

# 复方山莨菪碱新斯的明缓释片的制备及体外释药行为研究<sup>△</sup>

李雨霏<sup>1\*</sup>,周小莉<sup>2#</sup>,金拓<sup>1</sup>(1.上海交通大学药学院,上海 200240;2.无锡圆道医药科技研究院有限公司,江苏无锡 214092)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3129-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.28

**摘要** 目的:制备复方山莨菪碱新斯的明缓释片,研究其体外释药行为。方法:以消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明为主药,羟丙基甲基纤维素K4M为缓释骨架材料,硬脂酸镁为润滑剂,聚乙烯吡咯烷酮为黏合剂,预胶化淀粉为稀释剂,微晶纤维素为崩解剂和填充剂,采用湿法制粒和直接压片法制备复方山莨菪碱新斯的明缓释片,高效液相色谱法检测2个主药12 h内的体外累积释放度。结果:成功制得复方山莨菪碱新斯的明缓释片,其在12 h内体外释放基本完成,山莨菪碱累积释放度为91.3%,新斯的明累积释放度为96.5%。结论:成功制得可累积释药12 h的复方山莨菪碱新斯的明缓释片。

**关键词** 山莨菪碱;新斯的明;复方缓释片;体外释药

## Preparation of Compound Anisodamine and Neostigmine Sustained-release Tablet and Study on the *in vitro* Drug Release Behavior

LI Yufei<sup>1</sup>, ZHOU Xiaoli<sup>2</sup>, JIN Tuo<sup>1</sup> (1.School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2.Wuxi Yuandao Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Jiangsu Wuxi 214092, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare the Compound anisodamine and neostigmine sustained-release tablet and study the *in vitro* drug release behavior. METHODS: Using raceanisodamine and neostigmine methyl sulfate as main medicines, hydroxypropyl methyl cellulose as sustained release skeleton material, magnesium stearate as the lubricant, polyvinyl pyrrolidone as the adhesive, pregelatinized starch as the thinner, microcrystalline cellulose as the disintegrant and filler, Compound anisodamine and neostigmine sustained-release tablet was prepared by wet granulation method and direct compression method. The *in vitro* cumulative release rate within 12 h of the 2 main medicines was detected by HPLC method. RESULTS: Compound anisodamine and neostigmine sustained-release tablet was successfully prepared, and the *in vitro* release was basically completed within 12 h, with accumulative release rate of 91.3% for anisodamine and 96.5% for neostigmine. CONCLUSIONS: Compound anisodamine and neostigmine sustained-release tablet that can cumulatively release for 12 h is successfully prepared.

**KEYWORDS** Anisodamine; Neostigmine; Compound sustained-release tablet; *in vitro* drug-release

胆碱能抗炎通路是免疫调节的一种神经生理机制,通过迷走神经释放乙酰胆碱,随后乙酰胆碱与巨噬细胞和其他细胞因子分泌细胞表面的 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7nAChR$ )相互作用,从而抑制相关炎症因子的合成与释放,防止组织损伤<sup>[1-2]</sup>。消旋山莨菪碱是常用的M胆碱受体拮抗药<sup>[3]</sup>,甲硫酸新斯的明是常用的胆碱酯酶抑制剂<sup>[4]</sup>,近年来研究表明,消旋山莨菪碱联用甲硫酸新斯的明,可显著增强胆碱能抗炎通路,激活 $\alpha 7nAChR$ ,发挥抗炎疗效<sup>[5-6]</sup>。但由于消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明体内半衰期较短,分别仅为40 min和0.89~1.2 h,难以满足持续抗炎治疗的需求;另外,在两个活性成分剂量相差悬殊(最佳配伍为500:1)的情况下<sup>[7]</sup>,同一片剂难以实现平行缓释,故关于两者的复方缓释片相关研究较

少。本研究以羟丙基甲基纤维素(HPMC)为缓释骨架材料,采用湿法制粒和直接压片法制备消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明的复方制剂复方山莨菪碱新斯的明缓释片,以期同时延长两种药物作用时间,减少给药次数。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

ZP-5 旋转式压片机(上海天和制药机械有限公司);RCZ-6C1 药物溶出度仪(上海黄海药检仪器厂);Agilent 1260 高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];超纯水仪(上海乐枫生物科技有限公司)。

#### 1.2 药品与试剂

消旋山莨菪碱原料药及对照品、甲硫酸新斯的明原料药及对照品(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL201502110137、LJ150921010、JL20150303158、LJ150618712,纯度均为99.00%);HPMC K4M(上海卡乐康包衣技术有限公司,批号:PD416379);硬脂酸镁(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:28395);聚乙烯吡咯烷酮K30(PVP K30,安徽山河药用辅料股份有限公司,批

<sup>△</sup> 基金项目:上海市科技创新支撑计划项目(No.15DZ1942402)

\* 硕士研究生。研究方向:药物缓释制剂。电话:021-34205072。E-mail:lyf\_520@outlook.com

# 通信作者:研究员,硕士。研究方向:新药研发。电话:0510-85380656。E-mail:zhouxiaoli1008@sina.com

号:131013);预胶化淀粉(曲阜市天利药用辅料有限公司,批号:1305012);微晶纤维素(MCC,国药集团化学试剂有限公司,批号:20120323)。

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定

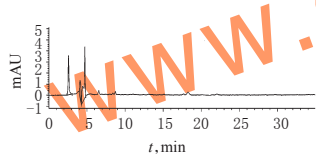
2.1.1 色谱条件 色谱柱:Agilent SB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm);消旋山莨菪碱流动相:0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(含0.15%三乙胺,用磷酸调pH至6.5)-甲醇(70:30);甲硫酸新斯的明流动相:0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(含0.001 5 mol/L庚烷磺酸钠,用磷酸调pH至3.0)-乙腈(87:13);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:40 ℃;进样量:20 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取消旋山莨菪碱对照品和甲硫酸新斯的明对照品适量,分别置于100 mL量瓶中,加0.1 mol/L盐酸适量超声30 min后再稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜过滤,即得消旋山莨菪碱对照品溶液和甲硫酸新斯的明对照品溶液。

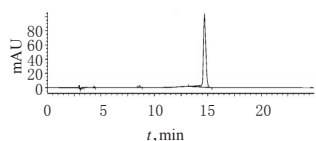
2.1.3 供试品溶液制备 称取复方山莨菪碱新斯的明缓释片适量,加0.1 mol/L盐酸溶解,用微孔滤膜过滤,作为供试品溶液。

2.1.4 专属性试验 按比例精密称取辅料适量,置于100 mL量瓶中,加0.1 mol/L盐酸适量超声30 min后再稀释至刻度,摇匀,过滤,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱;同时进样测定消旋山莨菪碱对照品溶液、甲硫酸新斯的明对照品溶液和供试品溶液。结果,辅料在主峰处无吸收,说明辅料对消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明的测定无干扰。色谱图见图1。

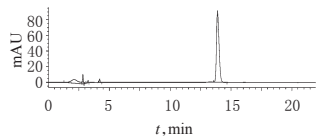
消旋山莨菪碱:



A.空白辅料溶液

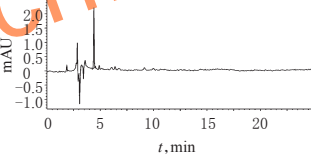


B.对照品溶液

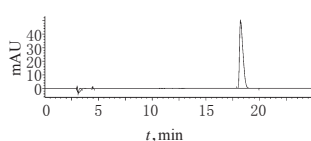


C.供试品溶液

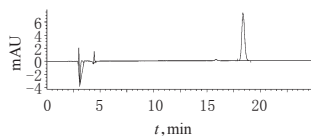
甲硫酸新斯的明:



D.空白辅料溶液



E.对照品溶液



F.供试品溶液

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.5 线性关系考察 精密称取消旋山莨菪碱对照品溶液和甲硫酸新斯的明对照品溶液适量,分别加0.1 mol/L盐酸梯度稀释制成消旋山莨菪碱质量浓度为0.003 5、0.007、0.014、0.028、0.056、0.112、0.224、0.448、

0.896、1.792 mg/mL的系列溶液和甲硫酸新斯的明质量浓度为0.002 5、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08 mg/mL的系列溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定。以质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归分析,得回归方程为消旋山莨菪碱: $y=39\ 280x-157.35$  ( $R^2=0.999\ 5$ ),甲硫酸新斯的明: $y=18\ 913x-0.299\ 9$  ( $R^2=1.000\ 0$ ),表明质量浓度线性范围分别为0.003 5~1.792、0.002 5~0.08 mg/mL。

2.1.6 重复性试验 分别制备消旋山莨菪碱对照品溶液和甲硫酸新斯的明对照品溶液各6份,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定。结果,峰面积的RSD分别为0.8%、1.2% ( $n=6$ )。

2.1.7 回收率试验 向空白辅料中分别定量加入消旋山莨菪碱对照品溶液和甲硫酸新斯的明对照品溶液,在线性范围内稀释得到高、中、低质量浓度的质控样品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定。计算消旋山莨菪碱的回收率分别为99.3%、97.0%、96.9%,RSD分别为0.8%、1.5%、1.9% ( $n=3$ );甲硫酸新斯的明的回收率分别为98.8%、96.3%、97.6%,RSD分别为1.0%、1.3%、1.6% ( $n=3$ )。

2.1.8 精密度试验 取质量浓度为0.896 mg/mL的消旋山莨菪碱对照品溶液和0.08 mg/mL的甲硫酸新斯的明对照品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定。同日内测定6次,连续测定3 d,考察日内、日间精密度。结果,消旋山莨菪碱、甲硫酸新斯的明的日内RSD分别为0.8%、1.5% ( $n=6$ ),日间RSD分别为1.9%、1.6% ( $n=3$ )。

### 2.2 体外累积释放度的测定

采用浆法。以0.1 mol/L盐酸溶液900 mL为释放介质,转速为50 r/min,温度为37 ℃,分别于0.5、1、2、4、6、8、10、12 h取溶液10 mL(取液同时补充等温、等量的释放介质),过滤。精密量取滤液20 μL,按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算累积释放度。

### 2.3 消旋山莨菪碱缓释片的制备

2.3.1 制备工艺 按照处方精密称量消旋山莨菪碱原料药、缓释骨架材料HPMC K4M、稀释剂预胶化淀粉、崩解剂和填充剂MCC,分别过100目筛,混合30 min,制成药物细粉,备用;另将4.5 g PVP K30溶于8 mL蒸馏水中,与上述药物细粉混合,制成软材,过20目筛制粒,60 ℃下烘干1 h,再加入润滑剂硬脂酸镁混合30 min,压片制得消旋山莨菪碱缓释片<sup>[8]</sup>。

2.3.2 处方筛选 以MCC调节片质量(300 mg/片,100片),筛选HPMC K4M含量(30%、20%、15%)对累积释放度的影响,处方中其他组分为消旋山莨菪碱原料药10%、预胶化淀粉8%、PVP K30 15%、硬脂酸镁0.07%。结果表明,HPMC K4M的含量为30%时,所制片剂12 h的累积释放度仅为76.8%,表明释放不够完全;HPMC

K4M的含量为20%或15%时,所制片剂12 h的累积释放度均为90%以上。综合考虑前期突释情况,确定HPMC K4M含量为20%,所制片剂12 h的累积释放度为90.5%。HPMC K4M不同用量的消旋山莨菪碱缓释片的体外释放曲线见图2。

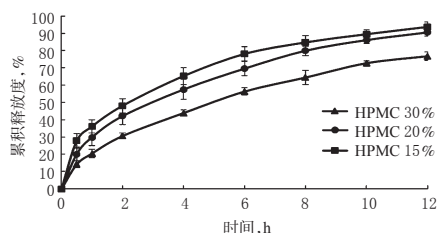


图2 HPMC K4M不同用量的消旋山莨菪碱缓释片的体外释放曲线( $n=5$ )

Fig 2 Release curves *in vitro* of Raccanisodamine sustained-release tablet with different amounts of HPMC K4M ( $n=5$ )

## 2.4 甲硫酸新斯的明缓释片的制备

2.4.1 制备工艺 以“2.3.2”项下结果为依据,选择20% HPMC K4M处方比例制备甲硫酸新斯的明缓释片,片质量为300 mg。精密称取甲硫酸新斯的明原料药0.006 g、HPMC K4M 6 g、预胶化淀粉2.4 g和MCC 16.884 g,分别过100目筛,按照“2.3.1”项下方法制粒、烘干后,加入硬脂酸镁0.21 g混合30 min,压片制得甲硫酸新斯的明缓释片。

2.4.2 体外释放度测定 由于甲硫酸新斯的明的含量很低,为获得释放曲线,进行平行的释放试验。以5 mL的0.1 mol/L盐酸为释放介质,温度为37℃,分别于0.5、1、2、4、6、8、10、12 h取样测定累积释放度。结果,甲硫酸新斯的明缓释片前期释放平缓,12 h的累积释放度为93.5%,体外缓释效果符合预期。20% HPMC K4M的甲硫酸新斯的明缓释片的体外释放曲线见图3。

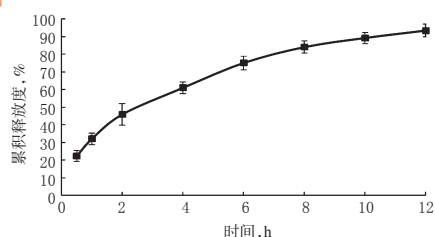


图3 20% HPMC K4M的甲硫酸新斯的明缓释片的体外释放曲线( $n=3$ )

Fig 3 Release curves *in vitro* of Neostigmine methyl sulfate sustained-release tablet with 20% HPMC K4M ( $n=3$ )

## 2.5 复方山莨菪碱新斯的明缓释片的制备

2.5.1 制备工艺 以“2.3”“2.4”项下结果为依据,选择20% HPMC K4M处方比例制备复方山莨菪碱新斯的明缓释片,片质量为300 mg。精密称量消旋山莨菪碱原料药5 g、甲硫酸新斯的明原料药0.01 g、HPMC K4M 6 g、

预胶化淀粉2.4 g和MCC 11.88 g,分别过100目筛,按“2.4.1”项下方法制得复方山莨菪碱新斯的明缓释片。

2.5.2 体外释放度测定 分别按“2.2”“2.4.2”项下方法测定复方山莨菪碱新斯的明缓释片中消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明的累积释放度。结果表明,复方山莨菪碱新斯的明缓释片中消旋山莨菪碱和甲硫酸新斯的明均前期释放平缓,12 h时消旋山莨菪碱的累积释放度为91.3%,甲硫酸新斯的明的累积释放度为96.5%,均达到90%以上,实现了平行缓释,达到预期。20% HPMC K4M的复方山莨菪碱新斯的明缓释片的体外释放曲线见图4。

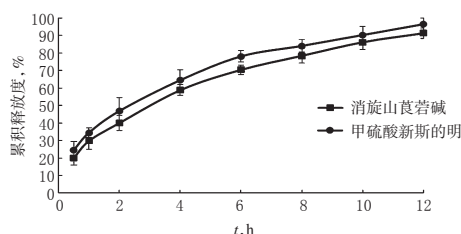


图4 20% HPMC K4M的复方山莨菪碱新斯的明缓释片的体外释放曲线( $n=3$ )

Fig 4 Release curves *in vitro* of Compound anisodamine and neostigmine sustained-release tablet with 20% HPMC K4M ( $n=3$ )

## 3 讨论

缓控释制剂技术中,骨架片的工艺操作简便、易于控制,成本较低,适合规模化工业生产<sup>[9]</sup>。其中HPMC为最常使用的骨架材料,其含量会影响药物的缓释释放行为。如果HPMC含量过度增加,片剂水化速度加快,会形成凝胶层,包裹药物颗粒,使药物释放速率减慢,释放总量也受到一定影响<sup>[10]</sup>。因此,本研究中考察了不同用量的HPMC K4M对山莨菪碱缓释片释放曲线的影响。结果显示,HPMC在辅料中的含量达到20%时,药物前期突释在可控范围内,在12 h时的累积释放度可达90%以上,符合预期。

本研究通过湿法制粒和直接压片法成功制备得到以HPMC K4M为缓释骨架材料的复方山莨菪碱新斯的明缓释片,释放结果表明,两者可以实现同步缓释,释放曲线基本一致,在12 h时山莨菪碱和新斯的明的累积释放度分别为91.3%和96.5%,均达到90%以上。

虽然在申报新制剂前,该复方缓释片剂还需进一步的优化研究,但本研究充分证明这两个药物成分在含量相差500倍的情况下,仍能通过简单的湿法制粒和直接压片法制备得到平行缓释的片剂的可行性,从而为类似缓释制剂提供了一种可进一步探究的制备方案。

## 参考文献

- [1] 王大伟,周荣斌,姚咏明.胆碱能抗炎通路在炎症反应中的作用[J].生理科学进展,2010,41(3):217-220.
- [2] 赵建,丁日高.胆碱能抗炎通路的研究进展[J].国际药学

# 葛根素立方液晶的制备及在微针作用下的体外透皮特性研究

莫建民\*(湖州市第一人民医院药剂科,浙江 湖州 313000)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3132-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.29

**摘要** 目的:制备葛根素立方液晶,研究其在微针作用下的体外透皮特性。方法:以单油酸甘油酯、乙醇、葛根素、纯化水为材料,采用注入法制备葛根素立方液晶;用偏光显微镜和小角X射线衍射进行表征。采用改进的Franz扩散池比较葛根素10%乙醇水溶液和葛根素立方液晶的体外透皮特性;考察葛根素立方液晶在微针作用下的体外透皮特性。结果:所制葛根素立方液晶在偏光显微镜下无明显晶体分布,呈暗绿色,显各向同性;其散射峰位之比为 $\sqrt{6}:\sqrt{8}$ ,证明其内部结构为螺旋型晶格。葛根素10%乙醇水溶液和葛根素立方液晶的透皮速率分别为 $15.306, 29.101 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ ,20 h内的累积透皮量分别为 $190, 545 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;200  $\mu\text{m}$ 微针预处理皮肤后,葛根素立方液晶的透皮速率为 $78.15 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ ,20 h内的累积透皮量为 $1\ 450 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。结论:成功制得葛根素立方液晶,其具有较葛根素乙醇水溶液更强的透皮能力,且联合微针给药具有更好的透皮性能。

**关键词** 葛根素;立方液晶;制备;微针;体外透皮

## Preparation of Puerarin Cubic Phase and Study on Its *in vitro* Transdermal Characteristics under Microneedle

MO Jianmin(Dept. of Pharmacy, the First People's Hospital of Huzhou City, Zhejiang Huzhou 313000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare the puerarin cubic phase, and study its *in vitro* transdermal characteristics under microneedle. METHODS: Using glycerol monooleate, ethanol, puerarin and purified water as materials, injection method was used to prepare the puerarin cubic phase. Polarizing microscopy and small angle X-ray diffraction were used for characterizing. The *in vitro* transdermal characteristics of Puerarin 10% ethanol solution and puerarin cubic phase were comparatively studied by modified Franz diffusion cell, and the *in vitro* transdermal characteristics of puerarin cubic phase under microneedle were studied. RESULTS: Prepared puerarin cubic phase had no obvious phase distribution under polarizing microscope with dark green color, showing isotropic trait. The ratio of scattering peak position was  $\sqrt{6}:\sqrt{8}$ , indicating that its internal structure was spiral lattice. The transdermal rates of Puerarin 10% ethanol solution and puerarin cubic phase were  $15.306, 29.101 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ , and the cumulative transdermal amounts within 20 h were  $190, 545 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , respectively. After the pretreatment on skin by 200  $\mu\text{m}$  microneedle, the transdermal rates of puerarin cubic phase was  $78.15 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ , and the cumulative transdermal amounts within 20 h was  $1\ 450 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . CONCLUSIONS: Puerarin cubic phase is successfully prepared, which shows stronger transdermal ability than puerarin ethanol aqueous solution and better transdermal ability when combined with microneedle administration.

**KEYWORDS** Puerarin; Cubic phase; Preparation; Microneedle; *in vitro* transdermal

研究杂志,2014,41(6):637-640,647.

- [3] 陈静嫦,邓大明,麦光焕.消旋山莨菪碱滴眼液治疗儿童近视[J].眼视光学杂志,2009,11(6):469-471.
- [4] 夏苗芬,梁文权,李士敏,等.复方甲硫酸新斯的明眼用原位凝胶的处方工艺研究[J].中国现代应用药学,2014,31(06):711-713.
- [5] Qian J, Zhang JM, Lin LL, *et al.* A combination of neostigmine and anisodamine protects against ischemic stroke by activating alpha 7nAChR[J]. *Inter J Stroke*, 2015, 10(5): 737-744.
- [6] Sun L, Zhang GF, Zhang X, *et al.* Combined administration of anisodamine and neostigmine produces anti-shock

effects: involvement of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2012, 33(6): 761-766.

- [7] 张井明.复方新斯的明山莨菪碱对缺血性脑卒中的治疗作用研究[D].上海:第二军医大学,2015.
- [8] 顾万清,周小莉.复方山莨菪碱新斯的明缓释片及其制备方法,中国:105943537A[P]. 2016-09-21.
- [9] 齐晓丹,马志鹏,宋益民.口服缓控释系统的研究进展[J].中国药房,2015,26(16):2281-2283.
- [10] 王宝庆,陆新汉,唐星,等.乌拉地尔 HPMC 骨架片的研制及释放度的考察[J].沈阳药科大学学报,2001,18(1): 5-8.

\* 药师。研究方向:药物经皮给药系统。E-mail:903818262@qq.com

(收稿日期:2017-04-30 修回日期:2017-05-16)  
(编辑:邹丽娟)