

大蒜油口腔黏附片的研究

上官盈盈¹, 俞佳², 富丽慧³, 马珂² (1. 浙江医学高等专科学校药学系, 杭州 310053; 2. 浙江省人民医院药剂科, 杭州 310014; 3. 浙江大学城市学院, 杭州 310015)

摘要:目的 研制大蒜油口腔黏附片, 并考察其生物黏附性及释药性能。方法 采用羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 和卡波姆 (Carbopol 934P) 为黏附材料, 制备不同处方配比的大蒜油口腔黏附片, 测定其体外溶胀百分率、黏附力和黏附时间, 并采用浆法测定释放度。结果 以 HPMC: Carbopol 934P 为 3:1 的处方制得的口腔黏附片较好。结论 成功制备了大蒜油口腔黏附片。

基金项目: 浙江省教育厅科研计划项目 (编号: 20050341)

作者简介: 上官盈盈, 女, 副教授 Tel: (0571) 87692683 E-mail: ying_ying6@163.com

Investigation of Garlic Oil Buccal Adhesive Tablets

SHANGGUAN Ying-ying¹, YU Jia², FU Li-hu³, MA Ke² (1. Department of Pharmacy, Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 2. Pharmaceutical Department, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 3. City College, Zhejiang University, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare Garlic Oil buccal adhesive tablets and to observe the bioadhesive properties and drug release performance. **METHODS** The Garlic Oil buccal adhesive tablets were prepared using hydroxy-propyl methyl cellulose (HPMC) and carbomer (Carbopol 934P) with different proportion, and the swelling percent, adhesive force and adhesive time *in vitro* of which were determined. The release of Garlic Oil buccal adhesive tablets was determined by HPLC according to the paddle method. **RESULTS** The Garlic Oil buccal adhesive tablets prepared by Carbopol 934P and HPMC with 1:3 were of the best outcome. **CONCLUSION** The Garlic Oil buccal adhesive tablets were prepared successfully.

KEY WORDS: Garlic Oil; buccal adhesive tablets; Bioadhesive

复发性口腔溃疡(ROU),指具有周期复发特点的口腔黏膜局限性溃疡损害,是口腔黏膜病中最常见的一种病,一般人群的患病率可高达25%^[1]。临床上表现为口腔黏膜溃烂、充血、渗出、伪膜形成及局部疼痛,甚至伴引流区淋巴结肿大,严重影响患者进食和语言功能,病程长者可达数十年,已成为口腔临床治疗学的一大难题。近年来,有研究用大蒜油或大蒜素治疗ROU取得了良好的临床效果^[2-4],这可能与其局部收敛、抗菌消炎、改善局部微循环和免疫调节作用有关。大蒜的局部收敛作用,可以减少渗出,使创面干燥并迅速止痛;其较强的抗菌消炎作用,对多种球菌、杆菌、真菌、病毒等均有抑制或杀灭作用,能有效地消除炎症反应;它还能刺激和激发局部的细胞免疫功能,调动机体的细胞因子,促进细胞的再生,从而加速组织的修复,促进口腔溃疡的愈合^[3,4]。

口腔粘附系统是近年来研究较多的新型给药系统,它通过将制剂特定地粘附于口腔黏膜的某一部位,使制剂与黏膜间能够紧密接触,同时增加制剂在黏膜上的滞留时间,从而有利于药物的吸收。该剂型含药量准确,使用和携带方便。笔者将大蒜油制成口腔粘附片,并对其生物黏附性和释药性能进行考察。

1 材料

1.1 试药

大蒜素对照品(中国药品生物制品检定所,含量为88.4%);大蒜油(江西省吉安市恒诚天然香料油提炼厂,大蒜素含量为15.6%);卡波姆(CP,规格为934P,北京市海淀会友精细化工厂);羟丙基甲基纤维素(HPMC,规格为K4M,上海卡乐康有限公司),其他试剂均为分析纯。包合物(自制)。将5%的 β 环糊精溶液,加热溶解制成过饱和溶液,保温至40℃,缓缓加入大蒜油无水乙醇溶液(1:1.5(β 环糊精与大蒜油的比例为4:1,搅拌4h。冷却后置冰箱冷藏24h,抽滤,用无水乙醇洗涤,抽干。再置55℃真空干燥箱中干燥24h,得白色疏松粉末,即为大蒜油的 β 环糊精包合物)。

1.2 仪器 ZP19型多冲压片机(上海第一制药机械厂);粘附力测定装置(自制);智能溶出试验仪(ZRS-6天津大学无线电厂)。

2 方法与结果

2.1 黏附片的制备

根据初试结果设计表1处方,按表1中各处方比例将辅料充分混合,过80目筛,直接压片,所得片剂直径6.5mm,厚度2mm,硬度5kg,每片约含主药1.16mg。

表1 大蒜油口腔粘附片处方(mg/片)

Tab 1 Composition of Garlic Oil buccal adhesive tablets (mg per piece)

处方	CP934 P	HPMC	包合物
F1	0	40	20
F2	10	30	20
F3	20	20	20
F4	30	10	20
F5	40	0	20

2.2 黏附片的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(250mm×4.6mm,5 μ m),流动相:乙腈-水-四氢呋喃(70:28.1:1.9),柱温:35℃,检测波长:225nm,流速:1.0mL·min⁻¹,进样量:50 μ L。在此条件下大蒜素的保留时间约13.0min,空白样品对大蒜素测定无干扰,色谱图如图1所示。

2.2.2 标准曲线绘制 取大蒜素对照品约10mg,精密称定,置100mL量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,作为对照品储备溶液;分别精密吸取不同体积的储备溶液于100mL量瓶中,用乙腈稀释至刻度,得到浓度分别为0.43,0.87,2.17,4.33,8.66,17.33 μ g·mL⁻¹的一系列标准溶液(按三硫二丙烯计),分别取不同浓度的标准溶液50 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积A对浓度C进行回归计算,得线性方程为:A=84.368C+1.761, r=0.9999,大蒜素在

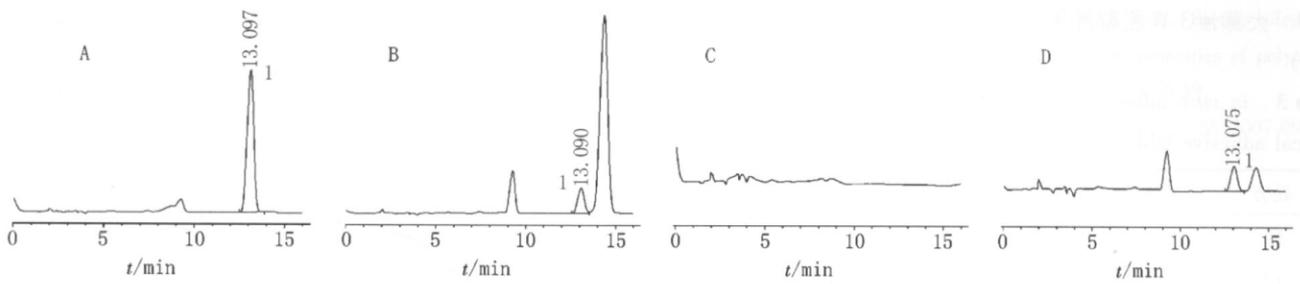


图 1 对照品 (A)、原料药 (B)、空白样品 (C)、样品 (D) 高效液相色谱图

1- 大蒜素

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), material (B), blank sample (C), sample (D)

1- allicin

0.43~17.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 取黏附片 20 片, 精密称定, 研细, 分别精密称取 6 份, 于同一日内分别测定含量, 日内 RSD 为 1.12%。连续 3 d 分别取样测定, 日间 RSD 为 1.56%。结果表明, 用本法测定精密度良好。

2.2.4 加样回收率试验 精密称取片粉适量 (约含大蒜素 0.5 mg) 置 100 mL 量瓶中, 再精密加入大蒜素对照品 0.5 mg 加乙腈超声溶解并稀释至刻度, 过滤, 取续滤液进样分析, 用标准曲线法计算含量。结果各处方平均加样回收率为 97.65%, RSD 为 2.12%。

2.2.5 样品测定 称取各处方样品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于大蒜素 1 mg) 置 100 mL 量瓶中, 加表 2 大蒜油口腔黏附片的体外溶胀百分率和溶胀速率 ($n=6$)

Tab 2 *in vitro* swelling percent and swelling rate of Garlic Oil buccal adhesive tablets

编号	不同时间 (h) 的溶胀百分率 %						回归方程	相关系数
	1	2	3	4	6	8		
F1	1.88 ± 0.02	2.36 ± 0.23	3.11 ± 0.36	3.46 ± 0.31	3.95 ± 0.49	4.80 ± 0.39	SR = 0.40t + 1.66	0.9856
F2	3.06 ± 0.10	3.98 ± 0.31	4.36 ± 0.38	4.88 ± 0.48	5.51 ± 0.52	6.32 ± 0.35	SR = 0.44t + 2.94	0.9853
F3	3.98 ± 0.08	5.14 ± 0.19	5.86 ± 0.41	6.13 ± 0.51	7.32 ± 0.48	8.63 ± 0.42	SR = 0.62t + 3.70	0.9903
F4	5.08 ± 0.07	6.32 ± 0.26	6.96 ± 0.25	7.56 ± 0.37	8.67 ± 0.41	10.16 ± 0.51	SR = 0.68t + 4.74	0.9928
F5	5.96 ± 0.08	7.13 ± 0.28	7.36 ± 0.32	8.66 ± 0.39	9.99 ± 0.33	10.19 ± 0.46	SR = 0.74t + 5.41	0.9924

由表 2 可看出, [CP]/[HPMC] 不同配比处方黏附片, 其溶胀百分率与溶胀时间呈良好的线性关系。F1~F5 黏附片随着处方中 CP 比例的增加, 溶胀百分率和溶胀速率也相应增大, 其中单纯 CP 所制的黏附片 F5 的体外溶胀百分率和溶胀速率达最大, 而以单纯 HPMC 所制的黏附片 F1 的体外溶胀百分率和溶胀速率最小。

2.4 黏附片体外黏附力测定

采用自制的黏附力装置, 见如图 2^[5]。取新鲜家兔口腔黏膜组织铺展开并固定于直径为 1 cm 的聚乙烯塑料 a 接触面上, 并用 10 μL pH 7.0 的人口唾液将黏膜湿润。往塑料袋 d 中加入一定量的水 (称重, 此时 d 的重量为 G₁), 使之与左端平衡。然后将黏附片与黏膜紧密接触, 施加外力 100 g 砝码, 持续 5 min, 移去砝码, 以恒速 (每秒 2 滴) 向塑料袋 d 内加水, 当药片与口腔黏膜分离后立即停止加水, 称定 d 的重量 G₂。黏附力的大小 AF 为: $AF = G_2 - G_1$ 。结果见表 3。

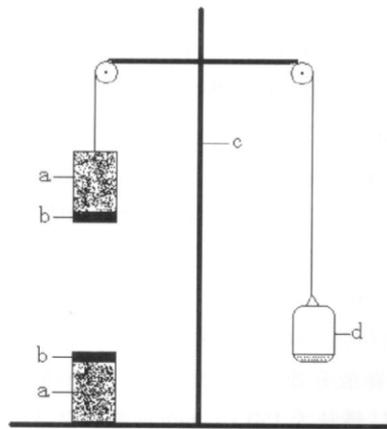


图 2 体外黏附力测定装置

Fig 2 *in vitro* apparatus to determine the adhesive force

表 3 大蒜油 3 口腔黏附片的体外黏附力和体内黏附时间 ($n=3$)

Tab 3 *in vitro* adhesive force and adhesive time of Garlic Oil buccal adhesive tablets ($n=3$)

处方	体外黏附力 / $g \cdot cm^{-2}$	体内黏附时间 /min
F1	18.31 \pm 3.12	32 \pm 7
F2	29.63 \pm 4.25	360 \pm 5
F3	44.51 \pm 3.86	430 \pm 10
F4	58.36 \pm 4.04	370 \pm 19
F5	70.21 \pm 5.15	190 \pm 21

由表 3 可看出, F1 ~ F5 黏附片随着处方中 CP 比例的增加, 黏附力逐渐增加, 其中单纯的 CP 所制的黏附片 F5 的黏附力最大, 而以单纯 HPMC 所制的黏附片 F1 黏附力最小。

2.5 黏附片体内黏附时间的测定

男性健康志愿者 3 名, 黏附片使用前不润湿, 通过唾液自然润湿, 使用时将黏附片黏附在口腔颊部, 直至黏附片消失, 考察其口腔黏附时间, 结果见表 3。

由表 3 可看出, 单纯 HPMC 所制的黏附片 F1 黏附时间最短, 为 32 min 左右, 脱落时片形完整, 未完全水化。单纯的 CP 所制的黏附片 F5 的黏附时间在 190 min 左右, 已无完整片形。含不同比例 CP 和 HPMC 所制的 F2 ~ F4 黏附片黏附时间相对较长, 其中 F3 黏附片体内黏附时间可达 430 min 左右。

2.6 释放度的测定

2.6.1 测定方法

色谱条件同“2.2.1”, 在该色谱条件下, 释放介质中的成分对主药无干扰。标准曲线的建立: 取大蒜素对照品约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 用 15% 乙醇的磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备溶液; 分别精密吸取不同体积的储备溶液于 100 mL 量瓶中, 用 15% 乙醇的磷酸盐缓冲液稀释至刻度, 得到浓度分别为 0.0884, 0.221, 0.442, 0.884, 1.105, 1.768, 2.21 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 的一系列标准溶液 (按三硫二丙烯计), 分别取不同浓度的标准溶液 50 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积 A 对浓度 C 进行回归计算, 得线性方程为: $A = 85.828C - 0.0183$, $r = 0.9999$, 大蒜素在 0.0884 ~ 2.21 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 内呈现良好的线性关系。精密度试验表明, 日内 RSD 为 1.14%, 日间 RSD 为 1.42%。低、中、高三种浓度的回收率均在 98.5 ~ 102.2% 之间, RSD 小于 2%。因此释放度测定方法可行。

2.6.2 释放试验

采用中国药典 2005 年版附录 XC 浆法, 测定各处方黏附片的释放度, 释放介质为含 15% 乙醇的磷酸盐缓冲液 ($pH=7.0$) 500 mL, 转速为 150 $r \cdot min^{-1}$, 温度为 37 ± 1 $^{\circ}C$, 于开始实验后第 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 h 定时取样 5 mL (同时补充释放介质 5 mL), 滤过, 用高效液相色谱法测定, 并计算药物累积释放百分数。结果见图 3。

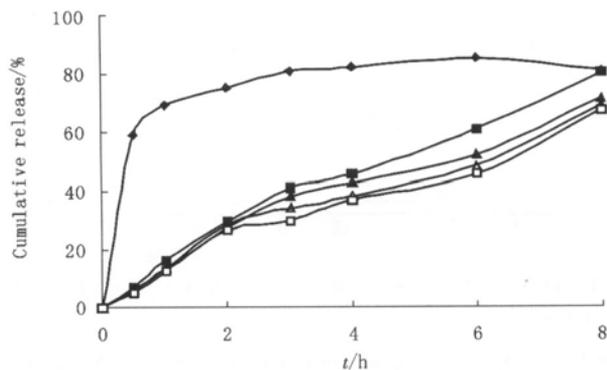


图 3 大蒜油口腔黏附片不同处方体外释放曲线

Fig 3 Release profiles of different Garlic Oil oral mucoadhesive tablets

—◆— F1; —■— F2; —▲— F3; —△— F4; —□— F5

由图 3 可看出, F1 ~ F5 黏附片随着处方中 CP 比例增大, 药物的释放有减慢的趋势。

3 讨论

由实验结果可见, 黏附片的溶胀速率对黏附片的黏附力和黏附时间有着重要的影响。[CP]/[HPMC] 不同配比处方大蒜油口腔黏附片中, 体外溶胀速率大的黏附片, 其黏附力也大。但溶胀速率最大的单纯 CP 片, 其黏附时间较短。而含 CP 和 HPMC 比例在 1:3 ~ 3:1 之间时, 黏附片有较长的黏附时间。这是因为溶胀是黏附的前提, 黏附剂只有先发生溶胀, 大分子链才能得以伸展, 与黏膜组织相互渗透, 产生黏附力; 但是过度溶胀又是黏附力下降的原因, 这是因为大量水分渗入到黏附剂的大分子链中, 减弱了黏附剂与黏膜组织的相互作用, 导致黏附时间缩短。因此黏附剂应有适宜的溶胀速率, 这样既可保证黏附片有足够的黏附力, 又能使黏附片有较长的黏附时间^[6]。

[CP]/[HPMC] 不同配比处方大蒜油口腔黏附片中, 随着 CP 的增加, 药物释放速率减慢, 可能是由于形成了微凝胶团, 将药物包裹其中, 药物需通过微凝胶团的溶蚀而释放, 从而使药物的溶出减慢。

CP 为一酸性物质, 用量过多使黏附片表面 pH 下降过低, 易引起口腔不适。CP 和 HPMC 比例为 1:3 制得的大蒜油口腔黏附片, 其生物黏附性及释药性能指标均适宜, 可进一步进行体内外研究。

REFERENCES

- [1] BORRONS R W. Treatment Strategies for recurrent oral aphthous ulcers[J]. Am J Health Syst Pharm, 2001, 58(1): 41-45.
- [2] XIE X L, LIU B J, YUAN S H. Clinical effect of garlic plaster on recurrent oral ulcer[J]. J Cent South Univ (Med Sci) (中南大学学报(医学版)), 2004, 29(3): 330-331.
- [3] BALASENTHILS, RAO K S, NAGINI S. Altered cytokeratin expression during chemoprevention of experimental hamster buccal pouch carcinogenesis by garlic[J]. J Oral Pathol Med, 2002, 31(1): 142-146.
- [4] TANG Z G, XU X P, SHEN Z H, et al. The electron probe

microanalysis on oral precancer treated by garlic[J]. Bull Hunan Med Univ(湖南医科大学学报), 2000, 25(3): 231-232.

[5] QIU J C, SUN JX, GAO Y L. Evaluation *in vitro* of heperzine a gastrointestinal bioadhesive tablets[J]. Sci Tech Engng(中国技术与工程), 2005, 5(14): 987-989.

[6] TOBYN M J, JONHSON J R, DETTMAR P W. Factors affecting *in vitro* gastric mucoadhesion II, physical properties of polymers [J]. Eur J Pharm Biopharm, 1996, 42(1): 56-59.

收稿日期: 2007-09-29

盐酸特比萘芬片人体药动学和生物等效性研究

王灵杰¹, 王娜², 田媛², 张尊建², 陈云³ (1. 浙江省嵊州市妇幼保健院, 浙江 嵊州 312400; 2. 中国药科大学分析测试中心, 南京 210009; 3. 中国医学科学院皮肤病研究所, 南京 210042)

摘要:目的 研究盐酸特比萘芬片的人体药动学, 并对试验制剂盐酸特比萘芬片和参比制剂盐酸特比萘芬片(兰美抒)的生物等效性进行评价。方法 按照两制剂两周期随机交叉设计, 19名男性健康志愿者单剂量口服试验制剂盐酸特比萘芬片和参比制剂盐酸特比萘芬片(兰美抒) 250 mg。采用 HPLC-UV法测定血浆盐酸特比萘芬片浓度, 并进行统计学分析。结果 单剂量口服 250mg盐酸特比萘芬片试验和参比制剂, 测定得主要药动学参数如下: C_{max} 分别为 $(1.66 \pm 0.62) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(1.55 \pm 0.66) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, T_{max} 分别为 $(1.5 \pm 0.7) \text{h}$ 和 $(1.4 \pm 0.6) \text{h}$, $t_{1/2}(\text{Kel})$ 分别为 $(12.65 \pm 3.07) \text{h}$ 和 $(14.24 \pm 3.65) \text{h}$, MRT分别为 $(10.21 \pm 3.13) \text{h}$ 和 $(11.56 \pm 3.62) \text{h}$, AUC_{0-48} 分别为 $(5.98 \pm 2.45) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(6.76 \pm 3.14) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 分别为 $(6.32 \pm 2.58) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(7.20 \pm 3.27) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。按 AUC_{0-48} 估算, 受试制剂的人体平均相对生物利用度为 $(95.1 \pm 22.5) \%$, 按 $AUC_{0-\infty}$ 估算, 平均相对生物利用度为 $(93.9 \pm 21.6) \%$ 。结论 两制剂主要药动学参数经对数转换后进行方差分析及双单侧 t 检验, 并计算 90%置信区间, 表明两种制剂生物等效。

关键词: 盐酸特比萘芬片; 药动学; 生物等效性; 高效液相色谱法

中图分类号: R944.4; R945.2; R978.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)03-0217-04

Pharmacokinetics and Bioequivalence of Terbinafine Tablet in Healthy Volunteers

WANG Ling-jie¹, WANG Na², TIAN Yuan², ZHANG Zun-jian², CHEN Yun³ (1. Shengzhou Hospital of Women and Children, Shengzhou 312400, China; 2. Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 3. Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences & Perking Union Medical College, Nanjing 210042, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacokinetics and bioequivalence of terbinafine tablet in healthy volunteers. **METHODS** A single oral dose (250 mg of test and reference tablet) were given to 19 healthy volunteers in a randomized crossover study. The concentrations of terbinafine in plasma were determined by HPLC. The pharmacokinetics parameters were calculated and the bioavailability and bioequivalence of two tablets were evaluated. **RESULTS** After a single dose, the pharmacokinetics parameters for test and reference terbinafine tablets were as follows: C_{max} were $(1.66 \pm 0.62) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(1.55 \pm 0.66) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; T_{max} were $(1.5 \pm 0.7) \text{h}$ and $(1.4 \pm 0.6) \text{h}$; $t_{1/2}(\text{Kel})$ were $(12.65 \pm 3.07) \text{h}$ and $(14.24 \pm 3.65) \text{h}$, MRT were $(10.21 \pm 3.13) \text{h}$ and $(11.56 \pm 3.62) \text{h}$, AUC_{0-48} were $(5.98 \pm 2.45) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(6.76 \pm 3.14) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ were $(6.32 \pm 2.58) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(7.20 \pm 3.27) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$. The relative bioavailability of test terbinafine tablet was $(95.1 \pm 22.5) \%$ (AUC_{0-48}) and $(93.9 \pm 21.6) \%$ ($AUC_{0-\infty}$). **CONCLUSION** The pharmacokinetics parameters of test and reference terbinafine tablets were of no statistical difference, the two tablets are bioequivalence.

KEY WORDS: terbinafine; pharmacokinetics; bioequivalence; HPLC

盐酸特比萘芬是一种烯丙胺类抗真菌药, 通过高选择性抑制真菌角鲨烯环氧化酶造成麦角固醇合成障碍以及角鲨烯在膜内的积聚, 最终产生杀真菌作用。对治疗毛癣菌、念

珠菌引起的皮肤感染和皮霉菌引起的甲癣有显著疗效^[1,2]。本试验以北京诺华制药有限公司生产的盐酸特比萘芬片作为参比制剂, 研究南京臣功制药有限公司研制的盐酸特比萘

作者简介: 王灵杰, 男, 副主任药师 Tel: (0575) 83185786 E-mail: wlj-852@162.com