

银杏内酯胃漂浮片制备及体外释放度评价^{*}

□晋苗苗 (南京中医药大学药学院 南京 210046)

郭庆明 苏晓峰 王 伟 萧 伟^{**}

(江苏康缘药业股份有限公司 连云港 222001)

(中药制药过程新技术国家重点实验室 连云港 222001)

(江苏省企业院士工作站 连云港 222001)

摘 要:目的: 研究银杏内酯胃漂浮片的制备方法,并考查其体外释放特性。方法: 以制剂的漂浮性能和释放性能为考察指标,采用单因素试验法,考察了羟丙基甲基纤维素(HPMC)不同规格及用量、碳酸氢钠的用量、硬脂酸的用量对药物体外漂浮和体外释放行为的影响,并采用正交设计实验对方剂进行优化,确定最佳制备工艺条件。结果: 以羟丙基甲基纤维素(HPMC K4M)为骨架材料,硬脂酸为助漂剂,碳酸氢钠为起泡剂,微晶纤维素和乳糖为填充剂,制备了一天给药一次的银杏内酯胃漂浮片。该制剂2h释放约35%,6h释放约60%,10h释放约80%,12h释放85%以上,满足胃漂浮片释放要求。结论: 本方法制备的银杏内酯胃漂浮片外观及可压性良好,具有良好的释放性能,且工艺简单易行,生产成本低。

关键词: 银杏内酯 胃漂浮片

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.02.020

银杏(*Ginkgo biloba* L.)系银杏科,银杏属植物,又名白果、公孙树,仅在我国幸存,被达尔文称为“活化石”。有研究证明,银杏叶的活性成分主要是黄酮和内酯类(Ginkgolide)化合物。其中萜内酯类化合物——银杏内酯均为强血小板活化因子(Platelet activating factor,PAF)受体拮抗剂,对心脑血管疾病具有独特的药理作用,被广泛用作治疗和

预防心脑血管疾病药物^[1]。其中银杏内酯 B(GB)对PAF产生的拮抗作用最强,银杏内酯 A(GA)具有协同作用。

胃漂浮片(Floating tablets)是指口服后能保持自身密度小于胃内容物密度,而在胃液中呈漂浮状态的制剂,是根据流体动力学平衡体系设计的。这种制剂能滞留于胃中,延长药物释放时间,改善药物的吸收,提高药物的生物利用度^[2,3]。

银杏内酯类成分在人体内消除半衰期较短,若

收稿日期: 2010-10-14

修回日期: 2010-10-27

* 科学技术部国家重大新药创制项目(2009ZX09313-032): 创新中药中试放大研究技术平台,负责人: 萧伟。

** 通讯作者: 萧伟 本刊编委,研究员级高级工程师,博士,主要研究方向: 中药新剂型的研究与开发, E-mail: wzhh-nj@tom.com。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>
315 (World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica)

制成一般的口服制剂,需每日口服3次,给药次数频繁,不方便患者特别是长期用药的病人使用;同时有文献指出^[4,5],银杏内酯类成分若制成普通的缓释制剂,在胃内停留时间较短,吸收较少,生物利用度低(仅约3%~10%)。本实验将银杏内酯开发成胃漂浮缓释制剂,不仅减少了给药次数,提高了患者的顺应性,同时能保持平稳的血药浓度,避免峰谷现象,减少药物的不良反应,更能使其在胃内停留较长时间,提高药物的生物利用度,弥补其他剂型的不足。

一、仪器与试剂

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪(泵: LC-20AB;自动进样器: SIL-20A;紫外检测器: SPD-20AV;柱温箱: CTO-20AC), KQ-500D 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), FA-1004 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), RCZ-8M 溶出实验仪(天津大学无线电厂), RZQ-8D 取样收集系统(天津大学无线电厂), THP 花篮式压片机(中外合资上海天祥健台制药机械有限公司), YD-20 智能片剂硬度仪(天津大学无线电厂)。

银杏内酯原料(江苏康缘药业股份有限公司提供,银杏内酯 A 含量 40%,银杏内酯 B 含量 50%,批号: 090406), 对照品: 银杏内酯 A 和银杏内酯 B(中国药品生物制品检验所,批号分别为 110862-200608, 110863-200305), 羟丙基甲基纤维素(K4M、K15M、K100M)(上海 Colorcon 公司), 硬脂酸、十六醇、十八醇、碳酸氢钠、碳酸钙、碳酸镁(国药集团化学试剂有限公司), 十二烷基硫酸钠(南京化学试剂有限公司), 乳糖(郑州福润德生物工程有限公司), 微晶纤维素(曲阜市天利药用辅料有限公司), 硬脂酸镁(山东新大精细化工有限公司), 盐酸(南京化学试剂有限公司,分析纯), 甲醇、异丙醇(TEDIA Company,色谱纯), 超纯水。

二、方法与结果

1. 银杏内酯胃漂浮片的制备工艺

原辅料过 100 目筛,分别按处方量称取银杏内酯及辅料,采用等量递增法将原辅料初步混匀,再将原辅料过 80 目筛充分混匀,压制成适宜硬度的片,挤压通过 20 目筛制粒,用 $\Phi 10\text{mm}$ 浅凹冲模压片,控制片剂硬度 4.0~5.0kg,即得。片重为 $0.35\text{g} \pm$

5%,含药量为 200mg/片。

2. 体外释放度测定方法的建立

(1) 色谱条件。

色谱柱: UNIQUE C_{18} (4.6mm $\times$ 250mm, $5\mu\text{m}$); 流动相: 水-甲醇-异丙醇(72:21:7); 检测波长: 220nm; 柱温: 30°C ; 流速: $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $20\mu\text{L}$ 。

(2) 线性范围考察。

分别精密称取银杏内酯 A 对照品 10.18mg,银杏内酯 B 对照品 10.39mg 置同一 50mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,混匀,配制成每 1mL 含银杏内酯 A 0.2036mg,银杏内酯 B 0.2078mg 的混合对照品溶液。分别精密量取混合对照品溶液 1、2、3、4、5、7mL,分别置于 6 个 10mL 量瓶中,加 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCL 稀释至刻度,制成 GA 浓度为 0.02036、0.04072、0.06108、0.08144、0.10180、0.14252 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, GB 浓度为 0.01039、0.02078、0.04156、0.06234、0.08312、0.10390、0.14546 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液。再精密吸取 GA: 0.1018 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, GB: 0.1039 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液 1mL 于 10mL 容量瓶中,加 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCL 稀释至刻度,配成 GA: 0.01018 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, GB: 0.01039 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,将上述样品进样 $20\mu\text{L}$,记录峰面积。由峰面积(A)对浓度(C)线性回归,得回归方程为: GA: $y = 689087x - 608.56$ $r = 0.9999$; GB: $y = 677579x - 494.02$ $r = 0.9999$ 。

结果表明: 银杏内酯 A 在 0.01018~0.14252 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。银杏内酯 B 在 0.01039~0.14546 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

(3) 精密度考察。

选取高、中、低 3 个浓度(GA: 0.14252 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.06108 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.02036 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, GB: 0.14546 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.06234 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.02078 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的银杏内酯对照品溶液,按照上述色谱条件分别重复进样 6 次,记录其峰面积,银杏内酯 A 的高、中、低 3 个浓度其 RSD 分别为 0.34%、0.50%、0.18%,银杏内酯 B 的高、中、低 3 个浓度其 RSD 分别为 0.20%、0.54%、0.60%。

(4) 稳定性考察。

取银杏内酯胃漂浮片 10 片,研细,精密称取此细粉 10mg(约相当于含 GA: 2mg, GB: 2.5mg) 于 25mL 容量瓶中,先加 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCL 适量溶解,超

声 30min, 放冷至室温, 再加 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCL}$ 定容至刻度, 摇匀, 用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。取此供试品溶液于 0、1、2、4、8、12h 按照上述色谱条件测定, 记录峰面积, GA 和 GB 的 RSD 分别为 1.72% 和 1.57%。

(5) 重复性考察。

取银杏内酯胃漂浮片 10 片, 研细, 精密称取此细粉 10mg (约相当于含 GA: 2mg, GB: 2.5mg) 于 25mL 容量瓶中, 先加 $0.1\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\text{HCL}$ 适量溶解, 超声 30min, 放冷至室温, 再加 $0.1\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\text{HCL}$ 定容至刻度, 摇匀, 用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。按照供试品制备方法配 6 份, 进行测定, 记录峰面积, 其 GA 和 GB 峰面积 RSD 分别为: 1.11% 和 1.93%。

(6) 回收率实验。

精密称取干燥至恒重的银杏内酯原料 (GA: 34.59%, GB: 48.73%, 分别相当于 30%、60%、100%) 6.8mg、13.7mg、22.8mg 共 3×3 份, 置于 100mL 量瓶中, 按处方比例加入空白辅料, 先加 $0.1\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\text{HCL}$ 适量, 超声 20min, 放至室温, 再加 $0.1\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\text{HCL}$ 定容至刻度, 摇匀, 用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液, 进行测定, 并计算回收率。结果: GA 的平均回收率为: 101.41%, RSD 为 0.01%; GB 的平均回收率为 101.05%, RSD 为 0.02%。

(7) 银杏内酯缓释片体外释放度测定。

照释放度测定法(中国药典 2010 年版二部附录 XD 第二法)测定, 溶出介质 $0.1\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\text{HCL}$ 900mL, 转速 100rpm, 温度 $37\pm 0.5^\circ\text{C}$, 分别于 2、6、10、12h 取样 3mL, 样品经 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 取续滤液进行 HPLC 检测, 采用外标一点法计算浓度。

GA 和 GB 释放度评判标准: 2h 累积释放 25%~40%, 6h 累积释放 45%~65%, 10h 累积释放 70%~80%, 12h 累积释放 85% 以上。

3. 银杏内酯胃漂浮片处方筛选

(1) HPMC 规格对制剂漂浮和释放的影响。

选用 3 种不同规格的 HPMC (K4M、K15M、K100M), 用量为片剂总重 9.5%, 微晶纤维素调节片重, 干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片, 测定不同时

间点胃漂浮片的累积释放百分率。3 种粘度 HPMC 的漂浮性能为: K100M > K15M > K4M, 缓释效果为 K100M > K15M > K4M, HPMC 粘度越大, 凝胶层强度越大, 膨胀体积越大, 漂浮性能越好, 缓释效果越强。K15M 和 K100M 作为缓释材料, 片漂浮时间较长, 但药物释放不完全, 综合漂浮和释放情况考虑, 选择 K4M 作为缓释材料。结果见图 1。

(2) HPMC 用量对药物释放的影响。

选取 K4M 4 种不同的比例: 9%、9.5%、10%、12%, 其它辅料比例不变, 微晶纤维素调节片重, 干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片。实验结果显示: 随着 HPMC 用量的增加, 其漂浮时间逐渐变长, 释放逐渐变慢, 综合考虑, HPMC 用量定为 9.5%。结果见图 2。

(3) 助漂剂种类对药物漂浮和释放的影响。

选取 3 种不同的助漂剂(十六醇、十八醇、硬脂酸), 用量均为片重的 10%, 微晶纤维素调节片重, 干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片, 实验结果显示, 十六醇和十八醇作为助漂剂时, 起漂时间小于 10s, 30min 开始下沉, 2h 后又开始漂浮, 6~8h 沉下去, 漂浮状况不好直接导致释放变快, 而硬脂酸为助漂剂时, 起漂时间 10s, 持漂时间 6~8h, 整体漂浮情况良好, 故最终选择硬脂酸作为助漂剂。结果见图 3。

(4) 助漂剂用量对药物释放的影响。

选取硬脂酸的 3 个不同用量 (10%、15%、20%), 其它辅料比例不变, 微晶纤维素调节片重, 干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片。硬脂酸为轻质疏水性辅料, 随着其用量的增加, 水渗透减慢, 持漂时间逐渐变长, 释放逐渐减慢。综合漂浮和释放情况考虑, 硬脂酸用量定为片重的 10%。结果见图 4。

(5) 不同起泡剂对药物漂浮和释放的影响。

选取 3 种不同的起泡剂(碳酸氢钠、碳酸镁、碳

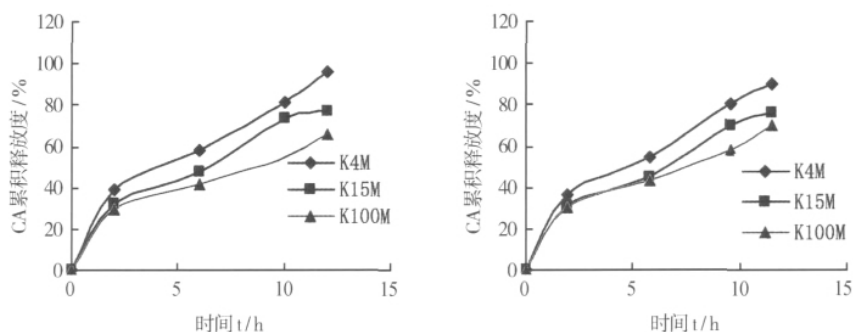


图1 HPMC 规格对药物释放的影响

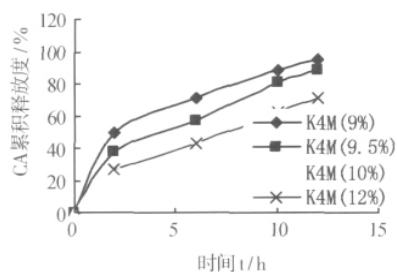


图2 HPMC用量对药物释放的影响

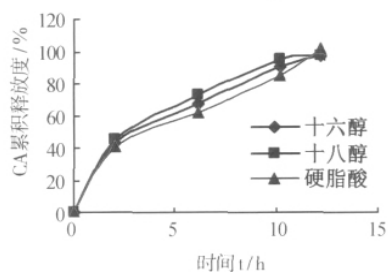


图3 助漂剂种类对药物释放的影响

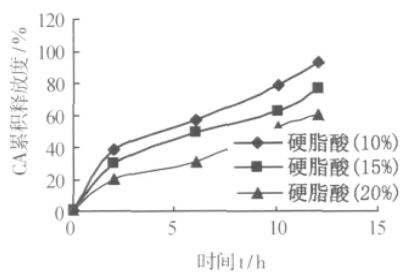


图4 助漂剂用量对药物释放的影响

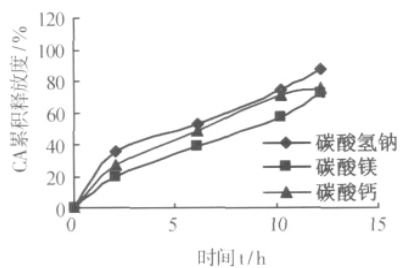


图5 不同起泡剂对药物释放的影响

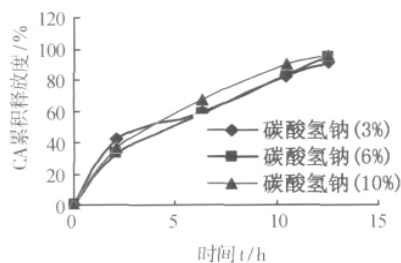
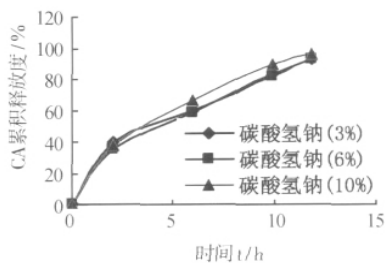
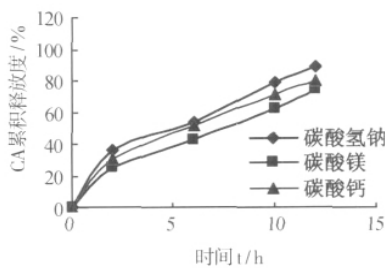
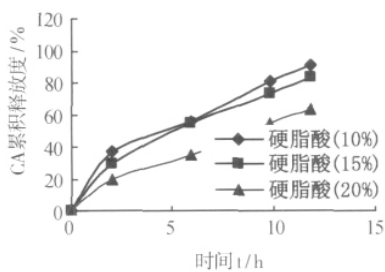
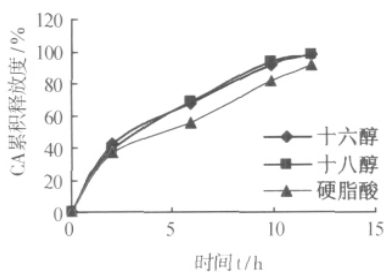
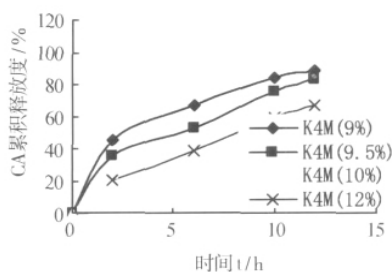


图6 起泡剂用量对药物释放的影响



酸钙),用量均为片重的3%,微晶纤维素调节片重,干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片。实验结果显示,3个处方片起漂时间均小于10s,但碳酸钙处方漂浮2h左右开始下沉,漂浮不稳定,而碳酸镁处方释放较碳酸氢钠缓慢,且碳酸镁可能会引起腹泻,综合考虑,最后选用碳酸氢钠。结果见图5。

(6) 起泡剂不同用量对药物漂浮和释放的影响。

选用碳酸氢钠的5个不同用量(1%、2%、3%、6%、10%)其它辅料比例不变,微晶纤维素调节片重,干法制粒法制备银杏内酯胃漂浮片。实验结果显示,碳酸氢钠1%和2%处方片子不起漂,其他3个用量的处方片起漂时间小于10s,持漂时间为6~8h,漂浮性能较好,碳酸氢钠用量过小(1%~2%),片子产生气泡少,不易起漂,用量过大,片子容易崩解。根据漂浮情况,本实验进行了3%、6%、10%3个用量的释放度考察,随着碳酸氢钠用量增加,释放有所加快,但影响较小,其用量定为3%。结果见图6。

(7) 正交实验。

根据单因素考察结果,选择处方中对药物释放影响较大的3个因素即HPMC用量(A)、硬脂酸用量(B)、碳酸氢钠用量(C)作为影响因素,每个因素3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表设计实验,以2、6、10、12h共4个时间点的累积释放百分率为评价指标,进行三因素三水平正交实验考察。正交

表 1 正交因素水平设计表

水平	A	B	C
	K4M(%)	硬脂酸(%)	碳酸氢钠(%)
1	9	7	3
2	9.5	10	6
3	10	13	10

果进行分析。确定四点的释放标准分别为: 2h 的累积释放度以 35% 为标准; 6h 的累积释放度以 60% 为标准; 10h 的累积释放度以 80% 为标准; 12h 的累积释放度以 85% 为标准。本文中将各时间点的权重均定为 1。

总分的计算公式为:

$$Y_i = |P_2 - 35\%| \times 1 + |P_6 - 60\%| \times 1 + |P_{10} - 80\%| \times 1 + |P_{12} - 85\%| \times 1$$

评分值最低者为最优, 表明释放量与所定标准最接近。具体计算结果见表 2。

由上表可知: 各因素对指标影响的大小次序为: A > B > C, 各因素的最佳组合应为 A₂B₂C₁, 即最优制备处方为: HPMCK4M 用量为片重 9.5%, 硬脂酸为片重 10%, 碳酸氢钠为片重 3%。

(8) 工艺验证。

按优化处方制备 4 批银杏内酯胃漂浮片, 测定其不同时间的累积释放百分率。结果见图 7, 表明银杏内酯胃漂浮片批间工艺重现性良好, 处方比较稳定。

三、讨 论

1. 制备工艺的选择

本实验考察采用湿法制粒压片、全粉末压片、干法制粒压片 3 种工艺, 并测定其不同时间的累积释放度。湿

法制粒时片剂漂浮状况不好, 释放也较慢, 可能是由于湿法制粒时加入了粘合剂, 使凝胶层的粘度变大, 降低了骨架的溶蚀速度所致, 同时湿法制粒使颗粒密度增加, 不利于片漂浮。干法制粒压片和全粉压片利于片剂应用时的水化滞留, 但全粉末直接压片时, 有粘冲现象, 压片时流动性差, 且在 2h 左右制剂有突释现象, 生产中也易造成粉尘污染, 干法制粒由于制成了一定大小的颗粒, 流动性增加, 释放较全粉

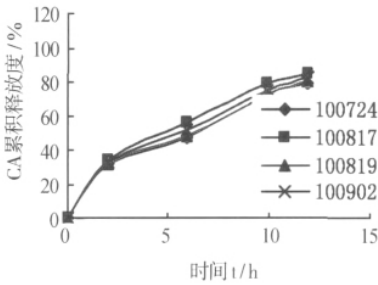
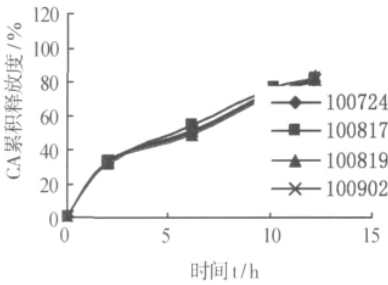


图 7 4 批银杏内酯缓释片累积释放百分率

表 2 正交实验结果表

NO	1(A)	2(B)	3(C)	4(D)	Yi 值		
					GA	GB	Yi 总值
1	1	1	1	1	0.3089	0.4870	0.7959
2	1	2	2	2	0.2388	0.4687	0.7075
3	1	3	3	3	0.3852	0.5370	0.9222
4	2	1	2	3	0.1307	0.0665	0.1972
5	2	2	3	1	0.0701	0.1360	0.2061
6	2	3	1	2	0.0899	0.1127	0.2026
7	3	1	3	2	0.1901	0.1245	0.3147
8	3	2	1	3	0.2258	0.1320	0.3578
9	3	3	2	1	0.3373	0.2740	0.6113
K1	2.4256	1.3077	1.3563	1.6132			
K2	0.6058	1.2714	1.5160	1.2248			
K3	1.2838	1.7361	1.4429	1.4772			
k1	0.8085	0.4359	0.4521	0.5377			
k2	0.2019	0.4238	0.5053	0.4083			
k3	0.4279	0.5787	0.4810	0.4924			
R	0.6066	0.1549	0.0532	0.1295			

因素水平见表 1, 正交试验结果见表 1。

缓释制剂的释放度评价方法有多种, 本文参照中国药典 2010 版二部附录 XI-XD 缓控释制剂指导原则的规定, 采用综合评分法。根据剂型的作用特点和药物疗效的要求, 本文采用 2、6、10、12h 四点的累积释放量作为评价指标, 先对不同处方 2、6、10、12 h 四点的释放度进行评分, 再将评分结果进行加权相加后得出总分, 最后采用直观分析的方法, 对结

压片有所减慢,避免了全粉压片的突释现象,故最后选择干法制粒压片。

2. 制片压力的影响

压力大小对片剂成型、外观、药物体外释放及漂浮性能有显著的影响^[6]。压力越大,片剂越光洁,药物释放减慢,但压力过大,片剂密度增加会使片剂漂浮性能减弱,同时药物释放相应减慢,压力过小,片子表面不光滑,且孔隙率增加,溶剂进入片剂内部的速度加快,从而导致释放加快,当压力在 30~40N 时,片剂立即起漂,但 2h 释放太快,造成突释,当压力大于 50N 时,片子漂浮性能不好,且释放变慢,故最后压力定为 40~50N。

3. 起泡剂的影响

处方中的起泡剂 NaHCO_3 遇到胃酸,产生 CO_2 气体,它被包裹在片剂表面的凝胶层中,有助于减轻制剂的密度,增加漂浮力。同时 CO_2 的释放,使片剂产生大量孔道,有利于水分渗入和药物释放。但 NaHCO_3 量太大则会因气体膨胀作用而使片剂崩

解,从而导致药物释放过快,难以达到缓释目的,因此 NaHCO_3 用量不宜过大^[7,8]。

参考文献

- 1 马丹丹,孙立红.银杏萜内酯的研究进展.河北职工医学院学报,2002,19(1):46~50.
- 2 王锐利,张淑秋.胃漂浮片的研究进展.山西医科大学学报,2005,36(2):260~262.
- 3 周毅生,卢毅,宋华等.替硝唑胃内滞留漂浮型缓释片的制备及体外释放研究.广东药学院学报,2006,22(1):1~3.
- 4 张国清.一种高生物利用度的银杏内酯类药物的口服制剂及其制备.中国,200710020096.8[P].2007-08-08.
- 5 张国清.一种银杏内酯类药物的胃漂浮片及其制备方法.中国,200710020095.3[P].2007-08-08.
- 6 冯海俊,杨亚军,陈继平等.马来酸罗格列酮胃漂浮缓释片的处方筛选及体外释放评价.中国药理学杂志,2008,6(6):326~332.
- 7 张业秀,孟毅,梅莓.马来酸曲美布汀胃漂浮缓释片的处方筛选及体外评价.中南药学,2007,5(3):233~235.
- 8 沓仁芝,任君刚,金丽娜等.卡维地洛胃漂浮片的制备和体外释放.中国新药杂志,2007,16(19):1602~1605.

Evaluation on Preparation and Release Characteristics of Ginkgolides Gastric Floating Sustained-Release Tablets *In Vitro*

Jin Miaomiao¹, Guo Qingming^{2,3,4}, Su Xiaofeng^{2,3,4}, Wang Wei^{2,3,4}, Xiao Wei^{2,3,4}

(1. Pharmacy Department, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China;

3. State key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China;

4. Enterprises Academician Workstations in Jiangsu Province, Lianyungang 222001, China)

Abstract: The method of preparing Ginkgolides gastric floating sustained-release tablet was studied and the releasing characteristics *in vitro* were also investigated. The floating and releasing performance *in vitro* were used as indicators to evaluate and optimize the formulation. Effects of hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) type and amount, sodium bicarbonate amount and stearic acid amount on release behavior *in vitro* were observed in single-factor testing method. Then the formulation was optimized by orthogonal design test to determine the best preparation technological conditions. The result showed that gastric floating sustained-release tablets, which were prepared with HPMCK4M as matrix, stearic acid as floating assistant, sodium bicarbonate as gas-producer, and microcrystalline cellulose and lactose as fillers, was taken once a day. And the tablet was released 35% in 2 h, 60% in 6 h, exceeding 85% in 12 h. The releasing rate met requirements for gastric floating sustained-release. It is concluded that ginkgolides gastric floating sustained-release tablets prepared in this method has good release characteristics. The tablets are in good shape and compressibility. The preparative technology is also simple with low manufacture cost.

Keywords: Ginkgolide, sustained-release tablet

(责任编辑:李沙沙 张志华 责任译审:王 晶)