

阿苯达唑口服纳米球的制备及释药动力学研究

张学农 苗爱东¹ 王国荃 孙殿甲 温浩 王梅 古丽努尔·多²(北京 100083 北京大学药学院药剂教研室; 乌鲁木齐 830054 ¹ 空军乌鲁木齐医院; ²96 级药学本科毕业生)

摘要 目的: 制备阿苯达唑聚氰基丙烯酸酯口服纳米球(ABZ-PBCA-NP), 并考察其体外累积溶出速率。方法: 采用乳化聚合二步法制备阿苯达唑口服纳米球, 以包封率为考察指标, 应用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优化处方。同时, 以原料药混悬液对照, 进行体外动态释药试验。结果: 当空白纳米球 pH 为 5.0, 与阿苯达唑液的体积比 1.2: 1, 氰基丙烯酸正丁酯浓度为 1% 时, 制备口服纳米球的包封率最高, 即 $(60.03 \pm 5.50)\%$ 。在 pH = 5.0 的磷酸缓冲溶液中, 阿苯达唑口服纳米球释药符合 Higuchi 方程, 阿苯达唑混悬液释药符合威布尔分布函数。结论: 二步优化法制备阿苯达唑口服纳米球具有较高的包封率和明显的缓释作用。

关键词 阿苯达唑口服纳米球; 紫外分光光度法; 释药动力学

The Preparation and Release kinetics of Albendazole Nanoparticles

Zhang Xuenong, Miao Eidong, Wang Gouquan et, al(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University Urumqi 830054)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To prepared the albendazole nanoparticles and test cumulated dissolutions of albendazole from two different drugs. **METHOD:** We used "two-step emulsion polymerization method" to prepare albendazole nanoparticles and conducted the $L_9(3^4)$ orthogonal design to seek optimum method with the entrapment efficiency as the standard. At the same time, with pH = 5.0 phosphatic buffer solution as the medium, the cumulation dissolution of albendazole from two type drugs were determined and the release rules were research with three functions: single Exponential, Weibull and the Higuchi. **RESULTS:** the optimum description is in which the blank nanoparticles pH = 5.0 were dripped slowly at the basis of 1.2: 1 (V/V) into the albendazole raw suspension in which contained 1% α -butylcyanocrylate. Then, according to the better description we prepared the albendazole nanoparticles and $(60.03 \pm 5.50)\%$ entrapment efficiency was obtain. The dissolution test compared with that of albendazole raw materials had indicated the released test of albendazole nanoparticles conformed to Higuchi function, and that of albendazole raw materials were in keeping with weibull function. **CONCLUSION:** 'the two-step optimum method' is efficient to prepare the albendazole napoparticles. The higher drug entrapment efferency was obtained and the drug relaxedly released from the nanoparticles.

KEY WORDS Albendazole Nanoparticles, UV Spectrophotometer, Released Kinetics

阿苯达唑(Albendazole, ABZ)为苯并咪唑类广谱抗寄生虫药, 经临床证明有较好的抗包虫作用, 对泡球蚴病和细粒棘球蚴病均有确切疗效, 且以被 WHO 推荐为抗棘球蚴病主要药物之一^[1]。但由于阿苯达唑具有溶解性差、难以吸收、生物利用度低的缺点, 导致其体内血药浓度低, 难以达到有效治疗浓度, 且其分散性广, 肝靶向性较差, 故提高药物靶向性, 增强疗效, 降低毒性成 ABZ 研究的重要课题。

药物可通过吸附、包囊或溶解等形式载于纳米球中, 既增加了药物溶解度, 减慢药物释放, 又提高了生物利用度。在体内被肝脏的 kupffer 细胞当作异物吞噬, 能提高药物的靶向性^[2~4]。故我们以 α -氰基丙烯酸正丁酯(α -Bulcyancrylate)为聚合材料, 采用乳化聚合法制备阿苯达唑

口服纳米球, 用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化处方工艺, 并采用动态透析法考察阿苯达唑口服纳米球的体外释药规律。

1 实验方法及结果

1.1 材料与药品

1.1.1 仪器 RC-6A 溶出仪(上海黄海制药厂); TU-1221 型紫外分光光度计(北京通用公司); 78-1 型磁力加热搅拌器(江苏金坛保庆分析设备厂); 85-72 型超速离心机(日本日立公司); 透析袋(Sigma Chemical Co.); PEMS 软件 V2.1 版(华西医科大学统计学教研室)。

1.1.2 药品 阿苯达唑(ABZ)标准品(Sigma Chemical Co.); 阿苯达唑(杭州制药厂); 氰基丙烯酸正丁酯(BCA, 广州白云医用胶总公司); 泊洛沙姆 188(沈阳药科大学制药厂); 右旋糖酐 70(上海化学试剂公司, 进口分装); Sephdex

G-50(上海化学试剂公司,进口分装);PVPK₃₀(上海化学试剂公司,进口分装);阿苯达唑混悬液(取ABZ1g混悬于2%的阿拉伯胶100ml中研匀制得)。

1.1.3 试剂 冰醋酸,磷酸氢二钾等试剂均为分析纯。

1.2 含量测定

1.2.1 标准曲线的制备

标准液的制备:精称ABZ 20mg,置200ml容量瓶中,加入冰醋酸4ml,加甲醇使溶解并加至刻度溶解作为贮备液。吸取ABZ 储备液0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.5,4.0,5.0ml置25ml容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得到不同浓度的一系列溶液。

测定波长的确定:取10μg/ml的ABZ标准液,在紫外分光光度计上250~400nm范围内进行紫外扫描,确定ABZ最大吸收波长在295nm处。

标准曲线:测定标准液的吸光度,以浓度-吸光度回归,得标准曲线方程 $C = 29.680A - 1.894$ ($r = 0.9998$),1~20μg/ml范围内具有良好线性关系。

1.2.2 回收率的测定:取0.5ml空白口服纳米球,加2ml冰醋酸溶解,加入三种不同浓度的阿苯达唑标准溶液,加甲醇至刻度,吸取0.1ml,置10ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,在295nm波长处测定吸光度,代入标准方程计算回收率。结果如下:

表1 回收率测定表

加入量 mg	回收量 mg	回收率%	RSD	平均回收率%
4.0	4.02±0.02	100.5		
6.0	5.98±0.21	98.17	1.51%	99.89
12.0	12.12±0.11	101.0		

1.2.3 精密度及重现性试验:取同一系列供试品,依照标准曲线方法测定精密度与重现性。结果如下:

表2 精密度与重现性表

	回收率%	RSD
日内变异	99.28±0.21	0.29%
日间变异	100.04±0.67	0.68%

1.3 制备工艺优化

1.3.1 采用二步法制备阿苯达唑口服纳米球^[5]

空白口服纳米球的制备:取20ml 15%右旋糖酐70,加入1%泊洛沙姆188搅拌溶解,加水至100ml,冰醋酸调pH=3.0,搅拌下慢慢滴加一定浓度的BCA,继续搅拌12h,得乳白色空白口服纳米球。

阿苯达唑口服纳米球的制备:取ABZ粉2g,加适量吐温-80后,用冰醋酸摇匀溶解,再加入1%泊洛沙姆和4%PVP,600r·min⁻¹,以0.5ml·min⁻¹速度注入空白纳米球,继续搅拌时间16h,得1%ABZ-PBCA-NP。

1.3.2 包封率的测定^[6]

取制得ABZ-PBCA-NP 0.5ml,置50ml量瓶中,加0.9%氯化钠溶液稀释至刻度。精取稀释液0.5ml,移至Sephadex G-50凝胶柱中(150×8mm),以0.9%氯化钠溶液洗脱,精确

收集乳白色流份(6~12ml),得分离液A,另取稀释液0.5ml,用0.9%氯化钠液稀释至与A液相同体积,得未分离液B,分别取A、B溶液各0.25ml置25ml容量瓶中,加冰醋酸5ml,溶解,加甲醇置刻度,摇匀,以甲醇为空白对照,在295nm处测定吸收度,代入标准曲线方程计算阿苯达唑含量和包封率。

包封率= $\frac{\text{分离液中ABZ的含量}}{\text{未分离液中ABZ的含量}} \times 100\%$

1.3.3 正交试验

因素水平设计:根据制备口服纳米球的条件,选择BCA%,pH和空白纳米球溶液:ABZ溶液(V/V)等三种对药物包封率有显著影响的条件作为考察因素,且通过单因素试验确立了每种因素的三个不同水平,试验设计见表3。

表3 因素和水平设计表

水平	因 素		
	A(BCA%)	B(pH)	C(ABZ液:BCA-NP;V/V)
1	1.0	3.5	1:0.8
2	1.5	5.0	1:1
3	2.0	7.0	1:1.2

表4 L₉(3⁴)试验设计表

试验号	因 素			包封率%
	A(BCA%)	B(pH)	C(体积比)	
1	1.0	3.5	1:0.8	26.2
2	1.0	5.0	1:1	56.5
3	1.0	7.0	1:1.2	47.0
4	1.5	3.5	1:1	21.1
5	1.5	5.0	1:1	53.2
6	1.5	7.0	1:0.8	24.2
7	2.0	3.5	1:1.2	39.8
8	2.0	5.0	1:0.8	51.1
9	2.0	7.0	1:1	47.8
K ₁	43.23	29.03	33.83	
K ₂	32.83	53.60	41.80	
K ₃	46.23	39.70	46.67	
R.	13.40	24.6	12.84	

直观分析:由极差R确定主次因素顺序:B>A>C。其中,A因素:K₃>K₁>K₂;B因素:K₂>K₃>K₁,C因素:K₃>K₂>K₁,因此,确定A₃B₂C₃为较优处方。

方差分析:将正交试验设计数据代入“PEMS”程序包,进行方差分析检验,结果见下表。

表5 方差分析表

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	296.72	2	148.36	24.15	0.0398
B	910.73	2	455.36	17.126	0.0133
C	251.85	2	125.93	20.50	0.0465
误差	12.29	2	6.14		
总计	1471.58	8			

由表可知,三种考察因素均对药物包封率有影响,而A因素中K₁和K₃值接近,均可取。但是2%BCA电镜下观察,

纳米球粒径较大,且均匀性比1 BCA%差。为验证其用量,确定将组方 A₃B₂C₃ 和 A₁B₂C₃ 作单独比较,以确定最后 BCA 的最佳浓度。

验证实验:根据正交试验所得处方条件固定 B、C 两种因素水平,即依照 A₃B₂C₃ 和 A₁B₂C₃,仅对 BCA 用量进行单独考察,以确定最佳用量,每处方重复五次,结果见表 6。

表 6 验证试验结果方差分析表

	包封率	
	A ₁ B ₂ C ₃	A ₃ B ₂ C ₃
1	55.84	56.47
2	59.32	54.56
3	60.11	59.12
4	55.68	57.77
5	69.22	58.14
$\bar{x} \pm s$	60.03 ± 5.50	57.21 ± 1.76

表 7 F 检验

变异来源	SS	v	MS	F	P
组间变异	19.9141	1	19.9141	1.1903	0.3070
组内变异	153.7539	8	16.7300		
总变异	133.8398	9			

由表 7 可知, A₁B₂C₃ 和 A₃B₂C₃ 两种处方制备分口服纳米球包封率间无显著差异,但是 A₁B₂C₃ 处方制得的纳米球粒径为 98.78 ± 8.43 nm,分布较均匀,且比 A₃B₂C₃ 物理稳定性好,故结合实际制备成本、粒径分布等综合指标,确定较优处方:即用 pH = 5.0 的 1% BCA 空白纳米球,按照与阿苯达唑液 1.2:1 的比例缓慢滴入其中,制得的口服纳米球包封率为(60.03 ± 5.50)%。

表 8 阿苯达唑口服纳米球的拟合函数及拟合优度

函数	ABZ-NP		ABZ 混悬液	
	Equation	r	Equation	r
单指数	$Q = 1.578 \exp(-0.032t)$	0.970	$1 - Q = 1.696 \exp(-0.0067t)$	0.852
Weibull	$\ln \ln \frac{1}{1-Q} = 0.371 \ln t - 0.05$	0.945	$\ln \ln \frac{1}{1-Q} = 0.1741 \ln t - 0.399$	0.979
Higuchi	$Q = 16.171 \sqrt{t + 41.837}$	0.982	$Q = 5.127 \sqrt{t + 43.120}$	0.921

释药规律分析:由溶出曲线图及拟合方程可以看出,阿苯达唑口服纳米球释药明显慢于阿苯达唑原料药,且阿苯达唑口服纳米球的释药符合 Higuchi 方程,阿苯达唑原料药符合威布尔分布函数。

3 讨论

3.1 二步法制备阿苯达唑口服纳米球中,选用可降解,毒性小的聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)为聚合材料。制备时先在水中加入乳化剂泊洛沙姆,立体位阻稳定剂右旋糖酐,并缓慢加入 BCA,在 OH⁻ 离子的自发诱导下,BCA 发生聚合,制得空白纳米球。处方组成中立体位阻稳定剂 Dextran 70 和 BCA 用量均控制在 1% 为宜。结果表明,此法制得的口服纳

1.4 体外释药实验

取阿苯达唑口服纳米球 5 ml,转入 6 cm × 3 cm 的透析袋中,加入生理盐水 5 ml,将透析袋扎紧,固定于转蓝中,悬挂于盛有 900 ml, pH = 5.0 的磷酸盐缓冲液的大烧杯中,温度控制在 37 ± 1℃,转速为 100 r/min 恒速转动,定时取样 5 ml,同时补加同体积的释药介质。将所取样在 295 nm 处测定吸光度 A_i,同时,取等量的 ABZ-PBCA-NP 和 ABZ 混悬液装入透析袋,分别将透析袋中,放入 900 ml 的释放介质中,置 37 ± 1℃ 水浴中放置,放置过程中时时振摇,至 50 h 取样 5 ml,测定吸收度为 A₀,计算相对累积释药分数,结果为图 1。

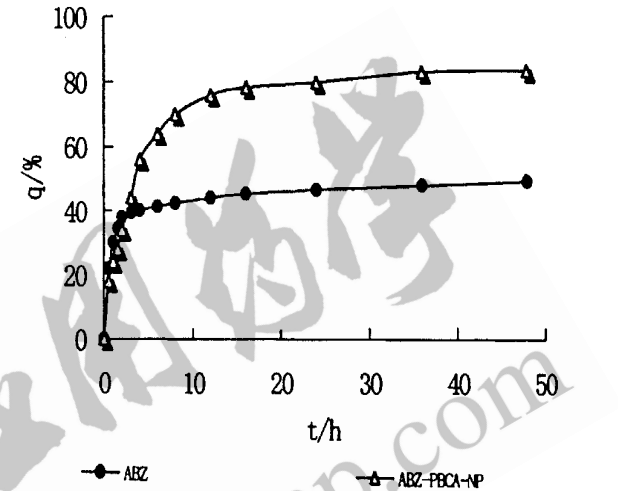


图 1 累积释药曲线图

相对累积溶出度% = $\frac{A_i}{A_0} \times (100\%)$

同时,将两种剂型的累积释药量 Q,结果分布代入单指数、威布尔和 Higuchi 函数式,以相关系数 r 为指标进行拟合,结果见表 8。

米球能显著地增大 ABZ 溶解度,且释药时间延长,有利于长期用药的要求。3.2 目前测定药物包封率方法有超速离心、葡聚糖凝胶等多种方法,本实验采用 Sephadex G50 凝胶柱可获得较好的分离效果。在控制洗脱液流速和容量下可将包封药物与游离药物完全分开,且方法的重线性好,操作简便。

3.3 由于阿苯达唑极难溶于水,其混悬液的体外累积溶出度明显地小于口服纳米球。一方面制备中用醋酸作潜溶剂使药物溶解后再包封于载体中显著地提高了药物的溶解度,其次,药物的载药方式延长了释药时间。故采用相对累积溶出%作为考察指标更能反应两种剂型溶出特征。同时,药物释放的限速过程不是药物通过透析膜的渗透过程,而是药物

溶解速度和通过微球界面膜的扩散过程。故释药机理为单层膜的扩散机制,符合 Higuchi 模式,具有骨架性释药特性,可明显地缓释作用,具有长效作用,符合口服纳米球的固有特性。同时,口服纳米球高度分散性增大了药物与肠壁的有效接触面积和胃肠道的滞留时间,可促进难溶性药物的小肠吸收量,提高其肝靶向性和生物利用度,对治疗肝包虫病有极大的应用潜力^[7,8]。

参考文献

- 1 Morris DL; Richard KS; Clarkson M J; Taylor DH. Comparison of Albendazole and Praziquantel therapy of Echinococcus granulosus in naturally infested sheep. Vet parasitol, 1990, may, 36: 1- 2, 83
- 2 Keyser JL, Poupaert JH, Dumont P. Poly (diethyl methylidenemalonate) nanoparticles as a potential drug carrier: preparation, distribution and elimination after intravenous and peroral administration. J. Pharm Sci. 1991, 80(1): 67
- 3 Lenaerts V. Nagelkerke J F. In vivo uptake of polyisobutyl cyanoacrylate nanoparticles by rat liver kupffer, endothelial, and parenchymal cell. J. Pharm. Sci. 1984, 73(7): 980.
- 4 containing gangliosides. J Drug Target. 1994, 2(1): 53
- 5 张志荣, 廖工铁. 均匀设计优选米托蒽醌口服纳米球的制备工艺. 中国医院药学杂志, 1994, 14(6): 246
- 6 王建华, 温浩, 买尔旦. 阿苯达唑脂质体的包封率测定及形态观察. 新疆医学院学报 1994, 17(1): 18
- 7 Damge C; Vranckx H; Balschmidt P. et al Poly (alkyl cyanoacrylate) nanospheres for oral administration of insulin. J Pharm Sci, 1997 Dec, 86: 12, 1403
- 8 Scherer D; Mooren PC; Kinne RK et al. In vitro permeability of PBCA nanoparticles through small intestine. J Drug Target, 1993, 1(1): 21

收稿日期: 2000- 10- 12