

设计合理, 准确度较高。由于本实验中采用多元线性拟合结果失拟, 复相关系数过低, 所以采用了二次多项式拟合, 这是一种非线性拟合的方式, 同线性拟合相比(正交设计采用线性拟合), 能够更好地回避相关系数发生偏差, 具有较高的精度。

REFERENCES

- [1] FAN L Y, DU J L, LI X H, et al. Detriment and protection of diabetes mellitus [J]. J Pract Tradit Chin Int Med(实用中医内科杂志), 2012, 26(6): 56-57.
- [2] JANSSON S P, ANDERSSON D K, SVARDSUDD K, et al. Mortality trends in subnity [J]. Am J Prev Med, 2010, 38(6): 628-636.
- [3] MA T T, ZHANG Q L, LI J, et al. AlCl₃ colorimetry for determination of total flavonoids [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(1): 54-56.
- [4] ZHANG Q, LIU H L, ZHU R, et al. The determination of total flavonoids and rutin in Tartary buckwheat [J]. Food Sci(食品

- 科学), 2003, 24(7): 113-116.
- [5] PEI Y P, LI W L, ZHANG H Q, et al. Improvement of AlCl₃ colorimetry for determination of total flavonoids [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2009, 23(4): 58-60.
- [6] YU Q, JIANG Y, ZHOU D Y, et al. Content determination of active ingredients and flavonoids in extract from Chrysanthemi Flos [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(6): 530-532, 547.
- [7] TIAN B C, JIA C P, YANG J T, et al. Optimization of extraction of total flavonoids from *Hypericum ascyron* by Box-Behnken design [J]. Tradit Chin Med Pat Prescrip(中成药), 2010, 32(3): 389-392.
- [8] TENG K, RUN H S, WU Z J, et al. Optimal extraction of total flavone from Tengligen by central composite design and response surface methodology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(7): 610-614.
- [9] GUO Y J, FAN L, WANG X Q, et al. Discussion about NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH colorimetry for determination of total flavonoids[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2002, 22(2): 97-99.

收稿日期: 2012-12-02

吲哚美辛结肠靶向胶囊的制备及体外释药评价

傅红兴¹, 李慧¹, 万常伟¹, 赵应征¹, 张福志²(1.温州医学院药学院, 浙江 温州 325035; 2.平阳人民医院药剂科, 浙江 平阳 325401)

摘要: 目的 开发一种结肠靶向胶囊, 使吲哚美辛达到结肠部位实现靶向释放。方法 以蘸胶工艺制备不溶性半透膜囊体, 灌装药物后以果胶片封住囊体, 外套上普通胶囊壳后外包肠溶衣, 进行体外释放试验。结果 该给药系统在人工胃液中不变形, 药物不释放, 采用 PEG-2 000:CA 为 60% 的不溶性囊体, 包衣增重 90%, 药物:NaCl 为 1:1 制备的胶囊, 药物在人工肠液中 3 h 释放<10%, 在人工结肠液中 10 h 药物释放超过 70%, 基本释放完全, 达到结肠定位释放要求。结论 吲哚美辛结肠靶向胶囊能实现在结肠定位释放药物。

关键词: 结肠靶向胶囊; 吲哚美辛; 体外释药

中图分类号: R944.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)09-0984-05

Preparation and *in Vitro* Evaluation of Indometacin Capsule for Colon-specific Delivery

FU Hongxing¹, LI Hui¹, WAN Changwei¹, ZHAO Yingzheng¹, ZHANG Fuzhi²(1.School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; 2.Department of Pharmacy, County People's Hospital of Pingyang, Wenzhou 325401, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a colon-targeted capsule to achieve targeted release in colon of indometacin. **METHODS** The insoluble semi-permeable capsule body was prepared by dipping-drying process. After filling with drugs, the capsule body were stuffed by pectin tablet. The insoluble body was capped into a stomach-soluble capsule, following with the enteric coating outside the capsule. Then *in vitro* release was investigated. **RESULTS** The system was undeformed and no drug released in artificial gastric fluid. The indometacin capsule made of PEG-2 000:CA 60% insoluble capsule body, coating weight gain 90% and drugs: NaCl 1:1, reached to colon specific release completely, with drugs released <10% in artificial intestinal juice in 3 h, and >70% in artificial colonal juice in 10 h. **CONCLUSION** The indomethacin colon-targeted capsule can realize

基金项目: 温州市科技局项目(S20100042)

作者简介: 傅红兴, 男, 硕士, 讲师 Tel: (0577)86699575 E-mail: hx_fu79@163.com

releasing drugs in the colon target position.

KEY WORDS: colon-targeted capsule; indometacin; drug release *in vitro*

口服结肠靶向释药系统(oral colon-specific drug delivery system, OCDDS)使药物口服后避免在胃、空肠和回肠前端释放,可延迟药物吸收,增加多肽类药物的吸收,对于结肠局部病变治疗,如结肠炎、结肠肿瘤^[1-3]等意义较大。但采用单一释药原理往往无法保证药物在结肠靶向释放,而采用联合释药原理能较好解决此问题^[4]。

吲哚美辛(indomethacin, IN)有抗炎,解热作用,主要用于急、慢性风湿性关节炎及癌等疼痛,但对胃肠道有强刺激,会导致溃疡甚至出血、穿孔。近年来研究发现吲哚美辛有治疗肠易激综合征和抑制结肠、直肠癌血管生成作用^[5],因而该药对结肠和直肠癌有一定预防和治疗作用^[6]。

本研究以吲哚美辛为原料,采用pH、时滞和酶解原理相结合制备了一种结肠靶向胶囊,并对其体外药物释放进行了研究。

1 仪器与材料

D-800LS 智能药物溶出仪(天津大学无线电厂); UV-7502 PC 紫外分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); YD-20 智能片剂硬度仪(天津大学无线电厂); 单冲式压片机(上海天峰制药设备有限公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 3#胶囊模具(自制)。

吲哚美辛(江苏太仓制药厂,批号:080706,含量99.0%); 吲哚美辛对照品(中国药品生物制品检定所,含量99.8%); 乙酸钠纤维素(CA, 国药集团化学试剂有限公司); 聚乙二醇-400(PEG-400, 温州市鹿城九泰化学试剂公司); 果胶(比利时 Acros); 果胶酶(浙江中星化工试剂有限公司); Endrag S100(德国德固赛公司); 其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 吲哚美辛结肠靶向胶囊的制备

本结肠靶向胶囊的设计原理见图1:其中1为外层肠溶性包衣;2为普通胶囊囊帽;3为聚合物果胶塞;4为不溶性半透膜囊体;5为普通胶囊囊体。本给药系统的制备流程为:先制备不溶性半透膜囊体4和果胶塞3,药物与辅料的混合物填充至不溶性囊体4中,盖上果胶塞3,再套上普通胶囊囊帽2和囊体5,最后在囊壳外包一定厚度的肠

溶衣1,即得。

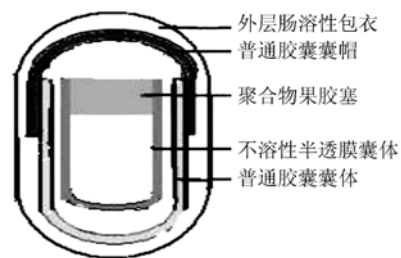


图1 结肠靶向胶囊设计原理图

Fig 1 Schematic of design of oral colon-specific drug delivery system

2.1.1 不溶性半透膜囊体的制备 参考前期研究结果^[7-9],以CA为主要成膜材料,PEG-400为增塑剂,PEG-2000为致孔剂,丙酮:无水乙醇=4:1混合液为溶剂,配制囊壳胶液。

蘸胶法制备囊体:称取处方量的增塑剂、致孔剂和CA混匀,加溶剂后搅拌溶解配成均匀胶液,用3#胶囊模具蘸胶,室温下干燥2~3h,经过拔壳、切割、整理后即得胶囊壳。

2.1.2 果胶塞的制备取果胶粉末在单冲压片机下直接压片制备果胶塞,果胶片直径4mm,厚度为1.0mm,硬度5~6kg。

2.1.3 药物灌装采用药物或药物与辅料混合物以粉末形式灌装至不溶性半透膜囊体后,用果胶片封住囊体,外套普通胃溶性囊壳;每粒胶囊含吲哚美辛原料25mg。

2.1.4 包肠溶衣肠溶衣需满足在结肠pH条件下,3~3.5h后全部溶解。肠溶包衣液配制方法为:Endrag S100 4g,柠檬酸三丁酯1.9g,用无水乙醇16mL溶解;将“2.1.3”制备得到的胶囊外蘸肠溶包衣,干燥后即得吲哚美辛结肠靶向胶囊。

2.2 药物在不同释放介质中含量测定的方法

2.2.1 人工肠液(pH 7.4)中标准曲线的建立精密称取吲哚美辛对照品适量,用pH 7.4人工肠液稀释至浓度为0.2~10.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,在266nm波长下,以pH 7.4人工肠液调零,吸光度(A)对浓度(C)作图,得到标准曲线方程为: $C=21.972A+0.0069$, $r=1$,说明药物在该浓度范围内线性良好。

2.2.2 人工结肠液(pH 6.8)中标准曲线的建立精密称取吲哚美辛对照品适量,用pH 6.8人工结肠液

稀释至浓度为 $1.0\sim 60.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,在 $266\ \text{nm}$ 波长下,以 $\text{pH}\ 6.8$ 人工结肠液调零,吸光度(A)对浓度(C)作图,得到的标准曲线方程为: $C=20.263A-0.1959$, $r=0.9999$,说明药物在该浓度范围内线性良好。

2.2.3 果胶酶人工结肠液标准曲线的建立 精密称取吡哌美辛 $5\ \text{mg}$,置 $100\ \text{mL}$ 量瓶中,加入 $\text{pH}\ 6.8$ 人工肠液(含果胶酶 $6\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)稀释至刻度摇匀,再分别精密吸取 $0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0\ \text{mL}$ 至 $50\ \text{mL}$ 量瓶中,加水稀释至刻度摇匀,过滤后取 $20\ \mu\text{L}$ 按照前期实验确定的高效液相条件^[10]进样测定: Hypersil ODS2 C_{18} ($4.6\ \text{mm}\times 200\ \text{mm}, 5\ \mu\text{m}$)色谱柱;流动相为乙腈: $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 冰醋酸= $60:40$;流速 $1\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温: $25\ ^\circ\text{C}$,检测波长 $228\ \text{nm}$;以峰面积(A)对浓度(C)作图,得到的标准曲线方程为: $C=0.0119A+0.4234$, $r=0.9999$,说明药物在浓度 $0.1\sim 5.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性良好。

2.3 释放度研究

按照参考文献^[11]及中国药典2010年版二部附录XD释放度测定方法第一法,释放介质 $500\ \text{mL}$,温度(37.0 ± 0.5) $^\circ\text{C}$,转速 $100\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。先以人工胃液为释放介质;2 h后换成 $\text{pH}\ 7.4$ 人工肠液;3 h后转入含/不含果胶酶的 $\text{pH}\ 6.8$ 人工肠液,在预定时间点取样 $5\ \text{mL}$,所取的样品溶液经 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后于相应波长处测吸光度或进行高效液相测定,计算药物累积释放百分率;每次取样需同时补充同温度空白释放介质 $5\ \text{mL}(n=4)$ 。

2.4 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件,所有数据采用均数 $\bar{x}\pm s$ 表示。

3 结果

3.1 结肠靶向胶囊

本研究制备的不溶性半透膜囊体外观呈白色或无色半透明状,有一定的硬度,在(37.0 ± 0.5) $^\circ\text{C}$ 的水中不溶、不变形,果胶塞外表呈棕黄色,胶塞封入含药囊体后密封性良好,结果见图2A;外蘸肠溶包衣液后整体含药结肠靶向胶囊见图2B。

3.2 结肠靶向胶囊的释放结果

根据结肠靶向制剂的药物释放要求^[12]:人工胃液2 h中不释放,人工肠液3 h中累积释药百分率 $<10\%$,药物在人工结肠液中快速释放。因此本实验通过改变不同致孔剂比例、包衣增重、内容物配方和释放介质,来考察本胶囊系统在不同释放

条件下的释药规律。

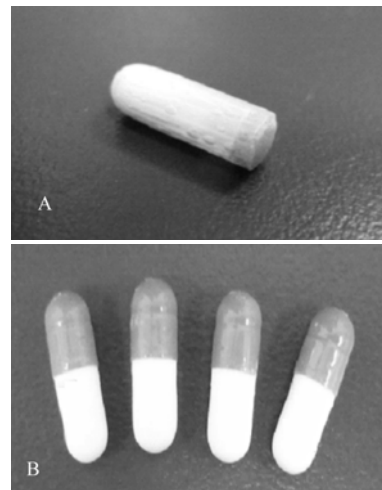


图2 封入果胶塞的囊体及结肠靶向胶囊图

A-封入果胶塞的含药囊体; B-含药结肠靶向胶囊

Fig 2 Picture of the capsule with Pectin plug and capsules for colon-specific delivery

A-capsule within pectin plug; B-capsules for colon-specific delivery

3.2.1 不同致孔剂比例的影响 不溶性半透膜囊体中致孔剂比例不同,会影响水分进入囊中的速度和囊中药物溶出的速度,选择PEG-2 000:CA重量比为40%,60%,80%的囊体,肠溶包衣增重为其普通胶囊壳重量的90%时,药物在人工胃液和 $\text{pH}\ 7.4$ 人工肠液中的释放结果见图3。

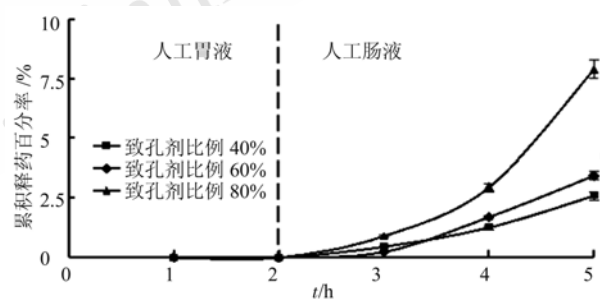


图3 囊体中不同致孔剂比例对药物在人工胃液和人工肠液中释放的影响

Fig 3 The influence of the hole agent ratio in capsule body on drug release in artificial gastric juice and artificial intestinal juice

由释放结果可见,本胶囊系统在人工胃液2 h后囊体依然坚硬、完整,药物无释放,但在 $\text{pH}\ 7.4$ 人工肠液中药物逐渐释放,不溶性囊体中致孔剂PEG-2 000:CA $<60\%$ 时,药物在人工肠液3 h内释放 $<5\%$ 。

3.2.2 不同包衣增重的影响 根据预实验结果,选用致孔剂PEG-2 000:CA为60%的囊体,肠溶

包衣增重量为普通胶囊壳重量的 80%, 90%, 100% 时, 药物在人工胃液和 pH7.4 人工肠液中的释放结果见图 4。

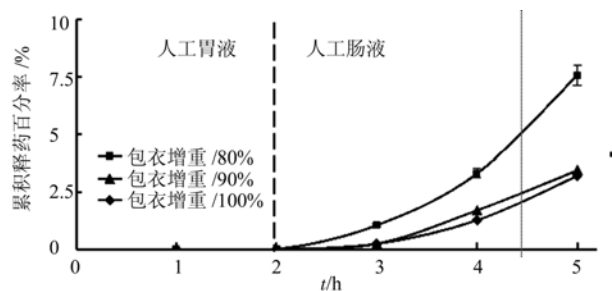


图 4 不同肠溶衣增重对药物释放的影响
Fig 4 The influence of the thickness of enteric coating on the drug release

由释放结果可见, 包衣增重>90%时, 药物在 3 h 内释放<5%, 而包衣增重 80%时, 药物在人工肠液中 3 h 释放接近 10%。

3.2.3 释放介质中果胶酶的影响 本实验采用果胶片密封囊体, 使药物在不溶性半透膜囊体中; 以致孔剂 PEG-2 000 : CA 为 60%的囊体和包衣增重 90%的结肠靶向胶囊为研究对象, 将其放置于人工胃液 2 h 和人工肠液 3 h 的释放后, 分别转移至含和不含果胶酶的 pH 6.8 人工结肠液中, 得到药物释放结果见图 5。

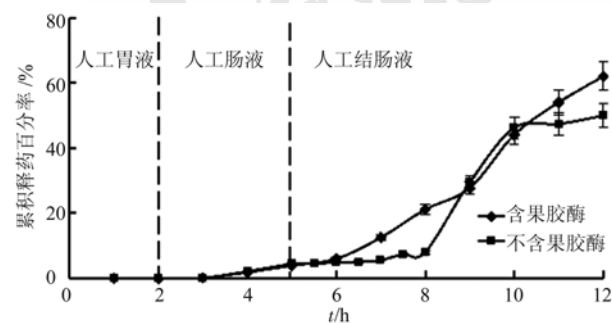


图 5 人工结肠液中果胶酶对药物释放的影响
Fig 5 The influence of the pectinase in artificial colonic juice on the drug release

由图 5 可见, 人工结肠液释放介质中添加果胶酶后, 药物在人工结肠液中 1 h 开始释放, 但速度缓慢; 药物在不含果胶酶的人工结肠液中 3 h 后才开始释放, 并有一个快速释药期, 然后转入缓慢上升。这可能为释放介质中果胶酶能加速果胶片的酶解, 使药物快速和持久释放; 而不含果胶酶的释放介质中果胶片依靠吸水溶胀, 脱离胶塞

时间较长, 果胶脱出胶塞后导致较多药物的溶解和释放, 但药物溶解性差, 释放缓慢。

3.2.4 内容物配方的影响

为加快药物在人工结肠液中的释放速率, 本实验采用在囊体内容物中添加氯化钠, 提高内容物渗透压, 加速药物从囊体中的泵出。选用致孔剂比例为 60%的不溶性囊体, 包衣增重 90%, 分别采用药物与 NaCl 比 1 : 0, 1 : 0.5, 1 : 1, 1 : 1.5 混合后装入囊体, 同时在人工结肠液中添加果胶酶, 得到的药物释放结果见图 6。

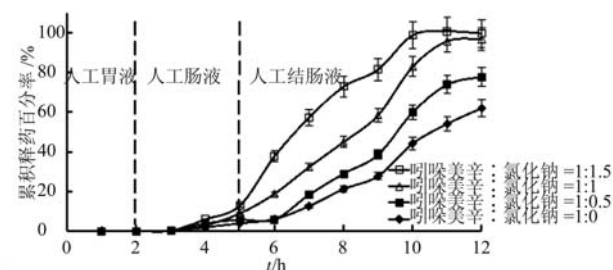


图 6 内容物配方对药物释放的影响
Fig 6 The influence of the contents formula on the drug release

由图 6 结果可见, 内容物配方中随着渗透促进剂 NaCl 比例的增加, 药物在人工肠液和人工结肠液中释放均逐渐加快, 在人工结肠液中释药>70%的时间点也均提前; 其中药物 : NaCl 为 1 : 1.5 的胶囊在人工肠液中释放过快(3 h 释药达 12.3%), 药物 : NaCl 为 1 : 1 的胶囊在人工结肠液中释药>70%的时间为约 10 h。

4 讨论

结肠靶向给药系统已成为一个独立和热门的给药系统研究领域, 相关的药物开发也较多, 目前在研究的药物有茶碱、咖啡银、酮洛芬、胰岛素等^[3]。

本结肠靶向胶囊结合了多种控释方法, 如 pH 控释、时滞控释、酶控释等优点, 各组成部分可单独生产, 药物结肠靶向释药明显, 有很大的研发价值。

影响本胶囊系统中药物释放的因素还有如致孔剂的种类、不溶性囊体配方、果胶片硬度和厚度、肠溶包衣配方等, 因此对药物的控释还可以进一步优化; 此处仅研究了致孔剂含量、包衣增重、内容物配方和果胶酶对药物释放的影响, 且得到了理想的药物释放效果。

REFERENCES

- [1] XIAO B, MERLIN D. Oral colon-specific therapeutic approaches toward treatment of inflammatory bowel disease [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012, 9(11): 1393-1407.
- [2] KRISHNAIAH Y S, KHAN M A. Strategies of targeting oral drug delivery systems to the colon and their potential use for the treatment of colorectal cancer [J]. *Pharm Dev Technol*, 2012, 17(5): 521-540.
- [3] ZIMOVÁ L, VETCHÝ D, MUSELÍK J, et al. The development and *in vivo* evaluation of a colon drug delivery system using human volunteers [J]. *Drug Deliv*, 2012, 19(2): 81-89.
- [4] WU F, ZHANG Z R, HE W L, et al. Preparation and *in vitro* release of tetramethylpyrazine phosphate pulsincap capsule controlled by an erodible plug [J]. *Acta Pharm Sin(药理学学报)*, 2002, 37(9): 733-738.
- [5] WANG Y J, ZHANG G Y, XIAO Z Q, et al. Preliminary proteomic analysis of indomethacin's effect on tumor transplanted with colorectal cancer cell in nude mice [J]. *J Biochem Mol Biol*, 2006, 39(2): 171-177.
- [6] LEE Y, KIM H, KIM W, et al. Colon-specific delivery of celecoxib is a potential strategy to improve toxicological and pharmacological properties of the selective COX-2 inhibitor: implication in treatment of familiar adenomatous polyposis [J]. *J Drug Target*, 2012, 20(6): 524-534.
- [7] ZHANG F Z, FU H X, CHEN M T, et al. Preparation of insoluble porosity membrane sustained-release capsules containing verapamil hydrochloride and investigation on their *in vitro* drug release [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2011, 28(6): 537-541.
- [8] FU H X, LI H, ZHANG F Z, et al. Experiment on formulation and drug release behavior of porosity asymmetric membrane capsules *in vitro* [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2012, 38(6): 670-678.
- [9] FU H X, CAO G Z, HU M C, et al. An osmotic pump controlled-release capsule shell and its preparation: China, 101301281 [P]. 2008-11-12.
- [10] ZHANG F, FU H, CHEN M, et al. RP-HPLC determination of indomethacin in simulated colon juice [J]. *J China Pharm(中国药房)*, 2011, 22(20): 1901-1903.
- [11] RUBINSTEIN A, RADAI R, EZRA M, et al. *In vitro* evaluation of calcium pectinate: a potential colon-specific drug delivery carrier [J]. *Pharm Res*, 1993, 10(2): 258-263.
- [12] CAO J, LU J. Study on indomethacin compression-coated tablet for colon-specific drug deliver [J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2005, 40(5): 367-370.

收稿日期: 2012-12-16

基于微量喷射技术的奥曲肽长效生物可降解微球制备工艺研究

包璇, 刘哲鹏*, 董堃华(上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要: 目的 将溶剂挥发法中的复乳法与微量喷射技术相结合, 对奥曲肽长效生物可降解微球制备中微量喷射技术的应用进行了探索。方法 利用单因素法研究了驱动电压、喷射频率和搅拌器转速等因素对微球平均粒径和粒径分布的影响。结果 在实验中药物处方条件一定的情况下, 驱动电压与粒径大小成正比, 喷射频率和搅拌器转速与粒径大小反比。当驱动电压为 60~100 V, 喷射频率为 3 000~7 000 Hz, 搅拌器转速为 150~450 r·min⁻¹ 时, 粒径分布处于较为理想状态。结论 使用微量喷射技术制得微球外观圆整, 形态良好, 较传统复乳法制得的微球, 其均一性及外观形态得到显著改善, 提高了包封率(>30%)。

关键词: 微球; 奥曲肽; 复乳法; 微量喷射技术

中图分类号: TQ464.7; TQ469

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)09-0988-05

Study on Preparation and Quality of Sustained Release Biodegradable Octreotide Microsphere Based on Micro-injection

BAO Xuan, LIU Zhepeng*, DONG Kunhua(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To combine the method of W/O/W with micro-injection and study the application of micro-injection on preparing sustained release biodegradable octreotide microspheres. **METHODS** It was studied by using a single factor analysis method on spray frequency, agitation speed and driving voltage as the factors. **RESULTS** In the constant prescription conditions, the driving voltage was proportional to the particle size, the spray frequency and mixer speed were inverse ratio to the particle size. When the driving voltage was 60–100 V, spray frequency was 3 000–7 000 Hz and agitation

作者简介: 包璇, 女, 硕士生 Tel: (021)55271286 E-mail: baoxuanshlq@163.com

*通信作者: 刘哲鹏, 男, 高级工程师, 硕士 Tel:

(021)55271286 E-mail: zhepengliu@yahoo.com.cn