

黄藤素结肠定位片的制备及其体外释放评价

梁美宜, 黄韵然, 周毅生*, 易荆丽, 张嘉家
(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 制备 pH 依赖、时滞双重机制控制的黄藤素结肠定位片释药系统, 并考察其体外释放度。方法: 以羟丙甲基纤维素和聚乙二醇 6 000 作为隔离层, 以丙烯酸树脂 IV 号和聚乙烯吡咯烷酮作为时滞层, 以 pH 依赖型丙烯酸树脂 II 和丙烯酸树脂 III 的混合溶液作为外层肠溶层。考察包衣片在体外模拟人体胃肠道环境中的释药情况。结果: 制备的黄藤素结肠定位片在 pH 1.0 人工胃液中 2 h 不释药; 在 pH 6.8 人工小肠液中 3.5 h 释药量 < 1%; 在人工结肠液中 6 h 基本释药完全。结论: 所制备的黄藤素结肠定位片具有良好的结肠定位效果。

[关键词] 黄藤素; 结肠定位; 体外释放

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0038-04

Preparation and Evaluation its *in vitro* Release of Fibrauretinum Colon Targeting Tablets

LIANG Mei-yi, HUANG Yun-ran, ZHOU Yi-sheng*, YI Jing-li, ZHANG Jia-jia
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare fibrauretinum colon targeting tablets delivery system controlled by pH-dependent and time-dependent effects, and to investigate its *in vitro* release. **Method:** Fibrauretinum colon targeting tablets were coated sequentially with isolated layer of HPMC and PEG 6 000, time-dependent layer of polyacrylic resin IV and PVP, and outermost enteric coating layer of polyacrylic resin II and polyacrylic resin III. Release situation of coated tablets in artificial gastrointestinal environment were investigated. **Result:** There was no drug release of prepared fibrauretinum colon targeting tablets in pH 1.0 artificial gastric juice in 2 hours; In pH 6.8 artificial intestinal fluid, the amount of release was less than 1% in 3.5 hours; But in pH 7.6 artificial colon fluid, drug was completely released within 6 hours. **Conclusion:** This study reveals that fibrauretinum colon targeting tablets had a good effect of colon targeting.

[Key words] fibrauretinum; colon targeting; *in vitro* release

口服结肠定位释药系统(oral colon-specific drug delivery system, OCDDS)是指采用一定的药剂学手段,使药物经口服后避免在胃、十二指肠、空肠和回肠前端释放,运送至回盲部后发挥局部或全身治疗作用的一种新型给药系统。采用结肠靶向给药,可

使药物集中在结肠内释放,药物分布均匀,且结肠段血流量少,物质转运速度缓慢,药物在结肠滞留时间较长,有利于临床治疗。目前 OCDDS 按释药机制可以分为 pH 依赖型、时间依赖型、压力控制型、菌群触发型等^[1]。

黄藤素为传统中药黄藤的干燥藤茎提取得到的生物碱,具有清热解毒、泻火通便之功,被誉为抗病毒高效、广谱抗菌消炎的天然中药抗生素,对于结肠炎具有良好的治疗效果^[2]。本文以黄藤素为模型药物,主要采用丙烯酸树脂等包衣材料,根据 pH 敏感-时间控释双重机制,制备结肠定位包衣片,使药物主要在结肠段快速释放,提高结肠病变部位的

[收稿日期] 20111025(005)

[第一作者] 梁美宜, 硕士研究生, 从事中药新剂型与新技术研究, E-mail: lmy68277806@yahoo.cn

[通讯作者] * 周毅生, 教授, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel: 020-39352168, E-mail: yishzhou@yahoo.com.cn

药物浓度,发挥药物最佳疗效。

1 仪器与试剂

AY120 型电子天平(日本岛津),UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),BY-400 型荸荠式糖衣机(中国泰州市金泰制药机械有限公司),ZRS-8G 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂),DP30 型单冲压片机(上海天凡药机制造厂),ZB-0.10/7 型空气压缩机(上海罗迪空压机有限公司),ISO9002 型喷枪(日本大阪),JB-2 型恒温磁力搅拌器(上海智光仪器仪表有限公司)。

黄藤素(经 HPLC 测定含盐酸巴马汀 95% 以上,陕西森弗生物技术有限公司,批号 091012),盐酸巴马汀对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110732-200506),聚维酮 K30(安徽山河药用辅料股份有限公司),聚丙烯酸树脂 II, III, IV(安徽山河药用辅料股份有限公司),羟丙甲纤维素(HPMC,安徽山河药用辅料股份有限公司),聚乙二醇 6 000(PEG 6 000,广东光华化学厂有限公司),邻苯二甲酸二乙酯(DEP,广东光华化学厂有限公司),柠檬酸三乙酯(TEC,上海阿拉丁试剂公司),三醋酸甘油酯(TRI,上海阿拉丁试剂公司),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定 采用紫外分光光度法测定包衣片中盐酸巴马汀的含量。黄藤素中主要成分(盐酸巴马汀)在 224,273,342 nm 处有较强的紫外吸收,其中 342 nm 处有最大吸收且溶剂与辅料在此处无干扰。精密称取 4 份盐酸巴马汀对照品,每份约 0.002 5 g,置于 50 mL 量瓶中,分别加入水、0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液、pH 6.8,7.6 的磷酸盐缓冲液,定容至刻度,摇匀,作为黄藤素对照品的储备液。从 4 份黄藤素对照品的储备液各依次取 0.5,1,1.5,2,2.5,3 mL 置于 10 mL 量瓶中,加对应溶质定容,摇匀,在 342 nm 波长处测定吸光度(A)。以质量浓度 C 对 A 做线性回归,得标准曲线方程见表 1。

表 1 盐酸巴马汀在不同 pH 条件下标准曲线

溶质	线性方程	r	线性范围 /mg·L ⁻¹
水	$A = 0.056 2C + 0.013 2$	0.999 8	2.50 ~ 15.0
pH 1.0 盐酸溶液	$A = 0.055 9C + 0.019 3$	0.999 7	2.45 ~ 14.7
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	$A = 0.055 7C + 0.016 0$	0.999 8	2.54 ~ 15.24
pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$A = 0.057 2C + 0.010 1$	0.999 8	2.50 ~ 15.0

加样回收率、精密度试验、稳定性试验等方法学考察均符合要求。

2.2 体外累积释放度测定方法 按《中国药典》2010 年版二部附录 XD 释放度测定法第二法规定的转篮法,评价包衣片的体外释药性能^[3]。分别取包衣片 6 片,置于各溶出杯中,溶出介质体积 900 mL,转速 100 r·min⁻¹,温度(37 ± 0.5) °C。模拟包衣片在胃肠道中转运时间的释药情况,进行变换释放介质 pH 的释放实验。pH 1.0 盐酸溶液(人工胃液)中释放 2 h,第 2 h 取样;pH 6.8 磷酸盐缓冲液(人工肠液)中释放 3.5 h,第 5.5 h 取样;pH 7.6 磷酸盐缓冲液(人工结肠液)中释放 6 h,于第 6,7,8,10 h 取样。每次取样 5 mL(同时补充相同温度体积的新鲜介质),经 0.8 μm 微孔滤膜过滤,测定不同取样点溶出介质中的药物质量浓度,计算累积释放度。

2.3 制备工艺

2.3.1 片芯的制备 将黄藤素原料药和辅料充分干燥后过 100 目筛,按处方量称取黄藤素、微晶纤维素、糖粉和羧甲基淀粉钠混合均匀,加入适量 5% 羟丙甲基纤维素水溶液作为粘合剂制软材,过 24 目筛制粒,45 °C 干燥 1 h,30 目筛整粒,加适量硬脂酸镁,混匀,选用直径为 10 mm 的浅凹冲模压片。压片时保持硬度在(85 ± 5) N·cm⁻² 范围内,主药含量为 100 mg,理论片重 270 mg/片。以上述试验优化的片芯处方,连续制备 3 批样品,考察样品批内、批间片芯外观与崩解特性的均一性及制剂工艺的稳定性,结果崩解时间分别为(6.7 ± 1.2),(6.3 ± 1.8),(6.9 ± 1.5) min;硬度分别为(85.8 ± 2.8),(87.2 ± 1.5),(87.4 ± 1.6) N·cm⁻²;脆碎度分别为 0.13%,0.17%,0.18%;片重差异分别为 1.31%,1.05%,1.17%。结果显示,所制 3 批片芯,片面光滑整洁,硬度、脆碎度、崩解时间和片重差异均符合规定,且批内、批间重现性良好,证明工艺稳定性良好。

2.3.2 包衣工艺与包衣液处方的筛选 本文将 pH 敏感和时间控释 2 种原理联合运用,克服单一释药系统的不足,利用多层包衣法,由内至外主要分为隔离层、时滞层和肠溶层,从而提高结肠定位释药的可靠性。

2.3.2.1 包衣工艺 将片芯筛去细粉,置于倾角为 45 °的包衣锅内,开启热风机,用热空气将片芯预热至 40 °C 左右时,启动主机,调整包衣机转速为 50 r·min⁻¹,使片芯充分打磨 5 min,选取合格片芯称重,进行包衣。打开空气压缩机使达到雾化压力,固定喷枪活塞,吹风机进风,调整喷枪的位置和角度,使喷枪喷嘴至片床距离 10 ~ 15 cm,角度 45 °左右,喷

枪喷射截面的轴与片芯的流向垂直。调整喷液量,保证喷液量与转速及干燥效率相匹配,避免片芯粘连及花片。包衣顺序依次为包衣隔离层、时滞层和肠溶层。包衣结束后将包衣片置于 40 °C 的烘箱中固化 4 h,使包衣膜融合完整。称重,计算包衣增重,作为主要的包衣控制指标^[4]。

$$\text{包衣增重} = [(\text{包衣后质量} - \text{包衣前质量}) / \text{包衣前质量}] \times 100\%$$

2.3.2.2 隔离层的筛选 本文选择黏度为 50 mPa·s 的 HPMC 为成膜材料,加入 10% PEG 6 000 作为增塑剂,对片芯进行隔离包衣,包衣增重约为 2%。经多次预试验证明衣膜光亮有韧性,具有良好的隔离效果,且不影响药物的释放。

2.3.2.3 时滞层的筛选 聚丙烯酸树脂 IV 包衣后衣膜光洁美观富弹性,坚韧致密,抗潮湿、耐热、抗氧化,可增加药物的稳定性。聚丙烯酸树脂 IV 为微黄色片状固体,阴离子型化合物,分子中叔胺遇酸成盐,故衣膜对溶液中 pH 敏感,膜的溶解速度随 pH 增加而降低^[5],因此可作为时滞层材料。

聚维酮(PVP)包衣处方的致孔剂,可增强衣膜的抗潮性,改善衣膜对片剂表面的黏附能力,减少碎裂现象,缩短疏水材料衣膜的崩解时间。

加入增塑剂,可以提高薄膜的柔韧性,降低最低成膜温度(NMT)。常用的有 PEG 6 000,TEC,TRI 等,本文选取亲水性增塑剂 TEC,TRI,PEG 6 000,固定时滞层和肠溶层包衣液的组成比例以及包衣增重,增塑剂的用量分别为聚合物质量的 20%,测定包衣片的累积释放度,考察不同增塑剂种类对结肠定位包衣片释药行为的影响(图 1)。

用 PEG 6 000 作增塑剂时,包衣片释药时滞 3~4 h,累积释药量在 8 h 内 >90%,符合结肠精确定位释药的要求,因此选择 PEG 6 000 作为包衣液增塑剂。

2.3.2.4 肠溶层的筛选 本实验所选用肠溶包衣聚合物为聚丙烯酸树脂 II (pH > 6.0 溶解)和聚丙烯酸树脂 III (pH > 7.0 溶解)型肠溶丙烯酸树脂,将二者按一定比例混合配制包衣液,可调节出适合的包衣膜溶解速度,达到最佳释药效果。由于二者的成膜温度较高,且成膜后脆性较大,需加入大量的增塑剂。水不溶性增塑剂 DEP、蓖麻油常用于丙烯酸树脂,特别是聚丙烯酸树脂 II/III 的混合包衣^[6-7],两者合用促进膜的形成和融合,降低聚合物的成膜温度,以增加成膜材料的可塑性,降低玻璃转变温度。通过预试验发现,DEP、蓖麻油用量分别为聚丙烯酸树脂 II/III 的 40% 和 30%,包衣时无药片粘连及粘锅现象,包衣均匀,衣膜光滑。

2.3.2.5 包衣液处方的优化 在单因素试验及预实验基础上,确定时滞层采用 PEG 6 000 作为增塑剂,用量占聚合物量的 20%。肠溶层采用 DEP 和蓖麻油作为增塑剂,用量分别占聚合物量的 40%,30%。采用 L₉(3⁴) 正交设计方案优化包衣处方,进行 4 因素 3 水平试验,分别考察缓释层聚丙烯酸树脂 IV 和 PVP 的比例(A)、时滞层增重(B)、肠溶层增重(C)和肠溶层聚丙烯酸树脂 II/III 的比例(D)对包衣片释药行为的影响,以 Y(Y = 100 - F_a + F_b)^[8] 为评价指标,筛选出最佳处方。F_a 为包衣片在 pH 6.8 人工小肠液 3.5 h 的累积释药量,F_b 为包衣片在 pH 7.6 人工结肠液 6 h 的累积释药量。各因素水平取值见表 2,正交设计结果见表 3,方差分析见表 4。

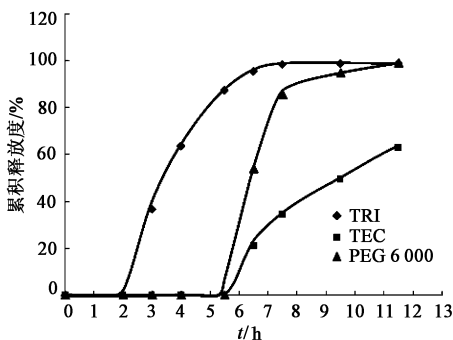


图 1 不同增塑剂种类对结肠定位包衣片释药行为的影响

结果表明,用 TRI 作增塑剂的结肠包衣片没有明显的释药时滞,5~6 h 内基本释放完全;使用 TEC 作增塑剂的包衣片释药速度较慢,累积释药量在 8 h 内低于 60%,难以达到结肠定位释药的设计目的;

表 2 黄藤素结肠定位片包衣液处方优化正交试验因素水平

水平	A 聚丙烯酸树脂 IV-PVP	B 时滞层增重/%	C 肠溶层增重/%	D 聚丙烯酸树脂 II-III
1	10:2	5	5	1:4
2	10:3	6	6	1:5
3	10:4	7	7	1:6

通过正交表极差直观分析表明,影响黄藤素结肠定位包衣片在体外释药行为的因素主次从大到小为肠溶层增重,聚丙烯酸树脂 IV/PVP,时滞层增重。最佳包衣处方为 A₃B₃C₂D₁,即时滞层聚丙烯酸树脂 IV-PVP (10:4),包衣增重 7%,肠溶层聚丙烯酸树脂 II-III (1:4),包衣增重 6%。

表3 黄藤素结肠定位片包衣液处方优化正交试验安排

No.	A	B	C	D	$F_a/\%$	$F_b/\%$	Y/%
1	1	1	1	1	67.1	30.3	63.2
2	1	2	2	2	11.6	80.9	156.5
3	1	3	3	3	0	31.9	131.9
4	2	1	2	3	0	72.8	172.8
5	2	2	3	1	0.5	77.3	176.8
6	2	3	1	2	44.2	51.3	107.2
7	3	1	3	2	0	53.9	153.9
8	3	2	1	3	36.6	57	120.4
9	3	3	2	1	0	97.8	197.8
K_1	117.2	129.9	96.9	145.9			
K_2	152.3	151.2	175.7	139.2			
K_3	157.4	145.6	154.2	141.7			
R	40.2	21.3	78.8	6.7			

表4 正交试验 Y 值方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2 869.1	2	1 434.5	41.3	<0.05
B	729.1	2	364.5	10.5	
C	9 945.9	2	4 972.9	143.1	<0.05
D(误差)	69.5	2	34.7	1.0	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

2.3.2.6 包衣工艺验证 根据正交设计所得最佳包衣液处方与包衣增重进行包衣工艺验证,依次为隔离层、时滞层和肠溶层。所得包衣片外观光洁美观,衣膜均匀完整。考察包衣片在相应释放介质中的溶出时间,并计算累积释放度。3批样品释药曲线见图2。

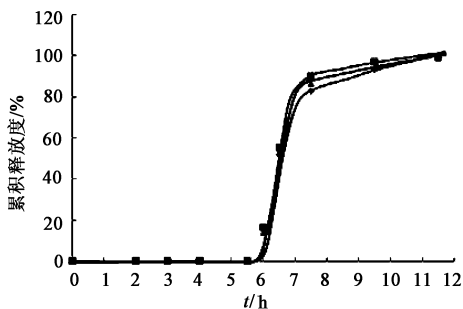


图2 黄藤素包衣片释药曲线

所得结肠定位包衣片在人工胃液中 2 h 和人工小肠液中 3.5 h 内基本不释药,达到人工结肠液中开始迅速释放药物,且 9 h 内释药达 90% 以上。结果表明不同批次的结肠定位片药物释放速率无显著性差异,说明此制备工艺的重现性良好。

3 讨论

对片芯进行隔离层包衣,主要优点有:避免包衣

时因溶剂渗入片芯,导致水敏感性药物在包衣过程中水解;避免水溶性药物随水分蒸发而迁移入衣膜;提高片芯的表面平整性,减小孔隙率,保证衣膜连续性;改善片芯表面疏水性,以利于水性包衣液的铺展和衣膜形成;改善片芯脆碎度,避免包衣过程中的破碎现象。

利用聚丙烯酸树脂 II, III, IV 制备了由 pH 和时间双重控制的口服结肠定位给药系统。聚丙烯酸树脂 II, III 是阴离子甲基丙烯酸酯聚合物,是一种肠溶性包衣材料,分别在 $\text{pH} > 6.0$ 和 $\text{pH} > 7.0$ 的介质中溶解。包衣片在胃部不释药,到达小肠后,聚丙烯酸树脂 II 溶解使肠溶层出现细孔。滞性材料聚丙烯酸树脂 IV 作为中间阻滞层,加以致孔剂 PVP 调节释药速率,使时滞层在 3 ~ 4 h 内充分水化,当达到结肠后片芯中崩解剂吸水膨胀撑破衣膜释药。

用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液模拟胃部生理环境、 $\text{pH} 6.8$ 的磷酸盐缓冲液模拟小肠生理环境、 $\text{pH} 7.6$ 磷酸盐缓冲液模拟结肠生理环境进行体外释放度测定。结果表明,黄藤素结肠定位片在模拟胃部生理环境中不释放,在模拟小肠生理环境中 3.5 h 基本不释放,在模拟结肠生理环境中累积释放 > 90%,基本满足结肠定位的体外释放要求。

[参考文献]

- [1] Nirav V Patel, Jayvadan K Patel, Shreeraj H Shah. Design, development and *in vitro* evaluation of Mesalamine tablets containing pectin and chitosan for colon-specific drug delivery [J]. *Int J Res Pharm Sci*, 2010, 1(2): 94.
- [2] 杨小良,谢丽莎,龚志强. 黄藤素的研究综述[J]. *中国医药指南*, 2009, 7(17): 42.
- [3] 中国药典. 二部[S]. 2010: 附录 XD.
- [4] 卢晓慧,周毅生,吕洁,等. 苦参素结肠定位片的制备及其体外释放评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 11(17): 33.
- [5] 张立超,胡晋红,连佳芳,等. 丙烯酸树脂在薄膜包衣中的应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2001, 21(5): 301.
- [6] 傅超美. 药用辅料学[M]. 北京: 中国医药出版社, 2008: 170.
- [7] 侯惠民,王浩. 药用辅料应用技术[M]. 北京: 中国科技医药出版社, 2002: 79.
- [8] Orienti I, Cerchiara T, Luppi B, et al. Influence of different chitosan salts on the release of sodium diclofenac in colon-specific delivery [J]. *Int J Pharm*, 2002, 238(1/2): 51.

[责任编辑 全燕]