

异烟肼缓释固体分散体的制备及其体外评价

刘颖^{1,2}, 常江^{1,3}, 韩美华¹, 阎雪莹², 王向涛^{1*} (1.中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193; 2.江西中医学院, 南昌 330004; 3.黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 制备异烟肼缓释固体分散体, 考察其分散状态和体外溶出速率。方法 以水不溶性聚合物乙基纤维素为载体, 用溶剂法制备异烟肼缓释固体分散体。采用 X 射线衍射法、差示扫描量热法和红外光谱法鉴别药物在固体分散体中的存在状态, 并对其体外释放情况进行研究。结果 X 射线衍射法表明异烟肼在固体分散体中有一部分是以分子状态分散, 而另一部分可能以微晶体状态分散; 差示扫描量热法表明所制备的缓释固体分散体中不存在药物结晶; 红外光谱法结果表明异烟肼与乙基纤维素未发生化学反应; 溶出度试验结果表明其具有良好的缓释效果。结论 采用溶剂法制备的异烟肼缓释固体分散体可以使药物达到高度分散状态, 制备的异烟肼缓释固体分散体具有较好的缓释效果。

关键词: 异烟肼; 乙基纤维素; 固体分散体; X 射线衍射法; 差示扫描量热法; 红外光谱法

中图分类号: R943.41

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)02-0142-04

Preparation and *in Vitro* Release Evaluation of Isoniazid Solid Dispersion

LIU Ying^{1,2}, CHANG Jiang^{1,3}, HAN Meihua¹, YAN Xueying², WANG Xiangtao^{1*} (1.Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College Institute of Medicinal Plant Development, Beijing 100193, China; 2.Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3.Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare and identify sustained-release of isoniazid solid dispersion(SD) and evaluate its *in vitro* dissolution profile. **METHODS** The isoniazid SD was prepared by using water-insoluble polymer ethyl cellulose (EC) as carrier. X-ray diffraction, differential scanning calorimetry (DSC) and infrared spectroscopy (IR) were used to evaluate the dispersing state of isoniazid in SD and *in vitro* dissolution of isoniazid SD was performed. **RESULTS** X-ray diffraction analysis showed that the isoniazid was existed in both molecular and micro-crystal form. DSC curve indicated that there was no isoniazid crystal in the SD. IR spectrum showed that there was no chemical reaction of isoniazid with the EC. The test for dissolution rate showed a better releasing in SD. **CONCLUSION** The SD can disperse the isoniazid to get sustained-release effect.

KEY WORDS: isoniazid; ethyl cellulose; solid dispersion; X-ray diffraction; differential scanning calorimetry; infrared spectroscopy

近年来人们用水不溶性辅料^[1], 将药物制成固体分散物以达到控制药物释放的目的^[2-5]。固体分散体(solid dispersion, SD)系指药物以微粒、微晶或分子状态等形式均匀分散在固态载体中所形成的体系^[6]。其主要特点是利用不同性质的载体使药物在高度分散状态下, 达到不同的用药目的: 用水溶性高分子载体, 能够增加一些难溶性药物的溶解度和释放速度, 提高口服生物利用度; 用脂溶性载体则能延缓或控制药物的释放^[7]。

异烟肼(isoniazid, INH)为水溶性药物, 是目

前抗结核药物中具有最强杀菌作用的合成抗菌药之一。其口服后吸收迅速, 造成血药浓度起伏很大, 而且半衰期短。为此本试验以水不溶性聚合物乙基纤维素(polymer ethyl cellulose, EC)为载体材料, 用溶剂法制备异烟肼缓释 SD, 采用 X 射线衍射法、差示扫描量热法和红外光谱测定法鉴别 INH 在 SD 中的分散状态, 并对其体外释放情况进行研究。

1 仪器与试剂

Ultimate 3000 Series 高效液相色谱仪(美国

基金项目: “十一五”科技重大专项(2008ZX10003-016)

作者简介: 刘颖, 女 Tel: 1891156936 E-mail: lynevergiveup@163.com

*通信作者: 王向涛, 男, 博士, 副研究员 Tel: (010)62898798

E-mail: xtaowang@163.com

Dionex 仪器有限公司); DSC Q200 差示扫描量热仪(美国 TA 仪器有限公司); IR 2000 型红外光谱仪(美国 Nicolet 仪器公司); D_{max}-2400 X 射线衍射仪(Rigaku, 日本); RE-52CS 旋转蒸发仪(上海振捷实验设备有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); ZRS-8 型智能溶出仪(天津大学无线电厂)。

INH 对照品(日本东京化成工业株式会社, 批号: B53910B, 纯度>98%); EC[日本东京化成工业株式会社, 在 5% 甲苯-乙醇(80:20)中的黏度为 90~110 cps]; 乙腈为色谱纯; 其他试剂均分析纯。

2 方法与结果

2.1 SD 的制备

采用溶剂法将 0.5 g INH 与 EC 的混合物(1:1, 1:3 和 1:5) 溶解于 40 mL 乙醇中, 用旋转蒸发仪旋蒸至干, 于 60 °C 干燥箱中过夜, 进一步除尽溶剂后, 取出、粉碎、过 80~100 目筛, 即得白色粉末状固体。

2.2 药物与辅料物理混合物的制备

取适量 INH 与 EC(1:1), 混合均匀, 即可。

2.3 SD 的鉴别

2.3.1 X-射线衍射试验 测定条件: Cu-K α 靶, 镍滤色片, 管电压 40 kV, 管电流 100 mA, 扫描速度 4°·min⁻¹, 扫描范围为 3~40°。分别对 INH、物理混合物及 SD 进行 X-射线衍射分析, 结果见图 1。

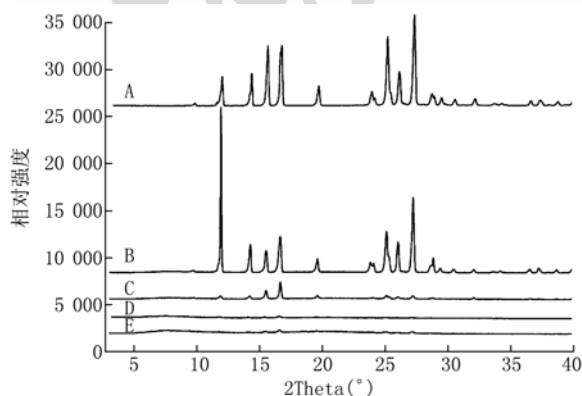


图 1 X-射线衍射图谱

A-INH; B-物理混合物; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

Fig 1 The X-ray diffraction

A-INH; B-physical mixture; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

由图 1 可见, X 射线衍射试验表明, INH 为结晶较好的化合物, 其较为特征的衍射峰为 12.02°, 14.36°, 15.06°, 15.66°, 16.76°, 19.72°, 23.94°, 25.02°, 26.12°和 27.32°; 在物理混合物中,

INH 的所有衍射峰均有显现, 而且未出现新的衍射峰, 说明 INH 与 EC 物理混合后未发生化学作用, 仍以原晶体状态存在; 在 1:1 SD 中, 有微量的晶体显示, 而 1:3 SD 和 1:5 SD 中, 几乎没有晶体显示, 因此推断在 SD 中大部分 INH 是以分子状态分散。

2.3.2 差示扫描量热法试验(differential scanning calorimetry, DSC) 测定条件: 以空铝坩为参考池, 升温速率为 10 °C·min⁻¹, 扫描温度范围 40~260 °C, 样品扫描气氛: 氮气, 分别对 INH、物理混合物及固体分散体进行 DSC 分析, 结果见图 2。

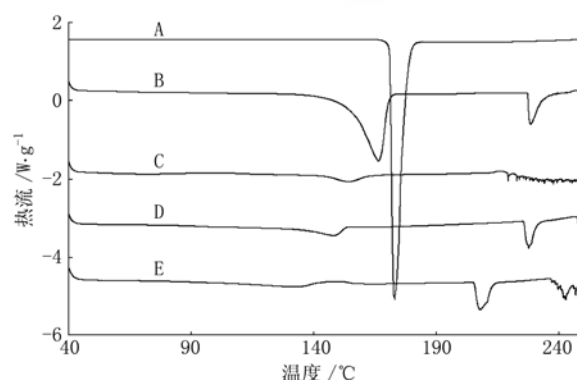


图 2 DSC 图谱

A-INH; B-物理混合物; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

Fig 2 DSC curves of INH and INH-SD

A-INH; B-physical mixture; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

由图 2 可见, INH 在 172.82 °C 有一个很明显的吸热峰; 物理混合物除了具有药物 INH 的吸热峰之外, 在 210~230 °C 有一个吸热峰, 为辅料 EC 的吸热峰; SD(1:1, 1:3 和 1:5), 在对应药物位置的吸热峰消失, 说明 SD 中不存在药物的结晶。

2.3.3 红外光谱分析(infrared spectroscopy, IR) 测定条件: 采用 KBr 压片法制备样品, 扫描范围为 400~4 000 cm⁻¹, 分辨率为 4 cm⁻¹, 分别对 INH、物理混合物及 SD 进行 IR 分析, 结果见图 3。

由图 3 可见, INH 在波长 3 111 cm⁻¹ 和 1 666 cm⁻¹ 处有 2 个最为明显的吸收峰, 分别是药物的 ν_{NH} 键和 $\nu_{\text{C=O}}$ 键; 物理混合物中, 药物 INH 的吸收峰均有显现, 而在波长 1 112 cm⁻¹ 和 3 479 cm⁻¹ 处出现 2 个明显的吸收峰, 为辅料 EC 的 $\nu_{\text{C-O}}$ 键和 ν_{OH} 键; SD(1:1, 1:3 和 1:5)和物理混合物在红外光谱图上基本相似, SD 的红外光谱图中未见新的吸收峰, 因此可以推断 INH 与 EC 未发生化学作用。

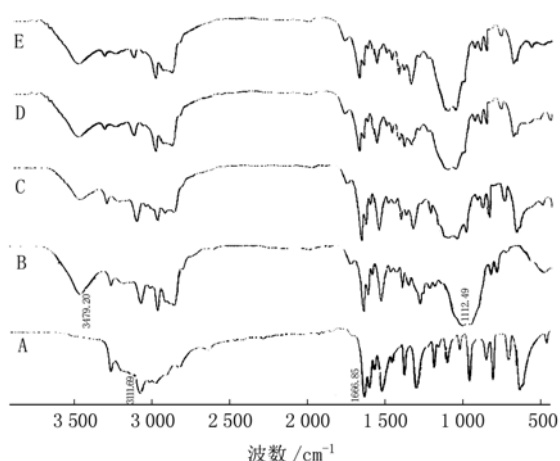


图3 IR 图谱

A-INH; B-物理混合物; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

Fig 3 FT-IR spectrum of INH and INH-SD

A-INH; B-physical mixture; C-1:1 SD; D-1:3 SD; E-1:5 SD

2.4 SD 体外溶出度研究

2.4.1 最大吸收波长的选择 称取 INH 对照品适量,用水溶解制成 $15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液;另取 EC 适量,加水稀释后,过滤,取滤液,分别进行紫外扫描。INH 在 263 nm 有最大吸收峰,而辅料无吸收峰,不干扰测定,因此选择 263 nm 作为检测波长。

2.4.2 色谱条件 色谱柱: Waters Cosmosil 5 C₁₈-MS-II 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.02 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ 水溶液 (3:97);柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$;流速: 1.0 mL·min⁻¹;检测波长: 263 nm;进样量: 20 μL 。

2.4.3 标准曲线和线性范围 精密称取 75 mg INH 对照品,置于 100 mL 量瓶中,加入 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.4)并定容,摇匀即得 $750\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,再从其标准溶液中分别吸取 0.5, 5, 10, 15, 20 mL 至 25 mL 量瓶中,用 PBS 溶液定容,摇匀,吸取上述溶液 20 μL 测定 3 次,按“2.4.2”项下色谱条件下以峰面积为纵坐标(A)对浓度为横坐标(C)进行线性回归,得回归方程为: $A=0.210\ 4C-1.115\ 3(r=0.999\ 9)$,线性范围为 $15\sim750\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.4.4 仪器精密度试验 将低、中、高 3 种浓度的对照品溶液(0.015, 0.300, 0.750 mg·mL⁻¹)重复进样测定 6 次,测得峰面积 RSD 分别为 0.82%, 0.56%和 0.96%,表明仪器精密度良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的 SD,共 9 份,置 50 mL 量瓶中,加 2 mL 乙醇溶解,称取高、

中、低质量的 INH 各 3 份,加 PBS 溶解并定容,再按“2.4.2”项下操作,代入回归方程计算,结果平均回收率分别为 $(96.86\pm1.08)\%$, $(98.56\pm1.72)\%$ 和 $(97.34\pm1.40)\%$ 。

2.4.6 释放度的测定 按药载比 1:1, 1:3 和 1:5 各平行制备 3 份 SD,同时平行制备 3 份物理混合物,每一份样品取含药 60 mg,采用中国药典 2005 年版转篮法测定,释放介质为 pH 7.4 的 0.1 mol·L⁻¹ PBS 溶液 250 mL,转速: 100 r·min⁻¹,温度: $(37\pm0.5)^{\circ}\text{C}$ 。于 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 取样 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,同时补充新鲜介质,将滤液于 HPLC 检测,由标准曲线计算 INH 的累计溶出百分率,结果见图 4。

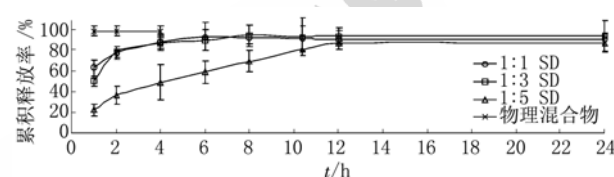


图4 不同比例(药物:载体)对 SD 体外溶出度的影响

Fig 4 The effect of different proportions for the dissolution of INH-SD *in vitro*

由图 4 可知,物理混合物在 1 h 时已全部释放;药载比为 1:1 和 1:3 的 SD 体外释放差异较小,分别在 6 h 和 8 h 释放完全,而且有明显的突释现象,1 h 时释放均达到 50%以上;药载比为 1:5 的 SD,释放平缓,在 12 h 释放完全,且没有明显的突释现象。

3 讨论

3.1 制备方法

固体分散体中主要采用水溶性载体如聚乙二醇(PEG)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等来制备速释型 SD^[8-9];用脂溶性载体如 EC、聚丙烯酸树脂(Eudragit)等来制备缓控释型 SD^[10];一些肠溶性材料及脂质材料也常用于制备缓释型 SD。INH 为水溶性药物,因此,宜选择脂溶性载体制备 SD,以达到缓释作用。

EC 是一种有黏性较大、载药量高、稳定性好、释药不受 pH 值影响,且不易老化的理想载体材料,广泛应用于制备缓释 SD^[6]。由于 EC 和 INH 均在乙醇中溶解,故选择溶剂法制备 SD。在此还需指出的是用溶剂法制备 SD 时,需要把乙醇除尽,否则分散物呈“胶状”较难粉碎,本试验采用的方法可充分除去溶剂。

3.2 SD 的鉴别

常用的 SD 鉴别方法主要有 X 射线衍射法、热分析法、IR 等,通常一种方法不能直接准确地判断 SD 中药物的物理状态,需要联合多种手段来确证。本试验联合上述方法,综合讨论,认为所制备的 SD,药物以非结晶态无定形存在于载体中,且药物与载体未发生化学反应。

X-射线衍射法广泛应用于晶体材料的分析,作为一种“指纹”鉴定法来辨认结晶材料的化学组成。鉴别 SD 时,若有药物晶体存在,则在衍射图上就有这种药物晶体的衍射特征峰存在,所以 X-射线衍射法可以定性鉴别 SD 中药物的分布情况。本试验中药载比为 1:1 的 SD 的 X-射线衍射峰中仍有部分药物的衍射峰,这可能是由于辅料 EC 用量少,有部分的药物黏附在 EC 网状结构表面,因此可见到很小一部分药物晶体的衍射峰,而这部分晶体可能就以微晶体的状态分散其中;增加 EC 的用量时,药载比为 1:3 和 1:5 的 SD 中药物的衍射峰均消失,说明药物是以非晶体状态分散;同时,DSC 试验也证明了在 SD 中不存在药物结晶;IR 试验证实,SD 中药物 INH 和辅料 EC 未发生化学反应。

3.3 SD 体外溶出度研究

EC 作为缓释载体材料,与药物共同溶解于有机溶剂后,药物以分子状态分散于 EC 的网状骨架结构中,药物的溶出首先必须通过网状骨架扩散,从而达到缓释作用。本试验起初筛选了 4 种常用载体 EC、Eudragit-II、Eudragit-III 和聚乳酸-丙交酯(PLGA),经过预实验发现,EC 缓释效果较好,故选用 EC 为 SD 的载体;本试验还考察了 EC 黏度(50, 100, 200 cps)对 SD 释放速度的影响,结果发现 EC 黏度越大,体外释放速度越慢。但是 EC200 黏度很大,在蒸干溶剂后,成“塑料膜”状物,难以粉碎,因此选择黏度为 100 的 EC 制备 SD。同时,EC 在制剂中的用量和制备成型的 SD 的颗粒大小都会影响药物的释放速度。试验结果表明,INH 与 EC 的用量比例对 SD 体外释放速度

有显著性差异。当 EC 用量比例较大时,载体的网状骨架结构紧密且溶胀时间延长,使释药速度减慢;当 EC 用量比例较小时,载体的网状骨架结构疏松且药物附着在载体网状骨架结构的表层,遇体液后迅速释放,这样就易造成突释现象;实验结果表明,药载比为 1:5 的 SD,累计释放满足缓释制剂体外释放度实验。分别在 1, 4, 8, 10 h 时,其累计释放度基本符合 10%~30%, 40%~70%、70%~90%, 80%~100%的要求,释放效果稳定,既能达到较理想的缓释效果,同时也能在规定的时间内释放完全。

REFERENCES

- [1] WANG J, WANG H Y. Study the physical and chemical properties of ethylcellulose [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2000, 35(4): 249-251.
- [2] GUO H B, CHENG Y. Appliance in controlled release drug delivery system of ethylcellulose [J]. Guangdong Pharm J(广东药学), 2003, 13(1): 14-16.
- [3] IQBAL Z, BABAR A, ASHRAF M. Controlled-release naproxen using micronized ethyl cellulose by wet-granulation and solid-dispersion method [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2002, 28(2): 129-134.
- [4] SHEN D F, ZHANG Q X, TANG Y Q. Study of preparation sustained-release nifedipine solid dispersion with ethylcellulose [J]. Heilongjiang Med Pharm(黑龙江医药科学), 2002, 20(5): 601-603.
- [5] XING G S, WANG J C. Study dissolution kinetics of diclofenac sodium-ethylcellulose solid dispersion [J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2001, 13(4): 31-33.
- [6] LUO B. New Dosage Forms and Technique of Pharmaceutical (药物新剂型与新技术) [M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998: 1.
- [7] DESAI J, ALEXANDER K, RIGA A. Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release [J]. Int J Pharm, 2006, 308(1/2): 115-123.
- [8] CHIBA Y, KOHRI N, ISEKI K, et al. Improvement of dissolution and bioavailability for mebendazole, an agent for human echinococcosis, by preparing solid dispersion with polyethylene glycol [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39(8): 2158-2160.
- [9] RAHAMATHULLA M, HV G, RATHOD N. Solubility and dissolution improvement of Rofecoxib using solid dispersion technique [J]. Pak J Pharm Sci, 2008, 21(4): 350-355.
- [10] GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ M L, MAESTRELLI F, MURA P, et al. In vitro release of sodium diclofenac from a central core matrix tablet aimed for colonic drug delivery [J]. Eur J Pharm Sci, 2003, 20(1): 125-131.

收稿日期: 2010-01-21