

**硕士研究生学位论文**

|  |  |
| --- | --- |
| **题 目：** | **黄藤素树脂缓释微囊的制备、** |
|  | **表征及释药特性研究** |

姓 名**：**  周 小 圆学 号**：**  2241040019

院 系**：**  药科学院 专 业**：**  药剂学

导师姓名**：** 林华庆 教授

二 O 一三 年 五 月

**分类号： 密级：**

**UDC：**

黄藤素树脂缓释微囊的制备、表征及释药特性研究

Preparation and in Vitro Release Evaluation of Fibriuretinin-resinate Sustained-Release Microcapsules

姓 名： 周 小 圆学 号： 2241040019

院 系： 药科学院 专 业： 药剂学 研究方向： 缓控释制剂

导师姓名： 林华庆 教授论文提交日期： 2013 年 4 月论文答辩日期： 2013 年 5 月学位授予单位： 广东药学院

二 O 一三 年 五 月

**广东药学院学位论文原创性声明**

本人郑重声明： 本人所呈交的学位论文，系我个人在导师的指导下进行研究工作所取得的成果。除文中已特别加以标注和致谢的地方外，不包含其它个人或机构已经发表或撰写过的研究成果。对本研究做出贡献的其它个人和集体，均已在文中明确说明和致谢。本人充分意识到本声明的法律结果完全由本人承担。

学位论文作者签名：＿＿＿＿＿ 日 期： 年 月 日

**学位论文使用授权的声明**

本人完全了解广东药学院有关保留和使用学位论文的规定，学校有权保留和向有关部门或机构送交本论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。学校可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库，可以采用影印、缩印或其它复印手段保存和汇编本学位论文。

保密论文在解密后适用本声明。

论文作者签名：＿＿＿＿＿ 论文导师签名：＿＿＿

日 期： 年 月

[**摘**要：................................................................................................................................](#_bookmark0)

目 录

[摘](#_Toc686380295)[要](#_Toc686380295) 5

[结论：](#_Toc686380296) 5

**[Abstract](#_Toc686380297)** 6

[前 言](#_Toc686380298) 6

[1 例,浅表性溃疡1例[14]。](#_Toc686380299) 6

[参考文献](#_Toc686380300) 7

[第一部分 黄藤素质量分析方法的建立及处方前研究](#_Toc686380301) 8

[第一章 黄藤素质量分析方法的建立](#_Toc686380302) 8

**[1](#_Toc686380303)** [试药与仪器](#_Toc686380303) 8

**[1.1](#_Toc686380304)** [试药](#_Toc686380304) 8

**[1.2](#_Toc686380305)** [仪器](#_Toc686380305) 9

**[2](#_Toc686380306)** [试验方法与结果](#_Toc686380306) 9

**[2.1](#_Toc686380307)** [黄藤素质量分析方法的建立——含量测定](#_Toc686380307) 9

**[2.1.1](#_Toc686380308)** [含量测定方法](#_Toc686380308)**[——UPLC](#_Toc686380308)** [法](#_Toc686380308) 9

**[2.1.2](#_Toc686380309)** [黄藤素药物树脂含量测定方法学研究](#_Toc686380309) 10

[第二章 黄藤素理化性质的分析](#_Toc686380310) 13

**[1](#_Toc686380311)** [试药与仪器](#_Toc686380311) 13

**[1.1](#_Toc686380312)** [试药](#_Toc686380312) 13

**[1.2](#_Toc686380313)** [仪器](#_Toc686380313) 14

**[2](#_Toc686380314)** [试验方法与结果](#_Toc686380314) 14

**[2.1](#_Toc686380315)** [水分测定](#_Toc686380315) 14

**[2.2](#_Toc686380316)** [不同介质中的溶解度考察](#_Toc686380316) 15

**[2.2.1](#_Toc686380317)** [不同介质的配制](#_Toc686380317) 15

**[2.2.2](#_Toc686380318)** [标准曲线的绘制](#_Toc686380318) 15

**[2.2.3](#_Toc686380319)** [溶解度测定方法](#_Toc686380319) 16

**[2.3](#_Toc686380320)** [表观油水分配系数的测定](#_Toc686380320) 17

**[2.3.1](#_Toc686380321)** [缓冲液的制备](#_Toc686380321) 17

**[2.3.2](#_Toc686380322)** [溶剂的预饱和](#_Toc686380322) 17

**[2.3.3](#_Toc686380323)** [不同浓度的正辛醇饱和的溶液的配制](#_Toc686380323) 17

**[2.3.4](#_Toc686380324)** [不同](#_Toc686380324)**[pH](#_Toc686380324)**[值下油水分配系数测定](#_Toc686380324) 17

**[2.4](#_Toc686380325)** [黄藤素有关物质检查](#_Toc686380325) 19

**[2.4.1](#_Toc686380326)** [薄层色谱检查法（](#_Toc686380326)**[TLC](#_Toc686380326)**[）](#_Toc686380326)**[[4]](#_Toc686380326)** 19

**[2.4.2](#_Toc686380327)** [超高效液相色谱法（](#_Toc686380327)**[UPLC](#_Toc686380327)**[）](#_Toc686380327) 19

**[2.4.3](#_Toc686380328)** [结论](#_Toc686380328) 19

**[5](#_Toc686380329)** [讨论与小结](#_Toc686380329) 20

[参考文献](#_Toc686380330) 20

[第二部分 黄藤素药物树脂复合物的制备及其质量评价](#_Toc686380331) 20

[第一章 黄藤素药物树脂复合物的制备](#_Toc686380332) 20

**[1](#_Toc686380333)** [试药与仪器](#_Toc686380333) 20

**[1.1](#_Toc686380334)** [试药](#_Toc686380334) 20

**[1.2](#_Toc686380335)** [仪器](#_Toc686380335) 21

**[2](#_Toc686380336)** [试验方法与结果](#_Toc686380336) 22

**[2.1](#_Toc686380337)** [不同型号离子交换树脂的筛选](#_Toc686380337) 22

**[2.2](#_Toc686380338)** [反应温度的考察](#_Toc686380338) 23

**[2.3](#_Toc686380339)** [反应药物溶液浓度的考察](#_Toc686380339) 23

**[2.4](#_Toc686380340)** [反应药物溶液](#_Toc686380340)**[pH](#_Toc686380340)**[值的考察](#_Toc686380340) 24

**[2.5](#_Toc686380341)** [水浴振荡转速的考察](#_Toc686380341) 25

**[3](#_Toc686380342)** [制备药物树脂复合物的反应机理探讨](#_Toc686380342) 25

**[3.1](#_Toc686380343)** [离子交换反应动力学](#_Toc686380343) 25

**[3.2](#_Toc686380344)** [离子交换反应热力学](#_Toc686380344) 26

**[4](#_Toc686380345)** [药物树脂复合物的表征及其结合机制](#_Toc686380345) 27

**[5](#_Toc686380346)** [讨论与小结](#_Toc686380346) 28

[参考文献](#_Toc686380347) 29

[第二章 黄藤素药物树脂复合物体的质量评价](#_Toc686380348) 29

**[1](#_Toc686380349)** [试药与仪器](#_Toc686380349) 29

**[1.1](#_Toc686380350)** [试药](#_Toc686380350) 29

**[1.2](#_Toc686380351)** [仪器](#_Toc686380351) 30

**[2](#_Toc686380352)** [黄藤素药物树脂复合物体外释药特性研究](#_Toc686380352) 31

**[2.1](#_Toc686380353)** [释放度测定方法](#_Toc686380353) 31

**[2.2](#_Toc686380354)** [介质离子强度对药物树脂释放影响](#_Toc686380354) 31

**[2.3](#_Toc686380355)** [介质](#_Toc686380355)**[PH](#_Toc686380355)**[值对药物树脂释放影响](#_Toc686380355) 31

**[2.4](#_Toc686380356)** [介质的离子种类对药物树脂释放影响](#_Toc686380356) 31

**[2.5](#_Toc686380357)** [药物树脂复合物释药机理探讨](#_Toc686380357) 32

**[3](#_Toc686380358)** [黄藤素药物树脂复合物体含量测定](#_Toc686380358) 33

**[3.1](#_Toc686380359)** [含量测定方法](#_Toc686380359) 33

**[3.2](#_Toc686380360)** [样品含量测定](#_Toc686380360) 33

**[4](#_Toc686380361)** [讨论](#_Toc686380361) 34

**[4.1](#_Toc686380362)** [样品含量测定提取溶剂的考察](#_Toc686380362) 34

**[4.2](#_Toc686380363)** [样品含量测定提取时间的考察](#_Toc686380363) 34

**[4.3](#_Toc686380364)** [药物树脂释放曲线的拟合](#_Toc686380364) 35

[1 exp　- n 2 Bt](#_Toc686380365) 35

[2 　2 n　1](#_Toc686380366) 35

[3 　 2　　1](#_Toc686380367)*[F](#_Toc686380367)* [3](#_Toc686380367)[1 2](#_Toc686380367) 35

[参考文献](#_Toc686380368) 36

[第三部分 药物树脂微囊化及其质量评价](#_Toc686380369) 36

[第一章 药物树脂微囊化—乳化溶剂挥发法](#_Toc686380370) 36

**[1](#_Toc686380371)** [试药与仪器](#_Toc686380371) 36

**[1.1](#_Toc686380372)** [试药](#_Toc686380372) 36

**[1.2](#_Toc686380373)** [仪器](#_Toc686380373) 37

**[2](#_Toc686380374)** [试验方法与结果](#_Toc686380374) 38

**[2.1](#_Toc686380375)** [药物树脂微囊体外分析方法建立](#_Toc686380375) 38

**[2.2](#_Toc686380376)** [药物树脂微囊制备工艺研究](#_Toc686380376) 44

**[2.2.1](#_Toc686380377)** [黄藤素树脂复合物预处理](#_Toc686380377) 44

**[2.2.2](#_Toc686380378)** [黄藤素树脂微囊制备工艺流程](#_Toc686380378) 44

**[2.2.3](#_Toc686380379)** [三元相图绘制](#_Toc686380379) 44

**[2.2.4](#_Toc686380380)** [微囊制备工艺的考察](#_Toc686380380) 46

**[2.2.5](#_Toc686380381)** [微囊处方的筛选](#_Toc686380381) 47

**[2.2.6](#_Toc686380382)** [微囊处方的优化——中心组合设计](#_Toc686380382) 48

**[2.3](#_Toc686380383)** [优化处方药物树脂微囊质量评价](#_Toc686380383) 62

**[2.3.1](#_Toc686380384)** [粒径的测定及形态观察](#_Toc686380384) 62

**[2.3.2](#_Toc686380385)** [优化处方药物树脂微囊释药行为考察](#_Toc686380385) 63

[（1） 释放介质影响因素考察](#_Toc686380386) 63

[（2） 释放仪器条件考察](#_Toc686380387) 63

[（1） 释放度方法确定](#_Toc686380388) 63

[（2） 专属性实验](#_Toc686380389) 64

[（3） 线性范围考察](#_Toc686380390) 64

[（4） 回收率试验](#_Toc686380391) 64

[（5） 精密度实验](#_Toc686380392) 66

[（6） 稳定性试验](#_Toc686380393) 66

[（6） 释放度均一性考察](#_Toc686380394) 66

[（7） 释放度重现性实验](#_Toc686380395) 66

[参考文献](#_Toc686380396) 67

[第二章 药物树脂微囊化—表面修饰包衣法](#_Toc686380397) 68

**[1](#_Toc686380398)** [试药与仪器](#_Toc686380398) 68

**[1.1](#_Toc686380399)** [试药](#_Toc686380399) 68

**[1.2](#_Toc686380400)** [仪器](#_Toc686380400) 69

**[2](#_Toc686380401)** [试验方法与结果](#_Toc686380401) 70

**[2.1](#_Toc686380402)** [药物树脂微囊体外分析方法建立](#_Toc686380402) 70

**[2.2](#_Toc686380403)** [药物树脂微囊制备工艺研究](#_Toc686380403) 75

**[2.2.1](#_Toc686380404)** [黄藤素树脂复合物预处理](#_Toc686380404) 75

**[2.2.2](#_Toc686380405)** [表面修饰法制备微囊工艺流程](#_Toc686380405) 75

**[2.2.3](#_Toc686380406)** [表面修饰包衣法制备微囊处方工艺评价指标](#_Toc686380406) 75

**[2.2.4](#_Toc686380407)** [表面修饰包衣处方的筛选](#_Toc686380407) 76

**[2.2.5](#_Toc686380408)** [表面修饰包衣法制备微囊工艺的考察](#_Toc686380408) 81

**[2.2.6](#_Toc686380409)** [最优工艺处方验证](#_Toc686380409) 84

**[2](#_Toc686380410)** [讨论与小结](#_Toc686380410) 86

[参考文献](#_Toc686380411) 87

[第四部分 黄藤素树脂微囊初步稳定性研究](#_Toc686380412) 87

**[1](#_Toc686380413)** [试药与仪器](#_Toc686380413) 87

**[1.1](#_Toc686380414)** [试药](#_Toc686380414) 87

**[1.2](#_Toc686380415)** [仪器](#_Toc686380415) 88

**[2](#_Toc686380416)** [影响因素试验](#_Toc686380416) 89

**[2.1](#_Toc686380417)** [高温试验](#_Toc686380417) 89

**[2.2](#_Toc686380418)** [高湿试验](#_Toc686380418) 90

**[2.3](#_Toc686380419)** [光照试验](#_Toc686380419) 91

**[3](#_Toc686380420)** [小结](#_Toc686380420) 92

[小结与展望](#_Toc686380421) 92

[攻读学位期间的工作](#_Toc686380422) 92

[附录](#_Toc686380423) 93

**黄藤素树脂缓释微囊的制备、表征及释药特性研究**研究生：周小圆

导师：林华庆教授

摘 **要**

**目的：**

黄藤素味苦，给药剂量大（400~600mg/日），服用频繁，患者顺应性差。口服给药剂型多存在吸收差，生物利用度低的问题。本课题以黄藤素为模型药物结合离子交换吸附技术、掩味技术及缓控释技术，研制了一种新型黄藤素12h缓释制剂——黄藤素树脂缓释微囊。以延长药物作用时间、提高生物利用度。减少服药次数、降低药物的副作用和提高用药顺应性，方便临床用药。

**方法：**

建立了超高效液相色谱法（UPLC）用于制剂质量分析和体外释放研究，为载药树脂的制备和缓释微囊的处方筛选提供理论依据。采用批式交离子交换法制备药物树脂复合物，通过研究影响离子交换反应速率的各关键因素，确定最优制备工艺，并对离子交换反应的动力学及热力学进行了研究。通过差示扫描热分析法、扫描电镜及红外分析法对药物树脂复合物进行表征。以药物树脂复合物为囊心，通过溶剂挥发法和表面修饰包衣法实现了对小粒径药物树脂复合物的微囊化包衣。通过单因素考察，星点设计实验对溶剂挥发法制备微囊的处方工艺参数进行了优化。首次，通过表面修饰包衣法对黄藤素药物树脂复合物进行表面修饰微囊化以控制药物释放。建立制剂的质量标准，对优化处方工艺制备的微囊进行质量评价，并对制剂的释药机理进行初步探讨。

**结果：**

1．在所建立的色谱条件下，辅料不干扰黄藤素的测定；色谱系统适用性好，专属性强。黄藤素及其结构相近的有关物质盐酸小檗碱分离良好，解决了季铵型生物碱分析常见的峰形拖尾，低保留和低分离度问题，色谱系统简单，分析时间短(5min内)，检测灵敏度高。

2．黄藤素药物树脂复合物的制备工艺的离子交换动力学及热力学分析结果表明：黄藤素在Amberlite IRP88上的离子交换过程是一个放热过程，适当降低反应温度有利于离子交换反应的正向进行，也有利于提高Amberlite IRP88对黄藤素的利用率和药物树脂复合物的载药量。电镜扫描、差示热量扫描和红外分析结果表明药物与离子交换树脂结合方式为化学键结合。药物树脂复合体外释药释药动力学过程是粒扩散过程，可通过Viswannathan方程来描述，其释放不受pH的影响，主要与释放介质的组成及离子强度有关。

3．溶剂挥发法制得的药物树脂微囊平均粒径约104.94μm，载药量为

19.18±0.53%，平均包封率为72%。采用表面修饰包衣法制备微囊，操作简单，成本低，制得微囊平均粒径小，约为72μm，载药量为20.01±0.45%，平均包封率为71%。两种制备方法制得的微囊均具有良好的缓释性能，体外释放缓释12h。并且两种最佳处方工艺制得的微囊同一批次和不同批次间的释放度均一性符合要求，表明制剂工艺稳定，重现性好。

4．药物树脂微囊的体外释药动力学数学模型拟合结果说明：药物树脂微囊化后，体系的释药机制由先前的粒扩散（Viswanathan）控制的释药行为转变为由膜控释（一级模型Film diffusion）为主，树脂内部粒扩散为辅的释药形式。

结论：

本研究以黄藤素为模型药物，研制了给药剂量300mg/次，日服2次的掩味缓释药物树脂微囊，作为一个多单元释药体系，具有释药平稳，易于分剂量等优点，特别适合儿童及老人用药。微囊制备工艺简单，成本低，便于进一步的制剂加工。本制剂能更大程度的发挥黄藤素的临床应用潜力，具有较高的科学技术价值和良好的应用前景。

**关键词**：黄藤素；超高效液相色谱法；离子交换树脂；药物树脂复合物；溶剂挥发法；表面修饰包衣法；缓释微囊；星点实验设计；药物传递系统；药物动力学

**Preparation and in Vitro Release Evaluation of Fibriuretinin-resinate Sustained-Release Microcapsules**

Master Candidate: Zhou Xiaoyuan Supervisor: Professor Lin Huaqing

**Abstract**

**Objective：**

Bitterness, large dosage volume and frequently taking affect the patient compliance of Fibriuretinin. Most of present formulation of Fibriuretinin has the problem of poor oral absorption and low bioavailability. Tablet with Fibriuretinin, as a common used dosage, cause stomach discomfort adverse reactions because of the long stay instomach and the high local concentration. In this paper, Fibriuretinin was used as model drug. Through Ion exchange technology, Taste masking and sustained technology, a new sustained drug-resinate microcapsules with Fibriuretinin was designed which can sustained release for 12 hours. Advantages consist of proper therapeutic value, a stable drug concentration in plasma and least side effect.

**Methods：**

Ultra-performance liquid chromatography(UPLC) was first applied to the determination of the amount of drug loading, drug release and assaying testing, which was proved sensitive and reliable. The drug-resinate was prepared by batch method of ion exchang. The influence of formulation and process on the rate and equilibrium of ion exchang reaction were investigation, and the optimal preparation method was definded. The combination mechanism of Fibriuretinin -resinate was

Investigated by DSC and IR. With IRE as the core material, through solvent evaporation and surface modification coating, microencapsulated coating of DRC a small size (<100μm) was achieved to control drug release better. The use of

Drug-resinate along with a suitable coating material was to prepare a prolonged release type of microcapsules. Based on the result of single factor tests, the optimum coating formula was acquired by central composition design method. The surface modification coating process parameters and formulation parameters of Fibriuretinin-resinate complexes were optimized with material containing quaternary ammonium group ( such as Eudragit RS100, etc.) The quality standard were established to evaluatie the quality of microcapsul preparated by the optimum formulation and technology, and Preliminary study on their release mechanism.

**Result：**

1. The UPLC methodology study showed that there was no impact of excipients on Fibriuretinin assay under the established chromatography condition; The system suitablility test was good, the exclusive was strong. Berberine, a related substance with similar structure to Fibrauretine, have been separated very well. The separation behavior of quaternary ammonium group alkaloids has been obviously improved in band tailing and retention.

2. The couples of factors which could influence on the rate and equilibrium of ion exchange reaction were investigation. Ion exchange process of Fibrauretine on Amberlite IRP-88 is exothermic, so the lower reaction temperature is conductive to the progression of ion exchange reaction, enhancing the drug utilization rate and the drug-loading capacity of drug-resinate complex (DRC). The combination mechanism of DRC was investigation by DSC, infrared analysis, SEM which ascertained that the combination force between Fibrauretine and resin was ionic bond interaction instead of physical adsorption interaction. The DRC release dynamics can be defined by Viswannathan equation. It shows that the release kinetics is a diffusion process which is mainly correlated with composition and ionic strength of the release medium, and its diffusion coefficient affects the drug release.

3. The Drug-resinate microcapsule was prepared through Solvent evaporation and Surface modification coating technology. Under Light and scanning electron microscopy, the microcapsule were smooth, in good balling index and in less adhesion state. the mean particle sizes of microcapsule prepared by two preparations was

104.9µm and 72μm separately. the encapsulation efficiency was 72% and 71% respectively, drug loadings was 19.18±0.53% and 20.01±0.45% respectively. The microcapsule that preparated by two methods has excellent slow release property, it is capable to control the release rate in 12h. The microcapsules which were prepared by the most optimum process either in the same batch or batch to batch were homogeneous, and it was showed that the process was stable and high reproductive.

4．The fitting result of release kinetic model of drug-resinate microcapsules was

Described as below: after drug-resinate was encapsulated, the release mechanism of system was turn to film diffusion mechanism along with Viswannathan mechanism. **Conclusion：**

In this article Fibriuretinin was used as model drug to make a taste-masking drug-resinate microcapsule, which was taken 300mg every time and twice in a day. As a multi-units system, it presented advantages such as steady release rate、little

Stomach-empty effect、easiness to divide.

**Keywords:** Fibriuretinin; Ultra Performance Liquid Chromatography(UPLC); Ion exchange resin; Drug resinate complex; Solvent evaporation; Surface modification coating; Sustained-release microcapsule; Central composite design; Drug delivery system;;; Pharmacokinetics

前 言

**一、模型药物概况**

1.黄藤素的基本结构及性质

黄藤素（Fibriuretinin）又名掌叶防己碱、巴马汀（Palmatine chloride），系一种异喹啉类生物碱。临床上使用的黄藤素单体，通常为其盐酸盐，由其水提物经

NaCl盐析分离和纯化制备得到[1]。其分子式如下：

O

O

N

O

Cl

O

外观为黄色的针状结晶粉末，无嗅，味极苦，在水中略溶，在热水中易溶，微溶于乙醇或氯仿，不溶于乙醚[2]。

2.黄藤素的药效学及药动学研究

黄藤素具有清热解毒功能。抗菌谱广，与β-内酰胺类抗生素（如青霉素和头孢菌素），大环内酯类抗生素（如红霉素）的抗菌谱相似。对多种革兰阳性（G+）和阴性菌（G+）有抑制作用。尤其抗真菌作用佳，对柯氏表皮癣菌等12种真菌有不同程度的抑制作用[3]；对白色念珠菌浅部或深部感染，均有良好疗效。黄藤素还具有较强的抑制霉菌、淋球菌、支原体、衣原体的病原微生物的作用[4]。Yu

Yan等，研究证明黄藤素的抗菌模式类似于利福平和诺氟沙星，抗菌机制作用的靶点在病原微生物核酸[5]。研究发现，黄藤素对来自实体瘤的细胞系展现出巨大的体外细胞毒性，并且抗肿瘤活性在异喹啉生物碱中最强[6]。此外，还有研究证明黄藤素有抗病毒[7]、降血压[8, 9]、保护心肌梗死[10, 11]、提高免疫力[12]等作用。由于黄藤素既可抗心律失常又能增强心肌收缩力，克服其它抗心律失常药使心肌收缩力减弱导致心衰的弊端，常用于治疗顽固性室速、阵发性房扑和传导阻滞等心律失常疾病[12]。目前，黄藤素临床主要用于妇科炎症、菌痢、肠炎、呼吸道及泌

尿道感染、外科感染、眼结膜炎等的治疗。其临床用药剂量大，肌内注射剂每次

20mg，每日两次；口服剂型一次0.2~0.4g，一日0.6~1.2g。药效显著，但在胃肠道的吸收极低（为10%左右）[13]，成为大量进入临床应用的瓶颈。由于包括妇科炎症、肠炎在内的多数炎症，多为慢性病，采用黄藤素的临床治疗方案多采用加大剂量或延长服用时间的方法，效果更好，但容易引起病人胃纳不适的症状。同时口服次数较多，病人服用较为麻烦，而存在易漏服和夜间服药间隔时间过长而不能维持有效血药浓度和发挥持续疗效的治疗上的盲区。临床上，关于黄藤素制剂的不良反应报道多数为患者使用黄藤素注射剂剂产生过敏性反应或类似症状，黄藤素片不良反应报道有致大疱性表皮坏死松解型药疹1例，腹痛大便潜血

### 1 例,浅表性溃疡1例[14]。

周玥等[15]，对黄藤素在大鼠胃肠道中的吸收研究表明，其在大鼠胃肠道均有吸收，但吸收较差，肠道段吸收量与浓度呈线性关系。张伯莎等[16]，研究发现巴马汀在肠道吸收好，在Caco-2细胞模型中的表观渗透系数大，约为（36.36±1.41）

\*10-6cm/s；且100μg/mL的盐酸巴马汀经Caco-2细胞转运，吸收率大于60%。药物的被动吸收与药物在细胞膜上的穿透性及其与脂质膜的亲和力有关，一般脂溶性的药物更有利于被动吸收。由于盐酸巴马汀在酸性介质中以盐的形式存在，在碱性介质中以游离化合物存在，所以在酸性介质中脂溶性必然比原型化合物小很多，故吸收明显减弱，所以偏碱性介质有利于盐酸巴马汀的吸收。谢社平等[17]，在不同pH条件下，测定Caco-2细胞对盐酸巴马汀的转运量，结果显示偏碱性的介质条件有利于Caco-2细胞对盐酸巴马汀的吸收。

3.黄藤素的上市剂型

目前国内已研制的黄藤素制剂有注射液、口服片剂（普通片）、胶囊（软胶囊、微丸胶囊、液体胶囊）、滴丸、颗粒、阴道制剂（洗剂、栓剂、泡腾片）、凝胶剂等。其中原料药黄藤素及其黄藤素片收载于《中华人民共和国药典》2010年版一部，黄藤素注射液收载于《中华人民共和国药典》1977年版一部，临床上以黄藤素普通口服片剂使用量最大。关于黄藤素缓释剂型的报道鲜有，云南植物药业有限公司于2011年获得300mg规格黄藤素缓释片的生产批件。

**二、离子交换树脂应用概况**

离子交换技术于1956年首次提出用于控制药物释放，国内外有许多有关离子交换树脂在药物传递系统中的应用研究和专利申请[18~20]。药物树脂复合物广泛用于药物制剂的多个方面，如药物的掩味、稳定、促溶以及缓释作用等[21~23]。药物树脂复合物不溶于水，因而可以改善或屏蔽药物的苦味。在形形色色的药用矫味剂中，离子交换树脂近年来发展较快[24~26]。国外上市的多种产品使用了

Amberlite型树脂作为药用矫味剂，如史克必成公司的Seroxal口服液[27]、葛兰素公司的雷尼替丁混悬剂[28]以及汽巴嘉基公司的右美沙芬糖浆剂[29]等。最适合作为药用矫味剂的离子交换树脂应为美国Rohm & Hass公司所生产Amberlite IRP

88或Amberlite IRP 64。它们均能有效改善苦味药物的适口性并可延长药物在体内的作用时间，故可作为药物矫味剂的最佳选择之一。有些药物的稳定性通常受到环境因素，如水分、光照、pH等的影响，而制成药物树脂复合物后通常会比药物本身更稳定。对于某些酸不稳定药物药物制成药物树脂复合物后，可改善其稳定性，口服时可避免胃酸的破坏从而提高生物利用度[27]。离子交换树脂作为载体用于延缓药物释放的研究报道及专利较多[27~28]. Hughes等[29]通过研究发现只要解离型药物与离子交换树脂混合在一起，而无需制备药物树脂复合物，也可以达到理想的药物释放行为。因为当解离型药物与未载药的离子交换树脂同时给药到达胃肠道时，药物在被机体吸收的同时也会通过离子交换反应上载到树脂上，直到热力学达到平衡状态为止。然后，由于药物持续不断地被机体吸收，离子交换反应平衡则不断地被破坏，使离子交换反应逆向进行，载药树脂又把药物不断地释放到胃肠液中，从而达到药物缓慢释放的目的。

上市缓控释药物树脂以Pennwalt公司的Pennkinetic的制备技术为主导。如美国上市的苯丙醇胺、扑尔敏复方控释混悬剂（商品名为Corsym），可待因、扑尔敏复方控释混悬剂（商品名为Pentuss）；英国上市的依托度酸控释混悬剂（商品名为Lodine SR）；同时上市产品还有以Amberlite GC 120型树脂为载体的氢溴酸右美沙控释混悬剂（商品名为Delsym）和以Amberlite IRP 69型树脂为载体的双氢可待因控释混悬剂（商品名为Histions）。国内在二十世纪七十年代开始有缓控释药物树脂给药系统的相关研究报道，2000年国内首个药物树脂液体缓释制剂—右美沙芬缓释混悬剂（商品名为小眉）由上海现代制药股份有限公司投产上市。

**三、本课题设计思想及研究意义**

目前，黄藤素的临床剂型以口服给药为主，使用量大，主要存在以下问题：

1.口感差：味苦，引起咽喉不适。

2.胃寒、便秘不宜：给药后，肠道不均匀，局部浓度过高，苦寒的黄藤素使部分患者岀现胃肠道不适反应，食欲减退，对胃寒的患者尤其明显。对肠道蠕动有一定程度的抑制，导致患者便秘，对于便秘患者不适用。

3.疗效不佳：胃肠道吸收差，疗效下降。

4.血药浓度波动大：肠道吸收不均衡，导致血药浓度瞬间过高，致大疱性表皮坏死松懈型药疹的报道。

5.竞争大：片剂目前生产多达50家企业，并且2/3的企在面向全国销售，同剂型品种竞争激烈。

此外，黄藤素注射剂型，给药剂量大，不良反应多，患者顺应性差。

随着药物制剂正在向高、精、尖的目标前进，在研究和生产中，利用新辅料来控制剂型结构、释药速度及其体内吸收与分布，从而提高产品质量和生物利用度，己成为药剂学发展的重要方向之一。药物树脂复合物能够提高药物的稳定性、掩盖药物不良气味、延缓药物的释放等。我国对离子交换树脂在药物传递系统中的应用研究还很有限，能够应用于临床的药物树脂制剂更是寥寥无几。本论文以黄藤素离子交换树脂复合物为囊芯，研究制备具有良好缓释性能的药物树脂微囊。通过对药物树脂复合物的制备工艺进行详尽的研究和阐述相关的影响因素，并对药物树脂复合物的微囊化技术进行系统的研究，建立黄藤素药物树脂复合物的制剂学和药物动力学参数，为黄藤素树脂复合物在药物传递系统中的应用奠定基础。应用该技术开发同类产品及其系列制剂做出了有益的探索和创新，特别对以离子交换树脂为药物载体的缓释制剂的工业化生产具有指导意义。

黄藤素树脂微囊传递系统具有以下优势：

1.为多单位释药体系，服用后均匀分布在胃肠道内，剂量倾出分散化，吸收快，可迅速达治疗有效浓度，且可较长时间维持药效；

2.因释药系统以多单位释药可减少对胃肠道的刺激。释药系统的体内行为是各个微粒释药行为的总和，吸收极少受胃排空速率的影响，因而可减少个体间差异，疗效重现性好。

3.药动学资料表明，黄藤素在胃肠道均有吸收，且碱性条件下吸收好，因此缓释剂型可延长药物胃肠道作用时间，提高黄藤素在胃肠道的吸收，尤其是肠段的吸收。

4.含药树脂微囊可掩盖药物的不良异味，从而增加制剂的可口性、尤适于儿童及吞咽困难的老年患者服用。

5.可使人体的血药浓度维持较长时间，不像普通制剂那样很快下降，避免了普通制剂频繁给药所出现的“峰谷”现象，提高了药物的安全性、有效性和适应性。降低了长期服用黄藤素产生的胃肠道刺激，普通片血药浓度不均衡，在肠道吸收不均衡，导致血药浓度瞬间过高，引起大疱性表皮坏死松懈型药疹。

6.药物释放性能好，血药浓度平稳，可以不同的释药机制延长作用时间、减少给药次数，大大提高了病人的顺应性，使用和携带方便。

7.可减少用药的总剂量，用最小的剂量达到最大的药效，黄藤素原料价格贵，制成缓释制剂节约了成本。促进了黄藤素的新剂型的开发，有效的发挥黄藤素的药理作用。市场潜力大，提高品种竞争力。

参考文献

[1] 马云淑. 不同实验条件对黄藤中掌叶防己碱提取率的影响[J]. 云南中医学院学报, 1998, 21(1): 21-22.

[2] 许海琴, 许列琴, 许江苇. 常用天然提取物质量标准参考手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 40-41.

[3] 丛克家, 信天成, 郭尔玲. 黄藤生物碱的抗霉菌实验及临床观察[J]. 中草药, 1980, 11(12): 558-559.

[4] 陶俊钰, 蒋晓芸, 江昌明. HPLC法测定黄藤素软胶囊中盐酸巴马汀的含量[J]. 安徽医药, 2006, 10(4): 260-261.

[5] Yu Yan, Zhibiao Yi, Yizeng Liang. Main antimicrobial components of Tinospora capillipes and their mode of action against Staphylococcus aureus[J]. Federation of European Biochemical Societies Letters, 2007, (581): 4179-4183.

[6] Wenhua Chen, Chileung Chan, Zongwei Cai, et al. Study on noncovalent complexes of cytotoxic protoberberine alkaloids with double-stranded DNA by using electrospray ionization mass spectrometry[J]. Biorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004, (14): 4955-4959.

[7] Md. Maidul Islam, Rangana Sinha, Gopinatha Suresh Kumar. RNA binding small molecules: Studies on t-RNA binding by cytotoxic plant alkaloids berberine, palmatine and the comparison to ethidium[J]. Biophysical Chemistry, 2007, (125): 508-520.

[8] Yinglin Chang, Sunichi Usami, Mingtsuen Hsieh, et al. Effets of palmatine on isometric force and intracellular free calcium levels of vascular smooth muscle[J]. Life Sciences, 1999, 64(8): 597-606.

[9] T. Schmeller, B. Latz-Brunning, M. Wink. Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical deffence against microorganisms and herbivores[J]. Phytochemistry, 1997, 44(2): 257-266.

[10] 杨秀伟. 实用天然产物手册-生物碱[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 210-211.

[11] Yanqing Wang, Hongmei Zhang, Gencheng Zhang. Studies of the interaction between palmatine hydrochloride and human serum albumin by fluorescence quenching method[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, (41): 1041-1046.

[11] 朱作金, 柯美珍, 李逢春, 等. 黄藤素对大鼠免疫功能的影响[J]. 广西医科大学学报, 1995, 12(4): 518-519.

[12] 孙文基. 天然活性成分简明手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 429.

[13] 周玥, 蒋学华. 黄藤素在大鼠胃肠道中的吸收动力学[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(2): 168-169.

[14] 杨小良, 谢丽莎, 龚志强. 黄藤素的研究综述[J]. 中国医药指南, 2009, (7) 17: 42-44.

[15] 周玥, 蒋学华. 黄藤素在大鼠胃肠道中的吸收动力学[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(2): 168-169.

[16] 张伯莎, 安叡, 王跃, 等. 黄连生物碱类成分经Caco-2 细胞模型转运的协同作用研究[J]. 中成药, 2012, 34(1): 15-19.

[17] 谢社平, 谭晓婧, 毕开顺, 等. 盐酸巴马汀在Caco-2 细胞中的吸收机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 209-213.

[18] Mertin D, Daube G, Edingloh M. Pharmaceutical preparations for oral administration; containing ion-exchange resins loaded with active ingredients and intrinsically viscous gelling agents as thickening agents [P]. CA: 2487648, 2003-12-11.

[19] Irwin WJ, MacHale R, Watts PJ. Drug-delivery by ion exchange Part VII: Release of acidic drugs from anionic exchange resinate complexes[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1990, 16(6): 883-898.

[20] Sriwongjanya M, Bodmeier R. Effect of ion exchange resins on the drug release from matrix tablets[J]. Eur J Pharm Biopharm, 1998, 46(3): 321-327.

[21] 刘宏飞, 王铭洲, 潘卫三. 离子交换树脂在药物制剂中的应用[J]. 中国药剂学杂志, 2007, 5 (4): 216-219.

[22] Hughes L. Ion Exchange Resins. Unique Solutions to Formulation Problems [J]. Pharmaceutical Technology, 2004, 28(6): 20-25.

[23] 李振华, 平其能, 刘国杰. 离子交换树脂控制药物释放研究进展. 离子交换与吸附, 1997, 13 (6): 613-619.

[24] Dirk M; Block W, Hamann HJ. Pharmaceutical preparations comprising iox exchange resins charged with active, ingrdients [P]. US Pat: 2004247560, 2004-12-09.

[25] Gao R, Shao ZJ, Fan ACL, et al. Taste masking of oral quinolone liquid preparations using ion exchange resins [P]. AU Pat: 777993, 2004-11-11.

[26] Sakamoto K, Tsubokura Y, Takamori Y. Aqueous glucosamine salt solution improved in taste and method for producing the same[P]. JP: 2003204770, 2003-07-22.

[27] Leonard GS, Cooper D. Oral liquid compositions coataining paraxetine [P]. US Pat: 5811436, 1998-09-22.

[28] Douglas SJ, Bird FR. Process for the aration of a ranitidine resin absorbate [P]. EP Pat: 0431759, 1991-06-12.

[29] Hughes L, Bellamy SA, Hann C. Extended release of active ingredients [P]. US Pat: 20020176842, 2002-11-28.

# 第一部分 黄藤素质量分析方法的建立及处方前研究

本部分内容结合文献调研通过实验研究，对黄藤素的理化性质进行了考察。首次采用超高效液相法（UPLC）建立了黄藤素的质量分析方法，包括载药树脂及载药树脂微囊的含量测定、有关物质分析和体外释放度的测定。为黄藤素药物树脂微囊的处方设计、优化和工艺质量的控制奠定了基础。

## 第一章 黄藤素质量分析方法的建立

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 盐酸巴马汀对照品 | 中国药品生物制品检定所  批号 110732-200907 |
| 盐酸小檗碱对照品 | 中国药品生物制品检定所  批号 110713-200208 |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz |

|  |  |
| --- | --- |
|  | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D，BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D(Ⅲ) 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |

### **2** 试验方法与结果

#### **2.1** 黄藤素质量分析方法的建立——含量测定

##### **2.1.1** 含量测定方法**——UPLC** 法

**2.1.1.1色谱条件**

色谱柱：Waters ACQUITY uplc®HSS T3 柱（2.1mm x 50 mm, 1.8μm）；流动相：乙腈-0.6%甲酸=30:70;

检测波长：345nm（光电二极管阵列检测器/PDA）柱温：40℃

流速：0.2mL/min进样量：0.5μL

**2.1.1.2含量测定方法**

（1）药物树脂微囊含量测定方法

对照品溶液制备：取盐酸巴马汀50mg，精密称定，置100mL量瓶内，用2%盐酸甲醇溶解，并稀释至刻度，制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品贮备液。精密量取上述贮备液3mL至50mL量瓶，用2%盐酸甲醇溶液稀释至刻度，作为对照品溶液。

供试品溶液制备：

样品前处理：取载药树脂微囊适量置于研钵研磨，破坏包衣微囊壁材；

取载药树脂微囊粉末适量（相当于盐酸巴马汀含量约为40mg），精密称定，置于100mL容量瓶中，加入约2/3体积的2%盐酸甲醇溶液，超声40min（功率300W，频率40KHz），冷却至室温，加2%盐酸甲醇定容；摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇至刻度，摇匀，配置成浓度为

30μg/mL的溶液，用0.22μm微孔滤膜过滤，按“本章2.1.1.1”项下测定，记录

色谱图，外标法计算盐酸巴马汀含量。药物树脂微囊含量测定结果详见第三部分论述。

（2）药物树脂含量测定方法

对照品溶液制备：取盐酸巴马汀50mg，精密称定，置100mL量瓶内，用2%盐酸甲醇溶解，并稀释至刻度，制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品贮备液。精密量取上述贮备液2mL至25mL量瓶，用2%盐酸甲醇溶液稀释至刻度，作为对照品溶液。

供试品溶液制备：

取载药树脂粉末适量（相当于盐酸巴马汀含量约为50mg），精密称定，置于

100mL容量瓶中，加入约2/3体积的2%盐酸甲醇溶液，超声40min（功率300W，频率40KHz），冷却至室温，加2%盐酸甲醇定容；摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇至刻度，摇匀，配置成浓度为40μg/mL的溶液，用0.22μm微孔滤膜过滤，按“本章2.1.1.1”项下测定，记录色谱图，在色谱条件下，辅料离子交换树脂IRP88及提取溶剂对主药含量测定无干扰或达到基线分离。药物树脂含量测定结果详见第二部分论述。

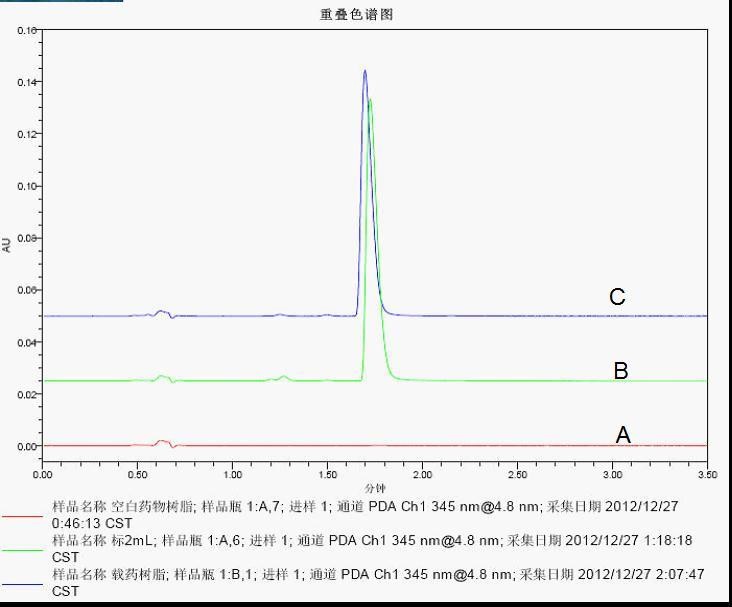


图1-1 药物树脂复合物含量测定超高效液相色谱专属性图

A．IRP88 B.黄藤素C.黄藤素药物树脂复合物

Fig. 1-1 UPLC Chromatogram of pharmaceutical raw materials and excipients

##### **2.1.2** 黄藤素药物树脂含量测定方法学研究

**2.1.2.1检测波长的选择**

精密称取黄藤素对照品（盐酸巴马汀）适量，用2%的盐酸甲醇溶解，制成每1mL含50μg的溶液。精密吸取0.5μL注入超高效液相色谱仪，利用光电二极管阵列检测器（PDA检测器）在200~750nm范围内进行扫描，确定最大吸收波长。同时取适量不含黄藤素的空白辅料（IRP88）进行上述同样操作。PDA扫描图谱见图1-2~1-3。由图可见，对供试品检查项黄藤素药物树脂时，为黄藤素主要成分盐酸巴马汀在225nm、273nm及345nm处有最大吸收，比较辅料（IRP88）吸收，依据2010版中国药典黄藤素片的含量测定方法，选取345nm为检测波长，该检测波长下无辅料（IRP88）吸收干扰。关于载药树脂微囊的检测波长选择，详见第三部分各章分述。

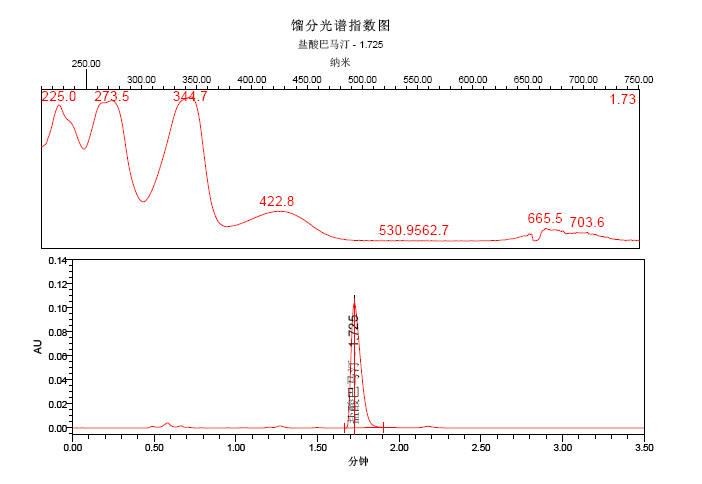


图1-2 盐酸巴马汀馏分光谱指数图



Fig. 1-2 The Fractions spectral index figure of Palmatine hydrochloride in methanol

图1-3 空白辅料馏分光谱指数图

Fig. 1-3 The Fractions spectral index figure of blank expicient in methanol

**2.1.2.2线性范围考察**

取盐酸巴马汀50mg（供含量测定用为86.1%），精密称定，置100mL容量瓶内，用2%盐酸甲醇溶解，并稀释至刻度，制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品储备液（实际配得盐酸巴马汀储备液浓度为490.8μg/mL）。分别精密吸取储备液0.1、0.5、1、2、3、6、10 mL置25mL，用2%盐酸甲醇稀释成盐酸巴马汀浓度为1.963、9.816、19.632、39.264、58.896、117.792、196.320µg/mL的系

列对照品溶液，按“本章2.1.1.1”项下色谱条件依次进样0.5µL。以峰面积（A）对对照品溶液系列浓度（C）进行回归，A=10900C+16400，R2=0.9993（n=7）相关系数*r*＝0.9996；结果表明：盐酸巴马汀在1.963µg/mL~196.320µg/mL范围内，浓度与峰面积呈良好线性关系。结果见图1-4（采用Empower 3处理）。



图1-4 盐酸巴马汀峰面积对浓度标准曲线

Fig. 1-4 Standard curve of concentration and peak area of Palmatine hydrochloride

**2.1.2.3精密度试验**

分别精密吸取盐酸巴马汀对照品储备液0.1、2、10 mL置25mL容量瓶中，用2%盐酸甲醇配制成1.963、39.264、196.320µg/mL的3种高、中、低不同浓度的溶液，按“2.1.1.1”项下色谱条件依次进样0.5µL，分别于1日内连续测定 6

次及连续6天每天重复测定1次，记录盐酸巴马汀的峰面积，计算日内、日间精密度偏差（RSD），结果见表1-1.。

表1-1 日间日内精密度

Tab. 1-1 Precision of the method for determination in methanol（n=6）

| Concentration | RSD(%) | |
| --- | --- | --- |
| µg/mL | Within-day | Between-day |
| 1.963 | 0.98 | 1.01 |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 39.264 | 0.89 | 0.97 |  |
|  | 196.320 | 0.92 | 1.00 |  |

上述结果可见，日内精密度和日间精密度的RSD值均小于2%，表明仪器精密度良好，该方法重现性良好。

**2.1.2.4回收率试验**

精密量取盐酸巴马汀对照品40mg、50mg、60mg各3份，分别置于100mL容量瓶中，按处方比例分别加入空白辅料（IRP88），加适量2%盐酸溶液，超声40min（功率300W，频率40KHz，），冷却至室温，加2%盐酸甲醇定容，摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇定容至刻度，摇匀，配置成浓度为50μg/mL的对照溶液，用0.22μm微孔滤膜过滤，依照“第一部分第一章2.1.1.1”项下方法测定，记录色谱图。以外标法计算，药物树脂复合物（即空白辅料为IRP88时，未微囊化）的回收率试验结果如下：盐酸巴马汀80%、

100%、120%加入量的平均回收率为100.10%，RSD=0.45%。见表1-2。药物树脂复合物微囊回收率试验详见第三部分各章论述。

表 1-2 药物树脂回收率试验结果（n=3）

Tab. 1-2 Results of recovery of the method for determination of drug-resinate（n=3）

|  | Added(mg) | Found(mg) | Recovery(%) | Mean(%) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 40.30 | 40.03 | 99.33 |  |  |
| 80% | 39.68 | 39.98 | 100.76 | 100.13 | 0.73 |
|  | 39.89 | 40.01 | 100.30 |  |  |
|  | 49.67 | 49.98 | 100.62 |  |  |
| 100% | 49.88 | 50.01 | 100.26 | 100.19 | 0.48 |
|  | 50.03 | 49.87 | 99.68 |  |  |
|  | 60.03 | 60.12 | 100.15 |  |  |
| 120% | 59.98 | 59.89 | 99.85 | 99.98 | 0.15 |
|  | 60.03 | 60.00 | 99.95 |  |  |

结果表明，黄藤素药物树脂高、中、低3种浓度的回收率符合要求，RSD值小于1%，该方法可用于测定载药树脂含量准确、可靠。

## 第二章 黄藤素理化性质的分析

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 盐酸巴马汀对照品 | 中国药品生物制品检定所  批号 110732-200907 |
| 盐酸小檗碱对照品 | 中国药品生物制品检定所  批号 110713-200208 |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz  昆ft市超声仪器有限公司 |

|  |  |
| --- | --- |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D，BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D(Ⅲ) 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |
| SHZ-82A 水浴恒温振荡器 | 金坛市恒丰仪器厂 |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |
| PB-10 普及型 pH 计 | 德国 Sartorius |

### **2** 试验方法与结果

#### **2.1** 水分测定

参照2010版《中国药典》一部黄藤素品种水分测定项下要求：参照2010版中国药典一部附录IX H第一法（烘干法）测定，水分不得过15%。

水分测定法第一法：取黄藤素2~5g，平铺于干燥至衡重的扁形称量瓶中，厚度不超过10mm；紧密称定，打开瓶盖在105℃干燥5小时，将瓶盖盖好，移置干燥器中，冷却30分钟，精密称定，再在上述温度干燥1小时，冷却，称重，至连续两次称重的差异不超过5mg为止。根据减失的重量，计算供试品中含水量（%），平行测定3份样品，测定结果如下表1-2-1所示。

表1-2-1 黄藤素水分测定结果

Tab. 1-2-1 The determination result of moisture content in Fibriuretinin

| Sample No. | Moisture content  （%） | Mean(%) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 10.78 |  |  |
| 2 | 10.68 | 10.73 | 0.47 |
| 3 | 10.72 |  |  |

由表1-2-1的测定定结果可知，实验用黄藤素原料药水分含量为10.73%，符合药典标准。

#### **2.2** 不同介质中的溶解度考察

##### **2.2.1** 不同介质的配制

pH6.8及pH7.4的磷酸盐缓冲溶液均参照2010版中国药典二部附录XVD项下配制。

总离子强度为0.15mol/L的不同pH介质的配制方法，如下：

固定每升介质的总离子强度为0.15mol，与生理盐水的离子强度相等。则不同pH的释放介质的配制需参照药典配制的基础上用NaCl调节溶出介质总离子强度。

PH1.0: 0.1mol/LHCl+0.05mol/LNaCl

pH6.8：人工肠液（参照中国药典附录XV D中pH6.8磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.0764mol/L NaCl

pH7.4: pH7.4磷酸盐缓冲溶液（参照中国药典附录XV D中pH7.4磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.1342mol/L NaCl

##### **2.2.2** 标准曲线的绘制

取黄藤素50mg，精密称定，置于100mL量瓶中，加入溶解度实验介质适量，超声溶解，冷却至室温，稀释定容，作为对照品储备液。分别精密量取上述对照品储备液1、3、4、5、7、10、15mL于50mL量瓶中，用相应介质稀释成系列浓度对照品溶液，经0.22μm微孔滤膜过滤，按“第一部分第一章2.1.1.1”项下色谱条件依次进样0.5µL。以峰面积（A）对对照品溶液系列浓度（C）进行回归，结果表明，黄藤素在10~150μg/mL浓度范围内，浓度与峰面积呈良好线性关系。不同介质标准曲线分别如下：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 0.10Mol/L NaCl： | *Y*  8590*x* 11700 | *r=*0.9995 |
| 0.15Mol/L NaCl： | Y  9040x - 5280 | *r=*0.9999 |
| 1.00Mol/L NaCl： | Y  6720x  4500 | *r=*0.9997 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 0.10Mol/L KCl： | Y  9170x - 5170 | *r=*0.9997 |
| 0.10Mol/L HCl： | Y  9040x  8360 | *r=*0.9998 |
| RO 水： | Y  8970x - 5430 | *r=*0.9999 |
| pH6.8PBS： | Y  9070x - 7080 | *r=*0.9999 |
| pH7.4PBS： | Y  9080x - 9030 | *r=*0.9999 |

##### **2.2.3** 溶解度测定方法

取过量黄藤素数份，置于20mL具塞玻璃试管中，分别精密移取各介质10mL，加入试管中。密封，置水浴振荡摇床，保持药物溶液过饱和状态，37±0.5℃恒温振荡72h，经0.22μm微孔滤膜保温过滤，取续滤液适量稀释后，依照“第一部分第一章2.1.1”项下方法记录峰面积，采用外标法，求得黄藤素不同介质中的溶解度，结果如表1-2-2所示。

表1-2-2 黄藤素溶解度测定结果

Tab. 1-2-2 The solubility of Fibriuretinin in various medium(37±0.5℃)

| medium | 72H solubility(mg/mL) |
| --- | --- |
| 0.10Mol/L NaCl | 3.831 |
| 0.15Mol/L NaCl（pH7.0） | 2.481 |
| 1.00Mol/L NaCl | 0.250 |
| 0.10Mol/L KCl | 3.168 |
| 0.10Mol/L HCl | 2.966 |
| RO 水 | 11.714 |
| PH6.8 PBS | 13.231 |
| PH7.4 PBS | 10.429 |
| PH1.0：0.1mol/LHCl+0.05mol/LNaCl | 2.465 |
| PH6.8 PBS+0.0764mol/L NaCl | 11.028 |
| PH7.4 PBS+0.1342mol/L NaCl | 8.685 |

由表1-2-2的测定结果表明，不同离子强度的NaCl溶液中，随着溶液中离子浓度的增大，由于同离子效应的影响，黄藤素的溶解度降低。比较黄藤素在0.10mol/L HCl与pH6.8 PBS中的溶解度可发现，随着pH的增大，黄藤素的溶解度增加，说明黄藤素在碱性条件下解离。比较黄藤素在RO水、pH6.8PBS及pH7.4

PBS中的溶解度可知，在相近pH条件下，同离子效应的影响>pH值的影响。黄藤素在总离子强度为0.15mol的不同介质中的溶解度结果表明，300mg规格黄藤素制剂在这些介质中均可达到漏槽条件。

#### **2.3** 表观油水分配系数的测定

测定油水分配系数的方法有很多，如摇瓶法、HPLC法和产生柱法等。其中以摇瓶法对设备要求低，操作最为简便。正辛醇极性与多数有机体液的极性相差不大，其溶解度参数与生物膜的溶解度参数一致，为21.07 MPa1/2，可以选用正辛醇作为模拟生物膜相的有机溶剂，故本实验中采用正辛醇-水体系测定黄藤素油水分配。并且采用摇瓶法测定油水分配系数要求，至少做两种不同浓度的实验。

##### **2.3.1** 缓冲液的制备

参照2010版中国药典二部附录XVD项下配制pH1.2、2.0、2.5、5.0、6.8、7.4

的缓冲溶液。

##### **2.3.2** 溶剂的预饱和

分别取去离子水（RO水）、“本章2.3.1”项下缓冲液适量，置具塞锥形瓶中，加入等体积的正辛醇，密封，置振荡器上振荡24h，使二者相互饱和，静置分层后，两相分离，得不同pH下的正辛醇饱和的溶液及溶液饱和的正辛醇，分别保存、备用。

##### **2.3.3** 不同浓度的正辛醇饱和的溶液的配制

1.00mg/mL溶液饱和的正辛醇：取黄藤素20mg，精密称定，置20mL量瓶，用溶液饱和的正辛醇溶解，稀释定容。

2.00mg/mL的溶液饱和的正辛醇：取黄藤素40mg，精密称定，置20mL量瓶，用溶液饱和的正辛醇溶解，稀释定容。

##### **2.3.4** 不同**pH**值下油水分配系数测定

参照文献[2, 3]，精密量取“本章2.3.3”项下的溶液饱和的正辛醇5mL于20mL具塞玻璃试管中，作为油相；精密量取相应pH值的正辛醇饱和的溶液10mL，作为油相，加入上述水相，得正辛醇-水溶液（1:2）的分配液。置水浴振荡摇床，37±0.5℃恒温振荡72h，取上层油相，适量稀释，用流动相稀释，经0.22μm微孔滤膜过滤，依照“第一部分第一章2.1.1”项下方法记录峰面积，采用外标法，求得黄藤素的浓度，依据公式1-2-2油水分配系数P，并以做lgP-pH图，结果见表1-2-3和图1-2-1。

Cw C0

- C'

Eq.1-2-1

PCo

CW Co

o

C - C' 

Eq.1-2-2

表1-2-3 黄藤素在不同介质中的表观油水分配系数

o

o

Tab. 1-2-3 The Papp of Fibriuretinin in different medium

| parameter | pH1.2 | pH2.0 | pH2.5 | pH5.0 | pH5.8 | pH6.8 | pH7.4 | 水  pH7.0 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Papp | 0.136 | 0.217 | 0.180 | 6.166 | 6.281 | 12.618 | 9.840 | 10.990 |
| lgP | -0.865 | -0.663 | -0.744 | 0.790 | 0.798 | 1.101 | 0.993 | 1.041 |



图1-2-1 黄藤素在不同介质中的lgp-pH 图

Fig. 1-2-1 The Partition coefficient of Fibriuretinin in*n*-octanol-buffer with various pH system

表观油水分配系数越大，表明药物的亲脂程度越大，越易透过细胞膜。由上述结果可知，黄藤素的表观油水分配系数随介质pH的增大而增大。

#### **2.4** 黄藤素有关物质检查

黄藤素系一种异喹啉类生物碱（季胺盐），有效化学成分为盐酸巴马汀

（Palmatine chloride）[1]，临床广泛应用。黄藤素及其片剂收载于2010年版中国药典二部中，其中黄藤素项下规定，以干燥品盐酸巴马汀含量不得低于90.0%。文献调研发现黄藤素天然提取以及人工合成的产品中均含有结构近似的相关物质，对其的分离分析，中国药典2010版采用薄层色谱法（TLC）检查相关物质盐酸小檗碱。为了更准确有效地测定黄藤素中盐酸巴马汀的含量、控制其相关物质。专属性实验内容对比薄层色谱法，对超高效液相色谱法（UPLC）进行了探讨，为起始原料采购及今后处方工艺的质量控制提供依据。

##### **2.4.1** 薄层色谱检查法（**TLC**）**[4]**

1.色谱条件

层析板：取硅胶G适量，加入3.5%的羧甲基纤维素钠溶液，研匀，铺板，自然干燥，105℃活化1h，得硅胶G薄层板。

展开剂：甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液（12:6:3:3:1）

2.检查盐酸小檗碱

盐酸小檗碱对照品，加甲醇制成每1mL含0.1mg的溶液，作为对照品溶液a。另取盐酸巴马汀对照品，加甲醇制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品溶液b（参考2010版黄藤素检查项下供试品制备方法）。另配置混合对照甲醇溶液，含盐酸小檗碱0.1mg/mL，盐酸巴马汀0.5mg/mL。参照薄层色谱法（2010版中国药典附录ⅥB）试验，吸取上述三种溶液各2μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液（12:6:3:3:1）为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。结果如图1-2-2所示。



图1-2-2 薄层色谱法（TLC）专属性实验图

A.盐酸巴马汀对照(对照b) B.盐酸小檗碱(对照a) C.混合对照（含盐酸巴马汀及盐酸小檗碱）Fig.1-2-2 The specialization of the TLC method

A. Palmatine chloride B. Berberine Hydrchloride C. mixed control of Palmatine chloride and Berberine Hydrchloride

##### **2.4.2** 超高效液相色谱法（**UPLC**）

1.色谱条件

色谱柱：Waters ACQUITY uplc®HSS T3 柱（2.1mm x 50 mm, 1.8μm）；流动相：乙腈-0.6%甲酸=30:70;

检测波长：345nm（光电二极管阵列检测器/PDA）柱温：25℃

流速：0.2mL/min进样量：0.5μL

2.对照品溶液的制备

取盐酸小檗碱对照品10mg，精密称定，置50mL量瓶，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对盐酸小檗碱对照品溶液储备液。精密吸取5mL盐酸小檗碱对照品储备液置25mL容量瓶中，加甲醇用甲醇稀释至刻度，作为对盐酸小檗碱对照品溶液。

另取盐酸巴马汀对照品25mg，精密称定，置50mL量瓶，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为盐酸巴马汀对照品溶液储备液。精密吸取2mL盐酸巴马汀对照品储备液置25mL容量瓶中，加甲醇用甲醇稀释至刻度，作为对盐酸盐酸巴马汀对照品溶液。

分别精密吸取盐酸小檗碱对照品储备液1、0.5、0.125mL置25mL容量瓶中，同时精密吸取2mL盐酸巴马汀对照品储备液加入相应容量瓶中，用甲醇稀释成盐酸小檗碱含量（以盐酸巴马汀计）为20%、10%及2.5%的系列混合对照品溶液。

3.结果如图1-2-3所示：



图1-2-3 超高效液相色谱法（UPLC）专属性实验图

A.盐酸巴马汀对照（对照b）B.盐酸小檗碱（对照a）C.混合对照（含盐酸巴马汀及盐酸小檗碱：1-含2.5%B；2-含10%B；3-含20%B）

Fig. 1-2-3 The specialization of the UPLC method

B. Palmatine chloride B. Berberine Hydrchloride C. mixed control of Palmatine chloride and Berberine Hydrchloride

##### **2.4.3** 结论

对于黄藤素的质量控制，2010版中国药典二部中，黄藤素检查项下要求，供试品色谱中，不得含有与盐酸小檗碱相同颜色的斑点。实验通过配置系列盐酸巴

马汀中盐酸小檗碱不同含量的混合对照溶液，考察薄层色谱和超高效液相色谱的专属性及检测灵敏度。

由薄层检查结果图1-2-2可知，由于365nm检测波长下，盐酸小檗碱及盐酸巴马汀对照品均显亮黄色荧光斑点，两斑点Rf值十分相近，盐酸小檗碱含量为

20%的混合对照在与单个对照品相应Rf位置上的斑点界定模糊，盐酸巴马汀与盐酸小檗碱分离不明显，测定结果干扰大，专属性差。并且盐酸小檗碱显色斑点淡，检测限高。对比超高效液相色谱检查结果图1-2-3可知，盐酸巴马汀与盐酸小檗碱分离良好，当有关物质盐酸小檗碱的含量为2.5%时，仍可检测到盐酸小檗碱峰。减少误判的同时，提高了检测灵敏度。

### **5** 讨论与小结

表观分配系数测定结果与溶解度测定结果相符，黄藤素溶解度随pH增大，解离成游离的生物碱，脂溶性较生物碱盐强，肠道吸收提高。因而提示可将黄藤素制备成缓释制剂，使药物在整个胃肠道逐渐释放，提高胃肠道的吸收及维持稳定的血药浓度。

参考文献

[1] 杨秀伟. 实用天然产物手册-生物碱[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 210-211.

[2] 杨秀丽, 孙进, 何仲贵. 格列吡嗪油水分配系数和平衡溶解度的测定[J]. 中国药剂学杂质, 2009, 7(3): 121-127.

[3] 方大树, 胡思星, 张检, 等. 罗格列酮油水分配系数的测定[J]. 中国药房, 2010, 21(5): 409-411.

[4] 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 48: 391-392.

# 第二部分 黄藤素药物树脂复合物的制备及其质量评价

药物树脂复合物的制备是依据离子交换机理进行的，是一种在固态的树脂与液态的药物溶液接触的界面间（两相体系）发生的可逆性离子交换反应[1]。通常先把药物溶解在水中，再加入适当的离子交换树脂混合在一起，活性药物就会通过离子交换作用吸附到树脂上，然后过滤除去水分，干燥即得药物树脂复合物[2, 3]。

通常，药物树脂复合物的制备方法有两种，分别是批式离子交换法和柱式离子交换法。批式离子交换法(Batchtechnique)，是将纯化后的离子交换树脂直接加到一定体积的药物溶液中进行搅拌，直至离子交换反应达到平衡；柱式离子交换法(Column technique)，是将药物浓溶液缓缓加入离子交换树脂充填柱中，直到流出液药物浓度等于初始溶液药物浓度。药物在溶液中与离子交换树脂进行离子交换反应而形成药物树脂复合物。离子交换树脂复合物的载药量取决于离子交换反应的平衡点，与药物和离子交换树脂所处的溶液环境有关[4, 5]。

可知，批式离子交换法由于反应体系中由树脂交换下来的反离子无法移除，与药物离子产生同离子效应，阻碍离子交换反应的正向进行，相较于柱式离子交换法，由于交换下来的反离子可不断被移除，使得柱式离子交换法具有较高的平衡交换率，制备得到的药物树脂复合物具有相对高的载药量。但是实际操作发现柱式离子交换法操作相繁琐，需要特殊设备（制备洗脱柱），并且当采用粒度细小(<100μm)的药用离子交换树脂时，其渗流速率太慢，人力的浪费和能源的消耗使其无法满足工业化生产的要求，这些负面的影响超过了载药量给企业带来的收益。因而，目前药物树脂复合物的相关上市产品均通过优化批式离子交换法制备，操作简单，无需特殊设备也可得到理想高载药量的药物树脂复合物。

本部分内容以黄藤素为模型药，采用批式离子交换法制备药物树脂复合物。实验对树脂种类进行了筛选，考察及优化了药物树脂复合物制备工艺因素，并对工艺的离子交换动力学及热力学机理进行了探讨，借以指导工艺的设计及优化。

## 第一章 黄藤素药物树脂复合物的制备

药物树脂复合物的形成过程实质上是一个复分解化学过程[6]。离子交换树脂提供的可供交换的离子和药物自身离子一起竞争性地结合离子交换树脂上的相同位点。实际上，离子交换过程是一个可逆的化学反应，正向表示药物上载，逆向表示药物释放。反应的平衡点取决于药物和树脂所处的环境，包括反应溶液的温度、离子强度、pH值、搅拌速率和时间，药物的pKa值、分子量、溶解度，以及离子交换树脂的粒度和交联度等[7~9]。

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| Amberlite IRP69, IRP64, IRP88 | Rohm and Hass Company |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz |

|  |  |
| --- | --- |
|  | 昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D, BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D（Ⅲ） 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |
| SHZ-82A 水浴恒温振荡器 | 金坛市恒丰仪器厂 |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |
| PB-10 普及型 pH 计 | 德国 Sartorius |
| 差示扫描热量分析仪 DSC4000 | Perkin Elmer 公司 |
| 傅里叶红外光谱扫描仪 FT-IR Perkin Elmer precisely spectrum 100  spectrometer | Perkin Elmer |
| HITACHI S-3700 扫描电子显微镜 | 日本日立公司 |

### **2** 试验方法与结果

精密称取黄藤素适量，加去离子水溶解，配制成一定浓度的药物溶液，然后加入定量的AmberliteTM药用级离子交换树脂，在一定温度下搅拌，使药物和树脂进行离子交换，并于设定时间取样1mL至10mL容量瓶，用UP水稀释定容，采用第一部分第一章“2.1.1.1”项下含量测定色谱条件测定黄藤素的含量，分别按式公式2-1（Eq.2-1）和式公式2-2（Eq.2-2）计算树脂的交换药量（Q）及药物利用率（E），直至测得药物浓度基本不变时，反应到达平衡，静置反应溶液，过滤，用纯化水洗涤滤饼，以除去残留的游离药物，50℃真空干燥24h，即得黄藤素树脂复合物。

*Q*  (*C*0  *Ct*) *V*

*WR*

*E**C*0 *Ct*

*C*0

###### Eq.2-1

###### Eq.2-2

Q: t时刻时刻单位质量树脂的交换药量(mg/g)；

C0：初始药物质量浓度(mg/mL)；

Ct: t时刻药物质量浓度(g/L)；

V：药物溶液体积(mL)；

WR：干态树脂质量（g）。

#### **2.1** 不同型号离子交换树脂的筛选

称取不同型号离子交换树脂各500mg，分别加入浓度为1.0mg/mL的200mL黄藤素溶液中，置于恒温水浴振荡器中振荡（313K, 110r/min），并于不同时刻取样，考察不同型号的离子交换树脂的交换药量（Q）和对药物的利用率（E），结果见图2-1和2-2。药物树脂复合物制备的处方参数设计，见表2-1。

表2-1 药物树脂复合物制备的处方参数设计

Tab. 2-1 The selection of IER for Fibriuretinin-resinate complex

| Formulation No. | Formulation 1 | Formulation 2 | Formulation 3 |
| --- | --- | --- | --- |
| Amberlite IRP69 (g) | 0.5 | --- | --- |
| Amberlite IRP64 (g) | --- | 0.5 | --- |
| Amberlite IRP88 (g) | --- | --- | 0.5 |
| Fibriuretinin(g) | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Deionized water(mL) | 200 | 200 | 200 |

由图2-1和2-2可知，IRP88离子交换树脂相较其他两个型号的树脂，达到离子交换平衡的时间更短，交换药量最大。Amberlite IRP88、Amberlite IRP69和Amberlite IRP64的药物利用率分别为96.84%、60.45%和38.49%。因此，本实验优选Amberlite IRP88作为药物载体。



图2-1 不同型号的离子交换树脂的交换药量

Fig. 2-1 The effect of different types of resins on the amount of exchange



图2-2 不同型号的离子交换树脂的对药物的利用率的影响

Fig. 2-2 The effect of different types of resins on percentfibriuretinin-adsorded

#### **2.2** 反应温度的考察

固定除反应温度外的其他实验条件，按照表2-1处方1（formulation1）投料，考察恒温水浴温度为298K、313K、333K，振荡24h后取样，参照“第二部分第一章2”项下方法，计算树脂的交换容量Q和药物利用率E，结果见图2-3。由图2-3可知，随着反应温度的升高，IRP88的交换药量（Q）和对黄藤素的利用率（E）均呈下降趋势，说明温度升高不利于该离子交换反应的正向进行。推测该反应为放热反应，结合生产节约成本的需求，选择在常温条件下（298K）进行离子交换反应。



图2-3 药物利用率E与交换药量Q随反应温度的变化

Fig. 2-3 The effect of reactive temperature on drug adsord（E）and drug loaded（Q）in

codeine-resinate

#### **2.3** 反应药物溶液浓度的考察

固定除反应药物溶液浓度外的其他实验条件，按照表2-2处方处方参数设计投料，在298K下恒温振荡（110r/min），参照“第二部分第一章2”项下方法于不同时间取样，计算树脂的交换容量Q，绘制Q-t曲线图，结果见图2-4。并且，考察IRP88对黄藤素的利用率E与交换容量Q的关系，结果见图2-5。

表2-2 反应药物溶液浓度的考察的处方参数设计

Tab. 2-2 The optimization of drug concentration for fibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Amberlite  IRP88 (g) | Fibriuretinin  (g) | Deionized  water(mL) | Concentration(mg/mL) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Formulation 1 | 0.5 | 0.2 | 200 | 1.0 |
| Formulation 4 | 0.5 | 0.3 | 200 | 1.5 |
| Formulation 5 | 0.5 | 0.4 | 200 | 2.0 |
| Formulation 6 | 0.5 | 0.6 | 200 | 3.0 |



图2-4 不同药物浓度对离子交换树脂IRP88载药的影响

Fig. 2-4 The effect ofdrug concentration on drug loaded in fibriuretinin-resinate



图2-5 交换药量（Q）与药物利用率（E）随药物浓度变化曲线

Fig. 2-5 The effect ofdrug concentration on drug loaded（Q）and drug adsorbed（E）in

fibriuretinin-resinate

由图2-4可知，随着药物浓度的增大，离子交换树脂IRP88的载药量增加，离子交换平衡的时间延长；结合图2-5考虑，对于定量的离子交换树脂IRP88，由于随着药物浓度升高的同时，药物利用率也随之下降，从节约原料和成本的角度，选择交换药量Q与药物利用率E两条线的交点作为最佳药物浓度，即最佳药物浓度为1.5mg/mL。

#### **2.4** 反应药物溶液**pH**值的考察

固定除反应药物溶液pH外的其他实验条件，按照表2-2处方4（formulation

4）投料，采用0.1mol/L的NaOH及0.1mol/L的HCl溶液调节药物溶液pH值分别为2.0、4.5、6.8、7.4、10.0，在298K下恒温振荡（110r/min），参照“第二部分第一章2”项下方法于不同时间取样，计算树脂的交换容量Q，绘制Q-t曲线图，结果见图2-6。



图2-6 反应药物溶液pH值对IRP88树脂载药的影响

Fig. 2-6 The effect of the pH of drug csolution on drug loaded（Q）in

fibriuretinin-resinate

由图2-6可知，在实验设计范围内，弱碱性条件下，离子交换树脂载药量增加，到达交换平衡的时间短，说明此时，药物与离子交换树脂均达到最大解离状态，并且，此前处方前研究对黄藤素溶解度的考察可知药物在pH6.8时溶解度最大，再验证说明在该pH条件下，药物达到最大解离。尽管pH10树脂载药量也大，但是综合考虑药物在碱性条件下的稳定性因素和从节约成本角度出发，故实验拟选择pH6.8为最佳树脂载药的药物溶液pH。

#### **2.5** 水浴振荡转速的考察

固定除振荡转速的外的其他实验条件，按照表2-2处方4（formulation 4）投料，用0.1mol/L的NaOH及0.1mol/L的HCl溶液调节药物溶液pH 6.8，分别设定振荡转速为110r/min、150r/min及200r/min，在298K下恒温振荡24h后取样，参照“第二部分第一章2”项下方法，测得药物利用率E分别为93.54%、94.16%、96.28%，表明振荡转速对离子交换树脂IRP88的载药影响不大，从节约成本和仪器维护的角度，选择震荡速度为110r/min。

### **3** 制备药物树脂复合物的反应机理探讨

药物树脂复合物的形成过程实质上是一个离子交换反应的化学过程。

离子交换的基本理论主要包括两个方面：一是离子交换反应的历程和达到平衡的时间，即离子交换速率问题（离子交换动力学）；二是离子交换反应在一定条件下的反应方向和反应限度，即离子交换平衡问题（离子交换热力学）。

#### **3.1** 离子交换反应动力学

根据多相化学反应理论，离子交换反应理论上应为一级可逆反应。选取最终优化得出药物树脂复合物制备条件，对其离子交换动力学曲线按零级、一级和二级反应进行拟合，由表2-3中相关系数结果显示IRP88离子交换树脂与黄藤素的交换反应符合一级反应。

表2-3 298K温度下IRP88离子交换树脂动力学曲线拟合

Tab. 2-3 The kinetic profiles pattern of anion exehange resin for for fibriuretinin-resinate at 298K

| Reaction order | Regression equation | r |
| --- | --- | --- |
| Zero order reaction | Q -Qt  -5.2637  44.109 | 0.9086 |
| First order reaction | LnQ -Qt   -0.2455t  3.8897 | 0.9747 |
| Second order reaction | 1/Q -Qt   0.0148  0.009 | 0.9605 |

一级交换反应的动力学过程可表示为方程(2-3)：

*In*(*Q* *Qt*)*kt**InQ*

###### Eq.2-3

k：反应速率常数；

*Q*：反应平衡时的交换量；

*Q*t：反应t时刻的交换量。

以ln(Q∞-Qt)对t进行线性回归，得交换反应速率常数k。从表2-4中可知，k随温度的升高而降低，可知温度升高交换反应速率减慢，反应到平衡的时间延长。与图2-3的结果一致，升高温度不利于离子交换反应的正向进行。

表2-4 不同温度条件下的离子交换反应的一级反应动力学方程拟合

Tab. 2-4 The rate constants at different temperature

| T/K | Regression equation | k/h-1 | r |
| --- | --- | --- | --- |
| 298 | LnQ -Qt   -0.2455t  3.8897 | 0.2455 | 0.9747 |
| 313 | LnQ -Qt   -0.1866t  4.1678 | 0.1866 | 0.9788 |
| 333 | LnQ -Qt   -0.1183t  3.6083 | 0.1183 | 0.9886 |

根据Arrhenius方程ln*k* = -*Ea* /*RT*+ lnA[10]，以不同温度条件下lnk对1/*T*进行回归，得到方程：ln*k*=2079.7/*T*-8.362（*r* = 0.9958），由此求得交换反应的反应活化能*Ea* =- 17.290 KJ/mol。

#### **3.2** 离子交换反应热力学

药物树脂复合物的形成过程是固相树脂上的反离子与液相药物溶液中的药物离子在两相体系间进行可逆性离子交换反应，重新分配建立平衡的过程。交换反应达平衡时，离子交换反应的平衡常数*Ke*，可按公式（2-4）计算：

*K* [*D*] *r* [*M*] *s*

*E* [*D*] [*M* ]

###### Eq.2-4

*s* r

式中各项表达：

[*D*] *r*：树脂对药物的吸附量（mmol）；

[*M*] *s*：为溶液中反离子的浓度（mmol/L）；

[*D*] *s*：为溶液中药物的浓度（mmol/L）；

[*M*] *r*：为树脂中反离子的含量（mmol）。

药物溶液中某一离子能否与树脂上的反离子进行交换主要取决于这两种离子与树脂的相对亲和力。*Ke* 越大，药物离子与树脂的亲和力越大，表明药物越

易被树脂吸附交换；*Ke*越小，药物离子与树脂的亲和力越小，表明药物难以被树脂吸附交换。根据树脂的交换容量、药物的初始浓度以及平衡浓度，通过公式2-3可计算出*Ke*。由表2-5可知，随温度的降低*Ke*增大，IRP88离子交换树脂对黄藤素的亲和力增大，越易形成药物树脂复合物。因此，降低温度有助于加快反应进程，增加载药量，这与前述实验结果及离子交换反应动力学结论一致。表2-5 不同温度条件下的离子交换反应平衡常数

Tab. 2-5 The equilibrium constants at different temperature

| T/K | 298 | 313 | 333 |
| --- | --- | --- | --- |
| Ke | 7.747 | 6.705 | 6.016 |

离子交换反应通常伴随着一定的热效应，通过求算吉布斯自由能变、焓变和熵变等热力学参数，可进一步提供交换反应的趋势、程度和驱动力的信息，有助于了解交换反应原理。

标准状态下，离子交换反应达到平衡时，1mol离子交换反应所引起的吉布斯自由能变化△rGθm、焓变即反应热△rHθm和熵变△rSθm可用以下方程计算：

r *G* m *RTInK e*

**

*InKe* r *H* m / *RT* *C*

**

r *S* m (r *H* m r *G* m) / *T*

** ** **

Eq.2-5

Eq.2-6

Eq.2-7

由不同温度下的lnKe对l/T进行回归求得斜率，可求得焓变△rHθm。再根据式（2-5）、（2-7）可计算出吉布斯自由能△rGθm 和熵变△rSθm。各温度下，离子交换树脂IRP88与黄藤素交换反应达平衡时热力学参数见表2-6。

表2-6 各温度下IRP88与黄藤素交换反应到达平衡时热力学参数

Tab. 2-6 The thermodynamic parameters at different temperature

| T/K | △rGθm(kJ/mol) | △rHθm(kJ/mol) | △rSθm (kJ/mol) |
| --- | --- | --- | --- |
| 298 | -5.072 | -5.921 | -0.002847 |
| 313 | -4.952 | -5.921 | -0.003096 |
| 333 | -4.968 | -5.921 | -0.002861 |

由表2-6结果可知，此反应的吉布斯自由能△rGθm<0，表明离子交换树脂与药物的交换反应可正向自发进行；同时由于熵变△rSθm<0，可知该反应为自由能减少、熵减少的过程。焓变△rHθm<0，熵变△rSθm<0，说明焓因素有利于反应，而熵的因素却不利于反应。若降低温度，则减小熵因素的负面影响，甚至可以使

焓因素的正面影响超过熵因素的负面影响，使得该反应在低温下正向自发；同时焓变△rHθ<0表明该反应为放热反应，且随温度的降低-△rGθm值增大，表明降低温度有利于反应进行，进一步证明了前述结论。

m

### **4** 药物树脂复合物的表征及其结合机制

有研究表明，药物树脂的结构可看作是一种均匀分布的“离子态”固体分散体，与离子交换树脂结合的药物在树脂结构中呈现无序均匀分布，药物不以微晶存在，也不以分子形式存在，而是通过与树脂骨架上活性基团结合形成复合物，这种存在形式所借助的结合力并非氢键或其它次键力，而是由于稳定的离子键作用。

本章采用差示热分析(DSC)、红外光谱(Infrared spectra)验证黄藤素与IRP88

树脂的结合方式，采用扫描电镜（SEM）观察其外貌形态。

**4.1****差示扫描热分析（DSC）**

离子交换树脂（IER）具有一定特征熔融吸热峰，并依种类、交联度等因素的不同而各异，当与药物发生离子交换形成药物树脂复合物后，其吸热峰会发生变化，这一特质可通过差示扫描热分析（DSC）进行表征。

采用差示扫描热分析法（DSC）分别记录黄藤素，空白离子交换树脂IRP88，药物树脂复合物（DRC），黄藤素与离子交换树脂物理混合物（1:1, W/W）的差热分析图谱。

测定条件：扫描范围30-300℃；升温速度10.00℃/min；参比物：空白铝干锅；气氛：高纯氮气；样品约重：2.5 mg。测试图谱见图2-7。



图2-7 药物树脂差示热分析图

（A. IRP88；B.黄藤素；C.黄藤素与IRP88物理混合物；D.药物树脂）

Fig. 2-7 The DSC thermograms

A. IRP88; B. Fibriuretinin; C. the Physical mixture; D. Drug resinate complex(DRC)

从热分析结果可知，原料药黄藤素在130℃和210℃左右出现吸热峰；空白离子交换树脂IRP88在100℃左右出现吸热峰；物理混合物中没有出现特殊吸热峰，而是两种单独物质峰的简单叠加；而DRC则在30~330℃测试范围内原料药黄藤素吸热峰均未出现，表明药物与离子交换树脂（IER）结合形成了一种与简单物理混合物不同的新结合物。由此可见二者的结合并非简单的物理吸附，或其他物理作用。

**4.2****红外光谱分析（Infrared spectra）**

将测试样品研磨成粉末，采用KBr压片法，分别记录黄藤素，空白离子交换树脂IRP88，药物树脂复合物（DRC），黄藤素与离子交换树脂物理混合物（1:1, W/W）的红外图谱。

测定条件：波长范围：450~4000cm-1。测试图谱见图2-8，详细图谱见附录。



图2-8 药物树脂红外分析图

（A.黄藤素；B. IRP88；C.黄藤素与IRP88物理混合物；D.药物树脂）

Fig. 2-8 TheInfrared spectragrams

A. Fibriuretinin; B. IRP88; C. the Physical mixture; D. Drug resinate complex(DRC)

从图2-（8

A）图可以看出：黄藤素在3607cm-1为不缔合/缔合（*v*

N-H），3350cm-1

为芳环*v*(=C-H)，2940cm-1 为饱和碳氢键*v*(C-H)，1634cm-1 为芳环与杂环 *v*

（C=C），1604cm-1为*v*(C=N)，1364cm-1、1333cm-1为δ（NC-H）；从图2-8（C）和（D）对比来看，最明显的区别在于（D）图中3607 cm-1ν（N-H）震动峰消失，说明盐酸巴马汀N原子与离子交换树脂羧酸基团形成了离子键，而不是简单的物理混合；在450~1650 cm-1谱段，（D）图峰较（C）图中强度减弱。以上变化可能源于离子交换树脂中羧酸基团与药物离子通过化学键合，从而导致了红外谱图的变化。

**4.3****扫描电镜（SEM）**

取黄藤素药物树脂复合物（DRC）平摊在白纸上用肉眼进行观察，可见其是一种均匀分散的黄棕色粉末。用扫描电镜观察，可见其为性状不规则粒子。如图2-9所示。



图2-9 药物树脂直观图与扫描电镜图

（A.药物树脂直观图；B. 药物树脂扫描电镜图）

Fig. 2-9 Theappearance and micrograph of drug-resinate complex

### **5** 讨论与小结

5.1离子交换树脂是交联共聚物，其结构上具有可解离的酸性或碱性基团，解离型药物与离子交换树脂进行离子交换反应形成不溶性聚合物盐，即：

R NH2 + R-SO3H R SO3H3N A

B COOH + R NH3OH B-COO-NH3-R + H2O

式中，A-NH2和B-COOH分别代表碱性和酸性药物，R-SO3H和R-NH3OH分别代表阳离子型和阴离子型树脂。反应的平衡点取决于药物和树脂所处的环境，包括药物和树脂的pKa值，分子量，溶解度，竞争离子的浓度及溶液的温度等。在工业生产中，药物的利用率和药物树脂复合物的载药量是工艺设计的两个重要参数。

5.2由差示热量扫描和红外光谱分析实验证明，黄藤素与离子交换树脂IRP88通过离子键结合形成复合物，而非简单的物理吸附。

5.3由于IRP88树脂粒径范围约为75μm~150μm，渗流速率太慢，不适用于柱式离子交换法制备药物树脂，因此综合考虑载药过程达平衡时间，载药量及实际操作中的设备要求难易程度，本实验最终采用批式离子交换法制备药物树脂，并对工艺各项参数进行考察，确定最终制备工艺为：离子交换树脂IRP88用量（g）

与起始药物浓度（mg/mL）比为1: 3，调节药物溶液pH=6.8, 298K下充分搅拌

7h，反应到达平衡，静置反应溶液，过滤，用纯化水洗涤滤饼，以除去残留的游离药物，50℃真空干燥24h，即得黄藤素树脂复合物。

5.4在离子交换树脂类型的选择试验中，考察了强酸Na+型的IRP69树脂、弱酸

H+型的IRP64树脂和弱酸K+型的IRP88树脂，结果发现IRP88树脂的交换容量

Q最大，药物利用率E最高。根据酸碱理论，强酸强碱电离能力最强，强酸弱碱和弱酸强碱盐次之，弱酸弱碱盐电离能力最差。同时强酸能够生成弱酸，弱酸不易生成强酸。黄藤素（盐酸巴马汀）是强酸弱碱盐，与IRP69形成强酸弱碱型复合物，解离能力强，不稳定，因此载药能力不强；与IRP64形成弱酸弱碱型复合物和强酸，解离能力虽然弱，但由于反应由弱酸生成强酸，反应困难，反应动力不足，同时随着反应进行，酸的生成降低了反应体系的pH值，药物的溶解度降低，因而载药量也不高；与IRP88形成弱酸弱碱型药物树脂复合物，解离能力弱，载药量高。

参考文献

[1] Amsel L. P., Hinsvark O. N. et al. Recent advances in sustained release technology using ion-exchange polymers[J]. Pharm Technol, 1984, (28).

[2] Mertin D, Daube G, Edingloh M. Pharmaceutical preparation for oral administration, containing ion-exchange resins loaded with active ingredients and intrinsically viscous gelling agents as thickening agents[P]. CA Pat: 2487648, 2003-12-11.

[3] Nasr Z, Misk. Adsorption isotherms in ion exchange reactions. Further treatments and remarks on the application of the Langmuir isotherm[J]. Colloids and Surfaces, 1995, (97): 129-140.

[4] Pongjanyakul T., PrakongPan S., Rungsardthong U., et al. Characteristics and invitro release of dextromethorphan resonates[J]. Powder Technology, 2005, (152): 100-106.

[5] Raghunathan Y., Amsel L., Hinsvark O., Bryant W.. Sustained-release drug delivery system: ⅠCoated ion-exchange resin system for phenylpropanolamine and other drugs[J]. Pharm Sci, 1981, (70): 379-384.

[6] Anand V, Kandarapu R, Garg S. ion-exchange resins: carrying drug delivery forward[J]. Res Focus, 2001, 6(7): 905-914.

[7] W. J. Irwin, K. A. Belaid, H. 0. Alpar. Drug-delivery by ion-echange: PartⅢInteraction of ester pro-drugs of propranolol with cationic exchange resins[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1987, (13): 2047-2066.

[8] O. L. Sprockel, W. Prapaitrakul. Effcet of eluant Properties on drug release from cellulose acetate butyrate-coated drug resin complexes[J]. Int. J. Pharm., 1988, (48): 217-222.

[9] G. E. Boyd, A. W. Adamson, L. S. Mayers. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by organic zeolites: ⅡKinetics[J]. J Am Chem Soc, 1947, (69): 2836-2848.

[10] 侯新朴. 物理化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 208.

## 第二章 黄藤素药物树脂复合物体的质量评价

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| Amberlite IRP69, IRP64, IRP88 | Rohm and Hass Company |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz  昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D, BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D（Ⅲ） 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |
| SHZ-82A 水浴恒温振荡器 | 金坛市恒丰仪器厂 |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |

|  |  |
| --- | --- |
| ZPS-8G 型 智能溶出试验仪 | 天津大学天发科技有限公司 |

### **2** 黄藤素药物树脂复合物体外释药特性研究

与传统释药体系相比，药物树脂复合物与其他制剂的最大差别为其释药过程是离子交换的过程。药物树脂复合物通过药物传递系统进入胃肠道，在胃肠道中与体内Na+、H+、K+、Cl-等内源性离子进行交换，使药物从树脂上释放出来，从而发挥疗效，离子交换反应如下所示：

(H+, Na+, K+) + R-SO -H N+-A R-SO -(H+, Na+, K+) + NH -A

3 3 3 3

Cl-+ R-N+H3OOC-B R-N+H3Cl- +B-COO-

药物树脂复合物的释放，主要与胃肠液中的离子组成及强度有关，很少受

pH和酶活性的影响[1]。

#### **2.1** 释放度测定方法

采用溶出度测定第一法篮法装置（参照《中国药典》2010版二部附录XC），按照释放度测定法第一法（参照《中国药典》2010版二部附录XD）操作。取黄藤素药物树脂适量（约含盐酸巴马汀300mg），置于溶出仪转篮中，恒定转速

100rpm，加入体积为900mL 脱气的溶出介质，设定温度为37±0.5℃定时取样

5mL，并补加同温度、同体积相应释放介质。各时间点的样品，适当稀释，经

0.22μm微孔滤膜滤过，按“第一部分第一章2.1.1.1”项下色谱条件，记录色谱峰，外标法求出各时间点释放介质中的药物浓度，计算药物的累积释放百分率。

#### **2.2** 介质离子强度对药物树脂释放影响

取黄藤素药物树脂复合物适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），按“第二部分第二章2.1”项下释放度考察方法操作，进行试验，设定转速为100rpm，定时取样，分别考察介质为：去离子水（deionic water）、0.05mol/L、0.15mol/L和1.0mol/L

NaCl溶液对药物树脂释放行为的影响。结果见图2-10：



图2-10 介质离子强度对黄藤素药物树脂复合物释放行为的影响

Fig. 2-10 The effect on the release behavior ofFibriuretinin-resinate complex in different ion concentration

由2-10可知，随着释放介质离子强度的增大，黄藤素药物树脂的释放速率及程度均增加，并且载药树脂在去离子水中几乎不释放药物，说明药物树脂的释放存在离子交换的过程。考虑到人体组织液与生理盐水等渗，故释放度的测定选择与体内离子强度相近的0.15mol/LNaCl溶液作为释放介质。

#### **2.3** 介质**PH**值对药物树脂释放影响

由“本章2.2”项下释放介质离子强度考察结果可知，药物树脂微囊的释药存在离子交换行为，即介质中的阳离子与药物树脂上键合的药物阳进行离子交换。因而固定每升体积的释放介质的总离子强度为0.15mol，则不同pH的释放介质的配制需参照药典配制的基础上用NaCl调节溶出介质总离子强度，单位体积为1L的不同pH值的溶出介质的具体配置方法如下：

PH1.0: 0.1mol/LHCl+0.05mol/LNaCl

pH6.8：人工肠液（参照中国药典附录XV D中pH6.8磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.0764mol/L NaCl

PH7.0: 0.15mol/L NaCl

pH7.4: pH7.4磷酸盐缓冲溶液（参照中国药典附录XV D中pH7.4磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.1342mol/L NaCl

取黄藤素树脂复合物适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），配制不同pH值的释放介质，按“第二部分第二章2.1”项下释放度考察方法操作，进行试验，设定转速为100rpm，考察黄藤素药物树脂复合物释药行为。结果见图2-11：



图2-11 介质PH值对释放影响

Fig. 2-11 The effect on the release behavior in different pH solvents

由上述考察结果可知，黄藤素药物树脂复合物在不同pH的等离子强度介质中释药过程相似，说明黄藤素药物树脂释药行为不受pH值影响，为非pH依赖型制剂。

#### **2.4** 介质的离子种类对药物树脂释放影响

取黄藤素树脂复合物适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），按“第二部分第二章2.1”项下释放度考察方法操作，进行试验，配制0.15mol/L等离子浓度的HCl、

NaCl和KCl的释放介质，设定转速为100rpm，考察介质离子种类对黄藤素药物树脂复合物释药行为的影响。结果见图2-12。



图2-12 介质离子种类对黄藤素药物树脂复合物释药行为的影响

Fig. 2-12 The release profiles ofFibriuretinin-resinate complex in different ion media

由图2-12 可知，黄藤素药物树脂在不同种类离子介质中释药快慢顺序为：

H+> Na+> K+，可能是由于H+半径较Na+、K+小，与药物树脂进行离子交换反应的空间位阻小所致。

#### **2.5** 药物树脂复合物释药机理探讨

目前，药物树脂的体外释药过程普遍采用对数方程（Viswannathan方程）进行拟合[1~3]，见公式2-8所示：

- ln1*F*ln*Qt*

*Q*1.596 *d*1.3 *D*0.65*t* 0.65

###### Eq.2-8

式中各项表示：

0

*F*: t时间药物从树脂中释放的百分数；

*Q*0：零时间药物树脂中药物含量（g/g）；

*Q*t: t时间药物树脂中药物含量（g/g）；*D*：药物在树脂中的扩散系数（m2/h）；*d*：数值平均粒径（m）；  *t*：释放时间（min）

其中常数1.59和0.65适合所有的药物树脂，并不需要重新测定。

对黄藤素药物树脂复合物在不同介质中的释药过程用Viswannathan方程进行拟合，结果如表2-7和图2-13、2-14所示。

表2-7 黄藤素药物树脂复合物释药动力学Viswannathan方程拟合结果

Tab. 2-7 The Viswannathan equations of release kinetics ofFibriuretinin-resinate complex

| Release media | Viswannathan equations | Coefficient r | Diffusion coefficient D  （m2/h） |
| --- | --- | --- | --- |
| 0.05Mol/L NaCl | - ln1- F  0.0608t 0.65  0.0374 | 0.9960 | 35.8933 |
| 0.50Mol/L NaCl | - ln1- F  0.1084t 0.65 - 0.0336 | 0.9885 | 86.6661 |
| 1.00Mol/L NaCl | - ln1- F  0.1130t 0.65 - 0.0224 | 0.9888 | 93.1384 |
| 0.15Mol/L NaCl | - ln1- F  0.0843t 0.65 - 0.0022 | 0.9898 | 59.3415 |
| 0.15Mol/L KCl | - ln1- F  0.0738t 0.65  0.0177 | 0.9936 | 48.3592 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 0.15Mol/L HCl | - ln1- F  0.0906t 0.65  0.0264 | 0.9900 | 66.2999 |  |

由表2-7可知，在同种释放介质条件下（均为NaCl溶液），随着NaCl浓度的增加，药物在树脂中的扩散系数*D*增加，*D*1.00mol/LNaCl> *D*0.50mol/LNaCl> *D*0.15mol/LNaCl> *D*0.05mol/LNaCl。相同浓度的NaCl、HCl、KCl作为释放介质时，药物在树脂中的扩散系数*D*的排序为，*D*0.15mol/LHCl> *D*0.15mol/LNaCl> *D*0.15mol/LKCl。扩散系数*D*越大，药物在树脂中的扩散速率越快。由于H+的半径小，与药物的交换速率快，扩散速率快。Na+与K+的化合价相同，但Na+的半径小于K+，故Na+与药物的交换速率较大，扩散速率较快。



图2-13 药物树脂在不同离子强度介质中的释放拟合



Fig. 2-13 Plots of–ln(1-F) vs t0.65 for Fibriuretinin release from drug-resin complex in different ion concentration

图2-14 药物树脂在不同种类离子介质中的释放拟合

Fig. 2-13 Plots of–ln(1-F) vs t0.65 for Fibriuretinin release from drug-resin complex in different ion media

由图2-13和2-14可知，-ln(1-F) ~t0.65曲线有良好的线性关系，药物从树脂中的扩散符合粒扩散原理。

### **3** 黄藤素药物树脂复合物体含量测定

#### **3.1** 含量测定方法

取载药树脂粉末0.160g（相当于盐酸巴马汀含量约为50mg），精密称定，置于100mL容量瓶中，加入约2/3体积的2%盐酸甲醇溶液，超声40min（功率300W，频率40KHz），冷却至室温，加2%盐酸甲醇溶液定容；摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇至刻度，摇匀，用0.22μm微孔滤膜过滤，进样5μL，按“第一部分第一章2.1.1.1”项下色谱条件测定。采用外标法计算样品中盐酸巴马汀含量。

#### **3.2** 样品含量测定

取不同批次黄藤素药物树脂复合物三份（批号为20120911a，20120906b，

20120828c），依照“第二部分第二章3.1”项下方法记录峰面积，采用外标法，求得样品中盐酸巴马汀含量，结果见表2-8。

表 2-8 不同批次药物树脂中盐酸巴马汀含量（n=3）

Tab. 2-8 The determination of palmatine hydrochloride in Fibriuretinin-resinate complex (n=3)

| Lot. | Founded amount of palmatine hydrochloride（mg/g） |
| --- | --- |
| 20120911a | 312.3 |
| 20120906b | 312.1 |
| 20120828c | 311.9 |

### **4** 讨论

#### **4.1** 样品含量测定提取溶剂的考察

由于药物与离子交换树脂是以离子键结合的，所以提取介质中所含离子对药物从离子树脂的洗脱提取起到至关重要的作用。参照2010版中国药典一部黄藤素项目标准，含量测定提取溶剂选用为1%的盐酸甲醇溶剂，由于盐酸中的H+可作为药物树脂的洗脱离子，因而考查盐酸的浓度，检验是否提取完全。

分别称取同批次3份药物树脂粉末各0.160g置于100mL容量瓶中，考察盐酸甲醇浓度分别为1%、2%、3%时，参照“第二部分第二章3.1”项下方法，制备供试品溶液，固定超声时间为60min，比较主成分盐酸巴马汀的测得量的变化。

结果得出，盐酸甲醇浓度分别为1%、2%、3%时，均能检测出主成分盐酸巴马汀峰，并且当盐酸甲醇浓度分别为2%时，测得的盐酸巴马汀量比提取溶剂为

1%盐酸甲醇浓度时增加了大约28%，达到2%或以上时，测得提取盐酸巴马汀量几乎无变化。

#### **4.2** 样品含量测定提取时间的考察

分别称取同批次4份载药树脂粉末各0.160g置于100mL量瓶中，提取溶剂为2%的盐酸甲醇，参照“第二部分第二章3.1”项下方法，制备供试品溶液，考察超声时间为20min、30min、40min、50min时，制剂中盐酸巴马汀是否提取完全，结果见表2-9。

表2-9 供试品超声提取时间的考察结果

Tab. 2-9 The effects of ultrasonic time ofFibriuretinin-resinate complex

| The time of  ultrasound(min) | The added amount of  microcapsules(g) | Founded amount of palmatine  hydrochloride(mg/g) |
| --- | --- | --- |
| 20 | 0.1605 | 188.9 |
| 30 | 0.1598 | 298.8 |
| 40 | 0.1613 | 312.1 |
| 50 | 0.1600 | 311.8 |

由表2-9可知，当提取时间为40min或以上时，制剂中盐酸巴马汀的提取量几乎没有变化。并且观察到树脂有原来棕黄色变为浅奶白色，认为树脂中的盐酸巴马汀已经提取完全。

#### **4.3** 药物树脂释放曲线的拟合

目前，对药物树脂的体外释药过程除了普遍采用的对数方程（Viswannathan方程）进行拟合，还有文献报道了采用粒扩散方程（Boyd方程）及指数扩散方程进行拟合[4]。也有文献指出某些药物树脂复合物的释药行为也可用Higuchi方程进行拟合[5]。粒扩散方程采用的是Fick定律，对药物从均匀球型药物树脂中的扩散控制速率过程进行了描述，认为药物从药物树脂中的释放过程由粒扩散和液

膜扩散两个过程控制，离子交换体系的药物浓度对交换速率及控制机理均有影响，在无限浴条件下粒扩散控制为主要步骤，其表达式见方程2-9。

6

**

F1- Q

Q 1-

### 1 exp　- n 2 Bt

###### Eq.2-9

t 0

B4**2 D

r

### 2 　2 n　1

2

d

p

###### Eq.2-10

n

F：t 时间药物从树脂中的释放百分数；

Q0：零时间药物树脂中药物含量（g/g）；

Qt: t时间药物树脂中药物含量（g/g）；Dr：药物在树脂中的扩散系数（m2/min）；dp：树脂平均粒径（m）； t：释放时间（min）。

由于式 2-9 有无穷大存在，因此通过实验测得的 F 值难以直接估算 B 值。但在限定条件下，根据药物在不同时间的累计释药百分数，可以按方程 2-11 和 2-12 计算：

B2**-**2 *F*

### 3 　 2　1　*F* 3　1 2

(*F*<0.85) Eq.2-11

Bln1*F*0.04977

(*F*> 0.85) Eq.2-12

指数方程[6]对于药物树脂释药行为的描述如方程2-13所示：

FPP expP t 2P t

###### Eq.2-13

1 2 3 4

方程2-13中，P1~P4项是不同的参数，可通过计算机模拟，并且由于药物种类的不同，参数P1~P4随之变化。

综上所述，可知，采用粒扩散方程拟合释放行为要求载药树脂为均匀球型。而本实验中考察的离子交换树脂IRP88、IRP64及IRP69均为不过则状粒子，不适和采用该方程拟合。而采用指数扩散方程对于药物树脂释药行为拟合时，方程的各项参数随拟合药物品种的不同而改变，需要计算机进行模拟，考察项多，计算复杂。同样粒扩散方程也存在计算繁琐的问题。而本实验拟合采用的

Viswannathan方程，普遍适用于各类树脂，方程简单，易于计算。总体说来，药物树脂的释药行为除了受介质的组成和离子强度影响外，还与药物性质和离子交

换树脂的结构等相关，因而对载药树脂的释药行为的拟合需要具体问题具体分析

[6~9]。本实验对黄藤素药物树脂复合物的释药模型的探讨还有待深入研究。

参考文献

[1] 吴静, 王超, 李宁等. 双氯芬酸钠药物树脂复合物的体外释放特性[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(4): 324.

[2] 许真玉, 李三鸣, 王齐放等. 磷酸苯丙呱琳与树脂的交换动力学研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(4): 280-284.

[3] Bhaskar R, Murthy RSR, Miglani BD, et al. Novel method to evaluate diffusion-controled release of drug from resinate[J]. Int J Pharm, 1986, 28(1): 59-66.

[4] 李振华, 平其能, 刘国杰. 离子交换树脂控制药物释放研究进展[J]. 离子交换与吸附, 1997, 13(6): 613-629.

[5] Higuchi T. Mechanism of sustainedaction medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in matrices[J]. J Pharm Sci, 1963, 52(12): 1145-1149.

[6] Gyselinck P., Steyaert H., Severen R V., et al. Drug polymer combinations Part2: Evaluation of some mathematic approaches to drug release from resinates[J]. Pharmazie, 1982, (37): 190.

[7] Horki Tamura. Theorization on ion-exchange equilibria: activity of species in 2-D phases[J]. J Colloid Interface Sci, 2004, (279): 1-22.

[8] Frenning G., Stromme M.. Drug release modeled by dissolution, diffusion and immobilization[J]. Int J Pharm, 2003, 250(1): 137-145.

[9] Goran Frenning. Theoretical analysis of the release of slowly dissolving drugs from spherical matrix system[J]. J Control Release, 2004, (95): 109-117.

# 第三部分 药物树脂微囊化及其质量评价

## 第一章 药物树脂微囊化—乳化溶剂挥发法

乳化溶剂挥发法是在乳化技术基础上发展出来的一种包衣技术，该法通过从乳状液中除去分散相的挥发性溶剂促进囊壁的形成，实现对囊心物包衣，从而制备成微囊。操作简单易行，是药物树脂包衣较为成熟的方法之一。

本章以黄藤素树脂复合物为囊心物，采用乳化溶剂挥发法的传统常用方法

O/O型乳状液连续挥干法对囊心物包衣，制备载药树脂微囊。通过单因素实验，考察了缓释包衣材料、增塑剂、乳化剂、分散相溶剂、囊心物与囊材用量比以及反应温度、搅拌速度、乳化时间等工艺条件对载药树脂微囊制备的影响，并采用中心组合实验设计对处方和制备工艺条件进行了优化。

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| 丙酮 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |

|  |  |
| --- | --- |
| 司盘 80 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 液体石蜡 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 石油醚 | AR 天津市致远化学试剂有限公司 |
| 乙基纤维素 | 药用级，Colorcon Asis Pacific |
| Amberlite IRP69，IRP64，IRP88 | Rohm and Hass Company |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz  昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D, BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D（Ⅲ） 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |
| SHZ-82A 水浴恒温振荡器 | 金坛市恒丰仪器厂 |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |
| PB-10 普及型 pH 计 | 德国 Sartorius |
| 差示扫描热量分析仪 DSC4000 | Perkin Elmer 公司 |
| 傅里叶红外光谱扫描仪 FT-IR Perkin Elmer precisely spectrum 100  spectrometer | Perkin Elmer |
| HITACHI S-3700 扫描电子显微镜 | 日本日立公司 |

### **2** 试验方法与结果

#### **2.1** 药物树脂微囊体外分析方法建立

**2.1.1色谱条件**

色谱条件参见第一部分第一章“2.1.1.1”项。

**2.1.2含量测定方法**

参照“第一部分第一章2.1.1.2”项下方法。空白药物树脂微囊在345nm处对主药成分峰-盐酸巴马汀峰的测定无干扰。如图3-1-1。



图3-1-1 超高效液相色谱专属性图

A．空白微囊B.原料C.载药微囊Fig.3-1-1 The specialization of the UPLC method

A. Blank microcapsules B. Raw material C. Drug-loaded microcapsules

（1）含量测定

方法参见“第一部分第一章2.1.1.2”项下内容，依据“2.1.1”色谱条件，进样0.5μL记录色谱峰，采用外标法，计算含量。

（2）载药量（Drug loading）和包封率（encapsulation efficiency）评价

称取适量载药树脂微囊，参照“本章2.1.2”项下（1）含量测定操作，推算得药物树脂含量即为微囊内外的总药量，代入公式3-1-1，求出微囊载药量。

载药量微囊中盐酸巴马汀的含量100%

微囊总重

（Eq.3-1-1）

同法，称取已知原料药中盐酸巴马汀含量批次的干燥的药物树脂微囊适量，参照“本章2.1.2”项下（1）含量测定方法操作，记录色谱峰，计算微囊内含药量。代入包封率计算公式：

包封率 制备微囊中盐酸巴马汀的含量100%

制备微囊盐酸巴马汀的加入量

（Eq.3-1-2）

（3）精密度实验

取“本章2.1.2”项（1）含量测定项下操作配制供试品液，进样0.5μL，重复6次，记录主成分盐酸巴马汀的峰面积，计算RSD为：0.27%。表明仪器精密度良好。结果见表3-1-1。

表3-1-1 精密度试验结果

Tab. 3-1-1 The result of precision test

| No. | Founded amount of palmatine hydrochloride  （mg/g） | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 192.0 |  |  |
| 2 | 193.1 |  |  |
| 3 | 193.4 | 192.7 | 0.27 |
| 4 | 193.3 |  |  |
| 5 | 192.9 |  |  |
| 6 | 192.7 |  |  |

（4）稳定性实验

取“本章2.1.2”项下（3）精密度实验同一供试品溶液0.5μL，分别于0、

2、6、8、24小时测定，记录主成分盐酸巴马汀的峰面积，计算RSD为0.72%，表明供试品溶液在24 h内稳定。结果见表3-1-2。

表3-1-2 稳定性试验结果

Tab. 3-1-2. The result of stability test

| Time/h | Founded amount of palmatine hydrochloride(mg/g) | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 0 | 192.4 |  |  |
| 2 | 189.0 |  |  |
| 6 | 190.1 | 190.1 | 0.72 |
| 8 | 190.0 |  |  |
| 24 | 189.1 |  |  |

（4）重复性试验

称取同批次药物树脂微囊0.2g样品6份，依“本章2.1.2”项（1）含量测定项下操作测定，以外标一点法计算含量，结果盐酸巴马汀的含量为191.8mg/g，

RSD为0.53%（*n*=6），表明本法重复性良好。结果见表3-1-3。

表3-1-3 重复性试验结果

Tab. 3-1-3 The result of repetitive experiment

| No. | The added amount of microcapsules(g) | Founded amount of palmatine  hydrochloride(mg/g) | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.2026 | 192.7 | 191.8 | 0.53 |
| 2 | 0.2022 | 191.2 |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 3 | 0.2034 | 190.7 |  |
|  | 4 | 0.2088 | 191.6 |  |
|  | 5 | 0.2008 | 191.0 |  |
|  | 6 | 0.2064 | 193.4 |  |

（5）回收率试验

精密量取盐酸巴马汀对照品30mg、40mg、50mg各3份，分别置于100mL容量瓶中，按处方比例分别加入分别加入适量空白树脂微囊，加适量2%盐酸溶液，超声40min（功率300W，频率50KHz，超声过程中补加2%盐酸甲醇溶液补足减失的提取溶剂），冷却至室温，加2%盐酸甲醇定容，摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇至刻度，摇匀，用0.22μm微孔滤膜过滤，进样0.5μL，记录色谱图。以外标法计算，回收率试验结果如下：盐酸巴马汀80%、100%、120%加入量的平均回收率为99.07%，RSD=0.75%。结果见表3-1-4。

表 3-1-4 树脂微囊回收率试验结果（n=3）

Tab. 3-1-4 Results of recovery of the method for determination of microcapsule（n=3）

|  | Added(mg) | Found(mg) | Recovery(%) | Mean(%) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 30.04 | 29.57 | 98.44 |  |  |
| 80% | 29.99 | 29.95 | 99.85 |  |  |
|  | 30.02 | 29.54 | 98.40 |  |  |
|  | 40.05 | 39.68 | 99.08 |  |  |
| 100% | 39.91 | 39.98 | 100.18 | 99.07 | 0.75 |
|  | 39.89 | 39.78 | 99.72 |  |  |
|  | 49.96 | 48.98 | 98.04 |  |  |
| 120% | 50.02 | 49.17 | 98.3 |  |  |
|  | 50.05 | 49.87 | 99.64 |  |  |

结果表明，黄藤素药物树脂微囊高、中、低3种浓度的回收率符合要求，RSD值小于1%，该方法可用于测定载药树脂微囊含量准确、可靠。

**2.1.3释放度测定方法**

采用溶出度测定第一法篮法装置（参照《中国药典》2010 版二部附录 XC），按照释放度测定法第一法（参照《中国药典》2010 版二部附录 XD）操作。取黄藤素药物树脂微囊适量（约含盐酸巴马汀 300mg），置于溶出仪转篮中，恒定转速，加入体积为 900mL 脱气的溶出介质，设定温度为 37±0.5 *℃*定时取样 5mL（取样时间点设定为：0.5、1、2、4、6、8、10、12h），并补加同温度、同体积相应释放介质。前 8h 取样点的样品，经 0.22μm 微孔滤膜滤过，进样 0.5μL；后 4h

取样点的样品，分别精密吸取1mL至10mL容量瓶中，用溶出介质稀释至刻度，经0.22μm微孔滤膜滤过，进样0.5μL；按“2.1.1”项下色谱条件，记录色谱峰，外标法求出各时间点释放介质中的药物浓度，计算药物的累积释放百分率。

**2.1.4粒径的测定及形态的观察**

（1）粒径的测定（参照中国药典附录XIX E）

取药物树脂微囊适量，置于载玻片上，加少量液体石蜡分散，盖上盖玻片固定微囊，用数码体视显微镜进行观察。选取不同观察视野，通过电脑读取存储视野图像。通过Nano measurer 1.2粒径分布计算器软件对存储图像中不少于500个微囊（检测微囊数N）的粒径进行分析，得到树脂微囊平均粒径Dav、某粒径范围内的树脂微囊的平均粒径d及该粒径范围内的树脂微囊数n。由公式3-3计算每个粒径范围的树脂微囊所占的数量百分率P，通过origin8.5软件绘制d-p直方粒径分布图，并进行高斯曲线拟合得到d-p分布高斯曲线图；由公式3-4计算树脂微囊的跨距（span），跨距越小分布愈窄，树脂微囊的粒径愈均匀。

P n

N

（Eq.3-1-3）

spand0*.*9 - d0.1

d0.5

（Eq.3-1-4）

公式3-4中d0.9、d0.1、d0.5分别表示粒径分布图中数量百分率P分别为10%、50%、

90%处的对应的平均粒径。

（1）形态的观察

参照中国药典附录XIX E，将树脂微囊洒在贴有双面胶的金属圆片载物片上，喷金制成扫描电镜标本，在扫描电镜下观察其外形。

#### **2.2** 药物树脂微囊制备工艺研究

##### **2.2.1** 黄藤素树脂复合物预处理

由于药物树脂微囊的制备或存储过程中，存在树脂遇水溶胀可能引起微囊囊膜破裂而导致药物突释的的问题。因此，美国 Pennwalt 公司开发了第二代口服药物树脂控释系统—Pennkinetic®系统，提出：将药物树脂用浸渍剂（impregnating

agent）处理再包囊衣制备成囊的理念，利用该技术开发的树脂液体控释制剂—

右美沙芬（Delsym®）已成功上市[1, 2]。经过浸渍处理的树脂，其水合溶胀特性受到抑制，使其在包衣和释药过程中保持原有的几何形状，维持囊膜的完整性；并且，药物树脂经过浸渍的比未浸渍的药物释放缓慢。目前，常用的浸渍剂主要有下列几种：甘油（glycerin）、聚乙二醇4000（PEG400）、甲基纤维素（MC 15cp）、乳糖（Lactose）。通常将浸渍剂配置成20%（W/V）的水溶液，用量为树脂重量的10%~30%。

**2.2.1.1浸渍工艺**

本实验固定浸渍工艺为：称取黄藤素树脂复合物适量，加入浓度为20%

（W/V）的浸渍剂水溶液，浸渍剂用量为树脂重量的20%，室温下搅拌30min，过滤，40℃烘箱干燥至恒重，得浸渍后的黄藤素药物树脂复合物。考察浸渍剂种类为：甘油（glycerin）、聚乙二醇4000（PEG400）、甲基纤维素（MC 15cp）、乳糖（Lactose）。

**2.2.1.2浸渍效果评价**

（1）溶胀度评价

参照国标GB-5475取干燥的空白树脂、药物树脂复合物和浸渍后的药物树脂适量，分别置于10mL量筒中，拍实，记录干态初始体积V0；分别缓慢加入过量去离子水（Ro水）于量筒中，浸泡24h，记录湿态体积Vt。观察体积的变化，依据公式3-5计算溶胀度P，结果见图3-1-2。

P V1

V0

（Eq.3-1-5）



图3-1-2 不同树脂样品溶胀度比较

Fig. 3-1-2 swelling degree of deferent resin samples

由图3-1-2可知，不同处理方法树脂样品的溶胀度为：空白IRP88树脂>黄藤素树脂复合物>甲基纤维素浸渍药物树脂>乳糖浸渍药物树脂>甘油浸渍药物树脂> PEG4000浸渍药物树脂；由于甲基纤维素和乳糖价格较高，对本实验药物树脂浸渍效果相对甘油和PEG4000差，甘油和PEG4000的浸渍效果相近，因此本实验室采用甘油和PEG4000作为浸渍剂，通过比较干态浸渍药物树脂的释放，选择最优浸渍剂。

（2）浸渍后药物树脂释放考察

最终浸渍工艺确定为：称取黄藤素树脂复合物适量，加入浓度为20%（W/V）的甘油水溶液（浸渍剂用量为树脂重量的20%），室温下搅拌30min，过滤，40℃烘箱干燥至恒重，得浸渍后的黄藤素药物树脂复合物。

参照“第二部分第二章2.1”项下药物树脂复合物释放度测定方法，以0.15mol/L NaCl为溶出介质，考察不同浸渍剂对药物数字化复合物释放行为的影响：

由图3-1-3可知，20%(W/V)甘油水溶液比PEG4000水溶浸渍的药物树脂，延缓药物释放作用更明显。



图3-1-3 不同浸渍处理药物树脂样品释放比较

Fig. 3-1-3 Effect of impregnating agent on release behavior of HT from drug-resin complexes

##### **2.2.2** 黄藤素树脂微囊制备工艺流程



图3-1-4 溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊工艺流程

Fig. 3-1-4 Process flow chart of emulsified solvent volatilization

##### **2.2.3** 三元相图绘制

O/O型乳状液连续挥干法是乳化溶剂挥发法较为常用的成熟技术之一，乳液溶剂系统由：连续相、分散相和乳化剂三部分组成。连续相通常为液体石蜡、矿物油、植物油等不易挥发的惰性液体。分散相通常为丙酮、乙醚、乙酸乙酯等易挥发的对囊材有较好溶解性的溶剂。乳化剂通常是表面活性剂，使分散相和连续相形成乳剂。本实验选取液体石蜡为连续相，丙酮为分散相，司盘80（span80）为表面活性剂作为乳液的基本组成的微囊制备工艺，并且考察了采用低毒溶剂无水乙醇代替丙酮作为囊材溶剂的工艺。首先通过三元相图的绘制，结合制备工艺要求，选择乳化区内的液体石蜡、丙酮（无水乙醇）和司盘80的比例为溶剂系统。

方法：配制液体石蜡和司盘80（span80）不同比例的系列混合溶液，称重，记录，磁力搅拌混匀。搅拌状态下（200rpm）分别依次向该混合溶液溶液体系中缓慢滴加丙酮（无水乙醇），观察物系变化：澄清—浑浊（乳液状）—分层，记

录浑浊和分层时增重，计算丙酮（乙醇）加入量，推算各组分比例，以origin 8.5

软件绘制三元相图。见图3-1-5和3-1-6。

0.00 span80

1.00

0.25 0.75

0.50 0.50

0.75 0.25

Em

1.00 0.00

Acetone 0.00 0.25 0.50 0.75 1.00

Liquid paraffin

图3-1-5 液体石蜡、span80和丙酮的三元相图

Fig. 3-1-5 Temary phase diagram composed of liquid paraffin, span80 and acetone

span80

0.00 1.00

0.25 0.75

0.50 0.50

0.75

Em

0.25

1.00 0.00

Ethanol 0.00 0.25 0.50 0.75 1.00 liquid paraffin

图3-1-6 液体石蜡、span80和乙醇的三元相图

Fig. 3-1-6 Temary phase diagram composed of liquid paraffin, span80 and ethanol

依据三元相图结果，结合制备工艺要求，我们从成乳区确定了各组分的比例如下：

液体石蜡：丙酮：司盘80=14:5:2（质量比）

液体石蜡：乙醇：司盘80=18:3:1（质量比）

组分比例选择依据：选择组分体系点位于乳化区内，体系形成均一乳液，利于乳滴固化微囊成型；从节约成本和环保角度，选取低比例乳化剂和丙酮的组成

体系，并且验证预实验发现大比例丙酮体系挥发时间长，不利于微囊的成型；避开选取位于乳化区边缘的比例，降低非均匀乳状液形成的概率。

##### **2.2.4** 微囊制备工艺的考察

参照“本章2.2.2”项下黄藤素树脂微囊制备工艺流程，以载药量和包封率及微囊释放行为为评价指标，考察工艺过程中搅拌速度、固化温度及固化时间对微囊成囊的影响，得到最优制备工艺。

**2.2.4.1搅拌速度的考察**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；固化温度：35℃；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材：EC（20cp）；囊材浓度：6.0%；囊材与药物树脂质量比：10%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不同搅拌速度：200rpm、300rpm、400rpm、600rpm，对微囊成型性、载药量及包封率的影响。结果见表3-1-5。

表3-1-5 不同搅拌速度对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Agitating speed (rpm) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 200 | 15.50 | 59.1 |
| 300 | 18.89 | 68.3 |
| 400 | 16.38 | 64.5 |
| 600 | 16.56 | 60.6 |

Tab. 3-1-5 The effect of agitating speed on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=4)

从表3-1-5可知，搅拌速度高，微囊的包封率低，可能是由于搅拌速度高，分散相挥发快，囊壁形成不均匀且制备过程搅拌剧烈造成液滴飞溅所致；搅拌速度过慢，药物树脂复合物易相互粘连或粘附在烧杯内壁，微囊收率降低，且分散相挥发缓慢，形成的囊壁虽致密但不均匀，因而微囊的包封率也下降。本实验拟采用300rpm搅拌速度制备微囊。

**2.2.4.2固化温度的考察**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材：EC（20cp）；囊材浓度：

6.0%；囊材与药物树脂质量比：10%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不

同固化温度：25℃、35℃、40℃、45℃，对微囊成型性、载药量及包封率的影响。结果见表3-1-6。

表3-1-6 不同固化温度对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| evaporate temperature(℃) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 25 | 17.98 | 65.62 |
| 35 | 18.89 | 70.54 |
| 40 | 18.35 | 61.71 |
| 45 | 18.08 | 59.89 |

Tab. 3-1-6 The effect of evaporate temperature on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=4)

由表3-1-6可知，随着固化温度的升高，微囊的包封率降低，可能是由于分散相挥发过快，囊壁形成不均匀或是成膜不完整；25℃制备条件下，形成的微囊的载药量和包封率虽然均在可接受范围内，但是由于温度低，分散相挥发完全的时间延长，耗能增加，从节约成本的角度则淘汰25℃制备条件。本实验选择固化温度为35℃。

**2.2.4.2固化时间的考察**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；分散相：丙酮；囊材：EC（20cp）；囊材浓度：6.0%；囊材与药物树脂质量比：10%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不同固化时间：2h、4h、6h、8h、10h，对微囊成型性、载药量及包封率的影响。结果见表3-1-7。

表3-1-7 不同固化时间对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| evaporate time (h) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 2 | 16.86 | 50.17 |
| 4 | 17.56 | 62.14 |
| 6 | 18.89 | 71.16 |
| 8 | 18.78 | 70.93 |
| 10 | 18.76 | 70.57 |

Tab. 3-1-7 The effect of evaporate time on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=5)

由表3-1-7可知，随着固化时间的延长，微囊的载药量及包封率均升高，固化时间为2h和4h时，微囊的载药量和包封率都相对较低，可能是由于分散相挥发过快，囊壁形成不均匀或是成膜不完整所致；当固化时间长达6h时，微囊的包封率升高至71.16%。固化时间超过6h后，包封率无明显变化，说明药物树脂

表面基本上已包裹形成致密囊壁。终上所述，本实验选取的微囊制备固化时间为：

6h。

##### **2.2.5** 微囊处方的筛选

**2.2.5.1囊材种类的筛选**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材浓度：

6.0%；囊材与药物树脂质量比：10%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不同囊材种类：EC(20cp)、RS100、RL100，对微囊成型性、载药量、包封率及释药行为的影响。结果见表3-1-8和图3-1-7。

表3-1-8 不同囊材种类对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| coating materials | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| RS100 | 17.32 | 65.17 |
| RL100 | 17.17 | 63.14 |
| EC(20cp) | 18.89 | 71.16 |

Tab.3-1-8 The effect of coating materials on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=3)



图3-1-7 不同囊材种类对微囊释药行为的影响

Fig. 3-1-7 The effect of coating materials on HT release from drug-resinate microencapsulation

RS100与RL100为肠溶型丙烯酸树脂类包衣材料，两种聚合物中季铵盐的含量分别为5%和10%，季铵盐的含量越高，形成的衣膜的渗透性越好，因而以RL100为囊壁的微囊的释放要快于RS100。制备过程中发现，三种包衣液的粘度大小次序为：EC(20cp)> RS100=RL100，EC（20cp）能更好的混悬药物树脂，

制备过程中树脂微粒间不易黏连，微囊的得率相较其他两种材料高。由于本文拟设计缓释12h的给药剂型，由于RS100释药过于缓慢及其他不足，因而选用EC

（20cp）作为微囊壁材。

**2.2.5.2囊材用量的影响**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材：

EC（20cp）；囊材浓度：6.0%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不同囊材与药物树脂质量比：20%、10%、7%、5%，对微囊成型性及释药行为的影响。结果见图3-1-8。



图3-1-8 囊材与药物树脂不同质量比对微囊释药行为的影响

Fig. 3-8 The effect of ratio of resinates to coating materials on HT release from drug-resinate microencapsulation

由图3-1-8可知，随着囊材与药物树脂质量比例的增加，药物的释放显著减少，尤其是囊材比例增加到20%时，12h累计释放率仅为75%，可能是衣膜增厚，包衣增重所致。囊材比例少时，药物释放较快，缓释效果不佳。本实验拟采用囊材占药物树脂质量百分比为：10%进行微囊的制备。

**2.2.5.3囊材溶液浓度的影响**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材：EC（20cp）；囊材与药物树脂质量比：10%；增塑剂占囊材质量百分比：15%。考察不同囊材浓度：2.0%、4.0%、6.0%、8.0%；对微囊成型性及释药行为的影响。结果见表3-1-9，图3-1-9。

囊材浓度为8.0%时，由于囊材液过于黏稠，制备过程中囊心物-黄藤素树脂复合物粒子粘连过于严重，无法顺利实现药物树脂微囊化。因而考察结果仅有囊材浓度为：2.0%、4.0%、6.0%（W/W）时微囊成型及释药情况。

表3-1-9 不同囊材浓度对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| concentration of coating materials(W/W) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 2% | 17.18 | 61.17 |
| 4% | 19.01 | 70.88 |
| 6% | 18.89 | 71.16 |

Tab.3-1-9 The effect of the concentration of coating materials on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=3)



图3-9不同囊材浓度对微囊释药行为的影响

Fig. 3-1-9 The effect of the concentration of coating materials on HT release from drug-resinate microencapsulation

相对于囊材浓度为4.0%和6%，2%的囊材浓度制得的微囊包封率差一些，可能是由于分散相体积相对于树脂复合物的用量增大，溶剂挥发所需时间长，且2%浓度囊材溶液对于树脂的混悬效果差，不利于微囊囊膜的形成。囊材浓度为

4%和6%时微囊化的各项评价指标结果相似，说明当囊材浓度达到4%时药物树脂复合物已经可以很好地微囊化，并且从节约成本的角度，将4%囊材浓度作为实验优选条件。

**2.2.5.4增塑剂用量的影响**

固定其他成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；固化时间：6h；分散相：丙酮；囊材：EC（20cp）；囊材与药物树脂质量比：10%；囊材浓度：4.0%；增塑剂：柠檬酸

三乙酯。考察增塑剂占囊材质量百分比为：5%、10%、15%、20%，对微囊成型性及释药行为的影响。结果图3-1-10。



图3-1-10 不同增塑剂用量对微囊释药行为的影响

Fig. 3-1-10 The effect of the concentration of plasticizer on HT release from drug-resinate microencapsulation

由图3-1-10可知，增塑剂用量低于15%时，药物释放过快，5%增塑剂用量制备的微囊在6h就达到70%以上。当增塑剂用量达到20%时，微囊释药缓慢，

8h后释药认不足60%，不利于作为抗生素用药的黄藤素发挥疗效。因而本实验采用增塑剂占囊材质量百分比为15%用量，制备黄藤素树脂微囊。

##### **2.2.6** 微囊处方的优化——中心组合设计

**2.2.6.1因素水平的确定**

依据“本章2.2.5”项处方筛选单因素考察结果可知：囊材为EC（20cp），囊材浓度为4%时，对药物树脂具有良好的混悬效果，粘度合适，制备树脂不易黏连。因而固定囊材浓度为4%；选取对微囊包封率和释药行为影响较为显著的因素：固化时间、囊材与囊芯质量比、增塑剂用量，作为考察因素，并确定因素的组成及范围，如表3-1-10所示：

表3-1-10 影响因素的组成及范围

Tab. 3-1-10 The composition and range of the influencing factors(n=3)

| 项目名 | 因素名 | 组成 | 范围 |
| --- | --- | --- | --- |
| A | 固化时间 | ——— | 2h≤A≤8h |
| B | 囊材：囊芯 | EC:IER | 0.05（5%）≤B≤0.2(20%) |
| C | 增塑剂用量 | TEC | 0.05（5%）≤C≤0.2(20%) |

**\***IER：黄藤素药物树脂复合物；TEC：柠檬酸三乙酯；增塑剂用量：增塑剂占囊材的质量百分比。

**2.2.6.2实验设计**

依据中心组合设计原理及实验需要，本实验设计为3因素5水平，3因素分别用A（固化时间，h），B(EC: IER)，C（增塑剂占囊材质量百分比）表示，5个水平代码分别为-1.732、-1、0、1、1.732。中心组合设计实验水平安排如下表3-1-11所示：

表3-1-11 星点设计因素水平表

Tab. 3-1-11 Factors and levels of central composite design

|  |  | 水平 | |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 因素 | -1.732 | -1 | 0 | 1 | 1.732 |
| A | 2 | 3.27 | 5 | 6.73 | 8 |
| B | 0.05 | 0.08 | 0.13 | 0.17 | 0.2 |
| C | 0.05 | 0.08 | 0.13 | 0.17 | 0.2 |

本实验采用“综合加权评分法”，把2、6、12h这3个时间点的累计释放百分率，分别设为Q2、Q6、Q12作为评价指标，进行释放度综合评分。各时间点的权重系数均为1，释放度综合评分E越低，释药效果越佳。评价公式3-1-6表示为：

EQ2 - 30Q6 - 65Q12 - 85

Eq.3-1-6

Q2(%)：2h的累计释放百分率，设指标为30%，考察药物有无突释；Q6(%)：6h的累计释放百分率，设指标为60%，考察制剂释药特征；Q12(%)：12h的累计释放百分率，设指标为85%，考察制剂释药是否完全。实验依据中心组合设计实验安排进行药物树脂微囊制备，参照“本章2.1.3”

项下方法考察微囊溶出，代入公式3-6计算释放度综合评分（E）；并依据“本章

2.1.2“项下方法求得各实验微囊包封率。将上述结果填入中心组合设计表，以微囊包封率（R1）和释放度综合评分（R2）为指标进行3因素5水平实验的实验设计。具体实验安排与实验结果见表3-1-12。

表3-1-12 实验设计及各指标测定结果

Tab. 3-1-12 Experiment design table with experimentally determined values of different

Dependent variables

| NO. |  | Coded |  |  | Physical |  | Response | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| A | B | C | A(h) | B | C | R(1 %) | R2 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 67 | 6 |
| 2 | 1.732 | 0 | 0 | 8 | 0.13 | 0.13 | 65 | 32 |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 3 | 1 | -1 | 1 | 6.73 | 0.08 | 0.17 | 53 | 13 |  |
|  | 4 | -1 | -1 | -1 | 3.27 | 0.08 | 0.08 | 45 | 36 |  |
|  | 5 | 1 | 1 | -1 | 6.73 | 0.17 | 0.08 | 71 | 8 |  |
|  | 6 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 69 | 8 |  |
|  | 7 | 0 | 0 | -1.732 | 5 | 0.13 | 0.05 | 67 | 24 |  |
|  | 8 | 0 | 0 | 1.732 | 5 | 0.13 | 0.2 | 65 | 22 |  |
|  | 9 | -1 | 1 | 1 | 3.27 | 0.17 | 0.17 | 50 | 33 |  |
|  | 10 | -1 | -1 | 1 | 3.27 | 0.08 | 0.17 | 48 | 29 |  |
|  | 11 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 70 | 9 |  |
|  | 12 | 0 | 1.732 | 0 | 5 | 0.2 | 0.13 | 75 | 21 |  |
|  | 13 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 66 | 7 |  |
|  | 14 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 64 | 11 |  |
|  | 15 | -1.732 | 0 | 0 | 2 | 0.13 | 0.13 | 55 | 29 |  |
|  | 16 | 1 | 1 | 1 | 6.73 | 0.17 | 0.17 | 73 | 34 |  |
|  | 17 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0.13 | 0.13 | 63 | 8 |  |
|  | 18 | 1 | -1 | -1 | 6.73 | 0.08 | 0.08 | 51 | 20 |  |
|  | 19 | 0 | -1.732 | 0 | 5 | 0.05 | 0.13 | 45 | 22 |  |
|  | 20 | -1 | 1 | -1 | 3.27 | 0.17 | 0.08 | 66 | 20 |  |

**2.2.6.3模型的拟合**

采用Design-Expert软件对表3-9数据进行分析，以两评价指标：微囊包封率

（R1）和释放度综合评分（R2）为因变量，3因素：A（固化时间，h），A（EC: IER），

C（增塑剂占囊材质量百分比）为自变量，分别用多元线性（Linear）、两因素相互作用（2FI）、二次多项式（Quadratic）和三次多项式（Cubic）模型进行拟合，并以置信度（P）和拟合优度（R2）作为判定标准，选取最优拟合模型。上述各拟合模型的数学表达式如下：

Linear: Rb0b1Ab2Bb3C

2FI: Rb0b1Ab2Bb3Cb4ABb5ACb6BC

Quadratic: Rb0b1Ab2Bb3Cb4ABb5ACb6BCb7 A2b8 B2b9 C2

Rb0b1Ab2Bb3Cb4ABb5Acb6BCb7A2 b8B2

Cubic：

B9C2 b10ABCb11A2 Bb12A2 Cb13AB2

对各模型的拟合分析结果表明：

R1的最优拟合模型为二次多项式（Quadratic）模型，R2最优拟合模型为三次多项式（Cubic）模型。拟合方程如下：

R166.504.02A8.21B - 0.89C2.13AB2.13AC- 2.73BC - 3.10A2 - 3.10B2 -1.10C2

R 2 8.170.87A - 0.29B - 0.58C2.63AB1.63AC6.63BC7.28A 4.28B 4.78C

2 2 2

1.63ABC - 0.086A2 B3.07A2 C - 6.24AB2

上述多项式的方差分析结果见表3-1-13：

表3-1-13 拟合模型方差分析结果

Tab. 3-1-13 The result of ANOVA for multiple model

|  | R1 |  | R2 | |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Source | F | p-value | F | p-value |
|  | Value | Prob>F | Value | Prob>F |
| Model | 9.65 | 0.0007 | 52.33 | < 0.0001 |
| A | 12.53 | 0.0054 | 1.55 | 0.26 |
| B | 52.21 | < 0.0001 | 0.17 | 0.6929 |
| C | 0.61 | 0.4515 | 0.69 | 0.4388 |
| AB | 2 | 0.1879 | 18.95 | 0.0048 |
| AC | 2 | 0.1879 | 7.26 | 0.0358 |
| BC | 2.5 | 0.1452 | 120.67 | < 0.0001 |
| A2 | 8.35 | 0.0161 | 286.7 | < 0.0001 |
| B2 | 8.35 | 0.0161 | 99.05 | < 0.0001 |
| C2 | 1.04 | 0.3308 | 123.56 | < 0.0001 |
| ABC |  |  | 7.26 | 0.0358 |
| A2B |  |  | 8.78E-03 | 0.9284 |
| A2C |  |  | 16.15 | 0.007 |
| AB2 |  |  | 45.9 | 0.0005 |
| Lack of Fit | 3.82 | 0.0838 | 0.88 | 0.3901 |
| R-Squared | 0.8967 |  | 0.9913 | |
| Adj R-Squared | 0.8038 |  | 0.9723 | |
| Pred R-Squared | 0.3157 |  | 0.7102 | |
| Adeq Precision | 10.551 |  | 19.765 | |

Design-Expert 软件对失拟值（Lack of Fit）给出的评价均为不显著（not

significant），说明方程拟合度高。对两个模型进行方程拟合的多元线性回归分析，二者相关系数分别为：*r*1=0.9469，*r*2=0.9956，说明相关性好；两模型的信噪比

（Adeq Precision）都很高，说明两模型均可用于实验预测。R1模型的失拟值（Lack of Fit）较大，且Adj R-Squared值与Pred R-Squared值相差比较大，说明方程需要进一步优化。因而考虑在原有拟合方程的基础上，通过手动删减不显著项

（P> 0.05）进行方程优化。但是由于全部去掉不显著项的方法，是以增加方程的

失拟程度为代价的，因而可以尝试在此基础上增加一个交互项，以减小Lack of Fit

值，提高方程的拟合效果。优化结果如下，见表3-1-14：

表3-1-14 优化拟合模型方差分析结果

Tab. 3-1-14 The result of ANOVA for the optimized multiple model

|  | R1 |  | R2 | |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Source | F | p-value | F | p-value |
|  | Value | Prob>F | Value | Prob>F |
| Model | 14.52 | < 0.0001 | 73.81 | < 0.0001 |
| A | 11.21 | 0.0048 | 1.85 | 0.2111 |
| B | 46.69 | < 0.0001 | 0.66 | 0.4412 |
| C | ——— | ——— | ——— | ——— |
| AB | ——— | ——— | 22.63 | 0.0014 |
| AC | ——— | ——— | 8.67 | 0.0186 |
| BC | 2.23 | 0.1574 | 144.17 | < 0.0001 |
| A2 | 6.93 | 0.0197 | 342.53 | < 0.0001 |
| B2 | 6.93 | 0.0197 | 118.34 | < 0.0001 |
| C2 | ——— | ——— | 147.62 | < 0.0001 |
| ABC |  |  | 8.67 | 0.0186 |
| A2B |  |  | ——— | ——— |
| A2C |  |  | ——— | ——— |
| AB2 |  |  | 54.83 | < 0.0001 |
| B2C |  |  | 32.08 | 0.0005 |
| Lack of Fit | 3.64 | 0.0844 | 0.52 | 0.6854 |
| R-Squared | 0.8383 |  | 0.9902 | |
| Adj R-Squared | 0.7806 |  | 0.9768 | |
| Pred R-Squared | 0.5383 |  | 0.9068 | |
| Adeq Precision | 12.909 |  | 23.304 | |

方程R1经过优化，较原方程更为简化，模型的信噪比（Adeq Precision）提高，说明该优化模型实验预测性更强。且模型的Adj R-Squared值与Pred R-Squared值相差减少，方程优化成功。同样，方程R2优化后，较原方程简化，模型信噪比（Adeq Precision）提高，实验预测性增强；且模型的Adj R-Squared值与Pred R-Squared值相差减少，方程优化成功。模型R1和R2优化后方程分别为：

R  65.54  4.02A  8.21B - 2.37BC - 2.96A2 - 2.96B2

1

*R*1  0.9 1 5

R 2 8.170.87A - 0.34B2.63AB1.63AC6.63BC7.28A 4.28B

2 2

4.78C2 1.62ABC - 6.24AB2 3.12BC2

*R*2 0.9 9 5

各指标对因素A、B、C的三维响应面图见图3-1-11、3-1-12：



图3-1-11 树脂微囊包封率效应面关系图

Fig. 3-1-11 The predicted response surface of Encapsulation efficacy



图3-1-12 树脂微囊释放度综合评分效应面关系图

Fig. 3-1-12 The predicted response surface of the composite score of release

对优化前后拟合模型方差分析表和因素指标效应曲面图，由表3-1-14可知，对于R1拟合模型方差分析，PB<PA<PC，可信度逐渐降低，则各因素对微囊包封率作用影响大小为：B> A> C，效应面图3-1-11验证了C因素变化对包封率影响平缓；且因为拟合方程R1的A、B项系数均为正值，因此随着处方囊材占树脂质量比的增大和固化时间的延长，微囊的包封率增高，这是由于固化时间的延长微囊囊壁逐渐形成均匀完整的膜；同等固化时间下，囊材量增大，囊壁增厚，微囊包衣增重增加。同理，对于R2拟合模型方差分析，对于累计释放释放度评分的影响，主要是各因素交互作用的影响，PBC<PAB<PAC，B、C因素交互作用对累计释放度影响最为显著。

**2.2.6.4处方的优化和预测**

按下列要求，通过对各因素和响应取值范围的调整预测出最优处方：

（1）依据“本章 2.2.6.1”项下对各因素的设定，固化时间（A）、囊材用量

（B）、增塑剂用量（C）应在实验极值的范围内选取，拟选取范围如下：

A: 2h≤A≤8h；B: 0.08≤A≤0.17;

C: 0.08≤A≤0.17.

各响应面的取值应满足制剂设计的要求：

（2）R1：包封率越大越好；R2：累计释放度综合评分越小越好，最小值为0。采用Design-Expert软件对响应面进行优化，结果显示：满足上述要求的处

方如下图3-13所示：



图3-1-13 响应面优化结果

Fig. 3-1-13 The solution of optimization on the predicted response surface

**2.2.6.5验证试验**

按照预测最优处方，确定成囊条件：黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；搅拌速度：300rpm；固化温度：35℃；固化时间：5.9h；分散相：丙酮；囊材种类：EC（20cp）；囊材浓度：4.0%；囊材与药物树脂质量比：

17%；增塑剂占囊材质量百分比：8%。制备3批黄藤素树脂微囊，考察产品的

包封率及释药行为，并以包封率（R1）和释放度综合评分（R2）为评价指标，依据公式3-1-7，计算偏差，比较上述优化处方预测值与真实值偏差，偏差小则说明建立的数学模型预测效果好。结果见表3-1-15。

偏差R - RR100%

实验 预测 预测

Eq.3-1-7

表3-1-15 优化处方预测值与真实值偏差（n=3）

Tab. 3-1-15 Bias between predicted and observed value（n=3）

| Response | Predicted | Observed | Bias(%) |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  | 72.09 | 3.57 |
| R1 | 74.76 | 71.14 | 4.84 |
|  |  | 73.17 | 2.13 |
|  |  | 5.87 | 7.31 |
| R2 | 5.47 | 5.62 | 2.74 |
|  |  | 5.76 | 5.30 |

由上表可知，各响应面实验值与预测值间的偏差均小于7.5%，所建立的数学模型具有良好的预测性。3批样品释放曲线重现性良好，见图3-1-14。



图3-1-14 3批优化处方释药行为考察

Fig. 3-1-14 The release plot of three optimized batch microcapsule

#### **2.3** 优化处方药物树脂微囊质量评价

以优化后处方制备黄藤素药物树脂缓释微囊，并对其粒径，形貌，及释药特性进行研究探讨。

##### **2.3.1** 粒径的测定及形态观察

**2.3.1.1粒径测定结果**

参照“本章2.1.4”项下方法，优化处方树脂微囊粒径测定结果见图3-1-15

的d-p粒径分布所示：



图3-1-15 溶剂挥发法工艺黄藤素药物树脂微囊粒径分布图

Fig. 3-1-15 Particle size distribution of Fibriuretinin-resinate microcapsules

由图3-1-15可知，溶剂挥发法制备药物树脂微囊粒径分布窄，统计数据结果得出，微囊平均粒径约为104.9μm，粒径分布范围在96.76μm~113.12μm。依据

“本章2.1.4”项下方法，计算微囊跨距span，得span=0.04。

**2.3.1.2电镜扫描形貌**

参照“本章2.1.4”项下方法，优化处方树脂微囊粒径测定结果如下：



图3-1-16 溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊扫描电镜图

（A.药物树脂微囊直观图；B.药物树脂微囊扫描电镜图）

Fig. 3-1-16 Scanning electron micrograph of HT-resinate microcapsules prepared using Solvent volatilization

##### **2.3.2** 优化处方药物树脂微囊释药行为考察

**2.3.3.1释放影响因素的考察**

参照“本章2.1.3”项下方法，对黄藤素药物树脂微囊的释放影响因素进行考察：

### （1） 释放介质影响因素考察

由于药物和树脂是通过离子键合的形式形成不溶性药物树脂盐的，因此药物树脂微囊释药受释放介质中离子的种类和强度所影响。药物树脂微囊进行体外释放度实验要求释放介质除模拟胃肠液的pH值外，离子强度，离子种类也尽量与胃肠液相接近。

1.介质离子强度对释放影响

取黄藤素树脂微囊适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），按“本章2.1.3”项下释放度考察方法操作，进行试验，设定转速为100rpm，分别考察介质为：去离子水（RO水）、0.1mol/L、0.15mol/L和0.25mol/L NaCl离子浓度对释放的影响。结果见图3-1-17：



图3-1-17 介质离子强度对释放影响

Fig. 3-1-17 The effect on the release behavior of different ion concentration

由上述结果可知，随着释放介质离子强度的增大，黄藤素药物树脂微囊的释放更快，并且树脂微囊在去离子水中几乎不释放药物，说明药物微囊的释放存在离子交换的行为。考虑到人体组织液与生理盐水等渗，故释放度的测定选择与体内离子强度相近的0.15mol/LNaCl溶液作为释放介质。

2.介质PH值对释放影响

由“本章2.3.3.1”项下释放介质离子强度考察结果可知，药物树脂微囊的释药存在离子交换行为，即介质中的阳离子与药物树脂上键合的药物阳进行离子交换。因而固定每升体积的释放介质的总离子强度为0.15mol，则不同pH的释放介质的配制需参照药典配制的基础上后用加入NaCl调节离子强度，具体配置方法如下，方法描述介质以升（L）为单位：

PH1.0: 0.1mol/LHCl+0.05mol/LNaCl

pH6.8：人工肠液（参照中国药典附录XV D中pH6.8磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.0764mol/LNaCl

PH7.0: 0.15mol/LNaCl

pH7.4: pH7.4磷酸盐缓冲溶液（参照中国药典附录XV D中pH7.4磷酸缓冲盐溶液配制方法）+0.1342mol/LNaCl

取黄藤素树脂微囊适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），配制不同pH值的释放介质，按“本章2.1.3”项下释放度考察方法操作，进行试验，设定转速为100rpm，考察微囊释药行为。结果见图3-1-18：



图3-1-18 介质PH值对释放影响

Fig. 3-1-18 The effect on the release behavior in different pH solvents

由上述考察结果可知，黄藤素药物树脂微囊在不同pH介质中释药过程相似，说明该剂型为pH非依赖型制剂，释药行为不受pH值影响。制剂在pH1.0的介质中释药稍快可能是由于介质H+体积小，空间位阻小与树脂上结合的药物阳离子交换较容易所致。综上所述，黄藤素树脂微囊溶出的释放介质选择最终确定为与体内离子强度相近的，易于配制的0.15mol/LNaCl溶液。

### （2） 释放仪器条件考察

1.转速的影响

取黄藤素树脂微囊适量（盐酸巴马汀含量约为300mg），按照“本章2.1.3”项下释放度考察方法操作，进行试验，释放介质为0.15mol/LNaCl水溶液，考察不同转速：75rpm、50rpm、100rpm对微囊释药行为。结果见图3-1-19：



图3-1-19 转速对药物树脂微囊释药行为影响

Fig. 3-1-19 The effect on the release behavior of different stirring speed

由上述结果可知，药物树脂微囊的释药随转篮搅拌转速的增加，释放越快越完全。有报道认为，这种现象可能与颗粒周围滞留层有关；低转速条件下，滞留层中药物浓度大于周围介质中浓度，使药物向周围浓度较低区域扩散速度降低，减小了药物释放的驱动力[3]。实验拟选取转篮法常用转速100rpm。

**2.3.3.2释放度方法学考察**

### （1） 释放度方法确定

综合“本章2.3.3.1”项下考察结果，释放度方法最终确定如下：

采用溶出度测定第一法篮法装置（参照《中国药典》2010版二部附录XC），按照释放度测定法第一法（参照《中国药典》2010版二部附录XD）操作。取黄藤素药物树脂微囊适量（成品经含量测定约含盐酸巴马汀300mg），置于溶出仪转篮中，恒定转速100rpm，加入体积为900mL脱气的0.15mol/L的NaCl水溶液，设定温度为37±0.5℃，定时取样5mL（取样时间点设定为：0.5、1、2、4、6、8、

10、12h），并补加同温度、同体积相应释放介质。前8h取样点的样品，经0.22μm微孔滤膜滤过，进样0.5μL；后4h取样点的样品，分别精密吸取1mL至10mL容量瓶中，用溶出介质稀释至刻度，经0.22μm微孔滤膜滤过，进样0.5μL；按

“本章2.1.1”项下色谱条件，记录色谱峰，采用外标法，求出各时间点释放介质中的药物浓度，计算药物的累积释放百分率。

### （2） 专属性实验

精密称取空白树脂微囊适量（按药物树脂微囊制备方法不加药物制备）置于100mL容量瓶中，加入约2/3体积的0.15mol/LNaCl溶液，超声40min（功率300W，频率40KHz），冷却至室温，加0.15mol/LNaCl溶液定容；摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加0.15mol/LNaCl溶液至刻度，摇匀，配置成浓度为50μg/mL的阴性对照溶液。同法，称取黄藤素对照品（盐酸巴马汀）50mg和黄藤素树脂微囊粉末（相当于含盐酸巴马汀50mg）分别置于100mL容量瓶中参照上述配制阴性对照溶液方法操作，分别得到浓度为50μg/mL的黄藤素对照品溶液和供试品溶液。分别用0.22μm微孔滤膜过滤对照品、阴性对照品及供试品溶液，进样0.5μL，按“本章2.1.1”项下测定。记录色谱图（图3-1-20），各组分峰分离度均符合要求，空白辅料及溶出介质对主药测定无干扰。



图3-1-20 释放度方法专属性试验色谱图

Fig. 3-1-20 UPLC Chromatography of HT and pharmaceutical Adjuvant

### （3） 线性范围考察

取盐酸巴马汀50mg，精密称定，置100mL容量瓶内，用0.15mol/LNaCl溶液溶解，并稀释至刻度，制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品储备液（实际配得盐酸巴马汀储备液浓度为501.6μg/mL）。分别精密吸取储备液0.1、0.5、1、2、3、5、10 mL置25mL容量瓶中，用0.15mol/LNaCl溶液稀释，溶解定容，得到系列浓度的对照品溶液：2.0064、10.0032、20.064、40.128、60.192、100.32、

200.64µg/mL，用0.22μm微孔滤膜过滤，按“本章2.1.1”项下色谱条件依次进样0.5µL。以峰面积（A）对对照品溶液系列浓度（C）进行回归，得盐酸巴马汀回归方程A=9040C-5280，R2=0.9999（n=7）相关系数r＝0.9999；结果表明：盐酸巴马汀在2.0064µg/mL~200.64µg/mL范围内，浓度与峰面积呈良好线性关系。结果见图3-1-21（采用Empower 3处理）。



图3-1-21 黄藤素在0.15mol/LNaCl溶液释放介质中的浓度与峰面积的标准曲线

Fig. 3-1-21 Calibration curve of HT in 0.15mol/L NaCl solution

### （4） 回收率试验

取处方量相应空白微囊，加入900mL0.15mol/LNaCl，按“本章2.3.3.2”项下方法释放度测定方法操作，6h后的溶出溶液作为空白储备液备用。

取黄藤素对照品（盐酸巴马汀）0.085g，精密称定，置于50mL容量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，作为对照品储备液。

精密吸取上述对照品储备液1mL于50mL容量瓶中，2、3、4mL分别置于25mL容量瓶中，分别加入空白储备液稀释至刻度，摇匀，过0.22μm微孔滤膜，进样0.5μL，按“本章2.1.1”项下测定。记录色谱图，以外标法计算回收率实验设计相应药物树脂微囊释放度为：10%、50%、80%及100%的回收率，结果如下表：盐酸巴马汀10%加入量的平均回收率为99.60%，RSD=0.62%；50%加入量的平均回收率为99.37%，RSD=0.37%；80%加入量的平均回收率为99.90%，RSD=0.15%；100%加入量的平均回收率为99.88%，RSD=0.16%。见表3-1-16。

表 3-1-16 释放度方法回收率试验结果（n=3）

Tab. 3-1-16 Results of recovery of the method for determination of drug-release experiment

（n=3）

|  | Added(μg) | Found(μg) | Recovery(%) | Mean(%) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | 33.91 | 99.82 |  |  |
| 10% | 33.97 | 34.00 | 100.07 |  |  |
|  |  | 33.60 | 98.90 |  |  |
|  |  | 169.29 | 99.66 |  |  |
| 50% | 169.86 | 168.08 | 98.95 |  |  |
|  |  | 169.00 | 99.49 |  |  |
|  |  | 254.81 | 100.01 | 99.69 | 0.33 |
| 80% | 254.79 | 253.99 | 99.69 |  |  |
|  |  | 254.71 | 99.97 |  |  |
|  |  | 338.68 | 99.69 |  |  |
| 100% | 339.72 | 339.52 | 99.94 |  |  |
|  |  | 339.71 | 100.00 |  |  |

结果表明，黄藤素药物树脂微囊释放度，高、中、低3种浓度的回收率符合要求，RSD值小于1%，该方法用于测定黄藤素树脂微囊溶出样品，准确、可靠。

### （5） 精密度实验

取线性范围考察项下，浓度为60.192µg/mL的对照品溶液，用0.22μm微孔滤膜过滤，按“本章2.1.1”项下色谱条件，进样0.5µL，反复连续测定6次，记录色谱图，计算峰面积偏差RSD。得出RSD为0.38%。表明仪器精密度良好，该方法重现性良好。

### （6） 稳定性试验

取线性范围考察项下，浓度为60.192µg/mL的对照品溶液，将装该对照品溶液的25mL棕色容量瓶用封口胶封口，置于设定温度为37±0.5℃的恒温水浴锅中，定时取样，用0.22μm微孔滤膜过滤，装入液相进样小瓶（取样时间点设定为：2、4、6、8、10、12h），进样1µL，按“本章2.1.1”项下色谱条件，记录色谱图，色谱峰变化在0.98%范围内，表明溶液在溶出条件下稳定。

### （6） 释放度均一性考察

取同一批次（批号为lot.20130125-1）优化处方微囊样品，共36份（每份含盐酸巴马汀300mg），按照“本章2.3.3.2”项下释放度方法，重复6次溶出实验。

比较6次溶出各时间点的累计释放百分率偏差（RSD），并采用*f*2相似因子法[4]评价6次溶出实验释药行为的差异，并绘制溶出曲线，如图3-1-22所示。



图3-1-22 同批次药物树脂微囊6次释放度均一性考察

Fig. 3-1-22 The cumulative release ofFibriuretinin within the same batch of

Fibriuretinin-resinate microcapsules

由图3-1-22考察结果可知，同一批次样品释放度符合均一性要求。并且将释放曲线两两比较，*f*2相似因子均大于50，同批次样品6次溶出的释放度差异小。

### （7） 释放度重现性实验

按照“本章2.3.3.2”项下释放度测定方法，考察3个批次（批号为lot.20130126-1、lot.20130126-2、lot.20130126-3）黄藤素树脂微囊样品的释放度，采用*f*2相似因子法评价[5]批间释药差异。绘制溶出曲线图，结果见图3-1-23。



图3-1-23 不同批次药物树脂微囊释放度重现性考察

Fig. 3-1-23 The release profile ofFibriuretinin of 3 batches of Fibriuretinin-resinate microcapsules

由图3-1-23考察结果可知，不同批次药物树脂微囊释放度重现性符合要求。并且将释放曲线两两比较，*f*2相似因子均大于50，不同批次样品溶出的释放度差异小。

**2.3.3.3释药机理探讨**

对优化处方黄藤素药物树脂微囊的释药过程采用不同释药模型进行拟合：通过比较拟合方程的相关系数，分析制剂的释药机制。常见药物释放机理模型如下表3-1-17所示，微囊释药模型拟合结果见表3-1-18：

表 3-1-17 药物释放机理模型

Tab. 3-1-17 Drug release mechanical model

| Mechanism | Fitting equation |
| --- | --- |
| Film diffusion | - ln1- Mt M   Kt |
| Matrix diffusion | M t M  Kt 2  1 |
| Ritger-Peppas | M t M   Kt  n |
| Viswanathan | - ln1- F  -ln Qt   1.596 dp1.3 Dr0.65t 0.65   Q    0  |

\*Mt: t时刻药物释放量；M∞：最大药物释放量；k：药物释放速率；t：释药时间；n：释放指数，用以表示药物释放机制；关于Viswanathan释放模型的描述详见“第二部分第一章2.5”项下内容。

对Ritger-Peppas释药模型，将药物树脂复合物微囊近似看做球体，n<0.43时，药物释放机制为Fick扩散；当n>0.85时，为二相转运，骨架溶蚀机制；当0.43 <n<0.85时，为不规则转运，药物扩散和骨架溶蚀协同作用[6]。

表 3-1-18 药物释放机理模型拟合结果

Tab. 3-1-18 Model fitting result of drug release from microcapsules

| Mechanism | Fitting equation | r |
| --- | --- | --- |
| Film diffusion | - ln1- Mt M    0.1701t  0.0414 | 0.9984 |
| Matrix diffusion | M t M   0.2728t 2 - 0.041  1 | 0.9949 |
| Ritger-Peppas | Ln(Mt M  )  0.6545lnt - 1.648 | 0.9774 n=0.6545 |
| Viswanathan | - ln1- F   0.6132t 0.65 - 0.2963 | 0.9712 |

从表3-1-18拟合模型相关系数*r*分析结果可知，表面修饰包衣微囊的释放以一级模型（Film diffusion）和Higuchi模型（Matrix diffusion）拟合效果最佳，粒扩散（Viswanathan）最差。说明包衣后，整个体系的释药机制由先前的粒扩散

（Viswanathan）控制的释药行为转变为由膜控释及骨架扩散为主，树脂内部粒扩散为辅的释药形式。由Ritger-Peppas方程拟合结果推测，假若将微囊近似看作球体，n=0.6545, 0.43<n<0.85，表现为不规则转运机制。

**3讨论与小结**

3.1黄藤素树脂复合物浸渍预处理工艺考察，推测浸渍剂的作用机理为：1.浸渍剂分子作用于树脂空隙，使树脂孔隙度无法增大，阻碍树脂的水合溶胀，药物树脂中的粒扩散速率减慢；2. PEG4000的分子体积较甘油大，对药物树脂空隙的作用没有甘油强，设想PEG4000可能大部分仅对药物树脂颗粒表面作用，相对于甘油，不能够更深入作用于树脂内部，因而对药物释放的阻滞作用相对差一些。有关浸渍剂作用机理还有待深入研究。

3.2考虑到制剂以低毒、安全为准则，以丙酮作为囊材溶剂在生产中的隐患[9]，在上述研究实验的结果的基础上，尝试以低毒囊材溶剂——95%乙醇代替丙酮为囊材的溶剂制备药物树脂微囊。制备过程中发现，微囊粘连明显，收率较低，进而影响囊膜的成形性。推测可能原因是乙醇为囊材溶剂的包衣液粘度较大，并且乙醇的蒸发潜热高，不易挥发，使得囊膜难以在药物树脂表面充分均匀铺展。

参考文献

[1] Llamazares S, Moreira A, Tavares A, et al. Polo encodes a protein kinas homolog required for mitosis in Drosophila[J]. Genes Dev, 1991, (5): 2153-2165.

[2] Mundt KE, Golsteyn RM, Lane HA, et al. On the regulation and function of human polo-like kinase 1 (PLK1): effects of overexpression on cell cycle progression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, (239): 377-385.

[3] Ellinger-Ziegelbauer H, Karasuyama H, Yamada E, et al. Ste20-like kinase (SLK), a regulatory kinase for polo-like kinase (Plk) during theG2/M transition in somatic cells[J]. Genes Cells, 2000, (5): 491-498.

[4] Luu SN. Determination of coating thichness of microcapsules and influence upon diffusion[J]. J Pharm Sci, 1973, (62): 452.

[5] Raghunathan Y.. Prolonged release pharmaceutical preparations[P]. United State: 4211778, 1988.

[6] 陆彬. 药物新剂型与新技术(第二版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 388.

[7] Wood worth J. R., Dennis S. R. T., Hinsvark O. N., et al. Bioavailability evaluation of a controlled-release dextromethrophan liquid[J]. J Clin Pharmacol, 1987, (27): 133.

[8] D Perumal. Microencapsulation of ibuprofen and Eudragit®RS 100 by the emulsion solvent diffusion technique[J]. Int J Pharm, 2001, 218(1-2): 1-4.

[9] 陈日南. 药物中有机溶剂残留量测定方法评述[J]. 中国医药工业杂志, 1997,

28(6): 275.

## 第二章 药物树脂微囊化—表面修饰包衣法

药品研发过程中，为了获得药物最佳治疗效果，通常设计一种传递系统，以期能以预计的速率和期望的部位达到适宜的药物浓度。作为药物载体的传递系统通常由一些特殊的高分子材料组成，通过特定的处方配比和制剂工艺，制备满足给药目的的剂型。并且还可通过对这些材料进行修饰或改性，提高材料的相容性、缓释性能和靶向性能等。

表面修饰包衣法原理是利用离子交换树脂的离子交换特性，选取含离子基团的高分子包衣材料，以离子交换法对药物树脂复合物进行表面修饰。例如高分子丙烯酸树脂类包衣材料（Eudragit RS100或EudragitRL100）中含季铵基，可以以离子键合形式结合到药物树脂复合物表面的羧基上，长链分子则包覆在药物树脂复合物的外表面起屏蔽作用，以减缓反离子的进入，从而调节药物的释放速度。目前，国内外鲜有对该方法的报道，研究[1, 2]。

本章研究内容，首次探索采用含季铵基的丙烯酸树脂（Eudragit RS100或EudragitRL100）对黄藤素药物树脂复合物进行表面修饰包衣，掩盖药物苦味，延缓药物释放。

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |

|  |  |
| --- | --- |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| 95%乙醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| Eudragit RS100, RL100 | 德国 EVONIC |
| Amberlite IRP88 | Rohm and Hass Company |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz  昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D, BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| SHZ-D（Ⅲ） 循环水式真空泵 | 巩义市予华仪器有限责任公司 |
| SHZ-82A 水浴恒温振荡器 | 金坛市恒丰仪器厂 |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |
| PB-10 普及型 pH 计 | 德国 Sartorius |
| HITACHI S-3700 扫描电子显微镜 | 日本日立公司 |

### **2** 试验方法与结果

#### **2.1** 药物树脂微囊体外分析方法建立

**2.1.1色谱条件**

色谱条件同“第三部分第一章2.1.1”项。

**2.1.2含量测定方法**

方法同“第三部分第一章2.1.2”项下方法。空白药物树脂微囊在345nm处对主药成分峰-盐酸巴马汀峰的测定无干扰。如图3-2-1。



图3-2-1 超高效液相色谱专属性图

A．空白微囊B.原料C.载药微囊Fig.3-2-1 The specialization of the UPLC method

A. Blank microcapsules B. Raw material C. Drug-loaded microcapsules

（1）含量测定

方法同“第一部分第一章2.1.1.2”项下内容，依据“2.1.1”色谱条件，进样

0.5μL记录色谱峰，采用外标法，计算含量。

（2）载药量（Drug loading）和包封率（encapsulation efficiency）评价

称取适量载药树脂微囊，参照“本章2.1.2”项下（1）含量测定操作，推算得药物树脂含量即为微囊内外的总药量，代入公式3-1-1，求出微囊载药量。

载药量 微囊中盐酸巴马汀的含量100%

微囊总重

（Eq.3-2-1）

同法，称取已知原料药中盐酸巴马汀含量批次的干燥的药物树脂微囊适量，参照“本章2.1.2”项下（1）含量测定方法操作，记录色谱峰，计算微囊内含药量。代入包封率计算公式3-2-2：

包封率 制备微囊中盐酸巴马汀的含量100%

制备微囊盐酸巴马汀的加入量

（Eq.3-2-2）

（3）精密度实验

取“本章2.1.2”项（1）含量测定项下操作配制供试品液，进样0.5μL，重复6次，记录主成分盐酸巴马汀的峰面积，计算RSD为：0.41%。表明仪器精密度良好。结果见表3-2-1。

表3-2-1 精密度试验结果

Tab. 3-2-1 The result of precision test

| No. | Founded amount of palmatine hydrochloride  （mg/g） | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 200.1 |  |  |
| 2 | 198.9 |  |  |
| 3 | 200.5 | 200.0 | 0.41 |
| 4 | 201.2 |  |  |
| 5 | 199.6 |  |  |
| 6 | 199.5 |  |  |

（4）稳定性实验

取“本章2.1.2”项下（3）精密度实验同一供试品溶液0.5μL，分别于0、

2、6、8、24小时测定，记录主成分盐酸巴马汀的峰面积，计算RSD为0.46%，表明供试品溶液在24 h内稳定。结果见表3-2-2。

表3-2-2 稳定性试验结果

Tab. 3-2-2. The result of stability test

| Time/h | Founded amount of palmatine hydrochloride(mg/g) | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 0 | 199.6 |  |  |
| 2 | 198.9 |  |  |
| 6 | 200.9 | 200.1 | 0.46 |
| 8 | 199.8 |  |  |
| 24 | 201.1 |  |  |

（4）重复性试验

称取同批次药物树脂微囊0.2g样品6份，依“本章2.1.2”项（1）含量测定项下操作测定，以外标一点法计算含量，结果盐酸巴马汀的含量为200.1mg/g，

RSD为0.54%（*n*=6），表明本法重复性良好。结果见表3-2-3。

表3-2-3 重复性试验结果

Tab. 3-2-3 The result of repetitive experiment

| No. | The added amount of microcapsules(g) | Founded amount of palmatine  hydrochloride(mg/g) | Mean(mg/g) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |
| 1 | 0.2035 | 200.3 |  |  |
| 2 | 0.2012 | 199.8 |  |  |
| 3 | 0.2004 | 200.5 |  |  |
| 4 | 0.2088 | 201.2 | 200.1 | 0.45 |
| 5 | 0.2008 | 200.0 |  |  |
| 6 | 0.2074 | 198.5 |  |  |

（5）回收率试验

精密量取盐酸巴马汀对照品30mg、40mg、50mg各3份，分别置于100mL容量瓶中，按处方比例分别加入分别加入适量空白树脂微囊，加适量2%盐酸溶液，超声40min（功率300W，频率50KHz，超声过程中补加2%盐酸甲醇溶液补足减失的提取溶剂），冷却至室温，加2%盐酸甲醇定容，摇匀，过滤，精密量取续滤液2mL于25mL容量瓶，加2%盐酸甲醇至刻度，摇匀，用0.22μm微孔滤膜过滤，进样0.5μL，记录色谱图。以外标法计算，回收率试验结果如下：盐酸巴马汀80%、100%、120%加入量的平均回收率为99.92%，RSD=0.71%。结果见表3-2-4。

表 3-2-4 树脂微囊回收率试验结果（n=3）

Tab. 3-2-4 Results of recovery of the method for determination of microcapsule（n=3）

|  | Added(mg) | Found(mg) | Recovery(%) | Mean(%) | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 30.11 | 29.98 | 99.57 |  |  |
| 80% | 29.86 | 30.01 | 100.50 |  |  |
|  | 30.05 | 29.84 | 99.30 |  |  |
|  | 40.16 | 40.06 | 99.75 |  |  |
| 100% | 40.81 | 41.02 | 100.51 | 99.92 | 0.71 |
|  | 41.68 | 41.18 | 98.80 |  |  |
|  | 49.98 | 50.01 | 100.06 |  |  |
| 120% | 50.12 | 50.62 | 101.00 |  |  |
|  | 50.05 | 49.96 | 99.82 |  |  |

结果表明，黄藤素药物树脂微囊高、中、低3种浓度的回收率符合要求，RSD值小于1%，该方法可用于测定载药树脂微囊含量准确、可靠。

**2.1.3释放度测定方法**

同“第三部分第一章2.3.3.2”项下方法。

**2.1.4粒径的测定及形态的观察**

（1）粒径的测定（参照中国药典附录XIX E）同“第三部分第一章2.1.4”项下方法（1）。

（1）形态的观察

同“第三部分第一章2.1.4”项下方法（2）。

#### **2.2** 药物树脂微囊制备工艺研究

##### **2.2.1** 黄藤素树脂复合物预处理

方法同“第三部分第一章2.2.1.2”项下（2）法操作。

##### **2.2.2** 表面修饰法制备微囊工艺流程

取黄藤素药物树脂复合物适量，置于小烧杯中，加入适当浓度的Eudragit

RS100或Eudragit RL100乙醇溶液，恒温水浴搅拌若干小时，反应完全后，冷却至室温，过滤，洗涤滤饼，40℃真空干燥24h，即得表面修饰法包衣的黄藤素药物树脂微囊。工艺流程如图3-2-1所示。



图3-2-2 表面修饰法制备黄藤素树脂微囊工艺流程

Fig. 3-2-2 Process flow chart of surface modification

##### **2.2.3** 表面修饰包衣法制备微囊处方工艺评价指标

参照“本章2.2.2”项下制备工艺流程，以载药量和包封率及微囊释放行为为评价指标，考察及优化处方工艺流程。

微囊载药量和包封率的计算方法参见“本章2.1.2”项下（2）内容。

微囊释放行为的评价参照“第三部分第一章2.2.6.2”项下释放度综合评分方法和*f*2相似因子评价法。

目前，进行制剂溶出曲线的比较，日本和美国官方皆采用相似因子比较法[3]。本实验采用*f*2相似因子评价法，如计算公式3-2-3所示：

 *n* *R - T* 2 

  *i* i 

*F* 50*log*100

1 *i*1

Eq.3-2-3

*2**n*





当用于不同来源制剂间比较时，*f*2值应≥50；当用于同一来源制剂间比较时（批间/批内差异、各种变更等），*f*2因子应≥65[4]。还可通过溶出量平均差异与相应*f*2因子临界值的关系粗略进行溶出曲线差异评价，见表3-2-5所示：

表 3-2-5 溶出量平均差异与相应*f*2因子临界值的关系

Tab. 3-2-5 The relationship between the mean difference of dissolved amount andf2 factor

| 比较时间点溶出量平均差异/% | f2 因子临界值 |
| --- | --- |
| 2 | 83 |
| 5 | 65 |
| 10 | 50 |
| 15 | 41 |
| 20 | 36 |

由上表可知，若直观评估、各时间点差异在10%或5%以内，则可基本断定

*f*2因子大于50或65，制剂溶出曲线相似。

##### **2.2.4** 表面修饰包衣处方的筛选

参照“本章2.2.2”项下制备工艺流程，依据“本章2.2.3”项下评价指标，考察及优化表面修饰包衣法处方组成对成囊性能的影响。

**2.2.4.1不同载药量的树脂的修饰包衣比较**

由本章前面所述，丙烯酸树脂类包衣材料（Eudragit RS100或EudragitRL100）通过季铵基键合到药物树脂复合物表面的羧酸基团上，长链分子包覆药物树脂复合物的外表面，减缓反离子的进入，调节药物的释放速度。因此载药后树脂表面剩余羧酸基的量决定了季铵基键合的位点数，从而影响到修饰包衣程度和微囊的释药。

对不同载药量的黄藤素载药树脂均经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；参照“本章2.2.2”项下工艺流程，固定工艺参数为：搅拌速度300rpm；表面修

饰包衣温度40℃；修饰时间6h；Eudragit RS100的浓度为15.0%（W/W）；反应介质用量为170g；处方参数见表3-2-6。考察黄藤素药物树脂复合物载药量分别为：10%、20%、30%时，表面包衣修饰法制得微囊的成型性、载药量、包封率及释药行为。结果见表3-2-7和图3-2-3。

表3-2-6 不同载药量的黄藤素药物树脂复合物表面修饰包衣法考察

Tab. 3-2-6 The optimization of drug-loaded for surface surface modification of

Fibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Fibriuretinin-res  Inate complex(g) | Drug  Loaded (%) | Eudragit  RS100(g) | Ethanol  95%(g) | Temperature of  Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 5 | 10 | 30 | 170 | 40 |
| 2 | 5 | 20 | 30 | 170 | 40 |
| 3 | 5 | 30 | 30 | 170 | 40 |

表3-2-7 不同载药量的黄藤素药物树脂复合物对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Formulation No. | Drug loaded of Fibriuretinin-resinate complex  (%) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 1 | 10 | 6.18 | 61.80 |
| 2 | 20 | 13.26 | 66.30 |
| 3 | 30 | 19.86 | 66.20 |

Tab.3-2-7 The effect of different amount of drug-loaded Fibriuretinin-resinate complex on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the surface modified microcapsules(n=3)



图3-2-3 不同载药量黄藤素药物树脂复合物表面修饰包衣微囊释药行为的考察

Fig. 3-2-3 The effect of different amount of drug-loaded Fibriuretinin-resinate complex on the release of drug-resinate microencapsulation

结合表3-2-7和图3-2-3分析可知，相同制备条件下，经过量的Eudragit RS100修饰后，药物树脂复合物的载药量的高低与最终包衣成囊剂型的载药量相关，加入的药物树脂复合物的载药量越低药物树脂微囊的载药量越低，包封率没有明显区别，并且药物的释放行为相似。理论上认为，药物树脂复合物的载药量越高，其表面剩余的可供Eudragit RS100结合的羧酸基越少，因而Eudragit RS100对药物树脂的表面修饰作用少，药物释放应快。但从实际的实验结果与理论推断的差异推断，实验中IRP88树脂对黄藤素的载药最大量为30%时，仅是树脂对该品种的载药极限，并未达到树脂的最大离子交换量，树脂表面仍然残留大量的可供交换的羧酸基团（可能由于空间位阻和扩散作用等其他未知原因阻碍了IRP88树脂对黄藤素的进一步载药，具体原因有待进一步研究）。因而，对于低于最大载药量30%的不同载药量的黄藤素药物树脂复合物表面残留的羧酸基团远可满足表面修饰包衣交换量。此时，羧酸基图残留量的影响已经抵消了载药量的大小对表面修饰的作用。参考微囊载药量及包封率评价指标，我们选择载药为30%的药物树脂复合物为囊心为进行表明修饰包衣微囊化。并且，载药量高的药物树脂复合物，药物的结合越深入树脂内部，从树脂内部扩散出来的速度越慢，药物的释放相对来说越慢，从图3-2-3微囊药物释放趋势可以看出。

**2.2.4.2修饰包衣囊材种类的影响**

参照“本章2.2.4.2”项下处方工艺，考察囊材分别为：Eudragit RS100和Eudragit RL100时，对药物树脂表面包衣修饰包衣，制得微囊的成型性、载药量、包封率及释药行为。处方参数见表3-2-8，评价结果见表3-2-9和图3-2-4。

表3-2-8 修饰包衣囊材种类考察工艺处方

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Formulation  No. | Fibriuretinin-res inate complex(g) | Drug  loaded (%) | 30g Eudragit | Ethanol  95%(g) | Temperature of  Water bath(℃) |
| 4 | 5 | 30 | RL100 | 170 | 40 |
| 3 | 5 | 30 | RS100 | 170 | 40 |

Tab. 3-2-8 The research on formulation and technology of different kind of coating materials for surface surface modification ofFibriuretinin-resinate complex

表3-2-9 修饰包衣囊材种类对微囊载药量及包封率的影响

Tab.3-2-7 The effect of different kind of coating materials on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the surface modified microcapsules(n=2)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Formulation No. | Drug loaded of Fibriuretinin-resinate complex  (%) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |  |
|  | 4 | 30 | 17.88 | 50.05 |  |
|  | 3 | 30 | 19.86 | 66.20 |  |



图3-2-4 修饰包衣囊材种类对微囊释药行为的影响

Fig. 3-2-4 The effect of different kind of coating materials to coating materials on HT release from drug-resinate microencapsulation

由图3-2-4可知，当包衣修饰囊材为Eudragit RL100时，药物释放较快，缓释效果不佳，参照“本章2.2.3”项下释放度综合评分指标，药物在两小时内的累计释放达到50%以上，存在突释现象。而以Eudragit RS100为囊材进行包衣修饰的微囊，缓释效果良好。推断造成该现象的可能原因是由于Eudragit RL100和Eudragit RS100结构中的铵基均是以季铵盐的形式存在的，并且含量分别为10%和15%，在加入等质量的两种包衣材料前提下，参与表面修饰的季铵基的量Eudragit RS100> Eudragit RL100，因而采用Eudragit RL100修饰包衣可能造成衣膜形成不完整，微囊的包封率相对低，导致释放加快或突释。因而本实验采用Eudragit RS100作为药物树脂表面修饰包衣囊材。

**2.2.4.3修饰包衣囊材浓度的影响**

黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理；

取黄藤素药物树脂复合物适量，参照“本章2.2.4.2”项下处方工艺，考察Eudragit RS100浓度分别为：15%、10%、5%时，对药物树脂表面包衣修饰包衣，制得微囊的成型性、载药量、包封率及释药行为。处方参数见表3-2-10，评价结果见表3-2-11和图3-2-5。

表3-2-10 Eudragit RS100修饰包衣浓度考察工艺处方

Tab. 3-2-10 The research on the concentration of Eudragit RS100 for surface modification of

Fibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Fibriuretinin-res inate complex(g) | Drug  Loaded (%) | Eudragit  RS100(g) | Ethanol  95%(g) | Temperature of  Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 5 | 5 | 30 | 10 | 190 | 40 |
| 6 | 5 | 30 | 20 | 180 | 40 |
| 3 | 5 | 30 | 30 | 170 | 40 |

表3-2-11 Eudragit RS100浓度对微囊载药量及包封率的影响

Tab.3-2-11 The effect of the concentration of Eudragit RS100 on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=3)

| Formulation No. | concentration of coating materials(W/W) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 5 | 5% | 17.18 | 61.17 |
| 6 | 10% | 19.55 | 70.88 |
| 3 | 15% | 19.86 | 71.16 |



图3-2-5 Eudragit RS100浓度对微囊释药行为的影响

Fig. 3-2-5 The effect of the concentration of Eudragit RS100 on HT release from drug-resinate microencapsulation

相对于囊材浓度为15.0%和10%，5%的囊材浓度制得的微囊包封率差一些，可能是由于Eudragit RS100浓度减小，用于表面修饰包衣的铵基的量减少导致，不利于微囊的囊膜形成所致。从表3-2-11和图3-2-5可知，囊材浓度为15%和10%时表面修饰包衣微囊的各项评价指标结果相似，说明当囊材浓度达到10%时药物

树脂复合物已经可以很好地微囊化，并且从节约成本的角度，将10%囊材浓度作为实验优选条件。

**2.2.4.4修饰包衣介质用量的影响**

取经浸渍预处理的30%载药量的黄藤素药物树脂复合物适量，参照“本章

2.2.4.2“项下处方工艺，按Eudragit RS100浓度为10%（W/W）投料，考察介质用量对药物树脂表面包衣修饰包衣制得微囊的成型性、载药量、包封率及释药行为。处方参数见表3-2-12，评价结果见表3-2-13和图3-2-6。

表3-2-12 修饰包衣介质用量考察工艺处方

Tab. 3-2-12 The research on the amount of coating medium for surface modification of

Fibriuretinin-resinate complex

| Formulation No. | Fibriuretinin- resinate  complex(g) | Eudragit RS100(g) | Ethanol 95%(g) | Temperature of Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 7 | 5 | 10 | 90 | 40 |
| 6 | 5 | 20 | 180 | 40 |

表3-2-13 修饰包衣介质用量对微囊载药量及包封率的影响

Tab.3-2-13 The effect of the amount of coating medium on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=3)

| Formulation No. | the amount of coating medium (g) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 7 | 90 | 17.35 | 65.87 |
| 6 | 180 | 19.55 | 70.88 |



图3-2-6修饰包衣介质用量对黄藤素药物树脂微囊释药行为的影响Fig.3-2-6 The effeet of the amount of coating medium on drug release from Fibriuretinin-resinate microcapsules

从表3-2-13和图3-2-6可知，随着修饰包衣介质用量的减少，微囊的载药量和包封率均降低，并且药物的释放加快。可能原因是，当Eudragit RS100的浓度一定时（10%），表面修饰包衣介质用量的减少（即95%乙醇量的减少），意味着相应包衣介质中Eudragit RS100的量减少，参与表面修饰包衣的铵基数减少，同时介质体积的减少使得搅拌混悬状态的药物树脂与溶液中的Eudragit RS100的接触面减少，铵基的修饰作用减弱。因而实验选取Eudragit RS100浓度为10%，95%乙醇量为180g为表面修饰包衣条件。

##### **2.2.5** 表面修饰包衣法制备微囊工艺的考察

参照“本章2.2.2”项下制备工艺流程及“本章2.2.4”项处方优化结果，考察工艺过程中搅拌速度、水浴温度及修饰反应时间对成囊性能的影响，采用载药量和包封率及微囊释放行为为评价指标，考察及优化制备工艺流程。

**2.2.5.1搅拌速度的考察**

载药30%的黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理，干燥备用。

按“本章2.2.4”项下处方6投料，见表3-2-14。除搅拌速度外，其他工艺参数固定：表面修饰包衣温度40℃；修饰时间6h。考察搅拌速度分别为200rpm/min、300rpm/min、400rpm/min时，制得微囊的的成型性、载药量、包封率及释药行为。结果见表3-2-15和图3-2-7。

表3-2-14 修饰包衣搅拌速度考察工艺处方

Tab. 3-2-14 The research on the agitating speed for surface modification ofFibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Fibriuretinin-resinate  complex(g) | Eudragit  RS100(g) | Ethanol  95%(g) | Temperature of  Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 6 | 5 | 20 | 180 | 40 |

表3-2-15 不同搅拌速度对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Agitating speed (rpm) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |

Tab.3-2-15 The effect of agitating speed on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=4)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 200 | 19.78 | 69.98 |  |
|  | 300 | 19.55 | 70.88 |  |
|  | 400 | 19.65 | 70.08 |  |



图3-2-7 修饰包衣搅拌速度对黄藤素药物树脂微囊释药行为的影响

Fig. 3-2-7 The effeet of the amount of agitating speed on drug release fromFibriuretinin-resinate microcapsules

从表3-2-15和图3-2-7可知，不同搅拌速度制备的包衣微囊的各项评价指标结果相似，并且对释放曲线两两比较进行*f*2相似因子评价，结果均大于50。说明当搅拌速度对表面修饰包衣影响不显著，不是工艺的关键因素。并且由于处方投料量相对于反应介质量小，一定转速下，药物树脂复合物混悬容易，可充分与包衣材料接触。因此，制备工艺最终选择中等搅拌速度。

**2.2.5.2表面修饰包衣温度的考察**

载药30%的黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理，干燥备用。

按“本章2.2.4”项下处方6投料，见表3-2-15。除水浴温度外，其他工艺参数固定：修饰时间6h；搅拌速度300rpm/min。考察表面修饰包衣温度：25℃、

35℃、40℃、50℃，对微囊载药量、包封率及及释药行为的影响。结果见表3-2-16

和图3-2-8.

表3-2-15 修饰包衣温度考察工艺处方

Tab. 3-2-15 The research on the heating temperature for surface modification of

Fibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Fibriuretinin-resinate complex(g) | Eudragit  RS100(g) | Ethanol  95%(g) | Temperature of  Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 6 | 5 | 20 | 180 | 40 |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 8 | 5 | 20 | 180 | 50 |  |
|  | 9 | 5 | 20 | 180 | 35 |  |
|  | 10 | 5 | 20 | 180 | 25 |  |

表3-2-16 不同修饰包衣温度对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| evaporate temperature(℃) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 25 | 20.12 | 65.62 |
| 35 | 19.89 | 70.54 |
| 40 | 19.55 | 70.88 |
| 50 | 18.95 | 71.02 |

Tab.3-2-16 The effect of heating temperature on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=4)



图3-2-8 修饰包衣温度对黄藤素药物树脂微囊释药行为的影响

Fig. 3-2-8 The effeet of the heating temperature on drug release fromFibriuretinin-resinate

microcapsules

由表3-2-16可知，随着修饰包衣温度的降低，微囊的载药量虽然升高，但是包封率有所下降，可能是由于修饰包衣反应不够完全，衣膜形成不完整所致，并且，依据“本章2.2.3”项下释放度综合评分法，25℃修饰包衣制得的微囊2h内释放达到45%，存在突释的现象。由图3-2-8可知，温度越高，微囊释放越缓慢，说明温度升高有利于修饰包衣反应的进行，Eudragit RS100与IRP88表面羧酸基团的键合反应是吸热反应，温度升高有利于该离子交换反应的正向进行。因而，一定反应时间内，温度越高，囊壁形成越厚，药物树脂微囊释药越缓慢。35℃制备条件下，形成的微囊的载药量和包封率虽然均在可接受范围内，并且释放度综合评分最高，12h内释药可达85%，较40℃制备微囊释药符合要求，并且耗能减少，节约成本，因而本实验选择修饰包衣温度为35℃。

**2.2.5.3表面修饰时间的考察**

载药30%的黄藤素载药树脂经20%（W/V）甘油水溶液浸渍预处理，干燥备用。

按“本章2.2.5.2”项下处方9投料，见表3-2-17。除表面修饰时间外，其他工艺参数固定：搅拌速度300rpm/min；表面修饰包衣温度35℃，考察修饰时间分别为2h、4h、6h时，对微囊载药量、包封率及释药行为的影响。结果见表3-2-18和图3-2-9。

表3-2-17 表面修饰时间考察工艺处方

Tab. 3-2-17 The research on the reactive time of surface modification ofFibriuretinin-resinate complex

| Formulation  No. | Fibriuretinin-resinate  complex(g) | Eudragit  RS100(g) | Ethanol  95%(g) | Temperature of Water bath(℃) |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 9 | 5 | 20 | 180 | 35 |

表3-2-18 表面修饰时间对微囊载药量及包封率的影响

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| evaporate time (h) | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) |
| 2 | 17.96 | 56.57 |
| 4 | 19.78 | 70.23 |
| 6 | 19.89 | 70.54 |

Tab.3-2-18 The effect of reactive time of surface modification on the Drug loading and Encapsulation efficiencies of the coated microcapsules(n=3)



图3-2-9 表面修饰时间对黄藤素药物树脂微囊释药行为的影响

Fig. 3-2-9 The effeet of the reactive time of surface modification on drug release from

Fibriuretinin-resinate microcapsules

由表3-2-18可知，随着表面修饰时间的延长，微囊的载药量及包封率有升高趋势，修饰时间为4h和6h时，微囊的载药量和包封率相似，但是修饰时间为4h的微囊较6h的释药快，并且2h内突释，可能原因是尽管4h修饰时间制备的微囊载药和包封率合格，形成衣膜完整，但是由于修饰时间短，Eudragit RS100铵基键合后，长链分子分子对药物树脂的包裹不均匀，或是形成的衣膜较薄所致。同理，修饰包衣时间2h的药物树脂也存在类似现象，并且可能由于衣膜不完整，包封率较低。故本实验选择表面修饰时间为6h。

##### **2.2.6** 最优工艺处方验证

**2.2.6.1最优工艺处方确定**

综合“本章2.2.4及2.2.5”项下考察结果，确定最优处方和制备工艺如表3-2-19

所示：

表3-2-19 黄藤素药物树脂复合物表面修饰包衣最优工艺

Tab. 3-2-19 The optimized process parameters for surface modificationof Fibriuretinin-resinate

| Process factors of surface modification | Optimized parameters |
| --- | --- |
| Drug-loaded Fibriuretinin-resinate (%) | 30 |
| Fibriuretinin-resinate amount (g) | 5 |
| Eudragit RS100 (g) | 20 |
| 95% ethanol (g) | 180 |
| Reactive time (h) | 6h |
| Heating temperature(℃) | 35 |

**2.2.6.2外观性状**

取最优制备工艺制备的黄藤素药物树脂复合物微囊适量，平摊在白纸上肉眼观察，微囊为橙黄色粉末。如图3-2-10所示。



图3-2-10 表面修饰包衣工艺黄藤素药物树脂微囊外观形态

Fig. 3-2-10 The morphology ofFibriuretinin-resinate microcapsules

**2.2.6.2扫描电镜**

取最优制备工艺制备的黄藤素药物树脂复合物微囊适量，进行扫描电镜分析，SEM图详见3-2-11。由图可见，微囊为形状不规则粒子，与未包衣前药物树脂的形态相似。



图3-2-11 表面修饰包衣工艺黄藤素药物树脂微囊电镜扫描图

Fig. 3-2-11 The Scanning electron micrographs

(A. Fibriuretinin-resinate B. Fibriuretinin-resinate microcapsules)

**2.2.6.3粒径及其分布**

取最优制备工艺制备的黄藤素药物树脂复合物微囊适量，参照本章“2.1.4”项下方法绘制d-p粒径分布图，详见图3-2-12。并计算微囊跨距span。



图3-2-12 表面修饰包衣工艺黄藤素药物树脂微囊粒径分布图

Fig. 3-2-12 Particle size distribution of Fibriuretinin-resinate microcapsules

由图3-2-12可知，包衣后微囊平均粒径约为72μm，包衣前黄藤素药物树脂平均粒径约为57.33μm。粒径较药物树脂未见显著增大。微囊跨距span=0.65，粒径分布范围在65μm~78.5μm，分布窄。

**2.2.6.4处方工艺重复性实验**

按照“本章2.2.6.1”项下最优处方工艺，制备6批黄藤素药物树脂微囊，对微囊的粒径、载药量、包封率及释药行为进行评价，结果见表3-2-20及图3-2-13。

表3-2-20 表面修饰包衣最优工艺重复验证实验结果

Tab. 3-2-20 The result of verification test of the best preparation technology

| Lot. | Drug loading(%) | Encapsulation efficacy(%) | Diameter(μm) |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 20.45 | 70.18 | 73.17 |
| 2 | 19.47 | 70.23 | 72.91 |
| 3 | 20.39 | 67.98 | 73.63 |
| 4 | 20.16 | 71.08 | 73.55 |
| 5 | 19.69 | 69.61 | 72.66 |
| 6 | 21.38 | 70.54 | 74.12 |
| RSD(%) | 3.32 | 1.58 | 0.72 |



图3-2-13 表面修饰包衣最优工艺制备微囊重复验证实验释药行为考查

Fig. 3-2-13 The release behavior of verification test of the best preparation technology

从表3-2-20及图3-2-13结果可知，采用最优表面修饰包衣制备的微囊，重现性良好，粒径范围窄，载药量高。将各批次释放曲线两两比较，*f*2相似因子均大于50，6批样品的释放度差异小。

### **2** 讨论与小结

本研究首次通过表面修饰包衣方法将黄藤素药物树脂复合物包覆在以Eudragit RS100季铵盐包衣材料中成囊的方法来掩盖黄藤素的苦味，为掩盖黄藤素的苦味又开创了一个新的途径，同时也为其他有不良气味的解离型药物提供了掩盖苦味的方法。并且，通过优化包衣工艺，制备具有12h缓释性能的药物树脂微囊，减少服药次数，提高患者顺应性。

药物树脂微囊化后，整个体系的释药机理不仅包括原先药物树脂复合物的粒扩散控释还包括衣膜的膜扩散控释作用。参照“第三部分第一章2.3.3.3”项下释药模型，对黄藤素药物树脂微囊的释药过程采用不同释药模型进行拟合：通过比较拟合方程的相关系数，分析制剂的释药机制。拟合结果如下表3-2-21所示：

表 3-2-21 药物释放机理模型拟合结果

Tab. 3-2-21 Model fitting result of drug release from microcapsules

| Mechanism | Fitting equation | r |
| --- | --- | --- |
| Film diffusion | - ln1- Mt M    0.1683t  0.0233 | 0.9983 |
| Matrix diffusion | M t M   0.01t 2  1 | 0.9998 |
| Ritger-Peppas | Ln(Mt M  )  0.6375lnt - 1.6415 | 0.9956 n=0.6375 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Viswanathan | *- ln*1*- F*   *0.4096t* 0.65 *- 0.1752* | 0.9846 |

从表3-2-21结果可知，表面修饰包衣微囊的释放以一级模型（Film diffusion）和Higuchi模型（Matrix diffusion）拟合效果最佳。说明包衣后，整个体系的释药机制由先前的粒扩散（Viswanathan）控制的释药行为转变为由膜控释及骨架扩散为主，树脂内部粒扩散为辅的释药形式。由Ritger-Peppas方程拟合结果推测，假若将微囊近似看作球体，n=0.6375, 0.43<n<0.85，表现为不规则转运机制[5]。

参考文献

[1] 曾环想. 离子交换树脂复合物的药物传递系统与药物动力学研究[D]. 辽宁: 沈阳药科大学, 2008.

[2] 陈昂, 贺芬. 含药树脂表面修饰法制备加兰他敏口服缓释混悬液[J]. 中国医药工业杂志, 2007, 38(3): 227-244.

[3] 张启明, 谢沐风, 宁保明, 等. 采用多条溶出曲线评价口服固体制剂的内在质量[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(12): 946-950.

[4] 谢沐风. 溶出曲线相似性的评价方法[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(4): 308-310.

[5] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 388.

# 第四部分 黄藤素树脂微囊初步稳定性研究

产品稳定性研究是药物制剂质量评价的重要内容。本部分内容对采用溶剂挥发法和表面包衣法制备的黄藤素树脂微囊进行影响因素试验，考察高温、高湿、强光对制剂外观性状、药物含量及释药行为的影响，为加速试验和长期稳定性试验提供依据，为制剂的存储条件提供参考。

### **1** 试药与仪器

#### **1.1** 试药

|  |  |
| --- | --- |
| 黄藤素 | 西安融升生物科技有限公司  批号 RS12111901，含量 98.57% |
| 氢氧化钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸二氢钠 | AR 广州化学试剂厂 |
| 磷酸氢二钾 | AR 广州化学试剂厂 |
| 甲醇 | AR 天津市大茂化学试剂厂 |
| 盐酸 | AR 广州市东红化工厂 |
| 甲醇 | HPLC Merck |
| 乙腈 | HPLC Merck |
| 甲酸 | HPLC Kermel  天津市科密欧化学试剂有限公司 |
| 溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊样品 | 自制 Lot.20130206 |
| 表面包衣法制备黄藤素树脂微囊样品 | 自制 Lot.20130207 |

#### **1.2** 仪器

|  |  |
| --- | --- |
| ACQUITY 超高效液相色谱仪 | 美国 Waters |
| UPH-I-20 优普系列超纯水机 | 成都超纯科技有限公司 |

|  |  |
| --- | --- |
| KQ-100 型超声波清洗器 | 功率 300w 频率 40KHz  昆ft市超声仪器有限公司 |
| DZF-6050 型真空干燥箱 | 上海博讯实业有限公司 |
| CP225D, BS224S 型电子分析天平 | 德国 Sartorius |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器公司 |
| PB-10 普及型 pH 计 | 德国 Sartorius |
| CS101-2EB 电热鼓风干燥箱 | 重庆四达实验仪器有限公司 |
| YG-A 型药物光照实验仪 | 药物制剂国家工程研究中心 |
| KBF 恒温恒是培养箱 | WTC binder |
| MCG-300 人工气候箱 | 上海一恒科学仪器有限公司 |

### **2** 影响因素试验

#### **2.1** 高温试验

取黄藤素树脂微囊样品适量（含黄藤素约300mg），平铺于培养皿中，置于恒定温度为60℃鼓风型烘箱中，于5天、10天取样，考察其性状、含量及缓释性能，并与0天结果比较。结果见表4-1、4-2和图4-1.

表4-1 高温试验结果—溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130206）

Tab. 4-1 The result of high temperature test of the microcapsules prepare by solvent evaporation

| Time(d) | Content(%) | Appearance Characters |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 橙黄色粉末 |
| 5 | 99.65 | 橙黄色粉末，颜色较 0 天样品深 |
| 10 | 97.88 | 橙黄色粉末，颜色较 5 天样品深 |

表4-2 高温试验结果—表面法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130207）

Tab. 4-2 The result of high temperature test of the microcapsules prepare by surface modification

| Time(d) | Content(%) | Appearance Characters |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 浅黄色粉末 |
| 5 | 99.86 | 浅黄色粉末 |
| 10 | 98.86 | 橙黄色粉末 |



图4-1 黄藤素树脂微囊高温试验结果

Fig. 4-1 Release profile of Fibriuretinin-resinate microcapsules expose to high temperature A. microcapsules prepare by solvent evaporation B. microcapsules prepare by surface modification

#### **2.2** 高湿试验

取黄藤素树脂微囊样品适量（含黄藤素约300mg），平铺于培养皿中，置于盛有KNO3饱和溶液的密闭干燥器中，室温放置（即相对湿度为92.5%，25℃）。于5天、10天取样，考察其性状、含量及缓释性能，并与0天结果比较。结果见表4-3、4-4和图4-2。

表4-3 高湿试验结果—溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130206）

Tab. 4-3 The result of high humidity test of the microcapsules prepare by solvent evaporation

| Time(d) | Content(%) | Weight increased(%) |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 0.0 |
| 5 | 99.82 | 0.3 |
| 10 | 99.08 | 0.3 |

表4-4 高湿试验结果—表面法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130207）

Tab. 4-4 The result of high humidity test of the microcapsules prepare by surface modification

| Time(d) | Content(%) | Weight increased(%) |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 0 |
| 5 | 99.86 | 0.2 |
| 10 | 99.88 | 0.2 |



图4-2 黄藤素树脂微囊高湿试验结果

Fig.. 4-2 Release profile of Fibriuretinin-resinate microcapsules expose to high humidity A. microcapsules prepare by solvent evaporation B. microcapsules prepare by surface modification

#### **2.3** 光照试验

取黄藤素树脂微囊样品适量（含黄藤素约300mg），平铺于培养皿中，置于药物光照试验箱中，照度为4500±500Lx，考察其性状、含量及缓释性能，并与0天结果比较。结果见表4-5、4-6和图4-3。

表4-5 光照试验结果—溶剂挥发法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130206）

Tab. 4-5 The result of strong light test of the microcapsules prepare by solvent evaporation

| Time(d) | Content(%) | Appearance Characters |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 橙黄色粉末 |
| 5 | 98.89 | 橙色粉末 |
| 10 | 97.53 | 深棕色粉末 |

表4-6 光照试验结果—表面法制备黄藤素树脂微囊（lot.20130207）

Tab. 4-6 The result of strong light test of the microcapsules prepare by surface modification

| Time(d) | Content(%) | Appearance Characters |
| --- | --- | --- |
| 0 | 100 | 浅黄色粉末 |
| 5 | 99.54 | 橙黄色粉末 |
| 10 | 96.90 | 深棕色粉末 |



图4-3 黄藤素树脂微囊光照试验结果

Fig. 4-3 Release profile of Fibriuretinin-resinate microcapsules expose to strong light A. microcapsules prepare by solvent evaporation B. microcapsules prepare by surface modification

### **3** 小结

影响因素试验，结果表明，自制黄藤素树脂微囊在高温、高湿及光照条件下较为稳定。微囊对光照、高温较为敏感，外观发生改变，制剂颜色变深。强光使制剂的含量略有下降。综上所述，确定该制剂的保存条件为：阴凉、避光。

## 小结与展望

本文以黄藤素（又名盐酸巴马汀）为模型药，依据离子交换反应原理，采用批式离子交换法使其与新型药物载体——离子交换树脂相结合形成复合物。并在此基础上，运用溶剂挥发法和表面修饰包衣法，载药树脂为囊芯，进一步包裹缓释衣层，提高制剂在胃肠道的停留时间，并缓慢释放药物，增加药物的吸收。在整个研究过程中得到以下结论：

1.建立了超高效液相色谱法对黄藤素进行了体外分析包括含量测定方法及释放度的测定方法，精密度、稳定性、回收率实验结果表明方法灵敏可靠。分析速度快，大大缩短了分析时间（5分钟内完成）。根据剂型和工艺的要求，对黄藤素在不同介质中的溶解度及油水分配系数进行考察，结果显示，黄藤素在水中的溶解度为pH升高显著增大，随介质离子浓度的增加略有下降，释放度考察选择溶液均满足漏槽条件；碱性条件下的油水分配系数大于酸性条件。上述结果，有利的佐证了对黄藤素药动文献调研中提到的，偏碱性的介质条件有利于Caco-2细胞对盐酸巴马汀的吸收。这可能是由于盐酸巴马汀在酸性介质中以盐的形式存在，在碱性介质中以游离化合物存在，所以在酸性介质中脂溶性必然比原型化合物小很多，故吸收明显减弱，所以偏碱性介质有利于盐酸巴马汀的吸收。

2.实验采用批式离子交换法制备黄藤素药物树脂复合物，结果表明：弱酸K+型阳离子交换树脂IRP88与黄藤素间结合稳定，载药量大，每克树脂上可载黄藤素约312mg；该载药过程是一个放热过程，适当的降低温度可以缩短载药平衡时间，有利于提高离子交换树脂对药物的利用率和载药树脂复合物的载药量。偏碱性的反应体系也利于离子交换反应的进行。因此调节黄藤素溶液的pH为6.8。经差示扫描热分析法(DSC)和傅里叶红外（FT-IR）证明黄藤素与离子交换树脂之间并非简单的物理吸附，而是通过离子键和形成药物树脂盐。体外释药动力学研究表明，pH值对药物树脂复合物的释放行为没有影响，药物树脂复合物在去离子水中不释放药物，释药速率随介质中离子强度的增加而增加：其释药动力学过程可用Viswanathan方程来描述，并且黄藤素在实验介质中的释放属粒扩散过程控制，粒扩散系数Dr，随释放介质中离子浓度的增加而增加。

3.溶剂挥发法缓释包衣工艺考察：包衣体系根据伪三元相图结果和控制表面活性剂用量原则，确定为液体石蜡（连续相）：丙酮（分散相）：司盘80(表面活性剂) =14:5:2（质量比）；包衣过程的搅拌速度和固化温度对制剂的成型性起到关键作用，搅拌速度过慢则制剂发生粘连，成型性不好，搅拌速度过快则包衣层薄，制剂释放速度较快；固化温度低则制剂易发生粘连固化温度的升高，温度低则由于分散相挥发过快，囊壁形成不均匀或是成膜不完整，微囊的包封率降低。最终包衣选择搅拌速度300rpm/min，固化温度30℃，固化时间6h。

4.溶剂挥发法包衣处方考察：囊材为EC（20cp），囊材浓度为4%时，对药物树脂具有良好的混悬效果，粘度合适，制备树脂不易黏连。选取对微囊包封率和释药行为影响较为显著的因素：囊材与囊芯质量比、增塑剂用量，作为考察因素，以包封率及释放度评分指标，采用中心组合优化设计对处方进行了优化。优化后微囊具有良好缓释特性，不同批次样品间释放曲线重现性良好。微囊粒径为

104.94μm，分布符合正态分布；载药量为19.18±0.53%，平均包封率为72%。

5.采用表面修饰包衣法制备微囊的工艺参数和处方参数。实验结果表明，药物树脂复合物的载药量、所用包衣液的浓度、反应介质的用量以及反应温度等都对黄藤素树脂微囊的药物释药特性有着重要影响。优化后的微囊平均粒径小，约为72μm，载药量为20.01±0.45%，平均包封率为71%。

6.实验结果表明，溶剂挥发法及表明修饰包衣法均能制备出具有良好缓释性能的黄藤素树脂微囊。但采用溶剂挥发法制备的微囊从扫描电镜观察可知，是以多个药物树脂复合物微粒为囊芯，通过囊材包裹形成微囊的，粒径较大；而表面修饰包衣法，仅通过包衣材料的季铵基结合到药物树脂表面，长链包裹树脂外表面的方式对材料改性，减缓树脂上的药物分子与外源离子的交换，从而调节药物释放。因而形成的微囊均是单核囊芯包衣，粒径小。同时，由于溶剂挥发法后续溶剂处理麻烦，批件重现性稍差，因而表面修饰包衣法操作简单，后处理容易，重现性好，微囊均一性好，反应溶剂绿色无污染的优点更利于实现工业化，适合后期的制剂加工。

致**谢**

本文是在导师林华庆教授的悉心指导下完成的。衷心感谢林老师三年来在学习、研究工作中的悉心指导和生活中的关心与教诲。导师在科研中注重技术与产业结合，同时在学术前沿的敏锐洞察和锐意进取、治学严谨的精神耳濡目染着我，为我树立了榜样。

同时，三年的研究生的学习和论文工作的顺利完成，同样离不开实验室众多领导、老师和同学的关心和帮助。在此，我要感谢邓红、张蜀、余楚钦老师等在对我实验过程中出现的问题耐心的指导，让我少走弯路，帮助我顺利完成论文。感谢陈卉、秦贞苗、雷伟等同学，李焕清、林苏娜、郑文忠、何一鸣、梁兆峰等师弟师妹在实验过程中给予的支持与帮助。感谢好友田璐，三年来的同甘共苦，共同成长。特别感谢深爱的父母一直来的包容、关爱与理解。三年来的研究生生活带给我的收获不仅仅是科研技能的提高，为人处事的态度更是让我受益匪浅。

作为考研调剂的学生，我相当幸运的成为林老师弟子，来到具有一流硬件设施的广药药物研究所工作学习，或许三年下来相比其他学院，这里并不是一个相对轻松的环境，需要参与企业合作项目，但是如果不是这些磨练，我可能会变懒，变成一个没有深度，没文化的不完整的药学人。三年来，在林老师的带领下，我们参观了许多企业，大到生产线小到研究室；还参加了许多药学相关的业界交流会议，极大的开拓了我的眼界与见识，对我未来的工作于人生的规划具有深远的影响。

最后，特别感谢百忙之中抽出时间对我的论文进行评阅并提出宝贵意见的各位专家及老师。

#### 攻读学位期间的工作

**攻读硕士学位期间发表的论文**

1. 周小圆, 林华庆, 雷伟. 难溶性药物纳米晶体的研究进展[J]. 中南药学, 2013, 11(5): 353~358.

2. 雷伟, 林华庆, 周小圆. 微乳液凝胶经皮给药新载体研究进展[J]. 中国药师, 2011, 14(6): 789~793.

**攻读硕士学位期间的科研经历**

1. 氯化钾缓释片的研制：广东东莞广发制药厂

2. 参与SFDA组织的中国常用药用辅料数据库及应用查询系统建立资料的编写工作

3. 广州天心制药厂组织的延胡止痛片欧盟申报资料的撰写工作

4. 某栓剂的研制（海南海神制药有限公司在申报新药项目）：在导师指导下，担任该项目主要负责人，负责该项目制剂的研发及分析工作，目前已经入中试放大阶段

5. 2012.6：参加2012年广州站国际药用辅料节辅料应用技术研讨会并作为嘉宾接待志愿者

6. 2011~2012：参与产学结合项目——“走进药厂”，在广州中一药厂、广州香雪制药有限公司、冯了信制药有限公司生产线学习

7. 2011：参加2011年广州站国际药用辅料节辅料应用技术研讨会并作为嘉宾接待志愿者

附**录**

470.01

1952.32

780.09

2047.69

714.18

730.95

526.00

2611.89

667.73

809.88

614.63

867.63

918.70 832.09

860.84

587.70

2840.69

3066.48

3607.02

1302.19

1050.41

2979.11

900.35

2946.43

997.94

1431.60

1067.97

1566.98

1634.79

967.73

3350.63

1193.27

1016.94

1142.22

1461.46

1333.32

1217.29 1111.84

1604.91

1524.06 1243.42

1511.64 1364.51 1275.67

100.0

95

90

85

80

75

70

65

60

55

50

%T 45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

-5.0

4000.0 3600 3200 2800 2400 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 450.0

cm-1

Fig. A The infrared spectragram of Fibriuretinin

2539.14

717.41 612.29

967.87

767.65

518.70

849.55

1248.10

2989.14

1555.03 1445.42

1341.26

1394.78

1201.00

1689.45

3424.29

141.9

130

120

110

100

90

80

70

%T

60

50

40

30

20

10

0

-5.0

4000.0 3600 3200 2800 2400 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 450.0

cm-1

Fig. B The infrared spectragram of Amberlite IRP88

2036.67

1952.20

479.80

2610.78

714.47

741.23

730.71

779.24 668.09

918.87

1050.66

848.07

890.29

616.84 524.53

587.43

999.41 867.27

809.51

832.79

1303.83

2840.34

1068.32

1018.38

968.49

2947.91

2982.34

1635.11

1511.76

1526.44

1333.45

1142.12

3376.90

1605.39

1244.69

1275.23 1110.83

1454.03

1567.26

1216.02

100.0

95

90

85

80

75

70

65

60

55

%T 50

45

40

35

30

25

20

15

10

3.2

4000.0 3600 3200 2800 2400 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 450.0

cm-1

Fig. C The infrared spectragram of the physical mixture of Fibriuretinin and Amberlite IRP88

1953.13

920.27

741.48

707.67

615.11

847.34

775.31

809.58

586.80

518.95

967.25

1066.43

1016.80

1139.92

1107.95

1456.78

2938.94

1241.29

1192.26

1274.21

3405.01

1606.50

1565.69

1362.74

100.0

95

90

85

80

75

70

65

60

55

50

%T 45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

-5.0

4000.0 3600 3200 2800 2400 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 450.0

cm-1

Fig. D The infrared spectragram of the Fibriuretinin-resinate complex