

阿司匹林磷脂复合物的制备及其表征^Δ

贺智勇^{1,2*}, 吴朝花^{1,2}, 严俊丽^{1,2}, 李海志^{1,2}, 沈祥春^{1,2}, 陶玲^{1,2#} (1. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550004; 2. 贵州省普通高等学校天然药物药理与成药性评价重点实验室, 贵阳 550025)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)25-3562-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.25.28

摘要 目的: 制备阿司匹林磷脂复合物(ASP-PC)并进行表征。方法: 以ASP与PC的复合率为指标, 采用单因素试验筛选ASP-PC的制备方法、PC种类、溶剂种类、反应时间、反应温度、溶剂体积和药脂比, 并进行验证。采用紫外分光光度法、热重分析法、X射线衍射法和傅里叶红外光谱分析对所制ASP-PC进行表征。结果: 采用磁力搅拌-冷凝回流法, 药物-大豆磷脂比为1:3 (mol/mol), 溶剂为四氢呋喃(50 mL), 58 °C下反应3 h, 所制ASP-PC的平均复合率为83.52% (RSD=1.16%, n=3)。与ASP、ASP和PC的物理混合物比较, 紫外光谱显示ASP-PC没有出现新的吸收峰; 热重分析、X射线衍射分析和傅里叶红外光谱分析显示ASP-PC中的ASP与PC发生了相互作用, 且ASP-PC在0~300 °C范围内质量变化较小。结论: 成功制得ASP-PC, 其中ASP与PC复合成功, 但仍有微量ASP以晶体形式存在。

关键词 阿司匹林; 磷脂复合物; 制备工艺; 光谱学性质

Preparation and Characterization of Aspirin Phospholipid Complex

HE Zhiyong^{1,2}, WU Chaohua^{1,2}, YAN Junli^{1,2}, LI Haizhi^{1,2}, SHEN Xiangchun^{1,2}, TAO Ling^{1,2} (1. School of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Drugability in Guizhou Colleges and Universities, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare aspirin phospholipid complex (ASP-PC) and conduct the characterization. METHODS: Using the combination rate of ASP and PC as index, single factor test was used to screen the preparation method of ASP-PC, PC type, solvent type, reaction time, reaction temperature, solvent volume and drug-lipid ratio. The verification test was conducted. UV spectrophotometry, Thermogravimetric analysis, X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy were used for the characterization of ASP-PC. RESULTS: Magnetic stirring-condensing reflux method was adopted, drug-soybean phospholipids ratio was 1:3 (mol/mol), solvent was tetrahydrofuran, reacting for 3 h under 58 °C. The average combination rate of prepared ASP-PC was 83.52% (RSD=1.16%, n=3). Compared with ASP, physical mixture of ASP and PC, UV spectrum showed that ASP-PC had no new absorption peak. Thermogravimetric analysis, X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy showed the ASP and PC in ASP-PC were interacted; and ASP-PC changed little in quality within 0-300 °C. CONCLUSIONS: ASP-PC can be successfully prepared, in which, ASP and PC were combined successfully; while there are still trace amounts of ASP in the form of crystals.

KEYWORDS Aspirin; Phospholipid complex; Preparation technology; Spectroscopic properties

阿司匹林(Aspirin, ASP)又名乙酰水杨酸, 在干燥空气中稳定, 遇潮会缓慢水解为水杨酸和醋酸, 微溶于水; 传统用于解热镇痛、抗炎抗风湿疾病, 数年来已广泛用于抑制血小板聚集, 成为心血管疾病的重要基础治疗药物^[1]。另外, 其在抑制动脉粥样硬化、抗肿瘤、防治心肌纤维化^[2]等方面的临床用途也不断得到扩展。但ASP在抑制环氧化酶(COX)活性从而发挥抑制血小板聚集效果的同时, 间接导致胃黏膜上皮脱落增加并超过更新速度, 使胃黏液减少, 引起胃黏膜损伤或加重溃疡的程度。此外, ASP水溶性差、生物利用度低、胃肠道药物残留量高, 其酸性直接致胃黏膜损伤, 可透过胃肠黏膜上

磷脂蛋白膜层, 破坏脂蛋白膜的保护作用, 使胃酸可逆地弥散到组织中损伤细胞, 致毛细血管破损而出血, 是导致患者停药的主要原因^[3-4]。提高ASP的生物利用度, 可减少药物在胃肠道的残留量, 减轻药物对胃肠道的直接刺激作用, 对于提高患者依从性、维持心脑血管疾病患者的抗凝治疗具有重要意义。

磷脂(Phospholipid, PC)复合物是指药物与PC以一定的配比关系结合而成的复合物。PC主要成分为磷脂酰胆碱, 由于其两亲性的特性而成为药物递送系统领域的一种特殊载体^[5-6], 可以改善药物的溶解度和药物的释放速率。PC复合物和胃肠液之间具有较低的界面张力, 可以促进药物透膜转运, 提高药物较低的膜渗透率^[7], 从而改善口服药物的渗透和吸收^[8], 提高药物的生物利用度, 减少药品不良反应, 甚至起到一定的损伤修复作用等。因此, 本研究旨在筛选具有较高复合率的ASP-PC复合物(简称ASP-PC)的制备工艺并进行表征, 以期在ASP-PC基础上, 为制备溶解性能改善、生物利用

Δ 基金项目: 贵州省普通高等教育科技创新团队(No. 黔教合人才团队字[2014]31); 贵阳市科技计划项目(No. 筑科合同[20141001]12号)

* 硕士研究生。研究方向: 药物制剂新技术和新剂型。电话: 0851-8841610。E-mail: 254964684@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 药物制剂新技术和新剂型。电话: 0851-8841610。E-mail: 649511230@qq.com

度提高、胃肠道副作用减轻的阿司匹林新递送系统奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

D/Max-2200型全自动X射线衍射仪(日本理学电机公司); Nicolet 6700型傅里叶变换红外分析仪(美国Thermo Fisher Scientific公司); Q50型热重分析仪(美国Waters公司); UV-5800PC型紫外分光光度(UV)计(上海元析仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

ASP原料药[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:D1316056,纯度:99%];注射用大豆PC(批号:20140702,磷脂酰胆碱含量:≥90%;批号:20140703,磷脂酰胆碱含量:≥80%)和注射用蛋黄PC(批号:20150101,磷脂酰胆碱含量:≥80%)均购自上海太伟药业有限公司;四氢呋喃(天津市科密欧化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 ASP-PC的制备及复合率的测定

ASP和PC按照一定比例溶于适量的有机溶剂中,一定温度条件下搅拌反应一定时间后,减压回收有机溶剂;加入适量石油醚,充分溶解后,经0.22 μm微孔滤膜过滤;滤液回收石油醚,真空干燥得到ASP-PC,-20℃冷冻保存。收集滤膜上残余沉淀,干燥12 h并称质量,得到未复合的ASP的量,计算复合率。复合率=($m_a - m_b$)/ $m_a \times 100\%$,式中, m_a 为ASP的初始投药量, m_b 为未复合ASP的量。

2.2 单因素试验筛选处方工艺

2.2.1 制备方法 根据文献[9]以及预试验结果,设定ASP与PC比例为1:3(mol/mol)、四氢呋喃50 mL,考察不同制备方法(室温1 000 r/min磁力搅拌12、24 h;冰浴150 W超声0.5、1 h;58℃下冷凝回流,1 000 r/min磁力搅拌2、3 h)对ASP-PC复合率的影响。不同制备方法对ASP-PC复合率的影响结果见表1。

表1 不同制备方法对ASP-PC复合率的影响

Tab 1 Effects of different preparation methods on the combination ratio of ASP-PC

制备方法	反应时间,h	复合率,%
室温磁力搅拌	12	58.74
室温磁力搅拌	24	61.84
冰浴超声	0.5	70.73
冰浴超声	1	74.56
58℃冷凝回流-磁力搅拌	2	55.61
58℃冷凝回流-磁力搅拌	3	83.56

由表1可知,采用磁力搅拌-冷凝回流法,温度为58℃,反应时间为3 h时,所制ASP-PC复合率最高。

2.2.2 PC种类 按“2.2.1”项下条件制备ASP-PC,考察不同种类PC(磷脂酰胆碱含量≥80%的大豆PC、磷脂酰胆碱含量≥90%的大豆PC和磷脂酰胆碱含量≥80%的蛋黄PC)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制

ASP-PC的复合率分别为54.56%、83.56%、54.20%,由此确定PC为磷脂酰胆碱含量≥90%的大豆PC。

2.2.3 反应溶剂 根据“2.2.1”“2.2.2”项下条件制备ASP-PC,考察不同反应溶剂(四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、无水乙醇、二氯甲烷、丙酮)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制ASP-PC的复合率分别为83.56%、58.03%、31.39%、14.18%、8.49%、61.90%,由此确定反应溶剂为四氢呋喃。

2.2.4 反应时间 根据“2.2.1”~“2.2.3”项下条件制备ASP-PC,考察不同反应时间(1、2、3、3.5、4 h)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制ASP-PC的复合率分别为47.53%、57.32%、83.56%、74.87%、65.28%,由此确定反应时间为3 h。

2.2.5 反应温度 根据“2.2.1”~“2.2.4”项下条件制备ASP-PC,考察不同反应温度(30、40、50、58℃)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制ASP-PC的复合率分别为39.73%、41.81%、57.46%、83.56%,由此确定反应温度为58℃。

2.2.6 溶剂体积 根据“2.2.1”~“2.2.5”项下条件制备ASP-PC,考察不同溶剂体积(30、50、70、90 mL)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制ASP-PC的复合率分别为50.0%、83.56%、59.13%、54.70%,由此确定溶剂体积为50 mL。

2.2.7 ASP与PC比例 根据“2.2.1”~“2.2.6”项下条件制备ASP-PC,考察ASP与PC不同比例(1:1、1:2、1:3、1:3.5、1:4, mol/mol)对ASP-PC复合率的影响。结果显示,所制ASP-PC的复合率分别为12.52%、46.87%、83.56%、84.26%、88.83%,综合考虑确定ASP与PC比例为1:3。

2.3 验证试验

根据“2.2”项下筛选得到的处方工艺:采用磁力搅拌-冷凝回流法,ASP与PC比例为1:3(mol/mol),四氢呋喃50 mL,58℃条件下反应3 h,重复3次,制备3批次的ASP-PC。计算得其平均复合率为83.52%,RSD为1.16%($n=3$),说明该工艺稳定、重复性好。

2.4 ASP-PC的光谱学分析

2.4.1 UV分析 将ASP、PC、ASP与PC物理混合物和ASP-PC分别溶于适量无水乙醇中,以无水乙醇为空白对照,在190~400 nm波长范围内进行UV扫描。结果显示,与ASP和物理混合物比较,ASP-PC没有出现新的吸收峰,但吸光度有所减小。这表明ASP-PC中ASP的发色基团结构未发生变化,但可能由于PC的极性键与ASP发生了相互作用,导致其吸光度减小。光谱图见图1。

2.4.2 热重分析 采用热重分析仪对ASP、PC、ASP与PC物理混合物和ASP-PC进行热重分析,温度范围0~300℃。结果显示,ASP、PC和物理混合物在整个温度范围内质量均有所下降,但ASP-PC的质量变化较小,表明ASP与PC极性端结合使得ASP-PC的熔点较原来的化合物有所上升,使ASP稳定性增大。热重分析图见图2。

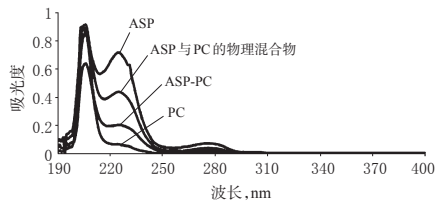


图1 紫外吸收光谱图

Fig 1 UV absorbance spectra

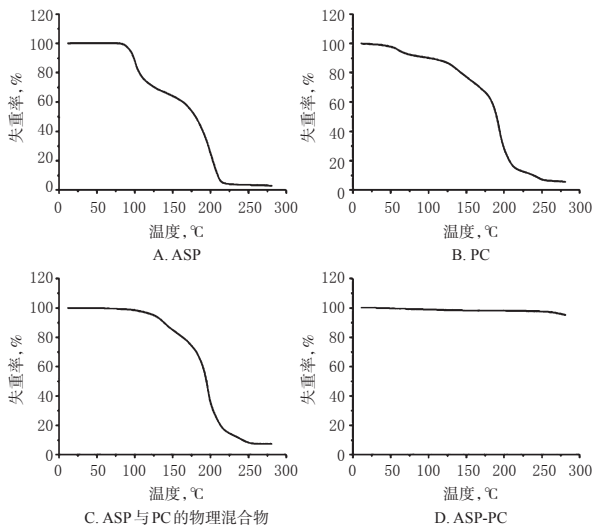


图2 热重分析图

Fig 2 Thermogravimetric analysis spectra

2.4.3 X射线衍射分析 在室温下,采用X射线衍射对ASP、PC、ASP与PC的物理混合物和ASP-PC的晶体状态进行分析。工作电压40 kV,测试条件Cu靶,工作电流40 mA,扫描范围 $0^{\circ}\sim 80^{\circ}$,扫描速度 $4^{\circ}/\text{min}$ 。结果显示,ASP以结晶形式存在;PC表现出无定形的特征;物理混合物表现出ASP结晶的衍射峰,但强度较ASP显著减弱;ASP-PC中ASP结晶的衍射峰均消失,仅在 7.454° 、 15.721° 附近有结晶峰存在,这可能是ASP与PC的极性端之间的相互作用,使部分晶体特征被抑制所致。X射线衍射分析图见图3。

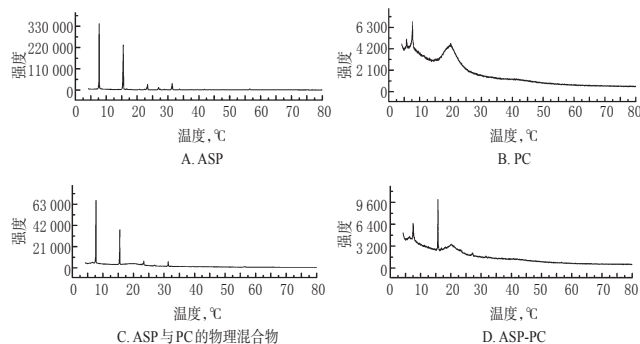


图3 X射线衍射分析图

Fig 3 X-ray diffraction analysis

2.4.4 傅里叶红外光谱分析 采用傅里叶红外光谱仪对ASP、PC、ASP与PC的物理混合物和ASP-PC进行分析,以KBr为参比制剂进行红外光谱分析,波长范围 $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 。结果显示,ASP-PC保留了PC的 1733 cm^{-1}

波长处的特征吸收峰,但其宽度以及峰的强度发生了一定的变化;另外,不再保持 $-\text{COOH}$ 基团的特征峰,其吸收峰的形状和宽度也发生了变化,这可能是ASP当中的某个官能团与PC分子的某些部位发生了相互作用所致。傅里叶红外光谱图见图4。

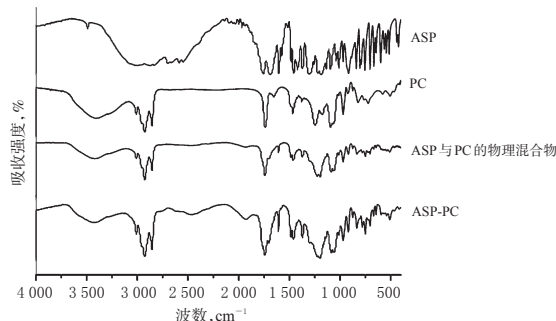


图4 傅里叶红外光谱图

Fig 4 Fourier transform infrared spectra

3 讨论

根据Giraud MN等^[10]研究表明,通过将ASP与二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)制备成复合物,可以明显增加ASP在胃肠道内的吸收,但关于ASP-PC的制备技术的研究尚未见报道。

由于DPPC目前市场价位过高,不利于后期大生产的应用,因此笔者选用了大豆PC和蛋黄PC进行PC种类的考察,结果表明,磷脂酰胆碱含量 $\geq 90\%$ 的大豆PC所制的ASP-PC复合率最高。反应溶剂考察结果表明,介电常数较小的四氢呋喃中所制的ASP-PC复合率较高,可能是由于溶剂的介电常数大,所产生的反向电势也大,相应降低了反应物间的作用力,不利于电荷相反的离子间的化合反应^[9]。随着反应时间的增加,所制的ASP-PC复合率在一定范围内增加,但是当反应时间超过3.0 h后复合率反而有下降的趋势,这可能是由于反应时间过长、PC不稳定引起的。尽管随着反应温度的增加,复合率呈上升的趋势,但是PC在大于 60°C 时易氧化变性,因此反应温度确定为 58°C 。溶剂体积过大时,ASP与PC的碰撞机会减少,而当溶剂体积过小时,PC浓度过高可能会出现饱和,两种情况都会降低复合率,综合考虑确定溶剂体积为50 mL。随着PC加入量的增加,复合率相应增加,当药脂比增加到1:3.5和1:4时复合率虽然较高,但是与1:3时比较增加幅度很小。考虑到PC过多会使ASP-PC干燥变慢且成本增加,因此选择1:3作为ASP和PC的最佳比例。

通过UV、红外光谱、X射线衍射和热重分析可知,ASP和PC的物理混合物只是ASP与PC简单地加和;而ASP-PC中ASP的羧基特征吸收峰基本消失,且没有新的化学键形成,从而推测ASP羧基上的氧可能与PC的极性端通过偶极-偶极作用力而形成了PC复合物。

参考文献

- [1] 安炎霞,闫萃屏.奥美拉唑对阿司匹林抗血小板聚集作用的影响研究[J].实用心脑血管病杂志,2010,18(5):539-540.

西尼地平缓释片的处方优化及释药机制研究

王学霞*, 刘庆娜, 庞淑慧(山东大学第二医院门诊药房, 济南 250033)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)25-3565-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.25.29

摘要 目的:优化西尼地平缓释片处方,研究其释药机制。方法:采用溶剂法制备西尼地平固体分散体,再以羟丙甲纤维素K4M(HPMC K4M)为缓释材料制备西尼地平缓释片。利用单因素法和Box-Behnken响应面法,以2、6、12 h累积释放度的综合评分为指标,筛选西尼地平缓释片处方中HPMC K4M用量、乙基纤维素(EC)用量、乳糖-微晶纤维素(MCC)比例,并进行验证。通过模型拟合的方式考察西尼地平缓释片的释药机制。结果:最优处方为西尼地平固体分散体25%、HPMC K4M 30%、EC 10%、乳糖-MCC(1:1, *m/m*),黏合剂为5%的聚乙烯吡咯烷酮乙醇溶液,润滑剂为0.5%的硬脂酸镁。所制缓释片2、6、12 h时的累积释放度分别为(21.4±3.3)%、(62.9±2.8)%、(85.4±0.5)% (*n*=3),与预期值25%、60%、90%的相对误差分别为14.4%、4.8%、5.1%;释放曲线与一级释药模型拟合度最高,符合non-Fick扩散机制。结论:按优化后的处方成功制得具有缓释作用的西尼地平缓释片。

关键词 西尼地平;缓释片;Box-Behnken响应面法;释药机制

Study on Formulation Optimization and Drug-release Mechanism of Cilnidipine Sustained-release Tablet

WANG Xuexia, LIU Qingna, PANG Shuhui (Dept. of Outpatient Pharmacy, the Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the formulation of Cilnidipine sustained-release tablet, and study its drug-release mechanism. METHODS: Solvent method was adopted to prepare the cilnidipine solid dispersion, then Cilnidipine sustained-release tablet was prepared by using hypromellose K4M (HPMC K4M) as release material. Using comprehensive scores of cumulative release degree in 2, 6, 12 h as indexes, single factor method and Box-Behnken response surface method were used to screen the amounts of HPMC K4M and ethyl cellulose (EC), lactose-microcrystalline cellulose (MCC) ratio in formulation of Cilnidipine sustained-release tablet, and verification test was conducted. The drug-release mechanism of Cilnidipine sustained-release tablet was investigated by model fitting way. RESULTS: The optimal formulation was as follow as 25% of cilnidipine solid dispersion, 30% of HPMC K4M, 10% of EC, lactose-MCC ratio of 1:1 (*m/m*). The adhesive was 5% PVPP ethanol solution and the lubricant was 0.5% magnesium stearate. The cumulative release degrees of prepared sustained-release tablet in 2, 6, 12 h were (21.4±3.3)%, (62.9±2.8)%, (85.4±0.5)% (*n*=3), relative error of which to predicted value 25%, 60%, 90% were 14.4%, 4.8% and 5.1%. Release curve showed the highest fitting degree with the first-order release model, conforming to non-Fick diffusion. CONCLUSIONS: Cilnidipine sustained-release tablet with sustained-release effect is successfully prepared by optimized formulation.

KEYWORDS Cilnidipine; Sustained-release tablet; Box-Behnken response surface method; Drug-release mechanism

- [2] Wang X, Lu J, Khaidakov M, *et al.* Aspirin suppresses cardiac fibroblast proliferation and collagen formation through downregulation of angiotensin type 1 receptor transcription[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 259(3): 346-354.
- [3] 安敏, 张振玉. 阿司匹林对肠上皮细胞的损伤作用及机制[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(13): 1355-1358.
- [4] 程艳丽, 林静, 刘晋红, 等. COX-1、COX-2在小剂量阿司匹林相关性胃黏膜病变中的表达和意义[J]. 胃肠病学, 2012, 17(10): 597-600.
- [5] 史亚军, 吴品江, 许润春, 等. 黄芩苷磷脂复合物基本性质研究[J]. 中草药, 2012, 43(1): 78-82.
- [6] 林密真, 张美敬, 房盛楠, 等. 磷脂复合物技术与制剂新技术在中药中联合应用的研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(34): 4861-4867.
- [7] 余凤玮, 聂绩, 袁野. 穿心莲内酯磷脂复合物的制备及表征[J]. 中国药房, 2016, 27(10): 1409-1411.
- [8] Singh C, Bhatt TD, Gill MS, *et al.* Novel rifampicin-phospholipid complex for tubercular therapy: synthesis, physicochemical characterization and in-vivo evaluation[J]. *Int J Pharm*, 2014, 460(1/2): 220-227.
- [9] 罗娅君, 张琦, 李辉容, 等. 染料木素磷脂复合物的制备及其光谱性质研究[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(20): 1562-1566.
- [10] Giraud MN, Sanduja SK, Felder TB, *et al.* Effect of omeprazole on the bioavailability of unmodified and phospholipid-complexed aspirin in rats[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1997, 11(5): 899-906.

* 药师。研究方向: 药剂学。电话: 0531-85875327。E-mail: 811189636@qq.com

(收稿日期: 2017-02-04 修回日期: 2017-04-05)
(编辑: 邹丽娟)