

蛇床子素渗透泵控释片制备工艺的优化及其体外释药行为

杨宁辉¹, 付金芳², 曹伶俐^{3*}
(1. 河南医学高等专科学校, 河南 新郑 451191; 2. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450064; 3. 黄河科技学院, 河南 郑州 450005)

摘要: **目的** 优化蛇床子素渗透泵控释片制备工艺, 并考察其体外释药行为。**方法** 以 NaCl、聚氧乙烯 N80、增塑剂(邻苯二甲酸二丁酯)用量及包衣增重为影响因素, 累积释放度综合评分为评价指标, 正交试验优化单层渗透泵控释片制备工艺; 以聚氧乙烯 N80、聚氧乙烯 N60K、致孔剂(聚乙二醇 4000)用量及包衣增重为影响因素, 累积释放度综合评分为评价指标, 正交试验优化双层渗透泵控释片制备工艺。然后, 比较这 2 种渗透泵控释片的体外释药行为。**结果** 单层渗透泵控释片最佳处方为 NaCl 用量 105 mg/片, 聚氧乙烯 N80 用量 95 mg/片, 增塑剂用量 8%, 包衣增重 6.5%, 综合评分 16.3; 双层渗透泵控释片最佳处方为聚氧乙烯 N80 用量 150 mg/片, 聚氧乙烯 N60K 用量 70 mg/片, 致孔剂用量 8%, 包衣增重 4.0%, 综合评分 13.5。单层、双层渗透泵控释片体外释药行为均符合零级方程, 后者累积释放度高于前者。**结论** 蛇床子素双层渗透泵控释片体外释药更完全。
关键词: 蛇床子素; 渗透泵控释片; 制备; 体外释药行为; 正交试验
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)09-1954-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.012

Preparation optimization for osthole osmotic pump controlled release tablets and the *in vitro* drug release behaviors

YANG Ning-hui¹, FU Jin-fang², CAO Ling-li^{3*}
(1. Henan Medical College, Xinzheng 451191, China; 2. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450064, China; 3. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450005, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the preparation for osthole osmotic pump controlled release tablets and to investigate the *in vitro* drug release behaviors. **METHODS** With consumption of NaCl, polyethylene oxide N80, plasticizer (dibutyl phthalate), and coating weight gain as influencing factors, comprehensive score for accumulative release rate as an evaluation index, orthogonal test was applied to optimizing the preparation of single-layer osmotic pump controlled release tablets. With consumption of polyethylene oxide N80, polyethylene oxide N60K, pore-forming agent (polyethylene glycol 4000), and coating weight gain as influencing factors, comprehensive score for accumulative release rate as an evaluation index, orthogonal test was applied to optimizing the preparation of double-layer osmotic pump controlled release tablets. Subsequently, the *in vitro* drug release behaviors of these two osmotic pump controlled release tablets were compared. **RESULTS** The optimal formulation for the single-layer osmotic pump controlled release tablets was determined to be 105 mg/tablet for NaCl consumption, 95 mg/tablet for polyethylene oxide N80 consumption, 8% for plasticizer consumption, and 6.5% for coating weight gain, the comprehensive score was 16.3. The optimal formulation for the double-layer osmotic pump controlled release tablets was determined to be 150 mg/tablet for polyethylene oxide N80 consumption, 70 mg/tablet for polyethylene oxide N60K consumption, 8% for pore-forming agent consumption, and 4.0% for coating weight gain, the comprehensive score was 13.5. The *in vitro* drug release behaviors of single-layer and double-layer osmotic pump controlled

收稿日期: 2017-12-23
作者简介: 杨宁辉 (1971—), 男, 硕士, 副教授, 从事药学方面研究。Tel: (0371) 62576672, E-mail: yangninghui1971@126.com
* 通信作者: 曹伶俐 (1979—), 女, 硕士, 副教授, 从事药学方面研究。Tel: (0371) 23906849, E-mail: 962200956@qq.com

release tablets accorded with zero-order equations, and the latter demonstrated a higher accumulative release rate than the former. **CONCLUSION** Osthole double-layer osmotic pump controlled release tablets display more complete drug release.

KEY WORDS: osthole; osmotic pump controlled release tablets; preparation; *in vitro* drug release behaviors; orthogonal test

蛇床子素在蛇床子中含有量最高^[1], 具有明显的抗心律失常、扩张血管、抗骨质疏松、治疗脂肪肝、抗癌等药理作用^[1-4], 但其水溶性很差, 生物利用度不高, 并对肝、肺有一定毒性^[5]。由于蛇床子素在肠道均具有吸收^[6], 因此适合将其制备成缓控释制剂, 可增加药物在体内的滞留时间, 从而有助于增加生物利用度, 同时该类制剂也可控制药物在体内缓慢释放, 从而降低药物潜在的毒副作用。目前, 已有蛇床子素凝胶骨架片、缓释微囊等相关缓释制剂的报道^[7-8]。

渗透泵制剂由于释药恒速、释药过程不受生理等因素干扰的特点, 备受相关研发人员的青睐及关注。其中, 双层渗透控释片适合于难溶性药物; 当将后者制备单层渗透泵控释片时, 需采用增溶技术增加药物溶解度以提高片芯内部渗透压, 从而使药物缓慢释放出去, 但这 2 种渗透泵制剂技术对药物体外释放行为、累积释放度等方面的影响还鲜有比较。本实验分别对蛇床子素单层、双层渗透泵控释片的制备工艺进行优化, 并比较两者体外释药行为, 为相关制剂革新提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 U3000 型高效液相色谱仪 (戴安中国有限公司); BY-400 型包衣锅 (吉首市中诚制药机械厂); TDP 型单冲压片机 (上海第一制药机械厂); TDP-5T 型压片机模具 (8 mm, 东莞市研晶研磨材料有限公司); RC-3 型智能溶出试验仪 (天津市国铭医药设备有限公司); BP210D 型电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); DZF-6021 型真空干燥箱 (上海耀特仪器设备有限公司); SDK-I-02 型实验型激光打孔机 (天津工业自动化仪表研究所)。

1.2 材料 蛇床子素原料药 (批号 20161211001S, 含有量 >98%, 南京泽朗医药有限公司); 蛇床子素对照品 (批号 20151003, 含有量 >99.5%, 上海源叶生物科技有限公司)。β-环糊精、醋酸纤维素 (结合酸 54.5% ~ 56.0%)、聚乙二醇 4000 等 (国药集团化学试剂有限公司); 乳糖 (80 目, 德国美剂乐集团); 硬脂酸镁 (安徽山河药用辅料股

份有限公司); 聚氧乙烯 N80 (美国 Dow 公司); Fe₂O₃ (上海药用氧化铁颜料厂)。乙腈为色谱纯 (德国 Merck 公司); 其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (4.0 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (4.5 : 5.5); 检测波长 321 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL。

2.2 方法学考察 称取蛇床子素对照品 50.08 mg 于 10 mL 棕色量瓶中, 加入 10 mL 乙腈超声溶解, 冷却至室温后乙腈定容, 再进一步稀释成 50.08、25.04、5.008、1.002、0.313 μg/mL 系列质量浓度溶液, 在 “2.1” 项色谱条件下进样 10 μL 测定。以峰面积 (Y) 对溶液质量浓度 (X) 进行回归, 得到回归方程为 $Y=0.381\ 14X-0.049\ 4$ ($r=0.999\ 8$), 在 0.313 ~ 50.08 μg/mL 范围内线性关系良好。

取 0.313、25.04、50.08 μg/mL 对照品溶液, 在 “2.1” 项色谱条件下进样测定 6 次。结果, 3 种质量浓度溶液的日内精密度 RSD 分别为 0.37%、0.22%、0.35%, 日间 (3 d) 精密度 RSD 分别为 0.75%、0.81%、0.66%, 平均加样回收率为 100.47%, RSD 1.02%。

2.3 包合物制备^[9] 按 1 : 1 比例称取蛇床子素及 β-环糊精, 分别配制成蛇床子素乙醇溶液和 β-环糊精饱和水溶液, 50 °C 下将前者缓慢加到后者中 (用时约 45 min), 磁力搅拌 5 h 以确保蛇床子素包合完全。然后, 减压除去有机溶剂, 浓缩溶液后置于冰箱冷藏 12 h, 抽滤, 干燥, 包合物粗品用少量乙酸乙酯洗涤, 挥去溶剂后真空干燥, 即得。

2.4 体外释放度测定 采用转篮法, 以 900 mL pH 6.8 磷酸盐缓冲液为释放介质 (含 0.5% SDS), 温度控制在 (37 ± 0.5) °C, 转速设置为 100 r/min。分别于预先设定的时间 (0、1、2、4、6、8、10、12 h) 取样释药溶液 4 mL, 同时补加 4 mL 空白释放介质, 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, HPLC 法测定蛇床子素含有量, 计算累积释放度,

绘制释放曲线。

2.5 单层渗透泵控释片制备工艺优化

2.5.1 制备方法 所用药物及辅料过 80 目筛后，称取 200 mg 蛇床子素包合物（含蛇床子素 50 mg）、处方量氯化钠、聚氧乙烯 N80，以乳糖调整片质量至 500 mg，混匀，以 75% 乙醇为黏合剂制备片芯软材。过 16 目筛后，于 40 ℃ 真空干燥箱中过夜，16 目筛整粒，加入片质量 0.5% 硬脂酸镁，混匀后压片（40 ~ 60 N），即得。

取处方量醋酸纤维素（4%）、致孔剂（聚乙二醇 4000）、增塑剂（邻苯二甲酸二丁酯），加到丙酮-水（9 : 1）混合溶剂中，搅拌至澄清，即得包衣液，包衣参数为温度 40 ℃，转速 30 r/min，喷雾体积 2 mL/min。包衣后，置于 40 ℃ 烘箱中放置 12 h。

2.5.2 工艺优化 固定其他条件不变，分别考察片芯中 NaCl 用量（120、100、80 mg）、聚氧乙烯 N80 用量（65、85、105 mg）、增塑剂用量（10%、8%、6%）、包衣增重（3%、5%、7%）对释药行为的影响，结果见图 1。

在单因素试验基础上，以上述 4 种指标为影响因素（A ~ D）进行正交试验，因素水平见表 1。然后，考察单层渗透泵控释片在 2 h 内有无时滞现象（ L_1 ），以及 6、12 h 内累积释放度（ L_3 ），三者权重系数均为 1；以 0 ~ 12 h 累积释放度-时间进行线性回归，得到相关系数 r （ L_4 ），考察蛇床子素是否以零级释放，权重系数为 2，再计算综合评分（ $|L_1-15\%| \times 100 \times 1 + |L_2-55\%| \times 100 \times 1 + |L_3-90\%| \times 100 \times 1 + |L_4-1| \times 100 \times 2$ ），结果见表 2。

表 1 单层渗透泵控释片因素水平

Tab. 1 Factors and levels for single-layer osmotic pump controlled release tablets

水平	A NaCl/ mg	B 聚氧乙烯 N80/mg	C 增塑剂/ %	D 包衣增重/ %
1	85	75	7	4.5
2	95	85	8	5.5
3	105	95	9	6.5

由表 2 可知，各因素影响程度依次为 B > D > A > C。以 C 为误差项，方差分析显示因素 B（聚氧乙烯 N80 用量）具有显著性差异（ $P < 0.05$ ），得到最优处方为 $A_3B_3C_2D_3$ ，即 NaCl 用量 105 mg/片，聚氧乙烯 N80 用量 95 mg/片，增塑剂用量 8%，包衣增重 6.5%，综合评分 16.3。

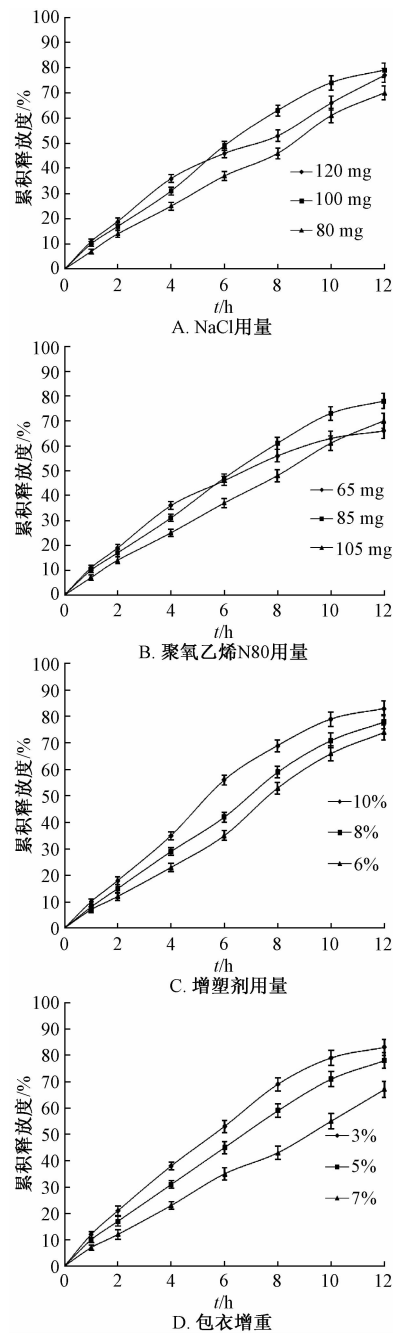


图 1 各因素对单层渗透泵控释片药物释放的影响

Fig. 1 Effects of various factors on the drug release of single-layer osmotic pump controlled release tablets

2.6 双层渗透泵控释片制备工艺优化

2.6.1 制备方法 所用原料药及辅料过 80 目筛后，称取处方量蛇床子素（50 mg/片）、NaCl（35 mg/片）、乳糖（15 mg/片）、聚氧乙烯 N80、0.5% 硬脂酸镁等，等量递加法混匀，作为含药层；称取处方量 NaCl（25 mg/片）、乳糖（15 mg/片）、 Fe_2O_3 、聚氧乙烯 N60K、0.5% 硬脂酸镁等，等量递加混匀，作为助推层。将含药层加到模具中轻轻

表 2 单层渗透泵控释片试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of tests for single-layer osmotic pump controlled release tablets

试验号	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	48.32
2	1	2	2	2	34.17
3	1	3	3	3	21.96
4	2	1	2	3	38.28
5	2	2	3	1	49.02
6	2	3	1	2	33.01
7	3	1	3	2	39.26
8	3	2	1	3	28.36
9	3	3	2	1	29.67
K_{1j}	34.817	41.953	36.563	42.337	—
K_{2j}	40.103	37.183	34.040	35.480	—
K_{3j}	32.430	28.213	36.747	29.533	—
K	7.673	13.740	2.707	12.804	—

预压，再加入助推层压制片芯，硬度控制在 40 ~ 60 N 范围内。

于 4.0% 醋酸纤维素包衣溶液中（丙酮：水 = 9：1）加入处方量致孔剂（聚乙二醇 4000），搅拌澄清并过夜，即得包衣液。将片芯置于包衣锅中进行包衣处理，设置温度 40 ℃，转速 30 r/min，体积流量 3.5 mL/min，40 ℃ 真空干燥箱中干燥 24 h 后，在含药层用激光打孔机打一直径为 0.6 mm 的释药小孔。

2.6.2 工艺优化 固定其他条件不变，考察聚氧乙烯 N80 用量（150、165、180 mg）、聚氧乙烯 N60K 用量（55、70、85 mg）、致孔剂用量（5%、10%、15%）、包衣增重（5%、4%、3%）对释药行为的影响，结果见图 2。

在单因素试验基础上，以上述 4 种指标为影响因素（A ~ D）进行正交试验，因素水平见表 3，评价方法同“2.4.2”项，结果见表 4。

表 3 双层渗透泵控释片因素水平

Tab. 3 Factors and levels for double-layer osmotic pump controlled release tablets

水平	A 聚氧乙烯 N80/mg	B 聚氧乙烯 N60 K/mg	C 致孔剂/ %	D 包衣增重/ %
1	135	60	6	3.5
2	150	70	8	4.0
3	165	80	10	4.5

由表 4 可知，各因素影响程度依次为 D > B > A > C。以 C 为误差项，方差分析显示因素 D（包衣增重）具有显著性差异（ $P < 0.05$ ），最优处方为 A₂B₂C₂D₂，即聚氧乙烯 N80 用量 150 mg/片，

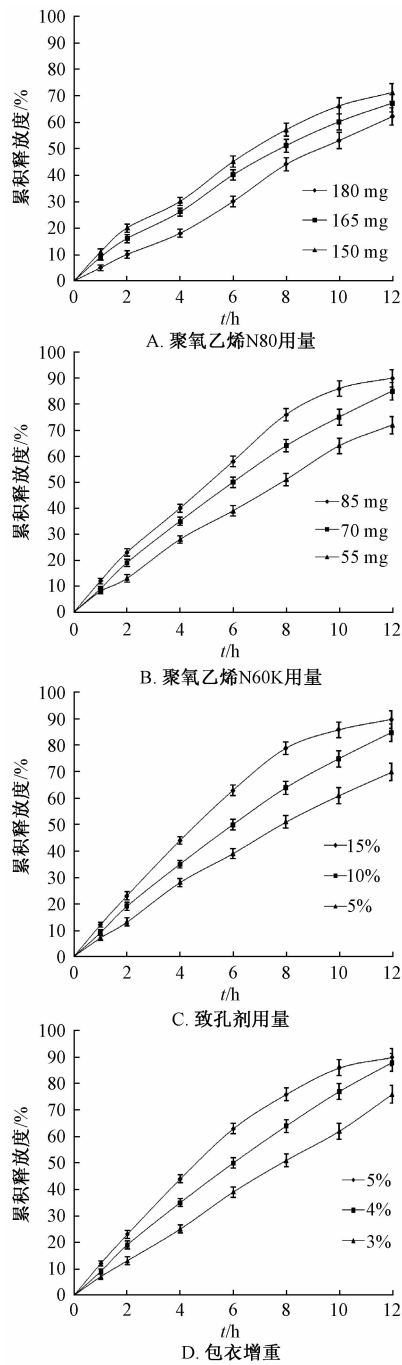


图 2 各因素对双层渗透泵控释片药物释放的影响

Fig. 2 Effects of various factors on the drug release of double-layer osmotic pump controlled release tablets

聚氧乙烯 N60K 用量 70 mg/片，致孔剂用量 8%，包衣增重 4.0%，综合评分 13.5。

2.7 体外释药行为考察 分别制备 6 批单层、双层渗透泵控释片，绘制释药曲线，结果见图 3，再对两者进行模型拟合（以累积释放度为纵坐标 Y，时间为横坐标 t），结果见表 5。由此可知，2 种渗透泵控释片均符合零级释药模型。

表 4 双层渗透泵控释片试验设计及结果

Tab. 4 Design and results of tests for double-layer osmotic pump controlled release tablets

试验号	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	53.87
2	1	2	2	2	23.71
3	1	3	3	3	47.34
4	2	1	2	3	43.82
5	2	2	3	1	34.95
6	2	3	1	2	20.33
7	3	1	3	2	32.84
8	3	2	1	3	45.02
9	3	3	2	1	40.26
K_{1j}	41.640	43.510	39.740	43.027	—
K_{2j}	33.033	34.560	35.930	25.627	—
K_{3j}	39.373	35.977	38.377	45.393	—
K	8.607	8.950	3.810	19.766	—

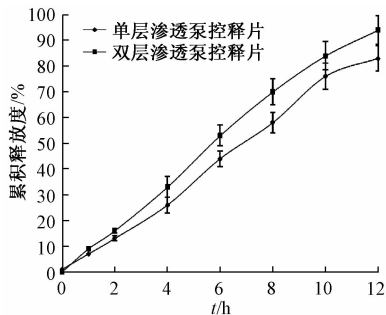


图 3 2 种渗透泵控释片体外释药曲线

Fig. 3 *In vitro* drug release curves for two osmotic pump controlled release tablets

表 5 模型拟合结果				
Tab. 5 Results of model fitting				
渗透泵	模型	方程	r	
单层	零级	$Y = 7.2521t - 0.6050$	0.9974	
	一级	$Y = -0.1477t + 4.7543$	0.9782	
	Higuchi	$Y = 0.2582t - 0.1430$	0.9567	
双层	零级	$Y = 8.1625t + 0.8768$	0.9969	
	一级	$Y = -0.2184t + 4.8712$	0.9621	
	Higuchi	$Y = 0.2934t - 0.1511$	0.9654	

3 讨论

难溶性药物制备成单层渗透泵时，一般采用固体分散体、自微乳、包合物等技术^[10-15]，其中自微乳制备工艺复杂；固体分散体具有吸潮、老化等缺点；包合物制备工艺难度低^[10]，而且可提高蛇床子素稳定性，掩盖麻、辣味，故本实验最终选择包合物技术制备单层渗透泵控释片。以 3 个时间点（2、6、12 h）的累积释放度及释药曲线是否符合零级释药特征为判断标准，分别对蛇床子素单层、双层渗透泵控释片处方进行研究，并均采用转篮法，可有效消除渗透泵控释片在溶出介质中不同位置对释药行为的影响，所得体外释药更有可比性^[16]。

结果显示，蛇床子素双层渗透泵控释片在释药速率、12 h 后累积释放度方面均优于单层渗透泵控释片，这可能与其中的助推层能提供较大释药动力有关。本实验仅验证了蛇床子素渗透泵制剂在工艺上的可行性，但其体内外相关性、是否具有毒副作用、渗透泵在体内的血药浓度能否满足有效血药浓度等问题较多，仍需作进一步研究^[16]。

参考文献：

[1] 连其深. 蛇床子的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(2): 141-144.

[2] 毛佳蕾, 钱晓萍, 刘宝瑞. 蛇床子素的提取及其体外抗肿瘤活性的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(3): 726-728.

[3] 王书华, 安芳, 张丹参, 等. 蛇床子素抗氧化作用的实验研究[J]. 中成药, 2005, 27(4): 488-489.

[4] Chen X H, Pi R B, Zou Y, *et al.* Attenuation of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6mice by osthole, a natural coumarin[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 629(1-3): 40-46.

[5] 杨兴国, 刘晓龙. 蛇床子素对小鼠急性毒性的研究[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2012, 28(8): 196-198.

[6] 王燕, 赵嫻, 李聪. 蛇床子中蛇床子素的大鼠单向肠灌流研究[J]. 陕西中医, 2012, 33(9): 1235-1237.

[7] 邓向涛, 郝海军, 王思寰, 等. 蛇床子素包合物凝胶骨架片的制备及体外释放[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(7): 1644-1646.

[8] 郑立卿, 刘建华, 韩伟轩, 等. 蛇床子素缓释微囊的制备及体外释药[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 8-11.

[9] 高永荣. 蛇床子素 β -环糊精包合物的制备及体内外释放性质的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2004.

[10] 吴先闯, 郝海军, 宋晓勇, 等. 槲皮素包合物微孔渗透泵片制备工艺[J]. 中成药, 2015, 37(6): 1205-1209.

[11] 曹伶俐, 刘刚, 胡彬, 等. 槲皮素固体脂质纳米粒凝胶骨架缓释片制备工艺研究[J]. 中药材, 2016, 39(6): 1369-1371.

[12] 刘伟星. 葛根素自微乳化渗透泵控释给药系统的研究[D]. 广州: 广东药学院, 2010.

[13] 郝海军, 贾幼智, 韩茹, 等. 坎地沙坦酯固体分散体单层渗透泵片的制备[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(5): 570-575.

[14] 吴先闯, 郝海军, 宋晓勇, 等. 白藜芦醇单层渗透泵片的制备工艺研究及评价[J]. 中药材, 2015, 38(8): 1732-1735.

[15] 吴先闯, 郝海军, 宋晓勇, 等. 白芍总苷微孔渗透泵片的研制及体外同步释放性研究[J]. 中药材, 2016, 39(2): 363-366.

[16] 邓向涛, 郝海军, 韩茹, 等. 黄芩素包合物单层渗透泵片制备工艺研究[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(5): 513-517.