

中药复方双秦眼用凝胶体外释药性能

刘树扬¹, 冯伟红², 杜茂波², 梁丽娜³, 葛克亚¹, 刘淑芝^{2*}

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 中国中医科学院眼科医院, 北京 100040)

[摘要] 目的: 研究双秦眼用凝胶体外释放特性。方法: 以秦皮甲素为指标, 采用高效液相法进行含量测定; 采用改良的 Franz 扩散池法, 以半透膜为释放膜, 研究双秦眼用凝胶的体外释放特性。结果: 双秦眼用凝胶中秦皮甲素的释放以一级模型拟合较好, 拟合方程 $Y = -1.2588X - 0.8162$ ($r = 0.9992$)。结论: 双秦眼用凝胶释放为非 Fick 扩散。

[关键词] 双秦眼用凝胶; 释药性能; 高效液相色谱法; Franz 扩散池; 秦皮甲素

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)08-0009-03

In vitro Releasing Property of Shuangqin Eye Gel

LIU Shu-yang¹, FENG Wei-hong², DU Mao-bo², LIANG Li-na³, GE Ke-ya¹, LIU Shu-zhi^{2*}

(1. College of Chinese Medicine, Capital Medicine University, Beijing 100069, China;
2. Institute of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;
3. Eye Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100040, China)

[Abstract] **Objective:** To study on *in vivo* releasing characteristics of Shuangqin eye gel. **Method:** The content of aesculin was determined by HPLC, which was used as index; Modified Franz diffusion cell method was applied to investigate *in vitro* release characteristics of Shuangqin eye gel with semi-permeable membrane as a barrier. **Result:** Aesculin in Shuangqin eye gel released fitted well with first order model, fitting equation of it: $Y = -1.2588X - 0.8162$ ($r = 0.9992$). **Conclusion:** Release of Shuangqin eye gel was non-Fick diffusion.

[Key words] Shuangqin eye gel; release performance; HPLC; Franz diffusion cell; aesculin

眼用凝胶为半固体制剂, 可黏附在黏膜表面, 与滴眼液相比, 滞留时间较长, 可增加药物在眼部的吸收, 使药物缓慢由结膜传递至鼻腔, 减少因全身吸收引起的毒副作用^[1]。中药复方双秦眼用凝胶为医

院制剂, 由秦皮、野菊花等组成, 动物试验及 269 例临床应用均证实其对单纯疱疹病毒角膜炎具有良好疗效。本论文主要对复方双秦眼用凝胶的体外释药性能进行研究, 以探索其体外释药规律。

[收稿日期] 20111201(002)

[基金项目] 重大新药创制科技专项(2009ZX09301-005)

[第一作者] 刘树扬, 在读硕士, 从事中药新剂型研究, Tel: 15910927588, E-mail: cpulsy@163.com

[通讯作者] *刘淑芝, 研究员, 博士生导师, 从事中药新剂型与质量标准研究, Tel: 010-84043227, E-mail: liushuzhi2004@sina.com

- [2] 王颖异, 郭宝林, 张立军. 知母化学成分的药理研究进展[J]. 科技导报, 2010, 28(12): 110.
- [3] Shin J S, Noh Y S, Kim D H, et al. Mangiferin isolated from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* inhibits the LPS-induced nitric oxide and prostaglandin E2 via the NF-KB inactivation in inflammatory macrophages[J]. Nat Prod Sci, 2008, 14(3): 206.
- [4] 翟红莉, 孙连娜, 来威, 等. HPLC 法测定知母药材及其相关制剂中芒果苷和新芒果苷的含量[J]. 解放军药学报, 2007, 23(6): 99.
- [5] 孙国祥, 纪宏, 于秀明, 等. 知母 HPLC 指纹图谱的 4 种相似度评估[J]. 中成药, 2008, 30(1): 1.
- [6] 王帅, 孟宪生, 包永睿, 等. 树脂联用富集与纯化柴胡总皂苷[J]. 医药导报, 2011, 30(4): 423.

[责任编辑 全燕]

1 材料

高效液相色谱仪(2487型双波长紫外检测器, 717型自动进样器, 美国 Waters), BSA224S CW型电子分析天平(德国赛多利斯公司), TK-20B型 Franz 扩散池(上海锴凯有限公司), 透析袋(截留相对分子质量 7 000, 北京经科宏达生物技术有限公司)。

双秦眼用凝胶(自制, 批号 20110707), 秦皮甲素(中国食品药品检定研究院, 批号 0740-200104), 聚乙二醇(PEG, 国药集团化学试剂有限公司), 乙二胺四乙酸(EDTA, 湖南尔康制药有限公司), 甲醇为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 半透膜的预处理 将透析袋剪成适当长度的小段对剖剪开, 加 2% 碳酸氢钠溶液 200 mL 煮沸 10 min, 1 mmol·L⁻¹ EDTA (pH 8.0) 溶液 200 mL 煮沸 10 min, 蒸馏水彻底清洗, 再用 1 mmol·L⁻¹ EDTA 200 mL 煮沸 10 min, 放冷, 置 4℃ 保存。使用前蒸馏水清洗干净。

2.2 秦皮甲素含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取秦皮甲素 0.84 g, 甲醇溶解定容至 5 mL, 制成 0.168 g·L⁻¹ 的对照品溶液, 摇匀, 分别精密吸取 2, 1, 0.5, 0.25, 0.05, 0.01 mL 对照品溶液, 加甲醇定容至 10 mL, 分别制成 33.6, 16.8, 8.4, 4.2, 1.68, 0.336 mg·L⁻¹ 对照品溶液。

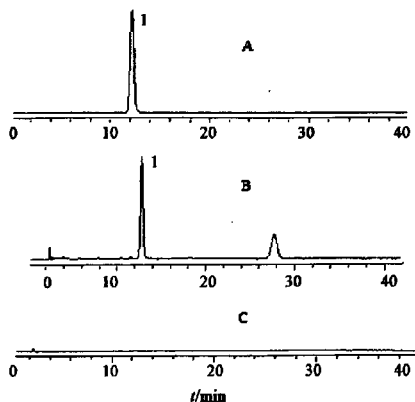
2.2.2 供试品溶液的制备 取体外释放试验的释放液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照液的制备 取人工泪液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

2.2.4 色谱条件与系统适应性考察 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.4% 冰醋酸(15:85), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35℃, 检测波长 334 nm, 进样量 10~30 μL, 理论塔板数按秦皮甲素色谱峰计算不低于 4 000, 阴性对照无干扰。见图 1。

2.2.5 标准曲线的绘制 分别取秦皮甲素系列对照品溶液, 进样 10 μL, 测定峰面积, 以峰面积和进样量进行线性回归, 得回归方程 $Y = 2\,012.7X - 7\,121.4$ ($r = 0.999\,8$), 秦皮甲素在 3.36~336 μg 线性关系良好。

2.2.6 日内精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液 30 μL, 连续进样 6 次, 测定秦皮甲素峰面积,



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 秦皮甲素
图1 复方双秦眼用凝胶体外释放 HPLC

RSD 0.4%, 表明仪器精密度良好。

2.2.7 日间精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液 30 μL, 于 3 d 内每日分别连续进样 3 次, 测定秦皮甲素峰面积, 结果 RSD 0.9%, 表明仪器的精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液 30 μL, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36, 48 h 进样, 测定秦皮甲素峰面积, 结果 RSD 0.6%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 精密吸取 6 份供试品溶液 30 μL, 注入液相色谱仪中, 测定秦皮甲素含量, 其 RSD 0.4%, 表明方法的重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密量取已知质量浓度的释放液 6 份, 按释放液质量浓度加入等量的秦皮甲素对照品溶液, 按 2.2.4 项下色谱条件进行测定。结果秦皮甲素的平均加样回收率为 98.6%, RSD 2.67%, 表明该方法的准确度良好。

2.3 接受液的选择 采用 Franz 扩散池^[2], 将预处理的半透膜(截留相对分子质量 6 000)固定在扩散池底部, 精密称取双秦眼用凝胶 0.45 g, 置于释放池内, 使其均匀分布在半透膜表面, 分别以 pH 7 的磷酸盐缓冲液、人工泪液^[3]、PEG-95% 乙醇-人工泪液(1:3:6)、人工泪液(0.3% 十二烷基磺酸钠)于扩散池中加入已预热的释放液, 池内置一电磁搅拌子以 300 r·min⁻¹ 转速转动; 排掉半透膜与释放液接触面的气泡, 水浴恒温 34℃, 4 h 后将扩散池中释放液全部取出, 按 2.2.2 项下方法处理释放液, 按 2.2.4 项下方法测定秦皮甲素含量, 计算秦皮甲素 4 h 的累积释放率。以 pH 7 的磷酸盐缓冲液、人工泪液、PEG-95% 乙醇-人工泪液(1:3:6)、人工泪液(0.3%

十二烷基磺酸钠)为接受液,秦皮甲素4 h的累积释放率分别为88.29%,90.39%,81.41%,88.61%。结果表明秦皮甲素在4种接受液中释放均良好,其中人工泪液中累积释放率最高。所以选择人工泪液作为双秦眼用凝胶释放试验的接受液。

2.4 体外释放试验 采用Franz扩散池,将预处理的半透膜固定在扩散池底部,精密称取复方双秦眼用凝胶0.45 g,置于释放池内,使其均匀分布在半透膜的表面,于扩散池中加入已预热的释放液,池内置一电磁搅拌子以 $300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速转动,排除气泡,水浴恒温 $34\text{ }^{\circ}\text{C}$,与20,40 min,1,2,4,8,12,24 h时间点将释放液全部取出,并迅速补加等量预热的释放液。按2.2.4项下方法测定秦皮甲素含量,按下面公式计算累积释放率。

$$Q = \sum_{i=1}^n C_n \times V/S$$

Q 为累积释放量; C_n 为第 n 次取样时样品的质量浓度; V 为取样体积, S 为有效释放面积。

2.5 复方双秦眼用凝胶体外释药特性

2.5.1 复方双秦眼用凝胶的体外释放曲线 以时间作为横坐标,以皮甲素累积释放率为纵坐标,作7份样品的秦皮甲素 $Q-t$ 累积释放曲线(图2)。

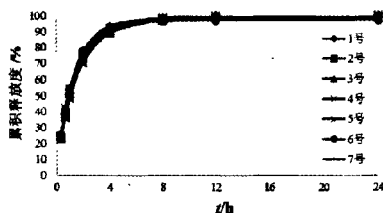


图2 复方双秦眼用凝胶秦皮甲素体外累积释放曲线

由图2可知,复方双秦眼用凝胶中秦皮甲素的释放率4 h达到91.38%,平行7份样品误差不大,24 h释放99.33%,基本释放完全。

2.5.2 复方双秦眼用凝胶的非线性拟合^[4] 将复方双秦眼用凝胶体外释放曲线分别进行零级、一级和Higuchi拟合,结果拟合模型方程为零级 $Y = 0.029\,5X + 0.048\,5 (r = 0.946\,8)$,一级 $Y = -1.258\,8X - 0.8162 (r = 0.999\,2)$,Higuchi $Y = 0.080\,9\,X + 0.001\,7 (r = 0.985\,2)$ 。

释药方程拟合结果表明,以人工泪液为释放介质,复方双秦眼用凝胶中秦皮甲素释放规律符合一级释放方程。

2.5.3 释药机制研究 对复方双秦眼用凝胶的释放数据进行Ritger-Peppas^[5]方程拟合。Ritger-Peppas方程为 $\ln Q = n \ln t + a$ 。其中当 $0.45 < n < 0.89$ 时,药物释放为非Fick扩散;当 $n > 0.89$ 时,为Fick扩散,即药物的扩散;当 $n < 0.45$ 时,为骨架溶蚀作用。故秦皮甲素Ritger-Peppas方程拟合为 $Y = 0.541\,9X - 2.512\,7 (r = 0.986\,6)$ 。

3 讨论

根据Ritger-Peppas方程可知,复方双秦眼用凝胶中秦皮甲素的释放方程拟合中 n 为0.5419,即秦皮甲素的释放为药物的扩散和骨架的溶蚀双重作用。由秦皮甲素拟合方程可知,一级模型和Higuchi模型释放度与时间均具有良好的相关性,相比而言,一级拟合 r 值最大,故秦皮甲素的释放更接近于一级释放,有一定的缓释作用。本实验在同等条件下,发现秦皮乙素在人工泪液中不稳定,日间精密度RSD 29.1%,其释放规律有待于进一步探索。

[参考文献]

- [1] 刘翔,高申,原永芳.眼用凝胶给药系统研究进展[J].中国药师,2009,12(11):1637.
- [2] Helene Hägerström, Mattias Paulsson, Katarina Edsman. Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method [J]. Eur J Pharm Sci, 2000, 9(3):301.
- [3] 彭丽华,刘淑芝,郭春燕,等.两种巴布剂基质的体外经皮渗透性考察[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(5):1.
- [4] 卢荣枝,唐干益,宫琦.阿昔洛韦眼用凝胶在兔角膜中的渗透释药行为研究[J].中国药房,2006,17(4):258.
- [5] Philip L Ritger, Nikolaos A, Peppas. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable device [J]. J Control Release, 1987, 5(1):37.

[责任编辑 全燕]

中药复方双秦眼用凝胶体外释药性能

作者: [刘树扬](#), [冯伟红](#), [杜茂波](#), [梁丽娜](#), [葛克亚](#), [刘淑芝](#), [LIU Shu-yang](#), [FENG Wei-hong](#), [DU Mao-bo](#), [LIANG Li-na](#), [GE Ke-ya](#), [LIU Shu-zhi](#)

作者单位: [刘树扬, 葛克亚, LIU Shu-yang, GE Ke-ya\(首都医科大学中医药学院, 北京, 100069\)](#), [冯伟红, 杜茂波, 刘淑芝, FENG Wei-hong, DU Mao-bo, LIU Shu-zhi\(中国中医科学院中药研究所, 北京, 100700\)](#), [梁丽娜, LIANG Li-na\(中国中医科学院眼科医院, 北京, 100040\)](#)

刊名: [中国实验方剂学杂志](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名: [Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae](#)

年, 卷(期): 2012, 18(8)

参考文献(5条)

1. [刘翔. 高中. 原永芳](#) 眼用凝胶给药系统研究进展[期刊论文]-[中国药师](#) 2009(11)
2. [Helene H\(a\)gerstr\(o\)m, Mattias Paulsson, Katarina Edsman](#) Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method[外文期刊] 2000(03)
3. [彭丽华. 刘淑芝. 郭春燕](#) 两种巴布剂基质的体外经皮渗透性考察[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2005(05)
4. [卢荣枝. 唐干益. 宫琦](#) 阿昔洛韦眼用凝胶在兔离体角膜中的渗透释药行为研究[期刊论文]-[中国药房](#) 2006(04)
5. [Philip L Ritger, Nikolaos A, Peppas](#) A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable device[外文期刊] 1987(01)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgsyfjxzz201208004.aspx