

· 论著 ·

温控型胰岛素液体肛门栓药剂学研究

刘丹¹, 赵文萃¹, 肖秋生¹, 王艳萍¹, 张琦¹, 杨文慧² (1. 解放军208医院, 吉林长春130000; 2. 延边大学药学院, 吉林延吉133000)

[摘要] 目的 温控型胰岛素液体肛门栓药剂学性质的研究。方法 采用正交试验法, 以形成凝胶时间、胶凝强度、生物黏附力、黏度、胶凝温度作为评价指标, 对方剂中的泊洛沙姆407和泊洛沙姆188的比例、壳聚糖质量分数和pH值3个因素进行考察, 确定最优处方工艺; 测定最优处方液体栓剂的胶凝强度、生物黏附力、黏度、胶凝温度。结果 泊洛沙姆407: 泊洛沙姆188(15: 25), 壳聚糖质量分数0.4%, pH值为 5 ± 0.2 。结论 经验证结果良好, 液体栓剂强度及生物黏附力良好。

[关键词] 胰岛素; 正交试验; 液体栓

[中图分类号] R977.1; R944.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)05-0423-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.05.010

Pharmaceutical studies on thermos sensitive insulin anal liquid suppository

LIU Dan¹, ZHAO Wencui¹, XIAO Qiusheng¹, WANG Yanping¹, ZHANG Qi¹, YANG Wenhui² (1. No.208 Hospital of PLA, Changchun 130000, China; 2. School of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China)

[Abstract] **Objective** To study the pharmaceutical quality of the thermos sensitive insulin anal liquid suppository. **Methods** Orthogonal test method was used, the forming of a gelatum time, gel strength, bio-adhesive force, viscosity, gelation temperature were taken as the evaluation index, the prescription of poloxamer 407 and poloxamer 188, the proportion of chitosan and pH were investigated, in order to determine the best optimized prescription and measure what was the best choice of the gel strength, biological adhesion force, suppository viscosity, gelation temperature for the final prescription of liquid suppository. **Result** The best combination of the prescription were 15% of poloxamer 407, 25% of poloxamer 188 and 0.4% of chitosan with the pH of 5 ± 0.2 . **Conclusion** The test proved to be equitable with the good intensity and bio-adhesive force of the liquid suppository.

[Key words] insulin, orthogonal test, liquid suppository

胰岛素是目前用于治疗胰岛素依赖型糖尿病的主要药物, 但胰岛素属于多肽类药物, 具有分子量大、半衰期短、脂溶性差和不易透过生物膜等特点, 因此长期以来一直以皮下注射给药为主, 给患者带来了许多的痛苦和不便。为了减轻患者的痛苦, 胰岛素的非注射给药途径的研究变得十分热门。

本试验研究的是温控型胰岛素液体肛门栓的药剂学性质。液体栓剂即原位凝胶是以液体的形式进入直肠后, 在直肠生理温度下迅速由液体变为半固体黏稠凝胶态, 拥有较好的胶凝强度和生物黏附力, 可以固定在给药部位, 不易从肛门漏出, 也不会进入到直肠内部, 可以避免肝脏首过效应, 含药凝胶可使药物在直肠滞留时间长达10~12 h, 也可以提高药

物的生物利用度^[1]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 NDJ-1 旋转黏度计(上海精密科学仪器有限公司), 电热恒温水浴锅(北京市中兴伟业仪器有限公司), PHS-3C 精密酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司); 电磁搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

1.2 试剂 胰岛素原料药(批号: 1112A05, 1203A10, 1207A09, 徐州万邦金桥制药有限公司); 泊洛沙姆407(批号: 20111101)、泊洛沙姆188(批号: 20110506)购自南京威尔化工有限公司; 壳聚糖(批号: 20110316, 国药集团化学试剂有限公司); 尼泊金乙酯(批号: 20111117, 天津市华东试剂厂); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 正交试验 根据文献^[1-9]和预试验的结果, 本

[作者简介] 刘丹, 本科, 药师. Tel: (0431)86988187; E-mail: 385954023@qq.com

[通讯作者] 张琦, 博士, 主管药师. 研究方向: 药剂学. Tel: (0431)86988187; E-mail: zqi8229@126.com

试验选用泊洛沙姆 407 (P407) 和泊洛沙姆 188 (P188) 作为栓剂的基质, 选择壳聚糖 (chitinous, CS) 作为辅料以增加胶凝强度和生物黏附力, 同时还可以作为胰岛素的促吸收剂, 因胰岛素在弱酸性溶液中较稳定, 应考虑到直肠可承受的 pH 值范围。因此, 选用 P407 和 P188 的比例、CS 质量分数、pH 值作为考察因素, 每个因素选 3 个水平, 按 L₉(3⁴) 正交表安排试验, 以评分值作为考察指标, 因素与水平见表 1, 正交设计和方差分析见表 2、3。

直观分析表明, 各因素影响主次顺序为 A>B>C。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素 A (P407 : P188)	因素 B (CS 质量分数)	因素 C (pH)
1	15 : 15	0.2%	4±0.2
2	15 : 20	0.3%	5±0.2
3	15 : 25	0.4%	6±0.2

表 2 正交试验设计与结果

试验序号	因素			试验结果 评分值
	A	B	C	
1	1	1	1	5
2	1	2	2	5
3	1	3	3	6
4	2	1	2	7
5	2	2	3	6
6	2	3	1	8
7	3	1	3	9
8	3	2	1	8
9	3	3	2	10
K1	16	21	21	Σy=64
K2	21	19	22	ȳ=7.11
K3	27	24	21	Σy ² =480
R	11	5	1	

注: 评分值以 10 分为满分; 形成凝胶的时间 0~60 s 为 2 分、60~300 s 为 1 分、300 s 以上为 0.5 分; 胶凝强度 270~320 s 为 2 分、220~270 s 为 1 分、220 s 以下为 0.5 分; 生物黏附力 100~150 Pa 为 2 分、50~100 Pa 为 1 分、50 Pa 以下为 0.5 分; 黏度 70 000~75 000 mPa·s 为 2 分、60 000~70 000 mPa·s 为 1 分、60 000 mPa·s 以下为 0.5 分; 胶凝温度 31~33 ℃ 为 2 分、29~31 ℃ 为 1 分、29 ℃ 以下为 0.5 分

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	20.23	2	10.115	101.15	<0.05
B	4.23	2	2.115	21.15	<0.05
C	0.23	2	0.115	1.15	>0.05
D(误差)	0.2	2	0.1		

注: F_{0.05}(2,2)=19.00

方差分析结果可知, P407 与 P188 的比例和 CS 质量分数为主要因素, 具有显著性 (P<0.05), pH 值对试验结果无显著性影响。确定温控型胰岛素液体肛门栓最佳制备工艺为 A3B3C2, 即 P407 : P188 = 15 : 25, 壳聚糖质量分数为 0.4%, pH 值为 5±0.2。

2.2 验证试验 按上述优选的最佳工艺进行验证试验, 制备 3 批凝胶样品, 样品色泽均匀, 含量稳定, RSD 为 1.05%, 表明该工艺合理、稳定可行。

2.3 处方和制备 通过正交试验, 确定该研究中温控型胰岛素液体肛门栓的处方为: P407 7.5 g, P188 12.5 g, 壳聚糖 200 mg, 胰岛素 175 mg, 按比例将 P407、P188, 加适量的重蒸水溶解, 边加边搅拌, 置 4 ℃ 冰箱冷藏过夜, 取出, 取壳聚糖、胰岛素, 用适量 2% 醋酸溶解, 加入到泊洛沙姆溶液中, 边加边搅拌, 加 0.05% 尼泊金乙酯溶液 1 ml, 将混合液放置冰箱保存 10~12 h, 使其充分水化, 除去气泡, 再加入重蒸水至 50 ml 即可^[1-3]。

2.4 胶凝强度的测定^[10] 本试验采用的是自制装置如图 1, 量取胰岛素液体肛门栓 50 ml 于 60 ml 透明圆筒内, 置 (36.5±0.5) ℃ 恒温水浴中使其形成凝胶, 圆盘 B (重 0.5 g, 有 6 个直径均为 0.5 mm 的小圆孔) 放入凝胶中。圆筒 C 内径为 2 cm, 砝码置圆盘 B 上, 圆盘 B 在 36.5 ℃ 条件下从凝胶中下降 3 cm 所用的时间 (s) 决定胶凝强度大小。试验重复测定 3 次, 结果取平均值为 (282±15) s。

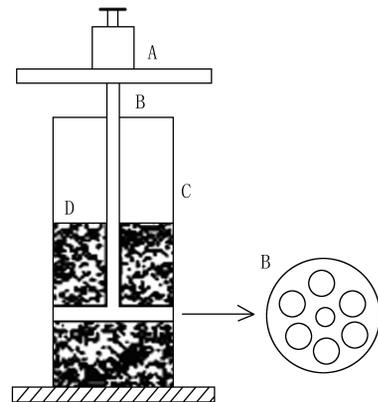


图 1 胶凝强度试验装置

A. 砝码; B. 圆盘; C. 圆筒; D. 凝胶

2.5 生物黏附力^[11] 生物黏附力是指在 36.5 ℃ 时, 液体栓剂胶凝在直肠黏膜组织上的黏附力。本试验采用 MIKOS 等报道的生物黏附力每单位面积计算公式: $f=0.98 m/\pi r^2$, 其中 m 为所加砝码的最小质量, r 为塑料管的半径。取新鲜的直肠 (牛和羊) 底部组织一段, 将其内侧固定在塑料管的 E 端, 在 36.5 ℃ 下保持 10 min, 然后用一个塑料管连接

到平衡装置上,另一个塑料管放在可以上下调节的平板上,取液体栓剂涂在下面塑料管的直肠组织上,调节平板高度,使液体栓剂能涂在两段直肠上。不断增加 B 处砝码的重量,直至 2 个塑料管分开。液体栓剂生物黏附力即为使两管分开的最小重量。装置见图 2。

羊肠黏膜测定的生物黏附力 $f=(109\pm 3)$ Pa,牛肠黏膜测定的生物黏附力 $f=(124\pm 5)$ Pa。

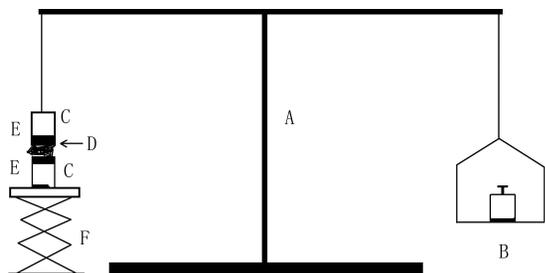


图 2 生物黏附力试验装置

A.平衡台;B.砝码;C.塑料管;D.温控型胰岛素液体肛门栓;E.肠黏膜;F.升降台

2.6 黏度测定 量取温控型胰岛素液体肛门栓 50 ml,置 100 ml 烧杯中,将烧杯置于 $36.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中,待温控型胰岛素液体肛门栓形成凝胶后,利用旋转黏度计测定其黏度,重复测定 3 次,取平均值 $73\ 000\ \text{mPa}\cdot\text{s}$ 。

2.7 胶凝温度的测定 在 50 ml 烧杯中放入温控型胰岛素液体肛门栓 20 ml 和搅拌子,插入精确度为 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度计。于低温 ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$) 水浴中将温度计的水银球完全浸没在液体栓中,转速为 $30\ \text{r}/\text{min}$,水浴持续缓慢升温,水浴的温度上升率为 $1\sim 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$,当磁力搅拌子停止转动时,其温度即为凝胶的胶凝温度 (T),重复测定 5 次,取平均值为 $32.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ [12]。

3 讨论

在液体栓剂的制备过程中,选择的栓剂基质是将 P407 和 P188 混合使用,经试验验证,液体栓剂色泽均匀、含量稳定 [13]。本试验基质中加入了壳聚糖,壳聚糖是一种天然阳离子多糖,可以提高凝胶剂的黏度和强度,同时壳聚糖又具有良好的生物降解性和生物相容性,可以增加黏膜的通透性,有助于促进胰岛素进入直肠后透过黏膜的吸收,作为胰岛素的促吸收剂,在温控型胰岛素液体肛门栓中起到了双重作用。

试验中 pH 值控制在酸性条件下,这是因为①壳聚糖在微酸溶液中才能溶解;②胰岛素在酸性条件下才可以溶解,而且最重要的是胰岛素只有在酸

性环境中才稳定,因此正交试验的 $\text{pH}<(6\pm 0.2)$,考虑到直肠耐受的 $\text{pH}>4$,所以正交试验的 $\text{pH}>(4\pm 0.2)$ 。

温控型原位凝胶药物系统结合了液体制剂和凝胶制剂的优点,使其由液体状态转变成半固体凝胶状态的具有相转变特性的药物系统,且非常适合于黏膜给药。温度敏感型原位凝胶适宜的胶凝强度,有利于黏膜给药,能够降低固体栓进入机体的不适感,同时还可将药物固定在黏膜给药部位,这对于胰岛素能通过直肠黏膜给药具有重大意义。

该研究筛选了不同的栓剂基质,采用各种辅料提高凝胶的生物黏附力和凝胶强度,按优化处方制备了具有适宜胶凝温度 ($32.6\text{ }^{\circ}\text{C}$)、pH 值为 5、胶凝强度良好并且符合在体内胶凝要求的直肠栓剂。

【参考文献】

- [1] 何文,代文兵,吴燕,等.N-三甲基壳聚糖对胰岛素液体栓剂直肠吸收的促进作用研究[J].中国药学杂志,2006,4(16):1240-1243.
- [2] 王军.胰岛素眼用温度敏感型凝胶的制备及其体外释药考察[J].广东药学院学报,2011,27(4):1132-1134.
- [3] 肖金宝,李洪斌,刘福强,等.银杏叶提取物温度敏感型原位凝胶体外释放研究[J].中成药,2013,35(1):46-49.
- [4] 冯敏,何文.眼用维生素 A 棕榈酸酯阳离子脂质体原位凝胶的研制及体外释药研究[J].中国药师,2010,13(5):631-633.
- [5] 李星,束怡,丁明和,等.温度敏感型布洛芬缓释液体栓剂的制备与体内外评价[J].中国医院药学杂志,2011,31(17):1410-1413.
- [6] 宋成君,王莹,王春艳,等.黄芩温度敏感凝胶剂的研究[J].中国中药杂志,2008,33(6):628-631.
- [7] 吴杏梅.盐酸格拉司琼鼻用温度敏感型凝胶的制备及其体外释放度研究[J].中国药业,2008,17(16):49-50.
- [8] 沈雪,常迪,姜同英,等.硫普罗宁眼用原位凝胶的研制[J].沈阳药科大学学报,2009,26(2):89-92.
- [9] 仇海镇,李娟.原位凝胶的研究进展及其在药剂学中的应用[J].医学信息,2010,23(4):1524-1526.
- [10] Yong CS,Choi JS,Quan QZ,et al.Effect of sodium chloride on the gelation temperature, gel strength and bioadhesive force of poloxamer gels containing diclofenac sodium[J].Int J Pharm,2001,226(1-2):195-205.
- [11] 何文,代文兵,黄璐.壳聚糖对泊洛沙姆液体栓剂基质影响的体外研究[J].广东药学院学报,2005,21(1):26-29.
- [12] 宋涛.利巴韦林鼻用温敏凝胶的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [13] 杨文慧,肖秋生,姜宗文,等.温控型胰岛素液体缓释肛门栓体外释放研究[J].药学实践杂志,2014,32(1):56-58.

[收稿日期] 2014-05-21 [修回日期] 2015-03-20

[本文编辑] 顾文华