

蟾酥缓释微丸制备及体外释放机制研究

蒋杉杉, 李永盛, 涂颖秋, 黄绳武* (浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 对蟾酥缓释微丸形态及体外释放机制进行初步研究。方法 采用挤出滚圆法制备蟾酥缓释微丸, 采用X射线粉末衍射法研究药物与粉末的配伍相容性; 采用扫描电镜法观察制剂表面微观状态; 通过模型方程拟合探讨蟾酥缓释微丸的释药机制。结果 辅料对蟾酥提取物的存在形式无明显影响; 随着溶出时间的增加, 蟾酥缓释微丸饱和度下降, 包衣膜多重损坏; 药物释放曲线符合Higuchi方程。结论 制备的蟾酥缓释微丸具有较好的缓释效果。

关键词: 蟾酥缓释微丸; X射线粉末衍射法; 扫描电镜法; 释药机制

中图分类号: R944.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1103-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.018

Preparation of Venenum Bufonis Sustained-release Pellets and Its Release Mechanism *in Vitro*

JIANG Shanshan, LI Yongsheng, TU Yingqiu, HUANG Shengwu* (Pharmaceutical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the form of Venenum Bufonis sustained-release pellets and its release mechanism *in vitro*. **METHODS** Venenum Bufonis sustained-release pellets were prepared by extrusion-spheronization method. Using the X-ray powder diffraction method to study drug compatibility with powder of compatibility. Preparation surface microscopic was observed by a scanning electron microscope method. Release mechanism of Venenum Bufonis sustained-release pellets was established by equation fitting. **RESULTS** Excipient had no obvious effect on the existence form of extracts of Venenum Bufonis. With the increase of dissolution time, coating film of Venenum Bufonis sustained-release pellets desaturated and multiple damaged. Drug release curve conformed to Higuchi equation. **CONCLUSION** The Venenum Bufonis sustained-release pellets show good sustained-release effect.

KEY WORDS: Venenum Bufonis sustained-release pellets; X-ray powder diffraction method; scanning electron microscopy (SEM) method; release mechanism

蟾酥为蟾蜍科动物中华大蟾酥 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥分泌物, 性味甘辛、温, 有毒。蟾酥有悠久的药用历史, 在抗肿瘤、消肿、醒神、开窍、强心和止痛等方面均有作用^[1]。研究表明, 蟾酥作为一种传统的中药, 在抗肿瘤方面具有较好的疗效, 但其较大的毒性限制了其在临床中的应用。缓控释制剂能使血药浓度达到相对稳定^[2], 避免超过治疗血药浓度范围所引起的不良反应, 减少给药次数, 提高患者服药顺应性, 为有毒中药的临床应用提供了新的制剂方向。

微丸作为多单元制剂, 具有以下优点^[3-5]: 微丸在胃肠道表面分布面积增大, 可以提高药物的生物利用度, 减少或消除药物对胃肠道的刺激性; 可以不受消化道输送食物节律的影响, 使药物在体内均匀吸收; 同时其释药行为是多个小单元释

药行为的总和, 个别小单元制备工艺上的缺陷不会对整个制剂的释药行为产生严重的影响, 可增加药物的稳定性, 提高疗效, 降低不良反应, 而且生产时便于质量控制和含量测定。

本研究以蟾酥为模型药物, 采用挤出滚圆技术^[6]制备蟾酥缓释微丸, 研究其形态及体外释放行为, 探讨中药蟾酥缓释微丸的体外释药机制, 以为蟾酥临床应用提供指导, 为开发其缓释制剂提供依据。

1 仪器与材料

1.1 药品与试剂

蟾酥(浙江百草中药饮片公司, 产地: 江苏, 批号: 20120521, 经浙江中医药大学中药资源与鉴定教研室陈锡林教授鉴定为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥分泌物); 华蟾酥毒

作者简介: 蒋杉杉, 女, 硕士生 Tel: 15869150417
18606505050 E-mail: hsw55@163.com

E-mail: huangsefengye_1990@163.com

*通信作者: 黄绳武, 男, 教授 Tel:

基对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110803-200605, 纯度 $\geq 99.6\%$); 酯蟾毒配基对照品(宝鸡市辰光生物科技有限公司, 批号: 20120825, 纯度 $\geq 98\%$); 5-羟色胺对照品(南昌贝塔生物科技有限公司, 批号: 10015-201206, 纯度 $\geq 98\%$); 甲醇(TEDIA, 批号: 12120529, 色谱纯); 乙腈(TEDIA, 批号: 13040569, 色谱纯); Eudragit RS 30D(Evonik Rohm GmbH, 批号: G120518503); Eudragit RL 30D (Evonik Rohm GmbH, 批号: G120816521); 滑石粉(批号: G1331032)、柠檬酸三乙酯 (TEC, 批号: 110067); 微晶纤维素(MCC, 批号: 36136)和羟丙基甲基纤维素 HPMC(批号: K1215033)均购自阿拉丁试剂有限公司; 乳糖(汕头市西陇化工有限公司, 批号: 0806222); 水为高纯水; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

UV759S 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); RC-80D 型溶出度测试仪(天津市国铭医药有限公司); FA2004 电子天平(常州市幸运电子设备有限公司); KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HH-4 数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司); XRD-7000 粉末衍射仪(日本 Shimadzu); s3000N 扫描电镜(日立); E1010 离子溅射仪(日立)。

2 方法与结果

2.1 蟾酥缓释微丸的制备

2.1.1 蟾酥微丸处方筛选 通过挤出滚圆技术对 MCC 与乳糖用量比例、黏合剂种类及用量、崩解剂种类及蟾酥载药量进行单因素考察, 以微丸成型率及体外释放度为评价指标, 确定蟾酥素丸处方为 MCC 与乳糖比例为 7:1, 载药量为 10%, 黏合剂为 6% HPMC。

2.1.2 挤出滚圆工艺筛选 选择挤出速度、滚圆速度、滚圆时间进行单因素考察, 并选择对微丸质量及粉体学性质有主要影响的 3 个因素, 进行 $L_9(3^4)$ 正交实验, 以圆整度和 24~40 目收率的加权综合评分为考核指标优化处方。确定蟾酥微丸最佳挤出滚圆工艺为: 挤出转速 $40 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 滚圆转速 $1200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 滚圆时间 4 min。

2.1.3 蟾酥缓释微丸包衣工艺筛选 采用流化床包衣技术对制备的蟾酥素丸进行缓释包衣。在预实验基础上, 对包衣液处方及流化床包衣工艺进行考察, 最终确定最佳缓释包衣液处方为:

Eudragit RS 30D/Eudragit RL 30D (95:5), 20%增塑剂(TEC), 30%滑石粉。最佳流化床包衣工艺: 投料量 25~75 g, 进风温度 40°C , 喷枪喷雾压力 $1.5 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$, 恒流泵流速 $1.5 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 风机流量 $50 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$; 包衣增重 15%。

2.2 药物与辅料配伍相容性的初步研究

2.2.1 样品处理方法 (1)蟾酥提取物: 取蟾酥适量, 先按蟾毒内酯类成分的最佳工艺提取, 90%乙醇, 100 倍量, 提取 3 次, 每次 90 min; 再对药渣进行吡啶生物碱成分的最佳工艺提取, 60 倍量水, 提取 3 次, 每次 60 min; 最后将两类成分混合均匀, 进行浓缩干燥, 即得蟾酥提取物。(2)制备空白丸心: 取 12.5 g 乳糖: 87.5 g MCC(比例 1:7), 将两者均匀混合, 按以下挤出滚圆工艺制备空白丸心: 挤出速度 $50 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 滚圆时间 3 min, 滚圆速度 $1200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。(3)制备缓释包衣微丸: 取 10 g 蟾酥提取物, 11.25 g 乳糖, 78.75 g MCC, 将三者均匀混合, 按挤出滚圆最佳制备工艺制备微丸: 挤出转速 $50 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 滚圆时间 3 min, 滚圆转速 $1200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。再按最佳包衣工艺对素丸进行包衣: 包衣液为: Eudragit RS 30D/RL30D(95:5)、TEC25%、滑石粉 30%, 包衣增重 15%。(4)样品粉末制备: 分别将蟾酥提取物、空白微丸、缓释微丸、辅料研磨成细粉, 同时取适量蟾酥提取物与辅料 1:9 混合, 并研磨成细粉, 各取 20 mg 细粉, 作为待测样品。

2.2.2 X 射线粉末衍射法测定^[7] 扫描方式: 定性, 步进扫描; 管压/管流: 40 kV/30 mA; 扫描速度: $2^\circ\cdot\text{min}^{-1}$, 步长: $0.02^\circ(2\theta)$; 靶: Cu 靶(1.540 60); 扫描范围: $(2\theta)10^\circ\sim 80^\circ$ 。取干燥后的部分产品研磨, 压片, 置于 X 射线粉末衍射仪上; 设置衍射参数($10^\circ\sim 80^\circ$, $10^\circ\cdot\text{min}^{-1}$)。

2.2.3 结果 X 射线粉末衍射图谱见图 1。由图可知, 微丸图谱呈现多个尖锐的晶体衍射峰, 缓释微丸得到的衍射图谱包含蟾酥提取物与空白丸心的衍射图谱, 但强度都有所不同, 可说明辅料对蟾酥提取物的存在形式无明显影响。

2.3 体外释药机制研究

2.3.1 释药模型拟合 利用一定的已知模型对制剂的释药过程进行拟合是释药机制研究的常用方法。将缓释微丸在 0.1% SDS 溶出介质中的释放数据按零级模型、一级模型、Higuchi 模型等^[8-9]公式进行拟合, 结果见表 1。

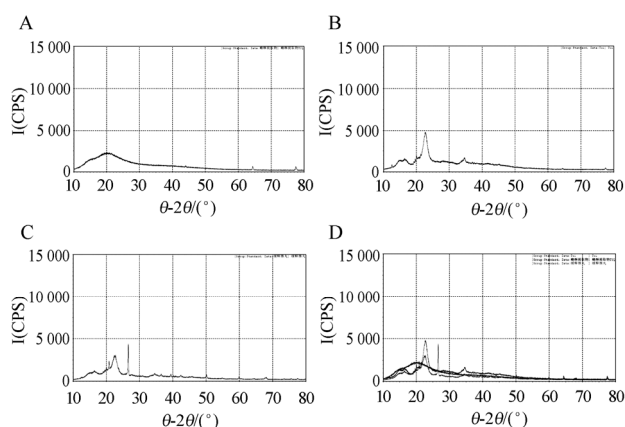


图1 X射线粉末衍射图谱

A-蟾酥提取物; B-空白丸心; C-缓释包衣微丸; D-蟾酥提取物、空白丸心、缓释包衣微丸的X衍射叠图。

Fig. 1 X-ray diffraction pattern

A-Toad venom extract; B-blank pill heart; C-sustained-release coating pellets; D-Toad venom extract, blank pellets, sustained-release coating pellets X diffraction diagram.

表1 药物释放模型拟合

Tab. 1 The drug release model fitting

模型	模型方程式	拟合方程	R^2
零级模型	$Y=kt+k_1$	$Y=0.0678x+0.2454$	0.9204
一级模型	$\ln(1-Y)=-kt+k_1$	$Y=-0.0678x+0.7546$	0.9204
Higuchi 模型	$Y=kt^{1/2}+k_1$	$Y=0.0837x-0.0037$	0.9808
Ritger-Peppas 模型	$\ln(Y)=\ln(t)+k_1$	$Y=0.7183x-1.9223$	0.9958

由表1可见,对蟾酥缓释微丸在0.1%SDS溶出介质中的释放度进行常用模型拟合,结果显示该缓释微丸释放全过程与Higuchi模型和Ritger-Peppas模型的拟合度优于零级、一级模型,经Ritger-Peppas模型^[10]拟合得时间项 t 的指数 $n=0.7183(0.43<n<0.85)$,释药机制为non-Fickian扩散,即蟾酥缓释微丸的释药机制为药物扩散和骨架溶蚀共同作用,符合缓释包衣微丸的体外释药机制。

2.3.2 微丸表面微观分析 扫描电子显微镜法由于其具有图像立体感、真实感、易于识别和解释,放大倍数变化范围大等特点而被用于释药机制的研究。本试验以缓释微丸为模型药物,在对蟾酥缓释微丸体外释放度基础上,采用扫描电镜法,观察比较微丸溶出前后的形态。见图2。

比较图2中的a图及b图,可见缓释包衣微丸的表面光滑,未包衣微丸表面粗糙;观察图2中的e、f、g图,可见缓释微丸通过包衣膜孔释放药物,随着溶出时间的增加,缓释微丸饱满度下降,

且表面包衣膜有多损坏。比较图2中的c图及d图,可以看出d图中的缓释包衣微丸表面的包衣膜厚度,而c图中的未包衣微丸表面粗糙且没有膜厚度。

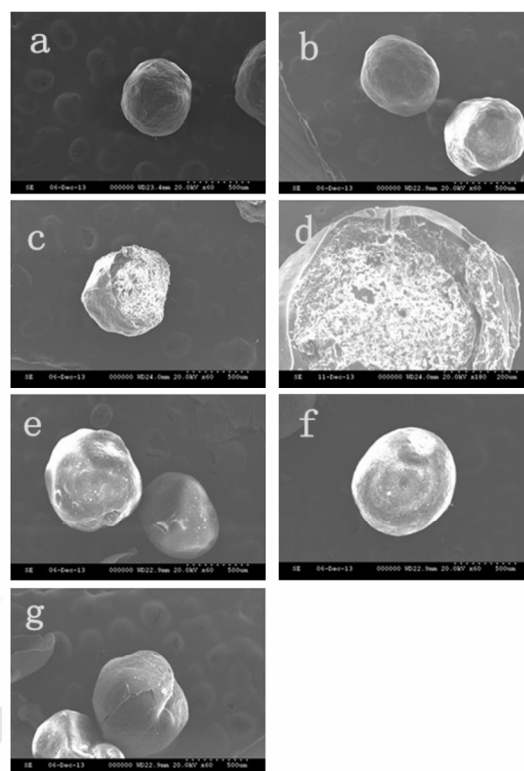


图2 微丸扫描电镜图片

a-未包衣微丸溶出0 h; b-缓释包衣微丸溶出0 h; c-未包衣微丸的横切面; d-缓释包衣微丸横切面; e-缓释包衣微丸溶出1 h; f-缓释包衣微丸溶出2 h; g-缓释包衣微丸溶出12 h。

Fig. 2 SEM images of micro pills

a-uncoated pellets after dissolution 0 h; b-sustained-release coating pellets after dissolution 0 h; c-uncoated pellets in transverse section image; d-transverse image of sustained-release coating micro pill; e-sustained-release coating pellets after 1 h of dissolution; f-sustained-release coating pellets of dissolution after 2 h; g-sustained-release coating pellets of dissolution of 12 h.

3 讨论

本实验获取了蟾酥提取物、空白丸心、缓释包衣微丸的X射线衍射图谱,均呈现多个尖锐的晶体衍射峰,其中缓释微丸得到的衍射图谱包含蟾酥提取物与空白丸心的衍射图谱。可见X衍射是一种简便可行的中药分析方法^[11],在分析药物与辅料的兼容性配伍研究上具有巨大潜力,如对其进一步完善,有可能实现定量分析。本实验通过对蟾酥缓释微丸体外释放行为的研究,拟合释药模型,对释药机制进行分析,为预测蟾酥缓释微丸的体内释药提供初步理论和实验依据。

REFERENCES

- [1] YANG S, MA X B, ZHANG B. Optimized compatibility of anticancer monomers from Venenum Bufonis by uniform design [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2014, 23(17): 2077-2080.
- [2] YUN L W, YANG J. The role of pharmacokinetics in Beagle dogs for preclinical evaluation of extended-release formulations [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2015, 24(10): 1134-1140.
- [3] WANG Y, SONG X L, CHEN Y F, et al. Preparation of gentian total glycosides intragastric floating pellets and their characteristics of *in vitro* release [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(9): 1751-1755.
- [4] WANG H Y, ZOU M J, HAN R, et al. Preparation of propafenone hydrochloride sustained release matrix pellets and release mechanism investigation [J]. Chin J Pharm(中国药理学杂志), 2011, 9(1): 7-14.
- [5] HUANG Y P, LAI C H. Advances of sustained/controlled release pellets [J]. J Jiangxi Univ TCM(江西中医药大学学报), 2010, 22(2): 88-91.
- [6] QIN F H, HUANG X W, XIA X J, et al. Study on preparation of *Ginkgo biloba* extract and gross saponin from *Tribulus terrestris* sustained release pellets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(2): 178-182.
- [7] CHEN Y H, WANG Q S, PING Q N, et al. Preparation of iguratimod solid dispersion via hot-melt extrusion and investigation of factors affecting dissolution profile [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2013, 48(17): 1464-1470.
- [8] HIGUCHI T. Mechanism of sustained-action medication, theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices [J]. J Pharm Sci, 1963(52): 115.
- [9] LI S G, LI L J, XIAO Z H, et al. Study on the formulation and technology of sinomenine hydrochloride enteric sustained-release pellets and release mechanism *in vitro* [J]. China Pharm(中国药房), 2013, 24(19): 1773-1776.
- [10] LIU X R, ZHANG Z Z, HE Z Y, et al. Preparation and *in vitro* release study of sustained-release coated pellets containing clarithromycin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(2): 143-147.
- [11] 吕永丰, 练晓珊, 叶琳. X射线粉末衍射法在中药分析中的应用[J]. 中国医药指南, 2013, 11(8): 298-299.

收稿日期: 2015-03-21

利拉萘酯喷雾剂的经皮渗透研究

何敏^{1,2}, 单瑞平³, 傅旭春⁴ (1.浙江大学药学院, 杭州 310058; 2.艾康生物技术(杭州)有限公司, 杭州 310013; 3.浙江万晟药业有限公司, 杭州 310013; 4.浙江大学城市学院药物研究所, 杭州 310015)

摘要: 目的 研究利拉萘酯喷雾剂的经皮渗透性。方法 采用改良 Franz 扩散池, 以小型猪皮肤为渗透屏障, 高效液相色谱法测定利拉萘酯含量。结果 利拉萘酯喷雾剂和乳膏剂的稳态透皮速率分别为 (0.017 ± 0.006) , $(0.014 \pm 0.003) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$; 利拉萘酯喷雾剂和乳膏剂的 24 h 累积渗透量分别为 (0.60 ± 0.23) , $(0.44 \pm 0.15) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$; 利拉萘酯喷雾剂和乳膏剂在皮肤中的药物残留量分别为 (8.2 ± 1.3) , $(7.7 \pm 1.6) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论 利拉萘酯喷雾剂的稳态透皮速率、24 h 累积渗透量、在皮肤中的药物残留量均稍大于利拉萘酯乳膏剂, 但 2 种剂型之间没有显著性差异。

关键词: 利拉萘酯; 喷雾剂; 乳膏剂; 经皮渗透

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1106-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.019

Study on the Percutaneous Permeability of Liranaftate Spray

HE Min^{1,2}, SHAN Ruiping³, FU Xuchun⁴ (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.ACON Biotech(Hangzhou) Co., Ltd., Hangzhou 310013, China; 3.Zhejiang Wansheng Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310013, China; 4.Institute of Materia Medica, Zhejiang University City College, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the percutaneous permeability of liranaftate spray. **METHODS** The improved Franz diffusion cells and the skin of Bama miniature pig were used to investigate the percutaneous permeability of liranaftate. The content of liranaftate was determined by HPLC. **RESULTS** The steady penetration rate of spray and cream was (0.017 ± 0.006) , $(0.014 \pm 0.003) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. The 24 h cumulative permeation quantity of spray and cream was (0.60 ± 0.23) , $(0.44 \pm 0.15) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, respectively. The residue in skin of spray and cream was (8.2 ± 1.3) , $(7.7 \pm 1.6) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

作者简介: 何敏, 女, 硕士, 工程师

Tel: (0571)87779339

E-mail: 619154425@qq.com