

左金胃漂浮缓释片多组分体内释放研究*

杨 颂¹, 刘文^{1**}, 陈大业¹, 施小伟¹, 王 群¹, 宋 颖²

(1. 贵阳中医学院 贵阳 550002; 2. 美国辉瑞制药有限公司 纽约 10001NY212)

摘 要:目的:研究左金胃漂浮缓释片多组分的体内释放行为。方法:不同时间点取家兔胃内容物,处理并制备供试品溶液,采用高效液相色谱法建立各个时间点及全溶样品的图谱,计算体内累积释放度,采用相似因子法评价指标成分之间及指标成分与制剂之间的释放行为。结果:在 10 h 内,小檗碱与吴茱萸内酯、吴茱萸次碱的相似因子分别为 52、61.5,与制剂的相似因子为 66.4,吴茱萸内酯与吴茱萸次碱的相似因子为 70,与制剂的相似因子分别为 46.5、53.7。结论:在 10 h 内,小檗碱的释放行为与吴茱萸内酯、吴茱萸次碱及制剂相似;吴茱萸次碱与吴茱萸内酯及制剂的释放行为相似;而吴茱萸内酯与制剂的释放行为不一致。

关键词: 指纹图谱 左金胃漂浮缓释片 多组分 体内释放

doi: 10.11842/wst.2013.08.023 中图分类号:R283.6 文献标识码:A

左金丸具有抗溃疡、抑制胃酸分泌、抑菌、镇痛抗炎等作用,其药效物质基础为生物碱类^[1-3],其中黄连抗溃疡的有效成分为生物碱,尤其小檗碱活性较高^[4,5],吴茱萸治疗胃溃疡的主要有效成分为生物碱和内酯类,其中吴茱萸碱、吴茱萸次碱及吴茱萸内酯是吴茱萸的主要成分^[6-8]。左金胃漂浮缓释片以黄连和吴茱萸中生物碱类及吴茱萸中的内酯类成分为主,结合现代胃漂浮缓释技术制备而成,经前期^[9,10]体外释放及体内药效学实验表明,自制新制剂能够明显延长药物在胃内的滞留时间,达到缓释效果,提高患者适应性。一般研究药物释放的方法,是运用一种或几种方法来测定其中一种或几种成分的含量变化,方法繁琐且不能从整体上评价复方的释放行为。指纹图谱能够分析中药这种多组分复杂样品,并能从整体上评价其质量,是目前国内外能够广泛接受的一种全面控制中药质量的模式^[11,12]。相似因子法是用来评

价两条溶出曲线之间差异的参数,为比较两条溶出曲线相似性的首选方法^[13,14]。本文将指纹图谱及相似因子法综合运用,对左金胃漂浮缓释片的体内释放行为进行评价研究,探讨复方多成分之间、多成分与整体的释放规律。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦有限公司);电子天平(AE-204,上海梅特勒仪器有限公司);超声仪(SK8210HP,上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试药

左金胃漂浮缓释片(自制);盐酸小檗碱对照品(批号:11703-200911,中国药品生物制品检验所);吴茱萸内酯对照品(批号:110800-200404,中国药品生物制品检验所);吴茱萸次碱(批号:110801-201006,中国药品生物制品检验所);C₁₈ 固相萃取小柱(1 g, 6 mL, ANPEL);甲醇和乙腈为色谱纯,其余

收稿日期:2012-12-21

修回日期:2013-04-15

* 贵州省科学技术厅国际合作计划(黔科合外 G 字[2012]7044 号)左金胃漂浮给药系统同步释放及评价研究,负责人:刘文;贵阳市科技局现代药业计划(筑科合同[2011204]号)左金胃漂浮给药系统同步释放及评价研究,负责人:刘文。

** 通讯作者:刘文,教授,主要研究方向:中药新制剂与新剂型研究工作。

试剂为分析纯;水为超纯水。

2 实验方法

2.1 色谱条件

色谱柱:岛津 WondaSil C₁₈ Superb (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 检测波长 220 nm 流速:1.0 mL·min⁻¹ 柱温 35℃ 进样量 10 μL 流动相:乙腈(A)-0.018 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(B), 梯度洗脱 10~25 min, 8%~25% B 25~35 min, 25%~30% B 35~45 min, 30%~35% B; 45~65 min, 35%~50% B 65~80 min, 50%~55% B。

2.2 对照品溶液的制备

分别取适量的盐酸小檗碱、吴茱萸内酯及吴茱萸次碱, 加入适量甲醇制备成对照品溶液。

2.3 体内释放样品溶液的制备

2.3.1 各时间点样品溶液的制备

取健康家兔 14 只, 雌雄各半, 随机分成 7 组, 禁食 48 h (期间自由饮水), 灌服 4 片左金胃漂浮缓释片 (0.1 g/片), 分别于 1、2、4、6、8、10、12 h 处死一组家兔, 取出胃内容物, 加 200 mL 盐酸:甲酸溶液 (1:100), 搅拌 30 min, 超声 40 min, 5 000 rpm 离心 30 min, 取上清液, 挥干溶剂, 用 10 mL 水溶解, 再用石油醚萃取至近石油醚层无色, 水层过 6 mL 的 C₁₈ 固相萃取小柱, 先用 1 mL 水洗脱, 再用 5% 氨水甲醇溶液洗脱 4 倍体积, 再用 2% 甲酸甲醇溶液洗脱 3 倍体积。将洗脱液合并, 挥干溶剂, 定容至 5 mL 容量瓶中, 过 0.22 μm 的微孔滤膜, 即得样品溶液。

2.3.2 全溶样品溶液的制备

取禁食 48 h 的家兔空白胃内容物, 加入 4 片左金胃漂浮缓释片, 按照“2.3.1”项下样品的处理方法制备全溶样品溶液。

2.4 方法学的考察

经过方法学实验, 结果表明仪器精密度良好, 样品 24 h 内稳定, 方法重复性好。

2.5 样品测定

按照“2.1”项下的色谱条件, 进样各时间点及全溶样品溶液, 得到相应的指纹图谱。

3 左金胃漂浮缓释片多组分体内释放度及相似度的计算

3.1 左金胃漂浮缓释片多组分体内释放度的计算

基于指标成分的累积释放度分别以主要成分小檗碱、吴茱萸内酯和吴茱萸次碱为指标, 进行释

放度的测定。各成分以其在缓释片中原始含量为释放 100% 的量, 不同时间的释放量直接采用相应的峰面积进行计算, 累积释放度按下式进行计算^[15], 式中 Q_t 是 t 时的累积释放度, C_t 为 t 时的浓度, 以峰面积计, $V_0=900$ mL, C_i 为 i 时间的浓度, 以峰面积计, V_i 为 i 时间的取样体积, 30 mL。M 为片剂中各成分的含量, 以峰面积计。

$$Q_t = \left\{ [C_t \times V_0 + \sum_{i=1}^{t-1} (C_i \times V_i)] / M \right\} \times 100\%$$

由表 1 可知, 左金胃漂浮缓释片中小檗碱 12 h 的累积释放度为 93.97%, 吴茱萸内酯及吴茱萸次碱 10 h 的累积释放度分别为 87.82%、86.48%, 均大于 80%, 符合缓释制剂的要求。

根据 7 个时间点样品的指纹图谱, 采用面积法和法, 以 29 个特征峰的峰面积总和为指标, 以全溶样品指纹图谱特征峰的峰面积总和, 按释放完全计, 计算不同时间的累积释放度。

左金胃漂浮缓释片指纹图谱的研究中, 共确定了 29 个特征峰, 其中共有峰的峰面积之和大于总峰面积的 95%, 因此可以用特征峰来代替整个制剂。由表 1 及图 2 可看出, 左金胃漂浮缓释片中 29 个特征峰 12 h 的累积释放度达到了 95.27%, 与小檗碱的累积释放度基本一致, 释放曲线中小檗碱与 29 个特征峰的释放趋势比较相似, 即小檗碱与制剂的整体释放比较相似, 而吴茱萸内酯及吴茱萸次碱的释放趋势基本相似。

3.2 指标成分之间及指标成分与指纹图谱 (制剂) 释放度相似性比较

采用相似因子法以指纹图谱的累积释放度为标准, 计算各指标成分与其相比的相似因子, 判断释放度的相似性。以下式^[13]分别计算小檗碱、吴茱萸内酯、吴茱萸次碱之间的相似因子及 3 者与左金胃漂浮缓释片指纹图谱 (制剂) 的相似因子。式中 n 为取样时间点 ($n=6$), R_i 为指纹图谱的累积释放度, T_i 为各指标成分的累积释放度。 f_2 越接近 100, 表明二者的 Q_i 相似性越高。

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

结果表明在 10 h 内, 小檗碱与制剂的相似因子、小檗碱与吴茱萸次碱的相似因子、小檗碱与吴茱萸内酯的相似因子、吴茱萸内酯与制剂的相似因

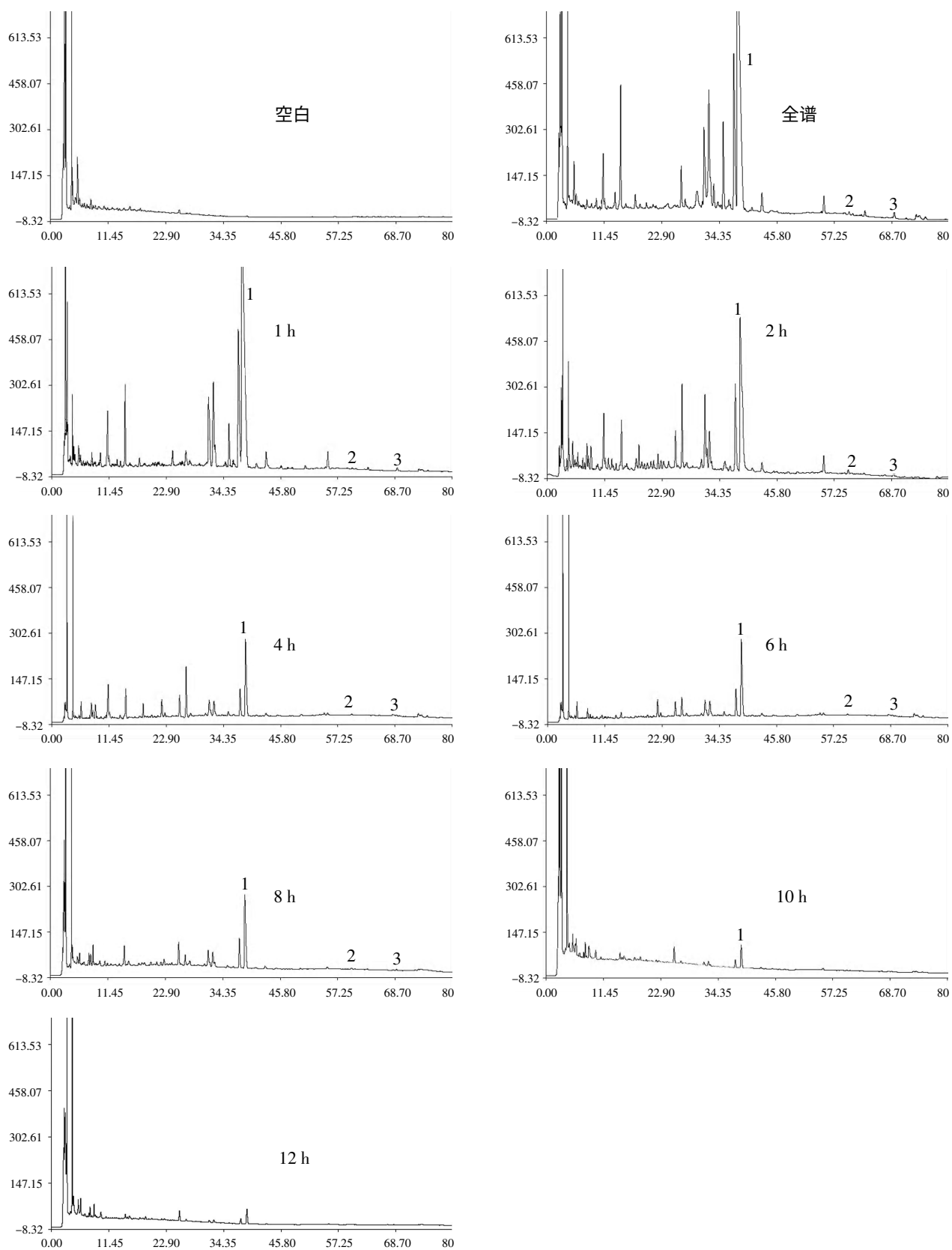


图1 空白胃液、全溶样品及各时间点样品图谱
注：1. 小檗碱, 2. 吴茱萸内酯, 3. 吴茱萸次碱。

表 1 3 个指标成分及制剂基于的累积释放度/%

时间/h \ 样品	1	2	4	6	8	10	12
小檗碱	13.52	30.28	50.85	62.8	73.31	81.67	93.97
吴茱萸内酯	7.93	21.47	43.35	48.33	64.27	87.82	—
吴茱萸次碱	6.7	25.91	45.46	54.94	68.51	86.48	—

注：— 表示体内残留量太低而无法检测。

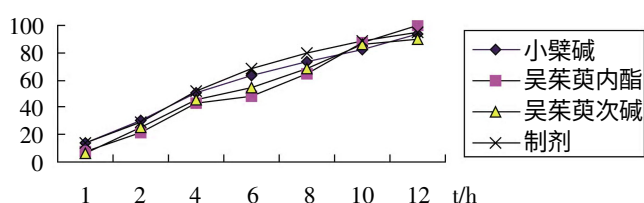


图 2 小檗碱、吴茱萸内酯、吴茱萸次碱及制剂的释放曲线

表 2 10 h 内各指标成分及制剂之间的相似因子

样品	小檗碱	吴茱萸内酯	吴茱萸次碱
制剂	66.4	46.5	53.7
吴茱萸次碱	61.5	70	—
吴茱萸内酯	52	—	—

子、吴茱萸内酯与吴茱萸次碱的相似因子、吴茱萸次碱及制剂的相似因子均大于 50，释放行为一致；而吴茱萸内酯与制剂的相似因子小于 50，释放行为不一致。

4 讨论

由于胃内容物的成分复杂且干扰大，若不进行前处理，则基线漂移较大，吴茱萸内酯及吴茱萸次碱不能被检测，实验中尝试用中性氧化铝及大孔树脂，效果不及 C_{18} 小柱，因此选用 C_{18} 小柱处理样品。文献研究表明，黄连、吴茱萸及左金丸治疗胃溃疡的主要物质基础为总生物碱和内酯类，本文所述的左金胃漂浮缓释片正是在此基础上制备而成，前期体内药效实验表明左金胃漂浮缓释片能够保留左金丸的疗效。因此本文选择用盐酸甲醇溶液处理家

兔胃内容物，最大限度将左金胃漂浮缓释片在胃内释放的物质提取出。

参考文献

- 1 鲍晨汝,潘宗海,年莉.左金丸的药理作用及研究进展.上海中医药杂志,2010,44(11):79~82.
- 2 项军莉,刘禹,白庆云.左金丸的现代药理研究及临床应用.中医药息,2004,21(4):45~46.
- 3 孔维军,赵艳玲,山丽梅,等.左金丸的研究进展.中国实验方剂学杂志,2008,14(5):73~76.
- 4 田志勇,李振国.黄连的研究新进展.时珍国医国药,2004,15(10):704~705.
- 5 崔学军.黄连及其有效成分的药理研究进展.中国药师,2006,9(5):469~470.
- 6 杨云云,郭惠,王昌利.吴茱萸生物碱及其主要成分吴茱萸次碱药理研究进展.中药药理与临床,2010,26(5):182~183.
- 7 魏宁,张松伟.吴茱萸对消化系统药理作用研究.空军总医院学报,2004,20(1):49~50.
- 8 龚慕辛,王智民,张启伟,等.吴茱萸有效成分的药理研究进展.中药药理与临床,2009,20(2):183~188.
- 9 刘文,黄河松,宋信莉,等.胃漂浮型黄连缓释片的初步研究.中成药,2008,30(6):附 7~8.
- 10 彭宇.黄连缓释片体外稳定性及体内药理学药效学的研究.贵阳:贵阳中医学院,2010.
- 11 张萍,杨燕,鄢丹,等.多指标成分含量测定与指纹图谱分析在中药制备工艺与质量控制中的应用.中华中医药杂志,2010,25(1):120~123.
- 12 陈曦,刘天宇,张亮.中药指纹图谱的研究概况.黑龙江医药,2009,22(2):163~164.
- 13 王昕,唐素芳,高立勤.溶出曲线相似性比较的两种方法.天津药学,2011,23(1):53~56.
- 14 张伟,宋洪涛,张倩.指纹图谱评价雷公藤胃漂浮缓释制剂的体外释放度研究.中草药,2010,41(3):376~380.
- 15 刘清飞,王义明,罗国安.多指标定量指纹图谱用于中药复方缓释制剂体外释放度的评价.中国中药杂志,2009,34(2):143~147.

Study on Multicomponent *In Vivo* Releasing Rules of Zuojin Gastric Floating Sustained-release Tablet

Yang Song¹, Liu Wen¹, Chen Daye¹, Shi Xiaowei¹, Wang Qun¹, Song Ying²

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Pfizer Inc., New York, 10001NY212)

Abstract: This article was aimed to study the multicomponent *in vivo* releasing rules of Zuojin Gastric Floating Sustained-release Tablet. Stomach contents of rabbits were collected at different times and then prepared into solutions for the study. The HPLC was used to establish fingerprints of each time and fingerprints of completely dissolved samples. The *in vivo* releasing rates were calculated. The evaluation was made on releasing behaviors among index components as well as between index components and preparations. The results showed that within 10 h, the f_2 of berberine and limonin, rutaecarpine, preparation were 52, 61.5, 66.4, respectively. The f_2 of limonin and rutaecarpine, preparation were 70, 46.5, 53.7, respectively. It was concluded that within 10 h, the releasing behavior of berberine and limonin, rutaecarpine, preparation was similar. The releasing behavior of rutaecarpine and limonin, preparation was similar. However, the releasing behavior of limonin and preparation was different.

Keywords: Fingerprint, Zuojin Gastric Floating Sustained-release Tablet, multicomponent, *in vivo* releasing

(责任编辑 叶丽萍 张志华, 责任译审 汪 晶)