

# 穿琥宁直肠用原位凝胶的处方研究<sup>△</sup>

宋婧<sup>1\*</sup>, 梁丽娟<sup>1</sup>, 王锦玉<sup>2#</sup>, 全燕<sup>2</sup>(1.首都医科大学附属北京友谊医院, 北京 100050; 2.中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3296-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.10

**摘要** 目的:研究穿琥宁直肠用原位凝胶的处方和制备工艺。方法:以外观、黏度突变温度、胶凝温度、稳定性等为指标,采用单因素试验考察泊洛沙姆的种类和用量、抗氧化剂和抗菌剂种类;以穿琥宁含量降低百分率为指标,以乙二胺四乙酸二钠质量分数、苯甲醇质量分数、羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)质量分数为考察因素,采用正交试验结合单因素试验优选抗菌剂的用量和抗氧化剂的种类和用量;并对有效期进行预测。结果:优选的处方为10 g穿琥宁,18 g泊洛沙姆407,6.0 g泊洛沙姆188,0.5 g苯甲醇、6 g HP-β-CD,加水至100 g;胶凝温度为(36.5±0.5)℃;制剂有效期为1.57年。结论:优选的处方合理、可行,可用于制备穿琥宁直肠用原位凝胶。

**关键词** 穿琥宁原位凝胶;制剂工艺;处方

## Study on the Formulation and Preparation Technology of Chuanhuning Rectum in Situ Gel

SONG Jing<sup>1</sup>, LIANG Li-juan<sup>1</sup>, WANG Jin-yu<sup>2</sup>, TONG Yan<sup>2</sup>(1.Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2.Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the prescription and formulation technology of Chuanhuning rectum in situ gel. METHODS: Using appearance, viscosity mutation temperature and gelling temperature and the stability as index, amount and type of poloxamer, the amount of antioxidant and types of antiseptic were investigated by single factor test. The amount of antiseptic, types and amount of antioxidant were optimized by orthogonal test and single factor test with the percentage of the decrease of potassium dehydroandrographolide succinate as index using the contents of disodium ethylenediamine tetraacetic acid, benzil alcohol and HP-β-CD as factors. The period of validity of the gel was predicted. RESULTS: Optimal formulation was as follows: potassium dehydroandrographolide succinate of 10 g, poloxamer 407 of 18 g, poloxamer 188 of 6.0 g, benzil alcohol of 0.5 g, HP-β-CD of 6 g, adding high purity water of 59.5 g; gelling temperature of (36.5±0.5)℃; The period of validity was 1.57 years. CONCLUSIONS: The optimal formulation is reasonable and feasible, and it is suitable for the preparation of Chuanhuning rectum in situ gel.

**KEY WORDS** Chuanhuning rectum in situ gel; Preparation technology; Formulation

穿琥宁是穿心莲内酯(Andrographolide)与琥珀酸酐在氢氧化钾吡啶溶液中反应生成的脱水穿心莲内酯琥珀酸半酯单钾盐(Kalii dehydroandrographolide succinate)。目前,临床上仅有穿琥宁注射液一种剂型,常用于呼吸道感染和婴幼儿肺炎的治疗,且疗效显著。但是,由于其毒副作用居中药不良反应报道的前3位,因此需寻找一种适用于儿童的剂型,以达到既实现速效、高效全身给药,又能减少不良反应的目的。原位凝胶是将高分子材料以溶液或半固体状态给药后,在用药部位发生相改变而形成的半固体或固体制剂。本研究将穿琥宁制备成原位凝胶制剂,通过直肠黏膜给药,使药物直接进入血液循环,以避免胃肠道的消化和肝脏的首关效应。其作用时间快、生物利用度高,是一种最接近注射给药效果的给药途径。同时,原位凝胶具有良好的生物黏附性和组织相容性,通过直肠给药,可克服儿童对于针剂的恐惧心理,提高患儿对药

物的依从性,易被患儿及家长接受。

## 1 材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱(HPLC)仪,包括1515泵、2487紫外检测器(美国Waters公司);SNB-2数字旋转黏度计(上海地学仪器研究所);BM-42恒温水浴锅(日本大和科学株式会社);棒式数显精密温度计(美国Deltatrac公司);PHB-1便携式pH计(上海三信仪表厂);BP211D电子分析天平(德国赛多利斯公司);JA1003电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);KQ-250DB数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

泊洛沙姆407、泊洛沙姆188(德国BASF公司);甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 原位凝胶溶液的制备

采用冷法配液<sup>[1-2]</sup>,称取处方量的泊洛沙姆(型号待定),加至适量水中,搅拌使其分散均匀,于4℃放置24 h以上,成澄明溶液,即得。

### 2.2 黏度(η)、黏度突变温度(T<sub>η</sub>)和胶凝温度(T<sub>g</sub>)的测定

△ 基金项目:国家科技支撑计划课题(No.2006BAI09B08-05)

\* 药师。研究方向:中药药剂。电话:010-63138523。E-mail: songjing1013@163.com

# 通信作者:助理研究员。研究方向:中药制剂。E-mail: jinyu024@163.com

将盛有待测胶液的自制小烧杯置于恒温水浴锅中,水浴升温速率为每1~2 min升温1℃,旋转黏度计用3号转子旋转(转速:30 r/min),样品中插入数显精密温度计,记录不同温度下样品的 $\eta$ 。 $\eta$ 开始产生突跃时的温度即为 $T_{\eta}$ ;根据文献<sup>[3]</sup>,将小烧杯倾斜60°,以溶液不发生流动时的温度为 $T_g$ ,经测定,空白胶液不流动时 $\eta$ 为4 000 mPa·s,含药胶液不流动时 $\eta$ 为10 000 mPa·s。每一样品平行测定3次,取平均值,即得。

### 2.3 处方优化考察

2.3.1 泊洛沙姆种类和用量的选择 经前期单因素试验可知,泊洛沙姆407的质量分数在16%~22%之间时, $T_g$ 均不超过30℃,达不到制剂要求,故对泊洛沙姆的种类和比例进行考察,以获得适宜的 $T_g$ <sup>[4]</sup>。取穿琥宁适量,使其在处方中质量分数为10%,选取22%、16%、18%的泊洛沙姆407和2%、4%、6%、8%、10%、12%的泊洛沙姆188,按试验安排分别制成穿琥宁直肠用原位凝胶,三乙醇胺调pH值至7.5,测定不同处方下的 $T_g$ 、 $T_{\eta}$ 。不同处方下 $T_g$ 的测定结果见图1;不同处方下 $T_{\eta}$ 的测定结果见图2。

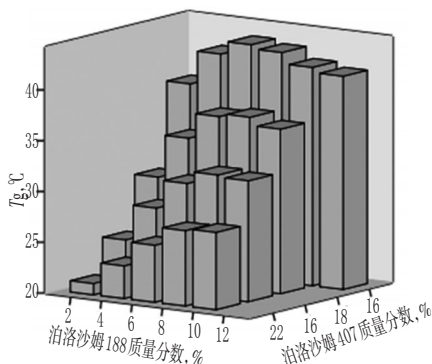


图1 不同处方下 $T_g$ 的测定结果

Fig 1 Determination of  $T_g$  in different prescriptions

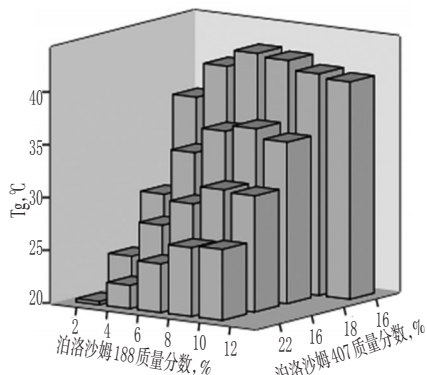


图2 不同处方下 $T_{\eta}$ 的测定结果

Fig 2 Determination of  $T_{\eta}$  in different prescriptions

由图1、图2可知,泊洛沙姆407的质量分数恒定时,随泊洛沙姆188质量分数的增加, $T_g$ 呈抛物线变化; $T_{\eta}$ 随泊洛沙姆407、泊洛沙姆188质量分数的变化类同 $T_g$ 的变化。当加入18%泊洛沙姆407、6%泊洛沙姆188时, $T_g$ 为(36.7±0.3)℃,可获得接近体温(34~37℃)的 $T_g$ ,这时可满足直肠用原位凝胶的制剂学要求。

2.3.2 抑菌剂种类的选择 对苯扎氯铵、苯甲酸钠和苯甲醇进行筛选,基质为18%泊洛沙姆407、6%泊洛沙姆407、10%穿

琥宁,分别加入0.5%苯甲酸钠、0.5%苯扎氯铵、0.5%苯甲醇,测定加入不同抑菌剂的 $T_g$ 。之后放入4℃冰箱冷藏12h以上,观察外观变化。结果,加入0.5%苯甲酸钠、0.5%苯扎氯铵后, $T_g$ 均偏高3℃以上,且在冰箱中放置后均产生乳白色浑浊物,恢复至室温后无变化;0.5%苯甲醇对 $T_g$ 无显著影响,且冰箱中放置12h以上仍保持澄清,恢复至室温后也无变化。故选用苯甲醇为抑菌剂,但用量需进一步考察。

2.3.3 抗氧化剂种类的初选 由于穿琥宁常温下在水溶液及亲水性基质中不稳定,故考虑加入抗氧化剂以增加其稳定性。根据文献<sup>[5-6]</sup>,0.5%乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)、0.5%L-半胱氨酸与0.5%羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)均有利于穿琥宁的稳定。因此,分别配置含以上3种稳定剂的含药胶液,测定 $T_g$ 以及在4℃冰箱冷藏12h以上的外观变化。结果,三者加入后均对穿琥宁直肠用原位凝胶的 $T_g$ 无较大影响,但冷藏12h后加入0.5%L-半胱氨酸的胶液出现白色絮状物,且恢复至室温后无法变澄清;加入0.5%EDTA-2Na的胶液出现白色浑浊物,恢复至室温后胶液变澄清;加入0.5%HP- $\beta$ -CD的胶液仍保持澄清,恢复至室温后无明显变化,且HP- $\beta$ -CD的加入对穿琥宁有增溶作用。故可将EDTA-2Na、HP- $\beta$ -CD作为抗氧化剂备选,但仍需进行进一步考察。

### 2.4 正交试验结合单因素试验优选抗菌剂的用量和抗氧化剂的种类、用量

2.4.1 正交试验优选抗菌剂的用量和抗氧化剂的种类 根据前期试验结果,选取EDTA-2Na质量分数(A)、苯甲醇质量分数(B)、HP- $\beta$ -CD质量分数(C)为考察因素,以穿琥宁含量降低百分率为评价指标(按文献方法<sup>[7]</sup>测定含量),选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,所制备的样品在75℃烘箱中放置12h后立刻放入4℃冰箱中冷藏。因素与水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, %	C, %
1	0	0.50	0.50
2	0.25	1.00	1.00
3	0.50	1.50	2.00

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(误差)	穿琥宁含量降低百分率, %
1	1	1	1	1	43.27
2	1	2	2	2	45.03
3	1	3	3	3	40.74
4	2	1	2	3	50.27
5	2	2	3	1	51.43
6	2	3	1	2	51.53
7	3	1	3	2	52.09
8	3	2	1	3	54.29
9	3	3	2	1	47.51
$K_1$	43.01	48.54	49.70	47.40	
$K_2$	51.08	50.25	47.60	49.55	
$K_3$	51.30	46.59	48.09	48.43	
R	8.29	3.66	2.10	2.15	

表3 方差分析结果

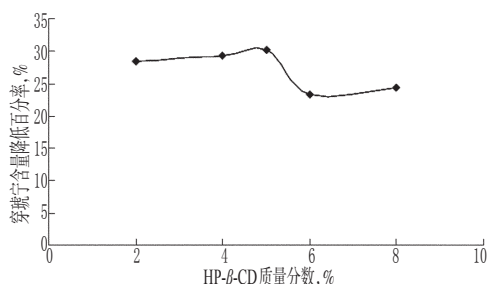
Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
A	133.68	2	66.84	19.33	<0.05
B	20.09	2	10.04	2.90	
C	7.21	2	3.60	1.04	
D(误差)	6.92	2.00	3.46		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ 

由表2、表3可知,苯甲醇对穿琥宁含量无影响,故从成本、安全性考虑,加入苯甲醇的量为0.5%;EDTA-2Na可显著影响处方中的穿琥宁含量,故对方剂稳定性有显著性影响,无需加入;HP- $\beta$ -CD对穿琥宁含量无影响,且能增加制剂的稳定性,故选其为抗氧化剂,其用量需进一步考察。

2.4.2 HP- $\beta$ -CD用量的考察 在以18%泊洛沙姆407、6%泊洛沙姆188、0.5%苯甲醇、10%穿琥宁为基质的溶液中加入含有2%、4%、5%、6%、8%的HP- $\beta$ -CD胶液。在75℃烘箱中放置12h后立刻放入4℃冰箱中冷藏,测定穿琥宁含量降低百分率。结果发现,HP- $\beta$ -CD的用量为6%时胶液稳定性最好。HP- $\beta$ -CD用量对胶液稳定性的影响见图3。

图3 HP- $\beta$ -CD用量对胶液稳定性的影响Fig 3 Effects of HP- $\beta$ -CD on the stability of glue soluting

### 2.5 穿琥宁原位凝胶的制备工艺

取10g穿琥宁、18g泊洛沙姆407、6.0g泊洛沙姆188、0.5g苯甲醇、6gHP- $\beta$ -CD,加水至100g。将处方量的苯甲醇和HP- $\beta$ -CD分别置于水中溶解,称取处方量的泊洛沙姆188和泊洛沙姆407,置于上述溶液中,搅拌使之分散均匀,4℃冰箱中冷藏至完全溶解,搅拌下逐渐加入三乙醇胺调pH值至(7.5±0.5),适量搅拌均匀后加入10g的穿琥宁,搅拌使之溶解,即得穿琥宁直肠用原位凝胶。

### 2.6 有效期预测

将穿琥宁直肠用原位凝胶分别置于一定温度下恒温加热,在一定时间后间隔取出,立即冷却,终止反应,4℃冰箱放置。参照文献<sup>[7]</sup>方法测定样品中穿琥宁含量,并按反应动力学方法考察反应级数以及水解速率常数(K)。结果,此降解反应为一级反应,各温度下K值测定结果见表4(表中,T为热力学温度, $T=t+273$ )。

表4 各温度下K值测定结果

Tab 4 Determination of K in different temperature

$\theta, ^\circ\text{C}$	$1/T$	K	$\lg K$
70	$2.9155 \times 10^{-3}$	$3.0630 \times 10^{-2}$	-2.7346
80	$2.8329 \times 10^{-3}$	$1.3818 \times 10^{-2}$	-2.3824
90	$2.7548 \times 10^{-3}$	$4.1454 \times 10^{-3}$	-1.8596
100	$2.6810 \times 10^{-3}$	$1.8424 \times 10^{-3}$	-1.5139

以 $\lg K$ 对 $1/T$ 作图,可求得穿琥宁原位凝胶不同温度下的

分解曲线为一直线,直线方程为 $\lg K = -5.3522/T + 12.842$ ,根据该直线方程,求得 $K_{25^\circ\text{C}} = 7.6138 \times 10^{-6}$ 。一般情况下,将药物质量分数降解10%作为有效期的临界值,以 $t_{1/10}$ 表示,制剂学中规定, $t_{1/10} = 0.1054 \text{ h} / K_{25^\circ\text{C}}$ ,穿琥宁原位凝胶的有效期 $= 0.1054 \text{ h} / 7.6138 \times 10^{-6} = 13791 \text{ h} \approx 1.57$ 年,即穿琥宁原位凝胶常温下的有效期约为1.5年。

## 3 讨论

温敏型高分子材料有泊洛沙姆、聚N-异丙基丙烯酸酯、纤维素类衍生物、多糖类衍生物等<sup>[7]</sup>。目前,国内、外以泊洛沙姆的研究较多且最为深入。温敏基质的 $T_g$ 直接关系到患者的依从性及疗效,是处方设计需考虑的首要问题。泊洛沙姆407的胶凝机制被认为是随温度升高胶束间相互缠结和堆砌的结果。有研究<sup>[9]</sup>表明,质量分数高于16%的泊洛沙姆407胶液受热可逆地形成澄明的水晶状凝胶,其 $T_g$ 随泊洛沙姆407加入量增大而降低,且低于某一浓度则不再发生胶凝。笔者也发现,对质量分数为14%的胶液在任意温度下倾斜烧杯,液面呈水平,为自由流动的液体,即不发生胶凝。 $T_g$ 的测定方法,国内多采用磁力搅拌法<sup>[4, 8-10]</sup>,但该方法影响因素较多,外部条件不易控制,重现性较差;而采用黏度测定法,稳定性好(误差在 $\pm 0.4^\circ\text{C}$ 内),结果较为准确,且可直接得到 $\eta$ - $T$ 曲线,故本试验采用该法。

由于泊洛沙姆407为聚氧乙烯(PEO)和聚氧丙烯(PPO)组成的嵌段共聚物,pH值在5~6之间,而穿琥宁在酸性环境下不溶解,因此有必要先对泊洛沙姆预凝胶进行中和。三乙醇胺具有碱性柔和及缓冲容量大的优点,通过研究发现,选择三乙醇胺调pH值至7.5左右,可使10%穿琥宁在泊洛沙姆中溶解,且不解,与人体直肠pH值接近,故此方法可行。

## 参考文献

- [1] Pisal SS, Parakar AR, Mahadik KR, et al. Pluronic gels for nasal delivery of Vitamin B<sub>12</sub>. Part I: preformulation study[J]. *Int J Pharm*, 2004, 270(1/2): 37.
- [2] 刘莱,王东凯,高斐,等.氢溴酸右美沙芬热敏型鼻用凝胶的制备及体外释放[J]. *中国药剂学杂志*, 2005, 3(4): 206.
- [3] 马凤余,胡容峰,徐亚静,等.奥洛他定温度敏感眼用原位凝胶的制备[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(11): 858.
- [4] 魏刚,陆丽芳,钟高仁,等.温度敏感型原位凝胶用于蛋白类药物缓释注射给药系统的初步研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2006, 37(9): 597.
- [5] 王炳南,贺英菊,龙波,等.穿琥宁注射液新处方的拟订及稳定性研究[J]. *中成药*, 1999, 21(10): 493.
- [6] 尹莉芳,徐伟,张爽.穿琥宁注射液的处方筛选及稳定性研究[J]. *药学进展*, 2005, 29(12): 560.
- [7] 魏崇武,王智民,全燕,等.穿琥宁凝胶直肠给药的药代动力学及生物利用度研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2004, 10(4): 47.
- [8] 朱海燕,丁洁,王本晓,等.聚合物在温度敏感型原位凝胶中的应用[J]. *齐鲁药事*, 2006, 25(2): 107.
- [9] 魏刚.体温敏感眼用凝胶的研究[D].沈阳:沈阳药科大学, 2002: 6.
- [10] 宋淘,王东凯,高红,等.利巴韦林鼻用温敏凝胶热力学和流变学性质研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2006, 37(8): 540.

(收稿日期:2013-02-27 修回日期:2013-06-24)