

氢溴酸高乌甲素纳米粒缓释片的制备

付金芳¹，曹伶俐¹，李乘欣²，王思寰²，王广东²，郝海军^{2*}

(1. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450064; 2. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院, 上海 201203)

摘要: 目的 制备氢溴酸高乌甲素纳米粒缓释片。方法 高压乳匀法制备纳米粒, 真空冷冻干燥后, 将其与骨架缓释片辅料混匀, 制备缓释凝胶骨架片。通过单因素试验考察吸附剂种类、羟丙基甲基纤维素(HPMC)类型及其用量、聚乙二醇(PEG)类型对释药行为的影响。结果 最佳条件为以乳糖为吸附剂, HPMC 4K 和 HPMC 15M(比例 1:1)用量 40 mg/片, PEG 400 与 PEG4000 比例 2:1, 所得缓释片的体外释放符合零级释药模型, 12 h 累积释放度达 89.82%。结论 该方法简单可靠, 有利于工业化大批量生产氢溴酸高乌甲素纳米粒缓释片。

关键词: 氢溴酸高乌甲素; 纳米粒; 缓释片; 制备; 单因素试验

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2017)05-0952-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.05.013

Preparation of sustained-release tablets of lappaconite hydrobromide nanoparticles

FU Jin-fang¹, CAO Ling-li¹, LI Cheng-xin², WANG Si-huan², WANG Guang-dong², HAO Hai-jun^{2*}

(1. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450064, China; 2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China)

KEY WORDS: lappaconite hydrobromide; nanoparticles; sustained-release tablets; preparation; single factor test

高乌甲素系从毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 根中提取的生物碱, 是我国首创的非成瘾性镇痛药, 同时还具有抗炎、抗心律失常、解热等药理作用^[1], 但该成分或其氢溴酸盐的水溶性较差, 体内半衰期短, 具有一定毒副作用^[2], 导致临床应用受到限制。因此, 要解决其临床应用的技术瓶颈, 首先需改善水溶性, 延长消除半衰期, 并降低毒副作用。目前, 增加氢溴酸高乌甲素水溶性的技术较多, 如固体分散体技术、磷脂复合物、纳米技术、包合技术^[3-5]等, 而延长其消除半衰期、降低毒副作用一般是通过缓控释制剂技术。高源等^[6]对其亲水性骨架片进行了研究, 发现其中药物的释放易受胃肠道环境影响, 个体差异较大; 刘瑜新等^[7]制备了氢溴酸高乌甲素双层渗透泵片, 但制备工艺复杂, 不利于工业化生产。

亲水性凝胶骨架缓释片是缓释制剂研究的热点之一, 其制备工艺简单, 适合工业化生产^[8]。故本实验采用高压乳匀法制备氢溴酸高乌甲素纳米粒, 冷冻干燥后进一步分散于骨架材料中制备凝胶骨架缓释片, 以延长氢溴酸高乌甲素消除半衰期, 并降低其毒副作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(戴安中国有限公司); BP 210D 型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); V5 型小型实验室粉体混匀机(广州康诺医药机械公司); TDP 型单冲压片机(上海第一制药机械厂); ZRS-8 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); DZF 型真空干燥箱(北京中科环试仪器有限公司); HWS-12 型智能水浴锅(上海一恒科技有限公司); FDU-1100

收稿日期: 2016-07-28

作者简介: 付金芳(1977—), 女, 讲师, 研究方向为临床药理学。E-mail: fujfa2007@126.com

* 通信作者: 郝海军(1981—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向为新型给药系统及药物分析。E-mail: haohj2007@126.com

型冷冻干燥机(日本Eyela公司);Zetasizer动态激光散射仪(英国马尔文仪器有限公司);Nanosep[®]超滤离心管(美国Pall公司)。

1.2 材料 氢溴酸高乌甲素原料药(陕西大河药业有限责任公司,批号20140626,含有量大于97%);氢溴酸高乌甲素对照品(中国食品药品检定研究院,批号100289-200902);磷脂(上海艾韦特医药科技有限公司);单硬脂酸甘油酯(国药集团化学试剂有限公司);乳糖、蔗糖(北京凤礼精求商贸有限责任公司);硬脂酸镁(辽宁奥达制药有限公司);甘露醇(青岛明月海藻集团有限公司);聚乙二醇(上海卡乐康包衣技术有限公司);微晶纤维素(安徽山河药用辅料股份有限公司);羟丙基甲基纤维素(上海卡乐康包衣技术有限公司)。乙腈、甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 Waters C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相0.3%磷酸二氢钠-甲醇(6:4, 磷酸调pH至4.0);检测波长251.8 nm;体积流量1.0 mL/min;柱温25℃,进样量20 μL。

2.2 方法学考察 精密称取氢溴酸高乌甲素10.12 mg,置于100 mL量瓶中,甲醇超声溶解,静置至室温后定容,精密量取0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10 mL于10 mL量瓶中,定容至刻度。进样测定。以氢溴酸高乌甲素质量浓度为横坐标(C)、峰面积为纵坐标(A)进行回归,得回归方程 $A = 16.0133C - 0.3019$ ($r = 0.9996$),在1.012~101.20 μg/mL范围内线性关系良好。高(101.20 μg/mL)、中(10.12 μg/mL)、低(1.012 μg/mL)质量浓度下日内精密度RSD分别为0.87%、0.51%、1.48%,日间精密度RSD分别为0.95%、1.53%、1.88%,平均加样回收率分别为101.01%、99.89%、99.13%,RSD分别为0.68%、0.39%、0.74%。

2.2 纳米粒及其冻干粉制备^[9] 取大豆卵磷脂0.1 g、单硬脂酸甘油酯5 g、氢溴酸高乌甲素1 g,置于圆底烧瓶中,无水乙醇超声溶解,(60±1)℃恒温下磁力搅拌,作为油相;取泊洛沙姆188适量,加入蒸馏水配制成浓度为1.5%,超声溶解后于(60±1)℃恒温下磁力搅拌,作为水相。在1 000 r/min转速下,将油相缓慢滴加到水相中,继续搅拌制备初乳,1.5 h后将其在均质压力50 000 kPa下均质2次,迅速放入4℃冰箱冷却,

即得纳米粒混悬液,加入吸附剂后,置于-80℃超低温冰箱中过夜,再放于冷冻干燥机48 h,即得纳米粒冻干粉。

2.3 包封率、载药量及粒径测定 取纳米粒混悬液2 mL,置于超滤离心管中,12 000 r/min离心20 min,精密量取滤液1 mL,测定游离药物量。另取1 mL,甲醇破乳并定容至10 mL,离心后测定药物总含有量,计算包封率及载药量,公式为包封率=[(投药量-游离药物量)/投药量]×100%,载药量=(投药量-游离药物量)/(脂质用量+投药量-游离药物量)。再取适量稀释,加入比色皿中,激光粒度仪测定粒径。结果,纳米粒包封率(62.79±1.68)%,载药量(11.34±1.48)%,平均粒径(147.22±6.13) nm。

2.4 骨架缓释片制备 精密量取纳米粒混悬液9.2 mL(含药量20 mg),加入吸附剂(蔗糖、乳糖或甘露醇),冷冻干燥后再加入聚乙二醇400、4000或其混合物25 mg,羟丙基甲基纤维素K4M、K15M或其混合物,MCC及其他辅料混匀,加入25%乙醇制备软材,过18目筛制粒,60℃下干燥5 h,加入片质量1%硬脂酸镁混合后进行压片,压力(50±10) N。

2.5 缓释片释放度测定 取骨架缓释片适量,以250 mL pH 6.8的磷酸盐缓冲液为溶出介质,温度(37±0.5)℃,转速100 r/min,于0、1、2、4、6、8、10、12 h取5 mL,同时补充5 mL 0.5% SDS溶液,0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,无水乙醇定容,HPLC法测定含有量,并绘制体外释放曲线。

2.6 单因素试验

2.6.1 吸附剂种类 保持其他条件不变,考察蔗糖、乳糖或甘露醇对释药的影响,结果见图1。由图可知,甘露醇作为吸附剂时释药速度较快,但片剂外观不如乳糖;蔗糖释药平稳,但速度较慢。因此,选择乳糖作为纳米粒吸附剂,同时也作为缓释片填充剂。

2.6.2 羟丙基甲基纤维素(HPMC)类型 保持其他条件不变,考察HPMC类型对释药的影响,由于HPMC 100K分子量较大,阻滞作用很强,故不加以考察,结果见图2。由图可知,当HPMC 4K和HPMC 15M联合使用时,对纳米粒的释放控制效果适中,选择两者(比例1:1)作为纳米粒控释材料。

2.6.3 HPMC用量 保持其他条件不变,考察

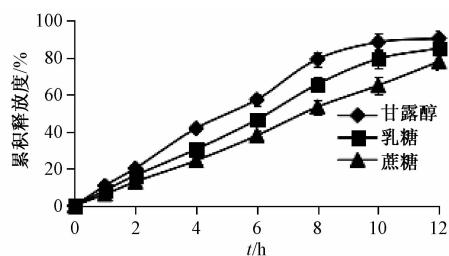


图1 吸附剂种类对释药的影响 (n=3)

Fig. 1 Effect of adsorbent kind on drug release (n=3)

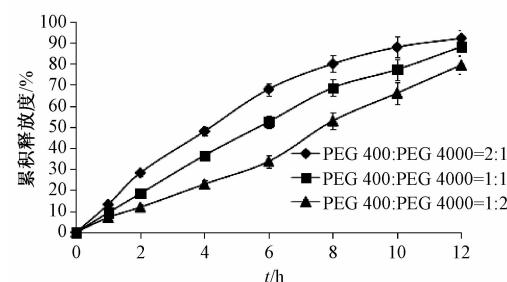


图4 PEG类型对释药的影响 (n=3)

Fig. 4 Effect of PEG type on drug release (n=3)

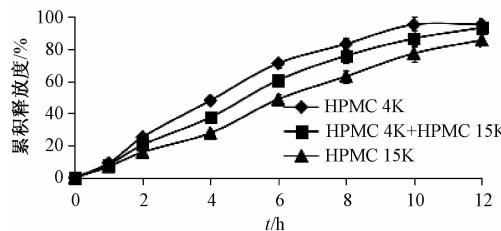


图2 HPMC类型对释药的影响 (n=3)

Fig. 2 Effect of HPMC type on drug release (n=3)

HPMC 4K 和 HPMC 15M (比例 1:1) 用量对释药的影响, 结果见图 3。由图可知, 当用量为 40 mg/片时, 纳米粒释药速率适中。

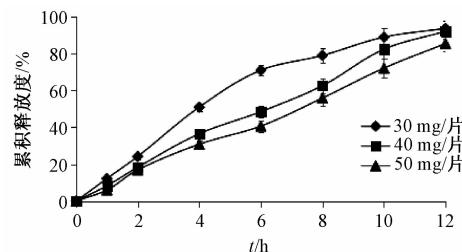


图3 HPMC用量对释药的影响 (n=3)

Fig. 3 Effect of HPMC amount on drug release (n=3)

2.6.4 聚乙二醇 (PEG) 类型 保持其他条件不变, 考察 PEG 类型比例对释药的影响, 结果见图 4。由图可知, 随着 PEG4000 比例增加, 释药速率逐渐变慢; 当比例为 2:1 时, 12 h 内累积释放度最高。因此, 选取 PEG400 和 PEG4000 (比例 2:1) 作为释药速率调节剂。

2.7 最优工艺及验证试验 经单因素试验, 确定最优工艺为量取氢溴酸高乌甲素纳米粒 9.2 mL, 加入吸附剂乳糖后冷冻干燥, 冻干粉末加入 HPMC 4K 和 HPMC 15M (比例 1:1, 用量 40 mg/片)、PEG 400 和 PEG4000 (比例 2:1) 及其他辅料混匀, 微晶纤维素调节片重至 400 mg, 加入 25% 乙醇制备软材, 过 20 目筛制粒, 18 目筛整粒, 60 ℃



图5 3批样品释药曲线

Fig. 5 Drug release curves of three batches of samples

3 讨论

纳米技术是解决难溶性药物吸收差问题的有效手段之一, 但很多研究表明, 其体外释放时容易产生突释, 而且体内达峰时间短, 血药浓度波动大, 进而引起副作用^[4,10]。凝胶骨架缓释片控制纳米粒释放的机理可能是缓释片遇水后, 其缓释材料羟丙基甲基纤维素形成黏度较大的凝胶层, 同时缓释外层的纳米粒得以释放, 作为吸附剂的乳糖以及作为释药速率调节剂的聚乙二醇逐渐溶解, 形成了纳米粒释放通道, 缓释片内部的纳米粒持续不断地被释放出。因此, 将纳米技术与缓控释技术联合使用可有效改善前者不足, 提高药物的体内外相关性, 对研发安全、稳定、有效的现代纳米制剂有着重要意义。

参考文献:

- [1] 徐斌, 张琴, 郭夫江, 等. 高乌头研究进展[J]. 中

- 成药, 2016, 38(4): 882-890.
- [2] 李芸, 胡昌江, 徐婷, 等. 高乌头炮制前后高乌甲素含量测定及小鼠急性毒性实验[J]. 中成药, 2016, 38(1): 179-181.
- [3] 崔峰, 侯佳威, 孙文霞, 等. 高乌甲素固体分散体的表征及其体外溶出度测定[J]. 中药材, 2016, 39(6): 2073-2075.
- [4] 马君义, 陈香玲, 盛爱霞, 等. 载高乌甲素壳聚糖纳米粒的制备及其体外释药特性[J]. 中成药, 2016, 38(3): 533-538.
- [5] 王雪娇, 董同力嘎, 张师, 等. β -环糊精高聚物-高乌甲素包合物的制备、表征及增溶性[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(1): 102-106.
- [6] 高源, 李凤英, 刘玲, 等. 氢溴酸高乌甲素亲水凝胶骨架片的制备及体外释放[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(7): 740-744.
- [7] 刘瑜新, 吴先闯, 郝海军, 等. 氢溴酸高乌甲素双层渗透泵控释片的制备与处方优化[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(3): 316-321.
- [8] 吴先闯, 郝海军, 宋晓勇, 等. 白藜芦醇固体脂质纳米粒缓释凝胶骨架片的研制[J]. 中草药, 2016, 47(8): 1303-1308.
- [9] 林华庆, 张蜀, 邓红, 等. 一种氢溴酸高乌甲素固体脂质纳米粒及其制备方法: 中国, CN101658495[P]. 2010-03-03.
- [10] 张婧, 罗云, 梁新丽, 等. 中药载药纳米粒的研究进展[J]. 世界中医药, 2015, 10(3): 318-321.