

国际药学研究杂志, 2016, 43(3): 562-565.

[20] 王耿焕, 沈和平, 金成胜, 等. 鬼臼毒素纳米靶向制剂的制备与理化性质评价[J]. 医药导报, 2018, 37(10): 1237-1240.

[21] 彭金飞, 向大位, 李兰林, 等. 莪术油新剂型和新技术的研究进展[J]. 中南药学, 2010, 8(7): 530-533.

[22] 王志国, 黄贤明, 赵 雁, 等. 异甘草素对结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中成药, 2019, 41(8): 1800-1805.

钩藤碱双层渗透泵控释片的制备及处方优化

赵兴业¹, 王颖慧¹, 崔晓鸽¹, 郝海军^{2*}
(1. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450064; 2. 上海雷允上药业有限公司技术中心, 上海 201401)

摘要: 目的 制备钩藤碱双层渗透泵控释片, 并进行处方优化。方法 以释药线性和累积释放度为评价指标, 单因素试验考察 PEO N750 用量、PEO Coagulant 用量、PEG 4000 用量、包衣增重对体外释药的影响, 正交试验优化处方, 对体外释药过程进行模型拟合。**结果** 最优处方为 PEO N750 用量 165 mg, PEO Coagulant 用量 55 mg, PEG 4000 用量 8%, 包衣增重 7%, 12 h 内累积释放度为 93.36%, 体外释药符合零级模型 ($r=0.989\ 5$)。**结论** 双层渗透泵控释片可有效控制钩藤碱体外缓释。

关键词: 钩藤碱; 双层渗透泵控释片; 制备; 处方; 正交试验

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)05-1119-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.003

Preparation and formulation optimization for double-layer osmotic pump controlled release tablets of rhynchophylline

ZHAO Xing-ye¹, WANG Ying-hui¹, CUI Xiao-ge¹, HAO Hai-jun^{2*}
(1. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450064, China; 2. Technique Center, Shanghai Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare the double-layer osmotic pump controlled release tablets of rhynchophylline and to perform formulation optimization. **METHODS** With drug release linearity and accumulative release rate as evaluation indices, single factor test was applied to investigating the effects of PEO N750 consumption, PEO Coagulant consumption, PEG 4000 consumption and coating weight gain on *in vitro* drug release, orthogonal test was used for formulation optimization, and model fitting was adopted in the *in vitro* drug release process. **RESULTS** The optimal formulation was determined to be 165 mg for PEO N750 consumption, 55 mg for PEO Coagulant consumption, 8% for PEG 4000 consumption and 7% for coating weight gain, the accumulative release rate was 93.36% within 12 h. The *in vitro* drug release accorded with zero-order model ($r = 0.989\ 5$). **CONCLUSION** Double-layer osmotic pump controlled release tablets can effectively control the *in vitro* slow-release of rhynchophylline.

KEY WORDS: rhynchophylline; double-layer osmotic pump controlled release tablets; preparation; formulation; orthogonal test

收稿日期: 2019-11-02
基金项目: 河南省创新行动计划项目 (教高 2017895XM-02312); 河南省高等学校重点科研项目计划 (18A360023)
作者简介: 赵兴业 (1979—), 男, 硕士, 讲师, 从事中药与方剂研发工作。Tel: (0371) 67673621, E-mail: zhxytcm@126.com
* 通信作者: 郝海军 (1981—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药新型给药系统研究。Tel: (021) 67103277, E-mail: haojh2007@126.com

近年来,我国高血压患病率及患病人数持续上升,严重威胁人民健康^[1-4]。钩藤碱是茜草科植物钩藤*Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jackson 主要成分之一,具有降低血压、抑制外周血管收缩、降低血管平滑肌细胞钙离子浓度、抑制心肌肥厚等作用^[5-9],但相关普通制剂往往需要多次给药才可维持有效血药浓度,而且波动幅度较大,容易对机体肾脏、心脏等器官构成损伤^[10],故将该成分开发成长效、安全的缓释制剂具有较高的临床应用价值。

王桐生^[8]对钩藤碱降压缓释胶囊(微丸)体内药效学进行了研究,发现给药 30 min 后自发性高血压开始下降,给药 1 h 后降压作用明显,但微丸体内释放易受胃肠道 pH 环境、内容物等因素影响,无法恒速释药^[11]。双层渗透泵片^[12-13]主要适用于难溶性药物控释片的制备,依靠助推动层的推动力、包衣层的控释作用使药物缓慢匀速释放出去,其最大特点是释药过程不受胃肠道 pH 环境等因素的影响^[12]。钩藤碱在各肠段均有吸收^[14],适合制成缓释制剂,有助于药物充分吸收,故本实验对其双层渗透泵控释片处方工艺进行研究,以期为临床提供一种持续、高效的抗高血压中药制剂。

1 材料

1.1 仪器 BP210D 型电子天平 [十万分之一,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);ZRC-6FT 型智能溶出测定仪(天津创兴电子设备制造有限公司);TDP-6 型单冲压片机(吉首市中湘制药机械厂);BYC-400 型小型包衣机(德工机械有限公司);BPZ-6120-2B 型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 钩藤碱原料药(批号 PH170210,纯度 98.3%,宝鸡市辰光生物科技有限公司);钩藤碱对照品(批号 20161025,纯度≥98.8%,上海源叶生物科技有限公司);PEG 4000(批号 113091013,韩国乐天集团);氯化钠(80 目,批号 161110,天津博迪化工有限公司);聚氧乙烯(PEO,上海卡乐康包衣技术有限公司);醋酸纤维素(CA,国药集团化学试剂有限公司);邻苯二甲酸二丁酯(DBP,批号 20151115S,天津市大茂科技化工有限公司);氧化铁红(药用级,上海药用氧化铁颜料厂);硬脂酸镁(批号 201508T,诸暨市三合化工工贸有限责任公司)。乙腈、甲醇为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 钩藤碱含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Extend C₁₈ 色谱柱(SN 号 2105180,4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相乙腈-0.05%三乙胺(10%冰醋酸调 pH 至 7.5(55:45));体积流量 1.0 mL/min;柱温 35℃;检测波长 254 nm;进样量 20 μL。

2.1.2 供试品溶液制备 取渗透泵片供试品 15 片,精密称定质量,研细,精密称取适量粉末(约相当于 1 片含药量)于 250 mL 量瓶中,加入约 200 mL 乙腈超声提取,流动相定容至刻度,摇匀后 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取 2.5 mL 续滤液于 10 mL 量瓶中,流动相定容至刻度,即得。

2.1.3 线性关系考察 精密称取 10.00 mg 钩藤碱对照品于 50 mL 容量瓶中,流动相定容至刻度,得到 200.0 μg/mL 贮备液,精密量取 2.5 mL 于 10 mL 量瓶中,流动相定容至刻度,得到 50.0 μg/mL 对照品溶液,精密量取适量,流动相稀释成 0.5、5.0、10.0、25.0、40.0、50.0 μg/mL,在“2.1.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定。以溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得方程为 $Y = 1.100\ 4X + 0.0214\ 7$ ($r = 1.000\ 0$),在 0.5~50.0 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.4 方法学考察 取低(0.5 μg/mL)、中(25.0 μg/mL)、高(50.0 μg/mL)质量浓度“2.1.3”项下对照品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次,测得日内精密度 RSD 分别为 0.16%、0.09%、0.09%,表明仪器精密度良好。取供试品溶液,于 0、2、4、6、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次,测得钩藤碱含量 RSD 为 0.64%,表明溶液在 24 h 内稳定性良好。按照“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得钩藤碱含量 RSD 为 1.75%,表明该方法重复性良好。取空白渗透泵片 20 片,精密称定质量,研细,取适量粉末,加入 0.8、1.0、1.2 mL 25 μg/mL 对照品溶液,各平行 3 份,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得平均加样回收率为 99.15%,RSD 均小于 1.63%。

2.2 释放度测定 参考 2015 年版《中国药典》四部附录 0931 第一法(篮法),设置溶出仪温度为(37±0.5)℃,转速为 75 r/min,释放介质为 900 mL pH 6.8 磷酸盐缓冲液^[15],于 0、1、2、4、

6、8、10、12 h 各取样 3 mL，每次取样后立即补足同温同体积 pH 6.8 磷酸盐缓冲液，样品溶液过 0.45 μm 微孔滤膜得续滤液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算钩藤碱含量，绘制体外释药曲线。

2.3 钩藤碱双层渗透泵控释片制备

2.3.1 含药层制备 按处方量称取钩藤碱 25.0 mg/片、PEO N750、NaCl 30.0 mg/片、微晶纤维素（补充片重至 250.0 mg）等，等量递加混合均匀。取适量 90% 乙醇制备软材，过 18 目筛制粒，真空干燥箱过夜干燥后过 18 目筛整粒，加入 0.6% 硬脂酸镁（润滑剂），混匀，即得。按 200 片量进行压片。

2.3.2 助推层制备 按处方量称取氧化铁红 0.2 mg/片、PEO Coagulant、NaCl 25.0 mg/片、微晶纤维素（补片重至 150 mg）等，等量递加混合均匀，取适量 90% 乙醇制备软材，过 18 目筛制粒，真空干燥箱过夜干燥后过 18 目筛整粒，加入 0.6% 硬脂酸镁（润滑剂），混合均匀，即得。对含药层适当预压后，加入双层渗透泵片助推层，继续压制，得到双层渗透泵控释片的片芯，其硬度控制在 40~55 N 之间。按 200 片量进行压片。

2.3.3 包衣 按照丙酮与水 92：8 的比例配制包衣液。称取醋酸纤维素 6.0 g、邻苯二甲酸二丁酯 0.6 g、处方量（相对于醋酸纤维素用量的比例）PEG 4000，加到 200 mL 包衣溶剂中，搅拌溶解后得到包衣液，设置包衣设备参数为温度 45 ℃，体积流量 8 L/min，转速 45 r/min，置于 45 ℃ 烘箱中过夜干燥 24 h 后，于渗透泵控释片含药层侧中心位置打释药小孔。

2.4 单因素试验 前期预实验发现，含药层的 PEO N750 用量、助推层 PEO Coagulant 用量、包衣液 PEG 4 000 用量、包衣增重（相对于片芯质量的比例）对渗透泵控释片释药有较大影响。在单因素试验中，以释药线性、累积释放度为评价指标，初步确定各影响因素用量范围。另外，由于药物制剂在胃肠道的平均滞留时间一般为 10~12 h，故较为理想的释药情况是药物在 12 h 内基本释放完全。

2.4.1 PEO N750 用量 固定钩藤碱用量 25 mg/片、NaCl（含药层）用量 30 mg/片、PEO Coagulant 用量 60 mg/片、NaCl（助推层）用量 25.0 mg/片、PEG 4000 用量 8%、包衣增重 5.5%，考察 PEO N750 用量 180、160、140 mg 对释药线性和累积释放度的影响，结果见图 1。由此可知，

随着 PEO N750 用量升高，累积释放度逐渐增加，在 180、160 mg 时均大于 140 mg 时，但 160 mg 时释药线性更优。

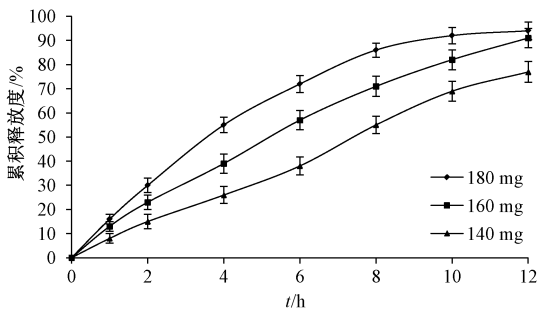


图 1 PEO N750 用量对释药线性和累积释放度的影响
Fig. 1 Effects of PEO N750 consumption on drug release linearity and accumulative release rate

2.4.2 PEO Coagulant 用量 高分子材料 PEO Coagulant 遇水后膨胀，推动含药层混悬液经释药孔道释放，为渗透泵控释片提供释药动力。固定钩藤碱用量 25 mg/片、NaCl（含药层）用量 30 mg/片、PEO N750 用量 160 mg/片、NaCl（助推层）用量 25.0 mg/片、PEG 4000 用量 8%、包衣增重 5.5%，考察 PEO Coagulant 用量 70、60、50 mg 时对释药线性和累积释放度的影响，结果见图 2。由此可知，随着 PEO Coagulant 用量升高，累积释放度逐渐增加，在 60 mg 时释药线性优于 70 mg 时。

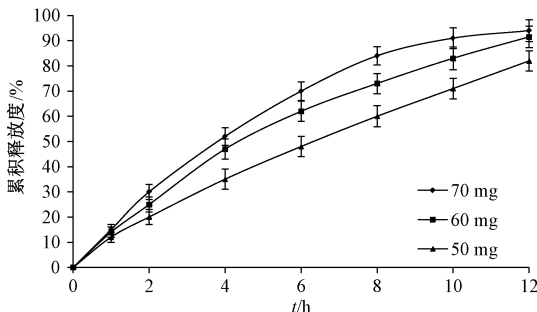


图 2 PEO Coagulant 用量对释药线性和累积释放度的影响
Fig. 2 Effects of PEO Coagulant consumption on drug release linearity and accumulative release rate

2.4.3 PEG 4000 用量 包衣膜中加入 PEG 4000 可增强包衣膜的抗压能力，保证其完整性；遇水溶解后也能留下释药通道，起到调节渗透泵控释片释药速率的作用。固定钩藤碱用量 25 mg/片、NaCl（含药层）用量 30 mg/片、PEO N750 用量 160 mg/片、PEO Coagulant 用量 60 mg/片、NaCl（助推层）用量 25.0 mg/片、包衣增重 5.5%，考察 PEG 4000 用量 10%、8%、6% 时对释药线性和累积释放度的影响，结果见图 3。由此可知，随着

PEG 4000 用量升高, 累积释放度逐渐增加, 在 8% 时释药线性优于 10%。

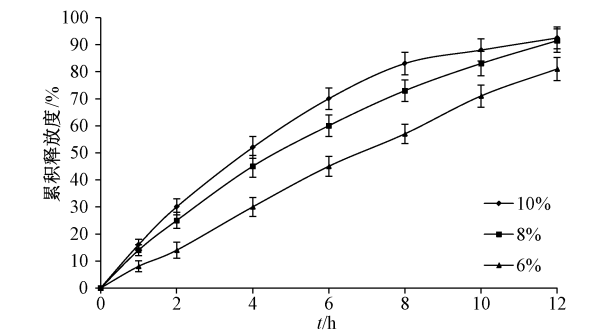


图3 PEG 4000 用量对释药线性和累积释放度的影响
Fig. 3 Effects of PEG 4000 consumption on drug release linearity and accumulative release rate

2.4.4 包衣增重 固定钩藤碱用量 25 mg/片、NaCl (含药层) 用量 30 mg/片、PEO N750 用量 160 mg/片、PEO Coagulant 用量 60 mg/片、NaCl (助推层) 用量 25.0 mg/片、PEG 4000 用量 8%, 考察包衣增重 5%、6%、7% 时对释药线性和累积释放度的影响, 结果见图 4。由此可知, 随着包衣增重升高, 释药线性均良好, 而且 12 h 后包衣膜均未出现破裂现象, 但累积释放度呈下降趋势。

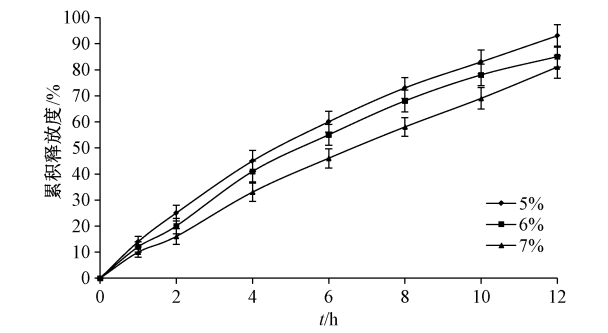


图4 包衣增重对释药线性和累积释放度的影响
Fig. 4 Effects of coating weight gain on drug release linearity and accumulative release rate

2.5 正交试验 在单因素试验基础上, 选择 PEO N750 用量 (A)、PEO Coagulant 用量 (B)、PEG 4000 用量 (C)、包衣增重 (D) 作为影响因素, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 因素水平见表 1。

钩藤碱双层渗透泵控释片在 1、6、12 h 的累积释放度分别以 15%、60%、90% 为参考标准, 考察制剂在 1 h 是否存在时滞现象 (L_1 , 权重系数为 1)、在 6 h 是否存在释药不足现象 (L_2 , 权重系数为 1)、在 12 h 是否释放完全 (L_3 , 权重系数为 1)、是否以零级释放 (L_4 , 权重系数为 3), 计算综合得分 L , 公式为 $L = |L_1 - 15\%| \times 100 \times 1 + |L_2 -$

$60\%| \times 100 \times 1 + |L_3 - 90\%| \times 100 \times 1 + |L_4 - 1| \times 100 \times 3$, L 值越小, 释药效果越佳。结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 因素水平

Tab. 1 Factors and levels				
水平	A PEO N750/mg	B PEO Coagulant/mg	C PEG 4000/%	D 包衣增重/%
1	165	65	7	5
2	160	60	8	6
3	155	55	9	7

表 2 试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of tests					
试验号	A	B	C	D	L
1	1	1	1	1	14.6
2	1	2	2	2	16.8
3	1	3	3	3	17.2
4	2	1	2	3	21.3
5	2	2	3	1	19.8
6	2	3	1	2	20.0
7	3	1	3	2	22.8
8	3	2	1	3	23.9
9	3	3	2	1	18.4
K_{1j}	16.200	19.567	19.500	17.600	—
K_{2j}	20.367	20.167	18.833	19.867	—
K_{3j}	21.700	18.533	19.933	20.800	—
R_j	5.500	1.634	1.100	3.200	—

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance				
因素	离均差平方和	自由度	F 值	P 值
A	49.389	2	26.813	<0.05
B	4.096	2	2.224	>0.05
D	16.249	2	8.821	>0.05
C (误差)	1.842	2	1.000	—

注: $F_{0.05}(1,2) = 19.0$ 。

由表 2 可知, 各因素影响程度依次为 $A > D > B > C$, 最优处方为 $A_1B_3C_2D_1$, 即 PEO N750 用量 165 mg/片, PEO Coagulant 用量 55 mg/片, PEG 4000 用量 8%, 包衣增重 7%。由表 3 可知, 因素 A (PEO N750 用量) 对钩藤碱双层渗透泵控释片体外释药有明显影响 ($P < 0.05$)。

2.6 体外释药研究 按“2.5”项下优化处方平行制备 3 批钩藤碱双层渗透泵控释片, 每批 200 片, 测定累积释放度, 结果见图 5, 可知制剂在 12 h 内的平均累积释放度为 93.36%。分别以 Higuchi 模型、零级模型、一级模型对钩藤碱双层渗透泵控释片体外释药进行模型拟合, 发现零级模型拟合度最高 ($r = 0.9895$), 方程为 $M_t/M_\infty = 0.0763t + 0.0811$, 其中 M_t 为 t 时间点累积释放度, M_∞ 为 ∞ 时间点累积释放度, t 为时间。

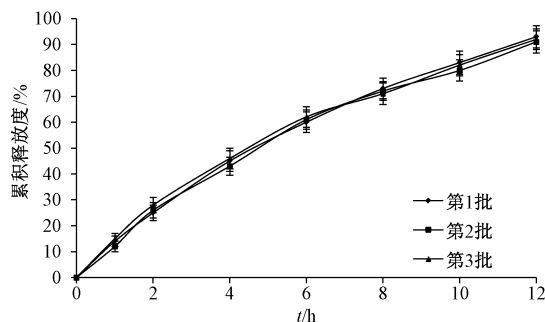


图 5 3 批制剂体外释药曲线

Fig. 5 *In vitro* drug release curves for three batches of preparations

3 讨论

单层渗透泵控释片具有制备工艺简单、容易实现工业化生产等优势，但难溶性药物制成该剂型时需要采用固体分散体等增溶技术^[16]，此时需要引入大量亲水性高分子辅料^[17-19]，导致降低控释片剂量。另据报道^[12]，难溶性药物的双层渗透泵控释片在药物累积释放度、释药速率方面优于单层渗透泵控释片，可能与前者释药动力有关。

钩藤碱溶解度较差，无法产生足够渗透压而提供释药动力。双层渗透泵技术主要适用于难溶性药物，依靠推动层提供释药动力，在半透膜控释作用下最终使药物按照一定速率释放出去，同时也会对药物体内快速吸收产生影响，有助于改善普通制剂血药浓度波动幅度较大的缺点^[20]。据统计^[20-21]，钩藤碱相关制剂每天总用量一般在 22.5~47.5 mg 之间，故本实验设计的渗透泵控释片剂量为每片 30 mg。

传统观点一般认为，半衰期很长或很短、首过效应明显的药物不宜制成缓控释制剂。但随着现代药物制剂的发展和临床需求，缓控释制剂候选药物的选择取得了突破性进展，例如，布洛芬、茶碱、水杨酸钠等半衰期很短的药物被制成缓释制剂上市；普萘洛尔、美托洛尔等首过效应明显的药物也被制成相关制剂，其中一些已经被药典收载。因此，对本实验所制备钩藤碱双层渗透泵控释片的药动学、药效学、毒理学评价是今后重点，可为相关研究提供更全面的资料。

参考文献:

[1] 秦 博,陈 诚,黄 银,等. 抗高血压药物的男性生殖风险[J]. 医药导报, 2019, 38(7): 843-848.
[2] 胡小勤,邓家刚,杜正彩,等. 芒果苷对自发性高血压大

鼠脑组织炎症损伤的保护作用[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1126-1133.
[3] 陈 晨,郭小梅. 高血压致主动脉夹层机制研究及治疗进展[J]. 医药导报, 2018, 37(2): 171-177.
[4] 邱 刚,苏颖杰,王萌萌,等. 瑞戈非尼致转移性直肠癌患者血压升高 1 例[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1697-1698.
[5] 张丽心,孙 涛,曹永孝. 钩藤碱的降压及舒张血管作用[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5): 39-41.
[6] 田丽娜,高华武,龙子江,等. 钩藤碱对自发性高血压大鼠的降压作用及其对血管的调节机制探讨[J]. 中草药, 2014, 45(15): 2210-2213.
[7] 刘叶玲,王中师,张 许. 钩藤总碱对高血压动脉压力感受反射和对高血压靶器官的作用[J]. 医药导报, 2015, 34(9): 1155-1157.
[8] 王桐生. 钩藤碱降压缓释胶囊(微丸)降压作用研究[C] //2013 首届天然药物钩藤防治高血压国际会议·ICGP 论文集. 贵州: 中国中药杂志编辑部, 2013: 56-62.
[9] 何 娜,孙安盛,吴 芹,等. 钩藤碱对血管紧张素Ⅱ诱导的心肌细胞肥大的抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(4): 255-260.
[10] 冯 中,李晓燕,吴燕红,等. 心血管药物缓控释剂的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2664-2666.
[11] 黎炜烘. 富马酸酮替芬缓释胶囊的制备与体外释放度评价[J]. 医药导报, 2019, 38(3): 365-370.
[12] 杨宁辉,付金芳,曹伶俐. 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[J]. 中成药, 2018, 40(9): 1954-1958.
[13] 杜利月,郭留城,郝海军,等. 冬凌草甲素渗透泵片制备工艺研究及体外评价[J]. 中药材, 2018, 41(1): 168-171.
[14] 李 季,李凌军,姜华伟. 天钩降压胶囊中钩藤碱、异钩藤碱大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 167-170.
[15] 游绍雪,李 江,李 娜,等. 钩藤碱缓释微球的体外释放考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 1-3.
[16] 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.
[17] 李晓芳,江 萍,郭波红. 应用固体分散技术提高黄豆苷元溶出速率[J]. 医药导报, 2016, 35(7): 769-772.
[18] 王杏利,王 爽,张 雷,等. 新型载体罗汉果苷 V 对紫杉醇的增溶作用[J]. 医药导报, 2019, 38(6): 770-774.
[19] 刘蒸生,郝海军,马进安. 高乌甲素磷脂复合物及其固体分散体在大鼠体内的药动学[J]. 医药导报, 2018, 37(4): 449-452.
[20] 闫 瑞,李凌军,李 顺. 天钩降压胶囊中钩藤碱大鼠体内药动学研究[J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38(3): 257-259.
[21] 李 鹏,张 洪. 星点设计-效应面法优化钩藤碱缓释片处方[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(6): 1145-1150.