

· 药剂与炮制 ·

复方蟾酥缓释滴丸的制备及其体外释放性能考察

李永盛¹, 吴梅佳¹, 蒋杉杉², 黄绳武^{1*}

(1. 浙江中医药大学药学院, 杭州 311400; 2. 慈林医院, 浙江宁波 315300)

[摘要] 目的:根据蟾酥有效成分难溶于水、血药浓度波动大、易产生毒副作用等特点,将蟾酥与灵芝联合应用后制成复方蟾酥缓释滴丸,以改善蟾酥的副作用。方法:以聚乙二醇4000(PEG4000)和硬脂酸为基质,利用熔融法制备复方蟾酥缓释滴丸。以滴丸滴制情况为指标,采用单因素试验考察滴丸成型因素。以圆整度、丸重差异及释放度为指标,采用正交试验优化复方蟾酥缓释滴丸的制备工艺。结果:最佳制备工艺为药物-基质(1:2),PEG4000-硬脂酸(5:1),熔融温度80℃,滴距8cm,冷凝液管口温度50~5℃;缓释滴丸在体外释放达12h,符合Ritger-Peppas方程模型。结论:优选的复方蟾酥缓释滴丸制备工艺稳定可行,能够使蟾酥的血药浓度波动降低、毒副作用减少,符合临床治疗需要。复方蟾酥缓释滴丸的释放更接近于non-Fickian扩散,其释药机制为扩散和骨架溶蚀两者的结合。

[关键词] 缓释滴丸;蟾酥;灵芝;硬脂酸;聚乙二醇;圆整度;体外释放度

[中图分类号] R283.6;R284.1;R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)08-0007-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017080007

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170214.0951.024.html>

[网络出版时间] 2017-02-14 9:51

Preparation and *In Vitro* Release of Compound Bufonis Venenum Sustained-release Dropping Pills

LI Yong-sheng¹, WU Mei-jia¹, JIANG Shan-shan², HUANG Sheng-wu^{1*}

(1. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311400, China; 2. Chc International Hospital, Ningbo 315300, China)

[Abstract] **Objective:** According to feature that active ingredients of Bufonis Venenum had poor water solubility, large fluctuation in plasma concentration and toxic side-effects, compound sustained-release dropping pills was prepared with the combination of Bufonis Venenum and Ganoderma. **Method:** Polyethylene glycol 4000 (PEG4000) and stearic acid were used as matrix to prepare compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills by melting method. Dropping situation was used as the evaluation index to investigate forming factors by single factor experiments. The roundness, weight variation of pills and cumulative release rate in 12 h were used as the evaluation indexes, orthogonal test was adopted to optimize preparation process. **Result:** Optimum process of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills was as following: drug-substrate (1:2), PEG4000-stearic acid (5:1), melting temperature at 80℃, dropping distance of 8 cm, temperature of pipe orifice in condensate at 50-5℃. The *in vitro* release of sustained-release dropping pills was 12 h that accorded with Ritger-Peppas model. **Conclusion:** The preparation process of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills is stable and feasible. *In vitro* release of this preparation is similar to non-Fickian diffusion, its release mechanism is the combination of diffusion and matrix dissolution.

[收稿日期] 20161208(019)

[基金项目] 浙江省自然科学基金项目(LY16H280010)

[第一作者] 李永盛,在读硕士,从事药物新剂型与新技术研究,Tel:15868891704,E-mail:lysh5535@163.com

[通讯作者] *黄绳武,硕士生导师,教授,从事药物新剂型与新技术研究,Tel/Fax:0571-86613524,E-mail:hsw55@163.com

[Key words] sustained-release dropping pills; Bufonis Venenum; Ganoderma; stearic acid; polyethylene glycol; roundness; *in vitro* release

蟾酥味甘,性辛、温,有毒^[1],具有镇痛、消肿、醒神开窍、抗肿瘤等作用^[2]。其主要有效成分为蟾毒内酯类和吲哚生物碱类^[3],研究表明蟾酥对多种肿瘤,如肝癌、肺癌、膀胱癌等,均有较好疗效^[4-6]。临床上使用较早的蟾酥抗肿瘤制剂为华蟾素注射液,该制剂为蟾酥水溶性成分制剂^[7],体内消除迅速、半衰期短^[8]、毒性大、血药浓度波动大、易产生毒副作用,从而限制了其在临床中运用。蔡秀巧^[9]在金蟾散(《药薮启秘》)的基础上,以蟾皮、全蝎为基本药物,加入人参、灰树花后组成复方全蝎胶囊,可扶正固本、增强免疫力、提高抗肿瘤效果。灵芝具有增强免疫、延年益寿、抗肿瘤、清除自由基等功效^[1,10-12]。基于中医药理论,为了降低蟾酥毒性,本实验考虑将蟾酥与灵芝联合应用,为有效控制血药浓度,拟制成复方蟾酥缓释制剂。

缓释滴丸是将药物与水不溶性基质熔融滴制而成的丸剂,可达到延缓药物释放的作用,特别是对于一些难溶性药物,在延缓药物释放的同时,可增加难溶性药物的生物利用度,还可提高药物的安全性和有效性。熔融或溶剂-熔融法是制备滴丸剂的常用方法,熔融法适用于对热稳定性高的药物,方法简单、适用工业化生产。因此,本实验利用固体分散体技术,采用正交试验优选复方蟾酥缓释滴丸的制备工艺,开展该缓释滴丸的制剂工艺研究,确定其最佳成型工艺,为蟾酥新制剂的开发提供实验依据。

1 材料

滴丸装置(自制),DWJ-2000S-D型多功能滴丸机(烟台百药泰中药科技有限公司),RC-8D型溶出度测定仪(天津市国铭医药设备有限公司),1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),UV759S型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器厂),DHG-9003型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),JA203H型电子天平(常州市幸运电子设备有限公司),XS105型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

聚乙二醇(PEG)2000,PEG4000和PEG6000(美国Aladdin公司);蟾酥、灵芝(浙江百草饮片有限公司,产地分别为江苏、江西,批号依次为20140521和20140825,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,分别为蟾蜍科动物

中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargizans* 的干燥分泌物,多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* 的干燥子实体),华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110803-201406,110718-200507),硬脂酸(SA,温州市化学用料厂),单硬脂酸甘油酯[GMS,永华化学科技(江苏)有限公司],十二烷基硫酸钠(SDS,广东汕头市西陇化工厂),甲基硅油(杭州树脂总厂),液体石蜡(无锡市展望化工试剂有限公司),水为蒸馏水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 华蟾素毒基和酯蟾毒配基的含量测定^[1] 复方蟾酥缓释滴丸中蟾酥有毒,蟾酥中有效成分为华蟾酥毒基和酯蟾毒配基,故有效控制蟾酥中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的释放是评价该制剂的关键。

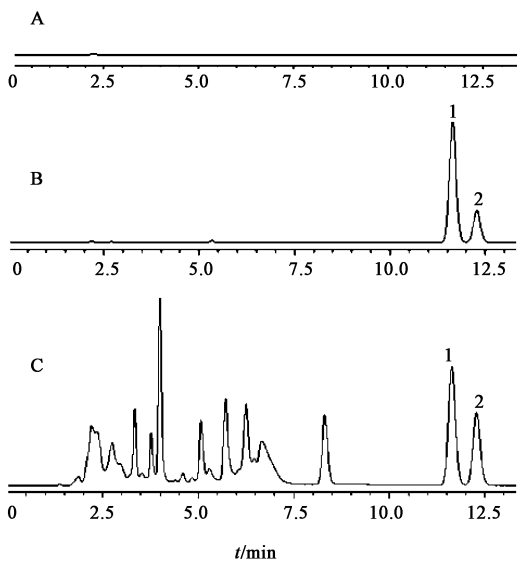
2.1.1 溶液的制备 分别精密称取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品 2.45, 0.75 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,得混合对照品溶液。精密称取复方蟾酥缓释滴丸适量,置具塞锥形瓶中,精密加入一定量甲醇,称定质量,加热回流 1 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,得供试品溶液。

2.1.2 检测波长的选择 量取对照品溶液及空白滴丸制备的阴性样品溶液,以甲醇为空白在 200 ~ 500 nm 扫描,结果发现辅料无干扰,对照品溶液在 296 nm 附近有最大吸收峰,故选择检测波长 296 nm。

2.1.3 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(48:52),检测波长 296 nm^[1],柱温 40 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。理论板数按华蟾酥毒基峰、脂蟾毒配基峰计算均不低于 4 000。见图 1。

2.1.4 线性关系考察 精密移取混合对照品溶液 0.05, 0.35, 0.65, 0.95, 1.25, 1.55 mL,分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按 2.1.3 项下条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得华蟾酥毒基、酯蟾毒配基回归方程分别为 $Y = 8.443 \times 10^6 X + 495.143$ ($r = 0.9998$), $Y = 7.670 \times 10^6 X + 5.807 \times 10^6$ ($r = 0.9998$),线性范围依次为 2.45 ~ 75.95, 0.75 ~ 23.25 mg·L⁻¹。

2.1.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液,按



A. 阴性样品; B. 混合对照品; C. 供试品; 1. 华蟾素毒基; 2. 酯蟾毒配基

图 1 复方蟾酥缓释滴丸的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills

2.1.3 项下条件重复操作 6 次, 计算华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的 RSD 分别为 0.7% 和 0.6%。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 结果华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的 RSD 依次为 0.1% 和 0.2%, 表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 精密称取同一批复方蟾酥缓释滴丸 6 份, 按 2.1.1 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.1.3 项下条件测定, 结果华蟾素毒基、酯蟾毒配基峰面积的 RSD 分别为 2.5% 和 2.6%。

2.1.8 回收率试验 精密称取同一批复方蟾酥缓释滴丸 9 份, 按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 分别加入相当于供试品溶液中指标成分含量 80%, 100%, 120% 的对照品溶液 (华蟾酥毒基质量分别为 0.27, 0.36, 0.41 mg; 酯蟾毒配基质量分别为 0.19, 0.25, 0.29 mg), 加甲醇定容至 10 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按 2.1.3 项下条件测定, 计算华蟾酥毒基、酯蟾毒配基的平均加样回收率分别为 102.59% 和 101.65%, RSD 依次为 2.1% 和 2.5%。

2.2 体外释放度的测定 按《中国药典》2015 年版四部通则 0931 溶出度测定项下第一法测定, 药物在 500 mL 溶出介质中^[13-14], 转速 100 r·min⁻¹, 温度 (37 ± 0.5) °C。分别于 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h 取

样 5 mL, 立即补充同温度等体积的释放介质, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液进行 HPLC 测定, 计算华蟾酥毒基及酯蟾毒配基的累积释放度。

$$\text{累积释放度} = \frac{\sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i + C_n V}{W \times D} \times 100\%$$

式中 C_i, C_n 为表示第 i 和 n 个取样点溶出介质中药物的质量浓度, V_i 为第 i 个取样点取出介质的体积, V 溶出介质总体积, W 为滴丸质量, D 为滴丸中药物的质量分数。

2.3 处方工艺的优化 蟾酥及灵芝醇提浸膏粉主要含有脂溶性物质, 因此在选择基质时, 选择水不溶性基质为缓释骨架, 以 PEG 类作为致孔剂, 促进药物在体内的释放、吸收。

2.3.1 载药量考察 运用黄金分割法^[15-17], 选取 0.382, 0.618 共 2 个点, 在 2 点之间通过公式 $X = (0.618 - 0.382) \times 0.618 + 0.382 = 0.528$ 计算, 故选择将药效比例设置成 1:0, 0.618:0.382, 0.528:0.472, 0.472:0.528, 0.382:0.618, 0:1, 分别记为 A 组 (蟾酥), B 组 (蟾酥:灵芝 = 0.618:0.382), C 组 (蟾酥:灵芝 = 0.528:0.472), D 组 (蟾酥:灵芝 = 0.472:0.528), E 组 (蟾酥:灵芝 = 0.382:0.618), F 组 (灵芝), 通过体外细胞药效试验确定蟾酥与灵芝联合应用的比例为 0.472:0.528 时, 体外抗肿瘤药效最佳, 见表 1。

表 1 蟾酥-灵芝不同比例及质量浓度对 HepG2 肿瘤细胞的抑制作用

蟾酥-灵芝	Inhibitory rates of different proportion of Bufonis Venenum-Ganoderma on HepG2 cells			
	250 mg·L ⁻¹	125 mg·L ⁻¹	62.5 mg·L ⁻¹	31.25 mg·L ⁻¹
1:0	36.29	35.15	36.85	31.32
0.618:0.382	45.33	47.84	43.38	35.38
0.528:0.472	50.86	49.89	45.42	28.81
0.472:0.528	49.01	49.61	47.59	30.80
0.382:0.618	57.18	44.82	37.00	36.71
0:1	38.16	33.70	34.91	14.44

滴丸中药物与基质的比例一般为 1:1 ~ 1:10, 一般情况下, 载药量越高, 成型及生物利用度越差; 载药量越小则越易成丸, 但同时又会造成病人服药量增加, 带来不便。实验中以药液的黏度、滴丸的圆整度、硬度、拖尾及粘连情况为评价指标, 考察药物与基质不同比例 (1:1, 1:2, 1:3) 对滴丸成型的影响, 结果滴制情况分别为基质稠度较稀, 滴制较快,

圆整度一般;基质稠度适中,易滴制,且圆整度较好;基质稠度较稠,滴制较慢,圆整度较差,拖尾粘连。说明滴丸在药物-基质(1:2)时的成型性较好。

2.3.2 疏水性基质考察 缓释滴丸制备中,SA,GMS 和十八醇等常作为疏水性基质,形成疏水性骨架,减缓有效成分的释放速率。分别选择 SA,GMS 及两者混合物(按 1:1 混合)作为疏水性基质制备滴丸,结果滴制情况分别为易熔融,滴丸成型性好,圆整度较好;不易熔融,易结块,成型性差,拖尾严重;不易熔融,易结块,成型性差,拖尾严重。故选择 SA 为疏水性基质。

2.3.3 亲水性基质考察 PEG 类作为常用的水溶性基质,可以调节缓释滴丸中有效成分的释放,故选择了 PEG2000,PEG4000 和 PEG6000,结果滴制情况分别为基质稠度较稀,不易滴制,圆整度较好;基质稠度适中,易滴制,且圆整度好;基质稠度较稠,不易滴制,圆整度一般,少许拖尾。故选择 PEG4000 为亲水性基质。

2.3.4 基质比例 选择 PEG4000-SA 分别为 1:3,1:2,1:1,2:1,3:1,4:1,5:1,置于水浴锅上加热,使基质充分熔融,加入药物搅拌均匀,控制滴距 8 cm,以一定滴速将熔融料液滴入盛有甲基硅油的冷凝液中,待滴丸冷凝完全后,倾出冷凝液,收集滴丸,用滤纸除去滴丸上的甲基硅油。以水为溶出介质,以药物体外累积释放度为指标,考察 PEG4000 与 SA 的最佳配比,见图 2。结果发现药物的体外释放度随 PEG4000 用量的增加而增加,故本实验选用 PEG4000 与 SA 比为 5:1 作为基质比。

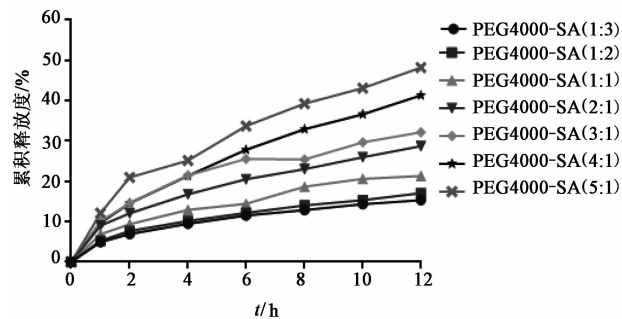


图 2 复方蟾酥缓释滴丸的基质比考察

Fig. 2 Investigation of matrix ratio of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills

2.4 制备工艺的单因素试验考察 采用熔融法将药物浸膏粉(过 80 目筛)分散于熔融基质中,滴入冷凝液中收缩成丸。

2.4.1 冷凝液种类 冷凝介质必须安全无毒,且与药物不发生反应,常用冷凝液种类主要有液状石蜡、

植物油、甲基硅油和水等。固定药物-基质(1:2),选择液体石蜡、甲基硅油进行考察,结果滴制情况分别为易融合,滴丸无法成型,且沉降速度较快;易融合,滴丸成型,硬度适中,其沉降速度慢。故选择甲基硅油为冷凝剂。

2.4.2 滴距 滴距分别选择 2,4,6,8,10 cm,滴丸制备方法同上,结果滴丸外观分别为拖尾、圆整度差,拖尾、圆整度差,少许拖尾、圆整度一般,无拖尾、圆整度好,拖尾、圆整度差。结果表明当滴距 < 8 cm 时,液滴在空气中的停留时间短,收缩效果差,易产生拖尾现象,圆整度较差;当滴距 > 8 cm 时,因距离大易产生扁圆形滴丸,圆整度较差。当滴距为 8 cm 时,所制滴丸圆整度较好,无拖尾现象。

2.4.3 熔融温度 熔融温度分别选择 75,80,85,90 °C,滴丸制备方法同上,结果滴丸外观分别为熔融较慢、不易熔融,熔融较慢、圆整度一般,熔融较易、圆整度好、无拖尾,熔融较易、圆整度一般、拖尾、少许粘连。结果表明当熔融温度 > 85 °C 时,药物与基质熔融状态较易,但圆整度一般,少许拖尾,且随着温度的升高,滴丸产生粘连现象。当熔融温度 < 85 °C 时,药物与基质熔融时间较长,且圆整度一般;当熔融温度为 85 °C 时,熔融较易,圆整度好。

2.4.4 冷凝液管口温度 分别选择冷凝温度 45 ~ 5(即冷凝液上管口温度 45 °C,下管口温度 5 °C),50 ~ 5,55 ~ 5,60 ~ 5 °C,按上述方法制备滴丸,结果沉降速度分别为慢,较慢,适中,快;滴丸外观依次为圆整度差、拖尾、粘连,圆整度较好、无拖尾、粘连,圆整度好、无拖尾、粘连,圆整度一般、无拖尾、粘连。结果表明冷凝液上管口温度 > 55 °C 时,随着温度的升高,滴丸的沉降速度加快,圆整度变差,发生粘连现象;在 < 55 °C 时,滴丸沉降速度适中,圆整度好;故选择冷凝液管口温度 55 ~ 5 °C。

2.5 体外溶出介质考察 释药全过程的时间不应低于给药的间隔时间,且累计释放度要求 > 80%^[14]。精密称取复方蟾酥缓释滴丸适量,注入溶出介质(500 mL)中,分别以水,0.1% SDS,0.5% SDS,pH 6.86 磷酸盐缓冲液为溶出介质,分别于 0,1,2,4,6,8,10,12 h 取样,其他条件同 2.2 项,计算累积释放度,绘制溶出度曲线,见图 3。结果显示复方蟾酥缓释滴丸在水,0.1% SDS,pH 6.86 磷酸盐缓冲液中释放较慢,在 0.5% SDS 介质中,滴丸释放度符合要求。

2.6 制备工艺的正交试验优化 参照 2015 年版《中国药典》四部通则中缓控释制剂的指导原则,分

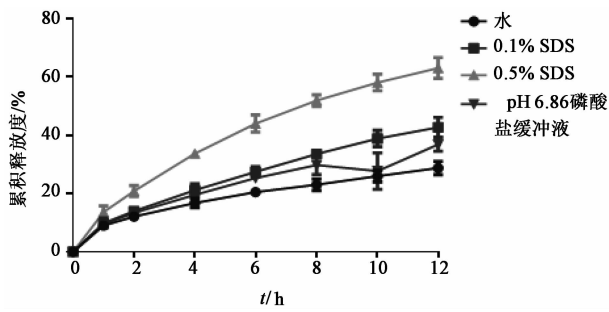


图 3 溶出介质对复方蟾酥缓释滴丸体外溶出度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 3 Effect of dissolution medium on *in vitro* release of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills ($\bar{x} \pm s, n=3$)

别选择 2, 6, 12 h 共 3 个时间点, 计算药物各时间点的累积释放度 (Q)。以滴丸外观形态及释放度的综

表 2 复方蟾酥缓释滴丸制备工艺优选的正交试验分析

Table 2 Orthogonal test analysis for preparation process of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills

No.	A 熔融温度/℃	B 滴距/cm	C 冷凝液管口温度/℃	D(空白)	圆整度/%	丸重差异/%	释放度/%	综合评分
1	80	6	50~5	1	96.92	4.57	4.49	95.84
2	80	8	55~5	2	97.00	3.64	5.36	95.66
3	80	10	60~5	3	96.40	3.92	13.78	91.23
4	85	6	55~5	3	95.58	3.22	17.57	89.31
5	85	8	60~5	1	96.41	2.87	17.88	89.45
6	85	10	50~5	2	96.05	5.56	21.39	86.93
7	90	6	60~5	2	95.67	5.51	15.04	90.02
8	90	8	50~5	1	97.28	4.18	8.05	94.25
9	90	10	55~5	3	95.34	2.93	22.01	87.10

表 3 综合评分的方差分析

Table 3 Variance analysis of composite score

方差来源	SS	F	P
A	49.89	40.26	<0.05
B	35.07	28.30	<0.05
C	7.34	5.92	>0.05
D(误差)	1.24		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由直观分析可知, 各因素对制备工艺的影响顺序为 $A > B > C$ 。方差分析结果表明因素 A, B 具有显著性影响, 因素 C 则无显著性影响。故选择最佳制备工艺组合 $A_1B_2C_1$, 即熔融温度 80℃, 滴距 8 cm, 冷凝液管口温度 50~5℃。按此条件制备 3 批复方蟾酥缓释滴丸样本并进行圆整度、丸重差异及体外溶出度试验考察。结果 3 批复方蟾酥缓释滴丸光滑圆整, 无拖尾, 硬度适中, 质量差异符合《中国药典》2015 年版的規定。R 分别为 97.50%, 96.86%, 96.57%; W 分别为 3.69%, 3.89%, 3.91%; K 分别为 14.98%, 16.33%, 16.58%。结果表明优选的复方蟾酥缓释滴丸制备工艺稳定可行、

重复性好、释药速率平稳, 符合临床需求。
合评分为指标, 权重均为 50%, 总分以 100 分计。圆整度 (R) 计算方式为取 20 粒缓释滴丸, 用测厚规测量粒径, 计算最短径/最长径, 数值越接近于 100% 越好, 且不得 < 80%。(W) 计算方式为取 20 粒滴丸, 称定质量, 计算 RSD。释放度 (K) = $|Q_{2h} - 30\%| + |Q_{6h} - 60\%| + |Q_{12h} - 80\%|$, 其中 2 h 的累积释放量 (Q_{2h}) 以 30% 为标准, Q_{6h} 以 60% 为标准, Q_{12h} 以 80% 为标准。K 越小, 即 (100 - K) 越大, 说明释放度与所定的标准越接近, 即制备工艺越合理^[18-19]。综合评分 = $R \times 25\% + (100 - W) \times 25\% + (100 - Q) \times 50\%$ 。在预试验基础上, 选择熔融温度、滴距、冷凝液管口温度为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 表进行试验, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

重复性好、释药速率平稳, 符合临床需求。

2.7 释药机制研究 将制备的 3 批复方蟾酥缓释滴丸在 0.5% SDS 溶出介质中进行溶出试验, 绘制释放度曲线并进行零级动力学, 一级动力学, Higuchi 方程, Ritger-Peppas 方程拟合, 见表 4, 5。结果发现复方蟾酥缓释滴丸的释放度曲线与 Ritger-Peppas 方程和 Higuchi 方程拟合相关性显著, 拟合度优于零级、一级动力学模型。对于球形制剂, 拟合方程斜率的意义为①当 $n \leq 0.43$ 时, 药物释放机制为 Fickian 扩散; ②当 $0.43 < n < 0.85$ 时, 药物释放机制为 non-Fickian 扩散; ③当 $n \geq 0.85$ 时, 药物释放机制为骨架溶蚀^[20]。根据 Ritger-Peppas 方程, 得出释药参数 $n = 0.582$, 符合 $0.45 < n < 0.89$, 说明复方蟾酥缓释滴丸的释放更接近于 non-Fickian 扩散, 即其释药机制为扩散和骨架溶蚀两者的结合。

3 讨论

滴丸的制备过程中一方面是以药物释放度为指标, 同时兼顾圆整度、硬度, 筛选速释、缓释基质; 另一方面以圆整度、硬度、易滴制程度为主要指标筛选

表 4 3 批复方蟾酥缓释滴丸的累积释放度

Table 4 Cumulative release of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills %							
No.	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
1	19.28	26.12	39.89	50.57	60.44	71.21	81.15
2	19.35	26.27	40.95	53.35	64.30	70.96	82.64
3	19.56	29.29	42.42	53.69	64.01	73.21	82.77

表 5 复方蟾酥缓释滴丸释药曲线的拟合

Table 5 Fitting of dissolution curves of compound Bufonis Venenum sustained-release dropping pills			
模型	模型方程	拟合方程	r
零级动力学	$Y = kt + k_1$	$Y = 0.0567t + 0.1637$	0.9946
一级动力学	$\ln(100 - Y) = -kt + k_1$	$Y = -0.0006t + 4.6035$	0.9948
Higuchi 方程	$Y = kt^{1/2} + k_1$	$Y = 0.2563t^{1/2} - 0.0856$	0.9972
Ritger-Peppas 方程	$\ln Y = \ln t + k_1$	$Y = 0.5822t - 1.6731$	0.9990

注:Y 为 t 时间的累积释放度, k 和 k₁ 为释药常数。

成型基质,以药物释放度为指标确定药物与基质配比。制备的滴丸成型性较好,且较易滴制、外观形态圆整、硬度适中,滴丸的体外释放达 12 h,释放曲线拟合后接近于 non-Fickian 扩散,具有缓释效果。

在复方蟾酥缓释滴丸的处方筛选中,其亲水性基质、疏水基质与亲水基质的比例对药物的释放起着关键性作用。通过比较不同相对分子质量的 PEG 基质发现,随着 PEG 相对分子质量的增加,药物与基质稠度增加,不易熔融且滴制困难,同时药物的累积释放量降低。增加亲水基质比例,结果显示药物累积释放度随亲水基质比例的增加而升高。在筛选滴丸制备工艺时,冷凝液管口温度、滴距均会影响滴丸的外观形态。考察管口温度时,发现管口温度过低,滴丸沉降速度慢,圆整度差,产生严重的拖尾现象;管口温度过高,滴丸沉降速度过快,易发生拖尾现象,圆整度降低,因此调节管口温度,选择合适的管口温度,可以增加滴丸的圆整度。滴距亦是影响滴丸圆整度的一个重要因素,滴距过大,则滴丸在空中停留时间过长,在液面成扁平状,滴距过小,使液滴来不及收缩成型,影响滴丸圆整度。本实验所用的蟾酥提取物主要为脂溶性成分,与基质熔融时,应采用少量多次的方法进行混合均匀,避免一次性加入,出现结块且混合不均匀等现象,进而影响滴丸的制备、外观及滴丸中药物的体外释放情况。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:383-384.

[2] 赵威. 蟾酥清热解毒作用研究进展[J]. 临床军医杂志,2015,43(12):105-107.

[3] 于垂亮,侯惠民. 蟾酥抗肿瘤有效成分的活性追踪分离及急性毒性研究[J]. 中草药,2011,42(2):307-311.

[4] CAO Y, LI H X, XU L T, et al. Bufalin enhances the anti-proliferative effect of sorafenib on human hepatocellular carcinoma cells through down regulation of ERK[J]. Mol Biol Rep,2012,39(2):1683-1689.

[5] JIANG Y, ZHANG Y, LUAN J, et al. Effect of bufalin on the proliferation of human lung cancer cells and its molecular mechanisms of action[J]. Cytotechnology, 2010,62(6):573-583.

[6] HONG S H, Choi Y H. Bufalin induces apoptosis through activation of both the intrinsic and extrinsic pathways in human bladder cancer cells[J]. Oncol Rep, 2012,27(1):114-120.

[7] 吴旭,高波,杨健,等. 华蟾素注射液多肽成分体外抗肿瘤活性研究[J]. 药学学报,2012,47(6):822-826.

[8] 刘冬,何秀峰,杜守颖,等. 蟾酥提取物中 3 种蟾蜍甙烯类成分比格犬体内药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(17):188-192.

[9] 蔡秀巧. 复方全蝎胶囊抗肿瘤及免疫增强作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27(12):2656-2658.

[10] 张华斌,石松生,陈春美. 灵芝多糖抗肿瘤免疫机制的研究进展[J]. 医学综述,2016,22(2):259-262.

[11] 刘春延,张国财,程方志,等. 灵芝孢子粉破壁工艺优化及其抗肿瘤作用[J]. 食品科学,2016,37(14):51-55.

[12] 徐慧,陈蕾蕾,赵双芝,等. 灵芝菌丝体的三萜类化合物及其抗肿瘤活性研究进展[J]. 齐鲁工业大学学报:自然科学版,2016,30(4):26-29.

[13] 李忠文,袁超,葛淑兰. 七归滴丸成型工艺考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):39-42.

[14] 王俊俊,黄挺,董晓蕾,等. 马来酸曲美布汀缓释滴丸的制备技术[J]. 中国药学杂志,2014,49(23):2096-2102.

[15] 刘建萍,崔雷. 运用黄金区域法降低耐药性的探讨[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(16):1391-1393.

[16] 刘建萍. 运用黄金区域法控制用药剂量减少药物不良反应[J]. 中国循证医学杂志,2012,12(12):1522-1525.

[17] 刘建萍. 运用黄金区域法应对用药剂量盲区的探讨[J]. 中国药房,2010,21(41):3924-3926.

[18] 郭慧玲,郭三保,赵晓娟,等. Box-Behnken 效应面法优选罗布麻叶缓释滴丸制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(10):19-22.

[19] 孙洪梅. 盐酸川芎嗪缓释滴丸的制备工艺及质量控制[D]. 济南:山东中医药大学,2012.

[20] 吴海珊,李药兰. 壳聚糖-绞股蓝总皂甙缓释微球的研制[J]. 中成药,1997,19(6):1-2.

[责任编辑 刘德文]