17.87	67.26	17.43	489.22	22.41
2	86.25	11.37	24.47	33.97	28.25	112.28	30.50	926.82	40.17
4	116.95	18.64	47.86	58.64	47.70	184.44	48.23	1587.12	70.65
6	148.00	24.00	63.62	77.48	74.34	253.31	69.00	2129.44	95.92
8	161.26	27.58	70.12	97.01	87.12	299.07	83.00	2640.65	122.04
10	168.14	29.06	82.49	106.13	93.96	326.00	95.98	2873.61	132.15

表2 4个指标成分的释放模型

指标成分	Zero-grade Square	One-grade Square	Higuchi Square
丹酚酸 B	$M_t/M_\infty=0.1053t+0.0945$ $R^2=0.9925$	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.3103t+0.272$ $R^2=0.9443$	$y=0.40664t^{1/2}-0.25141$ $R^2=0.9979$
人参皂苷 Rg1	$M_t/M_\infty=0.0854t+0.2065$ $R^2=0.9625$	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.3434t+0.2552$ $R^2=0.9810$	$y=0.3685t^{1/2}-0.1419$ $R^2=0.9955$
丹参酮 II A	$M_t/M_\infty=0.1103t+0.07886$ $R^2=0.984$	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.3252t+0.298$ $R^2=0.9700$	$y=0.42777t^{1/2}-0.2870$ $R^2=0.9982$
冰片	$M_t/M_\infty=0.07675t+0.08037$ $R^2=0.9582$	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.16t+0.0545$ $R^2=0.9927$	$y=0.3278t^{1/2}-0.2253$ $R^2=0.9941$

Higuchi 方程。可见,该中药复方缓释制剂基本能够表现出一致的释放行为。采用高效液相指纹图谱法进行分离分析,能够同时评价丹酚酸等多种成分的释放情况,更好地体现了成分的均衡释放。

参考文献

- 1 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部).北京:化学工业出版社,2005:527.

Study of Balanced Release of slow-release TCM Compound preparations for Treatment of Coronary Heart Disease

Zhu Shengshan, Yuan Xujiang and Li Yuanxin

(Institute of Development of Chinese Medicine, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224)

Objective To study the balanced release of slow-release TCM compound preparations for the treatment of coronary heart disease. Method To conduct the test in the study by HPLC and combined GC-MS. Result The dissolving-out degree of water-soluble components of the said preparations with salvianolic acid B as index is up to Higuchi equation, that of liposoluble components of the preparations with Tanshimone II A as index is in conformity to Higuchi equation and that of volatile components of borneol accords with the first-order equation and Higuchi equation. Conclusion Owing to its characteristics of rapidity, convenience and stability HPLC can be used to assess the in vitro release degree of slow-release TCM compound preparations and the combined GC-MS be used to assess the release degree of borneol.

Key words: slow-release preparation, release degree, HPLC, GC-MS

(责任编辑:周立东 闫志锋,英文译审:秦光道)

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 47