

· 论著 ·

地奥司明栓剂的制备及质量控制研究

王陈翔, 黄爱芳, 金 辉, 周 彬, 周子晔 (温州医科大学附属第一医院药学部, 浙江 温州 325015)

[摘要] 目的 制备地奥司明栓剂, 建立其质量控制方法。方法 以地奥司明为原料药, 以聚乙二醇 6000、聚乙二醇 400 和甘油为基质, 用热熔法制备含药栓剂, 并对其外观、含量均匀度、融变时限、质量差异进行评价。结果 地奥司明栓剂外观呈棕色, 室温下能保持较好的硬度, 含量均匀度、质量差异、融变时限、溶出度均符合栓剂要求。结论 本方法制备的地奥司明栓剂符合栓剂的质量要求, 适合作为地奥司明的新剂型进行开发。

[关键词] 地奥司明; 栓剂; 制备工艺; 质量评价

[中图分类号] R943

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2017)04-0325-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.009

Preparation and quality control of diosmin suppository

WANG Chenxiang, HUANG Aifang, JIN Hui, ZHOU Bin, ZHOU Ziyue (Department of Pharmacy, First Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Wenzhou 325015, China)

[Abstract] **Objective** To prepare diosmin suppository and establish a method for its quality control. **Methods** Diosmin was used as active ingredient. Polyethylene glycol 6000, polyethylene glycol 400 and glycerol were chosen as substrates. Fusion method was applied to prepare the diosmin suppository. The appearance, content uniformity, weight variation and melting time of suppository were evaluated. **Results** The diosmin suppository has brown color with good hardness at room temperature. The content uniformity, weight variation, melting time and dissolution rate meet the requirements of quality control. **Conclusion** The diosmin suppository prepared by this method was satisfied the quality requirements of suppository and serves as a new formulation of diosmin.

[Key words] diosmin; suppository; preparation; quality evaluation

地奥司明(diosmin), 别名香叶木昔, 是从中药蓬子菜 *Galium verum L.* 中分离得到的黄酮苷类活性成分^[1], 具有维生素 P 样作用, 能降低血管脆性、改善血管异常的通透性, 增强静脉张力, 改善微循环及促进淋巴回流, 主要用于治疗痔疮、慢性静脉功能不全、静脉曲张等相关病症^[2-4]。

目前, 地奥司明在临床应用剂型以片剂口服为主, 在外用剂型上国内外已有地奥司明软膏^[5,6] 外敷治疗痔疮的临床试验报道, 结果显示地奥司明软膏对于治疗外痔具有较好的疗效。如果把地奥司明制备成栓剂来治疗痔疮, 直接作用于病灶部位发挥治疗作用, 应当具有更好的应用前景。本实验旨在建立地奥司明栓剂的制备及质量检测方法, 为该药

新剂型的开发建立实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 SJM-10 子弹型栓剂模型(长沙市岳麓区常宏制药机械设备厂); 90-1B 大功率恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司); AB135-S/FACT 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); RBY-4 型自动融变时限检查仪(天津天光光学仪器有限公司); Waters 600E-2487 高效液相色谱仪(美国沃特斯公司); D-800 智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂)。

1.1.2 试药 地奥司明原料药(浙江龙游振强生物科技有限公司); 地奥司明标准品(纯度 98%, 批号: JL140826001, 江莱生物科技有限公司); 聚乙二醇 6000、明胶(国药集团化学试剂有限公司); 甘油(广东光华科技股份有限公司); 聚乙二醇 400(江苏彤盛化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 美国 TEDIA 有限公司); 其余试剂均为分析纯。

[基金项目] 温州市科技计划项目(Y20130289)

[作者简介] 王陈翔, 主管药师. Tel: 13587613784; Email: qiuqi-uwx@163.com

[通讯作者] 周子晔, 副主任药师. 研究方向: 中药制剂研究开发. Email: redd88@163.com

1.2 方法

1.2.1 栓剂的制备 选择基质及确定配比:根据地奥司明的理化性质和前期摸索,选择甘油和聚乙二醇多聚物作为基质^[7,8]进行考察。以聚乙二醇6000、聚乙二醇400、甘油为考察因素进行正交试验,确定最优的三者配比为5:1:1。同时,考察主药与基质配比为1:4时,能兼顾载药量和栓剂外观。最终得到栓剂的配方为:聚乙二醇6000 11.4 g,聚乙二醇400 2.3 g,甘油 2.3 g,地奥司明 4 g;制备地奥司明栓剂10枚。

制备工艺:采用热熔法结合定量注塑成型工艺^[9]制备栓剂。取50 ml烧杯,加入磁力搅拌子,按处方量依次称取聚乙二醇6000、聚乙二醇400、甘油置于烧杯中,放至带加热功能的磁力搅拌器上,水浴70℃融化;称取地奥司明微粉置已融化的含基质烧杯中,继续水浴70℃搅拌15~20 min,使药物混悬均匀;用5 ml一次性注射针筒依次吸取已经混悬好的含药混悬栓剂的基质2 ml,快速推注至含脱模剂(酒精)的栓剂模型中,待其冷却,或放于-4℃冰箱中3~5 min,待充分凝固后,脱模即得。

1.2.2 栓剂的质量评价 栓剂外观检查:要求栓剂外形完整光滑,无软化、变形或干裂;颜色均匀一致,药物和基质混合完全。

质量差异检查:根据《中华人民共和国药典》(2015年版,简称《药典》)^[10]规定:取栓剂10枚,精密称定质量,求得平均质量后,再分别精密称定各枚的质量,将每一枚栓剂的质量与平均质量相比较,超出质量差异限度的不得多于1枚,且不得超出限度的1倍。

融变时限:取栓剂3枚,按《药典》^[10]中融变时限检查装置和检查方法检查,水溶性基质的栓剂应在60 min内全部溶解。如有1枚不合格,则应另取3枚复测,结果应符合规定。

药物含量的测定:色谱条件:X-Bridge C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相A(1.3%醋酸水溶液,pH=2.76)-B(甲醇)(66:34);检测波长275 nm;柱温40℃;流速1.0 ml/min;进样量20 μl。

标准曲线的制备:精密称取地奥司明10 mg,置10 ml量瓶中,加二甲基亚砜溶解并定容,摇匀,得1 mg/ml对照品储备液。精密称取秋水仙碱10 mg,置100 ml量瓶中,用纯化水定容,得100 μg/ml内标溶液。

移取1 mg/ml的对照品储备液适量,加入0.1 mol/L的NaOH溶液,配制成浓度为10、50、

100、250、500 μg/ml的工作液。移取上述浓度的工作液100 μl,加入10 μl内标溶液,20 μl进样,用HPLC法测定,以地奥司明浓度(C)为横坐标,以地奥司明峰面积与内标峰面积的比值(R)为纵坐标,进行线性回归。

准确度试验:按样品溶液制备方法制成3种浓度(40、250、400 μg/ml)的地奥司明溶液,每个浓度各平行3份,按上述色谱条件,HPLC法进样得各浓度峰面积与内标峰面积,以标准曲线法计算地奥司明浓度,与理论加入浓度值相比,即得各浓度的准确度。

精密度试验:按样品溶液制备方法配制3种浓度(40、250、400 μg/ml)的地奥司明溶液,各浓度平行6份,分别于室温(25℃)和4℃放置,室温条件下于放置0、3、6 h后测定,4℃条件下于放置0、3、7 d后测定,按上述色谱条件,HPLC法进样,计算地奥司明的浓度,计算精密度RSD值。

加样回收率试验:取成品栓剂,溶于500 ml 0.1 mol/L NaOH溶液,所得溶液稀释10倍后按样品溶液制备方法处理,HPLC法进样测定,得样品浓度C₁。移取样品溶液加入地奥司明标准品,分别配成含地奥司明标准品浓度为100、250、500 μg/ml的加样溶液,每个浓度各平行3份,按样品溶液制备方法处理,HPLC法进样测定,得样品浓度C₂。(C₂-C₁)的实际测定值与地奥司明标准品理论加入值的比值,即地奥司明栓剂的加样回收率。

含量均匀度分析:取3批地奥司明栓剂样品,切碎后置500 ml干燥容量瓶中,加入0.1 mol/L NaOH溶液定容,并充分振摇使其溶解,溶液经0.46 μm过滤器滤过,移取1 ml滤液置10 ml容量瓶定容稀释,再吸取100 μl供试品溶液,按样品溶液制备方法处理,HPLC法进样20 μl,测定地奥司明浓度,并对其均匀度进行分析。

1.2.3 溶出度测定 采用转篮法。参照《药典》^[10]中有关溶出度与释放度测定法规定,转速为100 r/min,温度为(37±1)℃,以pH7.2磷酸盐缓冲液为溶出介质,取地奥司明栓6枚(规格:400 mg/枚)投入杯中,自样品与介质接触起开始计时,分别于5、10、15、30、45、60、90 min采样5 ml,并立即补充同体积等温新鲜介质,采样操作在30 s内完成,用0.46 μm过滤器滤过溶出液样品,分别按上述色谱条件进样分析,计算溶出液样品浓度。

1.2.4 统计学处理 采用SPSS 19.0统计软件对数据进行处理分析。所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 外观色泽 地奥司明栓剂外观呈棕色,表面光滑完整,在室温(25℃)下成型性较好,硬度适宜,无软化、变形或开裂。

2.2 质量差异 取本实验制备的栓剂10枚,平均质量为(1.98±0.07)g,RSD为3.4%,符合栓剂质量标准中对质量差异在±7.5%以内的要求。

2.3 融变时限结果 本实验制备的地奥司明栓剂融变时间为(17.3±0.6)min,符合水溶性基质的栓剂应在60min内全部溶解的融变时限限度规定。

2.4 含量测定结果

2.4.1 方法的专属性 在上述色谱条件下,地奥司明出峰时间为8.0min,内标出峰时间为13.3min,分离度较好,无杂质峰干扰(图1)。

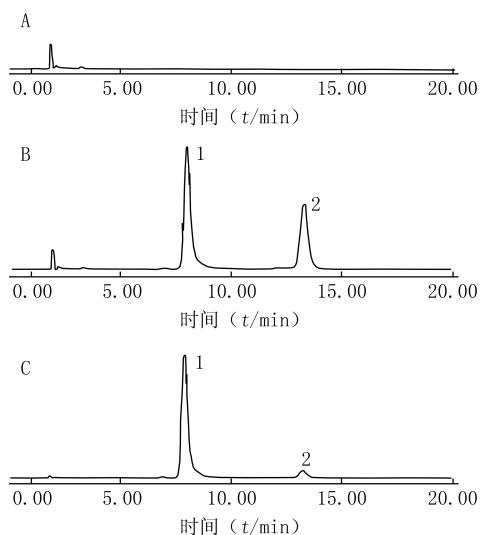


图1 地奥司明栓剂的HPLC图

A.空白栓剂;B.10 µg/ml地奥司明+内标秋水仙碱;
C.地奥司明栓剂样品(批号:20150116);
1.地奥司明;2.内标秋水仙碱

2.4.2 标准曲线的建立 以地奥司明浓度(C)为横坐标,以地奥司明峰面积与内标峰面积的比值(R)为纵坐标,制得标准曲线: $R=0.15C-0.209$, $r=0.9999$ 。说明在10~500 µg/ml浓度范围内,地奥司明标准曲线的线性关系良好。

2.4.3 准确度、精密度、加样回收率 地奥司明3种浓度(40、250、400 µg/ml)的准确度范围为99.07%~104.52%,室温放置6h与4℃放置7d的精密度RSD均小于5%,3种浓度(100、250、400 µg/ml)地奥司明的加样回收率均在95%以上。说明所建立的检测方法适用于地奥司明浓度的检测,见表1。

表1 地奥司明的准确度、精密度、加样回收率试验结果

浓度 ($\rho_B/\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	准确度 (%)	加样回收率 (%)	RSD(%)	
			室温 (6 h)	4℃ (7 d)
40	104.52±2.83	97.19±2.92	2.93	3.16
250	99.40±1.75	98.99±2.42	2.06	3.17
400	99.07±0.75	97.69±1.29	0.13	0.88

2.4.4 含量均匀度分析 经HPLC法测定,地奥司明栓剂的含量如表2所示,3批栓剂实际测定的含量RSD均小于2%,在标示量400mg的97.3%~101.5%范围内,符合制剂要求。

2.5 溶出度分析 地奥司明栓剂的体外溶出曲线如图2所示,地奥司明栓剂在规定介质中30min时的体外溶出度已达到(91.9±1.7)%,符合《药典》相关规定。

3 讨论

将地奥司明制成普通片剂口服,因其与小肠黏膜的接触面积小、吸收差,要在局部达到有效治疗浓度,地奥司明片的服药剂量需要非常大^[11]。国内外

表2 地奥司明含量测定结果

批号	地奥司明含量(m/mg)				$\bar{x}\pm s$ (m/mg)	RSD(%)	
20150116	389.38	391.79	398.67	402.49	402.42	396.95±6.08	1.53
20150123	398.45	405.09	400.42	405.36	395.42	400.95±4.29	1.07
20150203	406.23	396.78	394.17	403.45	395.65	399.26±5.27	1.32

临床工作者报道使用地奥司明乳膏治疗痔疮,结果表明患者痔疮急性发作的症状得到明显改善,尤其是在肛门水肿和瘙痒方面的疗效显著^[5,6]。已有的临床试验佐证了地奥司明用于局部治疗痔疮的可行性和有效性,相对而言,将地奥司明制成栓剂治疗痔疮更有针对性,与软膏相比,具有操作简便、给药次数少、卫生无污染等优点。

经笔者反复实验,选定以聚乙二醇6000:聚乙二醇400:甘油(5:1:1)的比例作为基质的配比,并经实验得出:基质与地奥司明药粉的比例为4:1,最终制备的地奥司明栓剂外观良好。同时,对其含量均匀度、质量差异、融变时限及溶出度进行检测,检测结果均符合《药典》对栓剂的质量要求。综上所述

(下转第349页)

表4 帕唑帕尼的主要药动学参数

参数(单位)	均值	标准差
AUC _(0-t) (μg·h/L)	213.16	39.92
AUC _(0-∞) (μg·h/L)	215.79	39.84
t _{1/2} (t/h)	7.35	2.31
t _{max} (t/h)	1.75	0.76
Vd (L/kg)	4.10	1.78
CL(L/h)	0.38	0.07
C _{max} (0h/μg·L ⁻¹)	20.22	1.95

3 讨论

帕唑帕尼对肾细胞癌(RCC)有明显的抗肿瘤作用,对其他恶性肿瘤如肝细胞癌(HCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌和多发性骨髓瘤也有抗肿瘤作用^[1]。帕唑帕尼是目前通过美国FDA和EMA批准作为转移性肾细胞癌患者的一线治疗药物^[3,4]。与安慰剂组相比,口服帕唑帕尼800 mg/d,1次/d,可改善晚期及转移性肾癌(肾细胞癌)患者的无进展生存期。两种HPLC法检测血浆中帕唑帕尼的浓度已见报道^[5,6],但存在灵敏度不高、血浆样品处理方法复杂、色谱运行时间长等不足,限制了其药动学研究结果的应用。

本研究结果显示,大鼠灌胃给予80 mg/kg帕唑帕尼后,平均在1.75 h达到20.22 μg/ml的药物峰值浓度;血浆t_{1/2}为7.35 h左右,Vd约为4.10 L/kg,CL约为0.38 L/h。用房室模型拟合,

帕唑帕尼在大鼠体内呈一级消除的二室模型。本研究建立UPLC-MS/MS检测大鼠血浆帕唑帕尼的方法,专属性高,分离完全,检测时间短,适合帕唑帕尼的药动学和药物相互作用研究。

【参考文献】

- [1] Ranieri G, Mammì M, Donato Di Paola E, et al. Pazopanib a tyrosine kinase inhibitor with strong anti-angiogenetic activity: A new treatment for metastatic soft tissue sarcoma [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2014, 89(2):322-329.
- [2] Hamberg P, Verweij J, Sleijfer S. (Pre-)clinical pharmacology and activity of pazopanib, a novel multikinase angiogenesis inhibitor [J]. Oncologist, 2010, 15(6):539-547.
- [3] Motzer RJ, Hutson TE, Cella D, et al. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma [J]. N Engl J Med, 2013, 369(8):722-731.
- [4] Welsh SJ, Fife K. Pazopanib for the treatment of renal cell carcinoma [J]. Future Oncol, 2015, 11(8):1169-1179.
- [5] Dziadosz M, Lessig R, Bartels H. HPLC-DAD protein kinase inhibitor analysis in human serum [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 893-894:77-81.
- [6] Minocha M, Khurana V, Mitra AK. Determination of pazopanib (GW-786034) in mouse plasma and brain tissue by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS-MS) [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 901:85-92.

[收稿日期] 2016-12-19 [修回日期] 2017-02-17

[本文编辑] 李睿旻

(上接第327页)

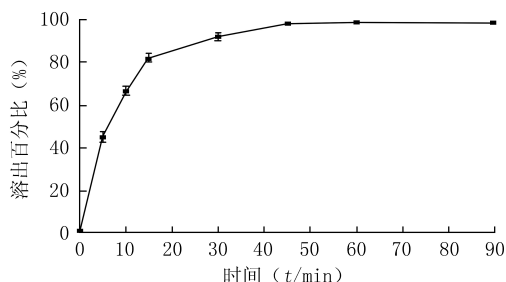


图2 地奥司明栓剂的溶出曲线

述,运用本方法制备的地奥司明栓剂符合质量控制标准的要求,也为该药物新剂型的开发提供了参考。

【参考文献】

- [1] 李文哲, 巩龙, 王霖, 等. 地奥司明的药理活性研究进展 [J]. 中国疗养医学, 2012, 21(10): 887-888.
- [2] 黎凤明, 田晓东, 胡国文, 等. 地奥司明的临床应用进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(6): 680-681.
- [3] 张群芳. 地奥司明在治疗下肢深静脉血栓形成中的作用研究 [J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(15): 93-94.
- [4] Giannini I, Amato A, Basso L, et al. Flavonoids mixture

(diosmin, troxerutin, hesperidin) in the treatment of acute hemorrhoidal disease: a prospective, randomized, triple-blind, controlled trial [J]. Tech Coloproctol, 2015, 19(6):339-345.

- [5] Tajana A, Boccasanta P, Micheletto G, et al. Results of the use of topical diosmin (venosmine) in the treatment of acute hemorrhoid pathology [J]. Minerva Med, 1988, 79(5):387-390.
- [6] 蔡莉. 马应龙麝香与地奥司明膏联合或单用治疗血栓性痔的临床效果 [J]. 中国实用医药, 2013, 8(24):181-182.
- [7] 陈惠红. 栓剂基质研究进展 [J]. 中国药业, 2009, 18(4):59-60.
- [8] 张恒, 普俊学, 王乙鸿, 等. 中药栓剂的临床应用及其新剂型 [J]. 安徽医药, 2015, 19(10):1841-1844.
- [9] 周伟忠, 傅红兴, 吴岚岚, 等. 一种小型复方雷帕霉素栓剂的制备及其体外质量评价 [J]. 温州医科大学学报, 2015, (4): 278-280.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2015; 通则 0107, 0922, 0931.
- [11] 程超. 地奥司明片在治疗痔疮急性发作中的临床疗效分析 [J]. 中国冶金工业医学杂志, 2013, 30(4):384-385.

[收稿日期] 2016-12-15 [修回日期] 2017-06-05

[本文编辑] 李睿旻