

美沙拉嗪结肠靶向微丸的制备和体外评价

方瑜, 曹德英(河北医科大学药学院, 石家庄 050017)

摘要:目的 以结肠溶型丙烯酸树脂为包衣材料制备美沙拉嗪 pH 控制型结肠靶向微丸, 评价其体外释药特性。方法 挤出滚圆法制备美沙拉嗪微丸, 采用 L_93^4 正交设计实验优化工艺条件, 流化床包衣机包衣, 采用 U_88^4 均匀设计试验优化工艺参数, 考察了微丸圆整度、收率及体外释药特性。结果 优化条件所得的微丸外观圆整, 粒径分布均匀, 收率高, 在人工胃液中 2h、人工小肠液中 4h 累计释放率 $<5\%$, 人工结肠液 1h 累计释放率 $>95\%$, 具有明显的结肠靶向释药特性。结论 美沙拉嗪结肠靶向微丸具有良好的体外结肠靶向释药特性, 可进一步进行体内释药行为考察。

关键词: 美沙拉嗪; 结肠靶向微丸; 挤出滚圆; 结肠溶包衣

中图分类号: R943.42 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)07-0632-04

Studies on preparation and dissolution test in vitro of mesalazine colon specific pellets

FANG Yu, CAO De-ying(Pharmacy faculty of Hebei medical university, Shijiazhuang 050017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare pH-dependent colonic-targeting pellets of mesalazine by coating with acrylic resin dissolving in colon, and evaluate dissolution profiles in vitro. **METHODS** Mesalazine pellets was prepared by extrusion-spheronisation, the condition of technics was optimized with the experiment of orthogonal design. The pellets was coated by coating machine of fluid bed. The parameter of technics was optimized with the experiment of uniform design, the circularity, receipt rate and dissolution profiles was examd. **RESULTS** With optimized conditions, the pellets had round appearance, uniformly particle size distribution and high receipt rate. The cumulated release rate of the pellets were less than 5% in the artificial succus gastricus and intestinal juice, more than 95% in the artificial colonic juice. It could be concluded that the pellets assumed colonic-targeting release performance obviously. **CONCLUSION** Mesalazine colon specific pellets had good effect of colonic-targeting release in vitro and the release behavior in vivo need to be inspected.

KEY WORDS: mesalazine; colonic-specific pellets; extrusion-spheronisation; coating layer dissolving in colon

慢性溃疡性结肠炎(UC)是一种炎症性肠道疾病, 临床 以反复发作、迁延不愈的腹痛腹泻, 黏液或脓血便为特征, 是

目前公认的较难治愈的疾病。美沙拉嗪(Mesalazine)可使溃疡性结肠炎发作期患者维持于缓解状态,临床广泛使用。该药是在肠道病变部位局部发挥作用,吸收后失去疗效。若以一般方式口服,易在小肠吸收,吸收后不但使到达结肠的药物减少,而且会产生头痛、肾毒性等不良反应^[1-2]。因此需将美沙拉嗪制成结肠靶向释药系统。本文研制美沙拉嗪结肠靶向微丸,使用方便,在结肠病变区直接释药,避免了药物在上消化道的释放和吸收,可有效降低不良反应发生率,同时发挥局部治疗作用,更加有效。

1 仪器与试剂

1.1 试剂

美沙拉嗪(舟山市莱福药化有限公司);微晶纤维素(MCC,日本旭化成公司);丙烯酸树脂(德国罗姆公司);邻苯二甲酸二乙酯(天津大成试剂公司)。

1.2 仪器

挤出滚圆造粒机(上海华东理工大学);ZYL 微型流化床包衣机(常州佳发制药机械有限公司);D-800L 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂);754 型紫外分光光度计(上海光谱仪器厂)。

2 美沙拉嗪结肠靶向微丸的含量测定方法

2.1 色谱条件

色谱柱:Hypeysil-ODS C₁₈柱(4.6×250mm,粒径 5μm);流动相:pH6.5 磷酸盐缓冲液-甲醇 80:20(含 0.01mmol/L 四丁基溴化铵);流速:1mL/min;检测波长:240nm;进样量:20μL;柱温 30℃^[3]。

2.2 标准曲线制备

精密称取美沙拉嗪对照品 0.2500g,置 100mL 量瓶中,加 pH6.5 磷酸盐缓冲液至刻度,作为对照品储备液。精密量取储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 置 25mL 量瓶中,加 pH6.5 磷酸盐缓冲液至刻度,按上述色谱条件进样,记录色谱图,以美沙拉嗪峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归,在 10~500μg/mL 浓度范围内,回归方程为 $A = 4378C + 265$, $r = 0.9986$ 。

2.3 样品含量测定

取美沙拉嗪结肠靶向微丸,研细,精密称取适量(约相当于 5-ASA20mg),置 100mL 量瓶中,加 pH6.5 磷酸盐缓冲液约 80mL,超声 20min,放至室温,加 pH6.5 磷酸盐缓冲液至刻度,摇匀,过滤,取续滤液进样 20μL,按上述色谱条件记录色谱图,计算峰面积,带入标准曲线方程,计算美沙拉嗪含量。

3 体外释放度测定方法

取美沙拉嗪结肠靶向微丸,照中国药典 2005 版二部附录 XC 第一法,转速 100r/min,温度 37℃,依次以新鲜煮沸脱气的 HCL 溶液(9-1000),pH6.8 磷酸盐缓冲液,pH7.8 磷酸盐缓冲液为释放介质,于设定时间取样 5mL,0.8um 微孔滤膜过滤,适当稀释后照“2.9 样品含量测定”项下操作,测定美沙拉嗪浓度,计算累计释放百分率。本品在 HCL 溶液(9-1000)中 2h,pH6.8 磷酸盐缓冲液中 4h 应不释放药物,累计释放百分率 <5%;在 pH7.8 磷酸盐缓冲液中 1h 累计释放百分率应 >95%。

设定时间为 HCL 溶液(9-1000)中 2h 取样并更换释放介质,pH6.8 磷酸盐缓冲液中 4h 取样并更换释放介质,pH7.8 磷酸盐缓冲液中 1h 取样。

4 美沙拉嗪结肠靶向微丸的制备

4.1 丸芯的制备

美沙拉嗪与 MCC 过 80 目筛,混合均匀,加适量水制成软材,进挤出机筛板孔径 0.9mm 挤成细条状,置滚圆机内,调节转速及滚圆时间,使颗粒完全滚圆。取出微丸 45℃干燥,筛分 16~20 目间微丸。

4.2 处方因素考查

4.2.1 MCC 用量的选择 MCC 是制备微丸常用的辅料,对微丸成球形作用很大。本制剂因主药剂量很大,需尽可能少用辅料。向物料中加入不同量 MCC,制备微丸,对其在 pH7.8 磷酸盐缓冲液中释放度和成球形性进行考察,确定 MCC 最佳用量。微丸成球形性采用综合评价指标 $P = f(18-24 \text{ 目微丸收率}) - 2\Phi$ 。 Φ 为平面临界角,代表微丸圆整度。该角越小,微丸圆整度越好^[4]。MCC 用量在 5%~25% 范围内,对微丸的释放度没有显著的影响。所制微丸主药的释放度在 30min 内均达到 95% 以上。随着 MCC 用量的增加,微丸的圆整度及收率都相应增加。综合考虑微丸成球形性和辅料加入量的限制,确定 MCC 用量为主药的 15%。

4.2.2 黏合剂用量选择 以水为黏合剂,用量过多,微丸间互相粘连,粒径变大;用量过少,微丸没有塑性,不能滚圆^[5]。将水与物料以各种比例混合制备微丸,以微丸成球形性为评价指标,确定水加入量为主药和 MCC 总量的 35%。

4.3 工艺因素考察

影响挤出滚圆法微丸制备工艺的三个主要因素为挤出转速、滚圆转速、滚圆时间^[6]。采用三因素三水平 L₉3⁴ 正交实验设计,以微丸成球形性为评价指标,进行工艺条件优化筛选。实验条件见表 1,实验结果见表 2。

表 1 正交试验因素水平表

Tab 1 Factors and levels of orthogonal experiment

Factors	levels		
	1	2	3
挤出转速(r/min)	20	30	40
滚圆转速(r/min)	30	40	50
滚圆时间(min)	2	4	6

由实验结果分析,各因素对结果影响大小顺序为滚圆转速 > 滚圆时间 > 挤出转速。滚圆转速是影响微丸圆整度和收率的关键因素,高转速能提供较大剪切力,条状物料能够被迅速切断并滚圆;而转速过高会造成剪切过度,细粉增多,收率下降。挤出转速对结果影响不大。由正交分析可知,最优化条件为挤出转速 30r/min,滚圆转速 40r/min,滚圆时间 4min。

4.4 美沙拉嗪微丸的包衣

4.4.1 包衣液处方 丙烯酸树脂 Eudragit S-100 10g,邻苯二甲酸二乙酯 1.0g,滑石粉 1.5g,加 95% 乙醇配至所需浓度。

4.4.2 包衣增重的确定 选择合适的包衣增重是实现结肠

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 The design and result of orthogonal experiment

试验	挤出转速 (r/min)	滚圆转速 (r/min)	滚圆时间 (min)	休止角 (°)	微丸回 收率(%)	综合 评分
1	1	1	1	19.6	45	5.8
2	1	2	2	12.1	91	66.8
3	1	3	3	12.5	78	53.0
4	2	1	2	18.5	58	21.0
5	2	2	3	12.4	72	47.2
6	2	3	1	14.2	82	53.6
7	3	1	3	17.7	62	26.6
8	3	2	1	15.8	79	47.4
9	3	3	2	12.8	84	58.8
X1	125.6	53.4	106.8			
X2	121.8	161.4	146.6			
X3	132.4	165.4	126.8			
	41.9	17.8	35.6			
	44.1	55.1	48.9			
	40.6	53.8	42.3			
R	2.2	37.3	13.3			

靶向释药特性的关键。包衣增重少,包衣层不能完全覆盖丸芯,则导致药物提前释放;包衣增重多,包衣层太厚,溶解缓慢,药物难以释放出来。

通过测定丸芯和包衣微丸的药物百分含量,计算包衣增重。

$$F(\%) = (X/Y - 1) \times 100\%$$

F — 包衣增重;X — 丸芯的药物百分含量;Y — 包衣微丸的药物百分含量。

制备不同包衣增重的美沙拉唑结肠靶向微丸,以释放度为评价指标,微丸在 HCL 溶液(9-1000)中 2h,pH6.8 磷酸盐缓冲液中 4h 累计释放百分率应 <5%,在 pH7.8 磷酸盐缓冲液中 1h 累计释放百分率应 >95%,照释放度测定法操作,确定合适的包衣增重。包衣增重 <8% 时,微丸在人工胃液中 2h、人工小肠液中 4h 累计释放百分率 >5%。包衣增重 >14% 时,微丸在人工结肠液 1h 累计释放百分率 <95%,释药延迟。包衣增重在 10% -14% 范围内,微丸在人工胃液中 2h、人工小肠液中 4h 累计释放百分率 <5%,在人工结肠液 1h 累计释放百分率 >95%,具有良好的结肠靶向释药特性。确定最佳包衣增重为 12%。

4.4.3 包衣工艺优化 采用流化床包衣机进行包衣操作。选择包衣液浓度、进风温度、喷雾压力、输液速度四个参数,采用 U₈8⁴均匀试验设计,以 18-24 目微丸收率与体外释放度为指标,进行工艺优化筛选^[7]。

均匀试验因素水平表见表 3,实验结果见表 4。

表3 均匀试验因素水平表

Tab 3 The design and result of regular experiment

Factors	Levels			
	1.2	3.4	5.6	7.8
包衣液浓度(%)	3	6	9	12
进风温度(℃)	40	45	50	55
喷雾压力(bar)	0.5	1.0	1.5	2.0
输液速度(mL/min)	1	2	3	4

表4 均匀试验设计与结果

Tab 4 The design and result of regular experiment

Test	Facts				Results			
	A	B	C	D	f(%)	R ₁ (%)	R ₂ (%)	R ₃ (%)
1	3	40	1.0	4	24.5	0.2	2.6	96.6
2	3	45	2.0	3	82.5	0.3	2.9	98.4
3	6	50	1.0	2	80.4	0.4	1.4	99.3
4	6	55	2.0	1	86.7	0.3	0.9	98.6
5	9	40	0.5	4	68.2	0.3	1.8	98.7
6	9	45	1.5	3	72.3	0.3	2.2	97.7
7	12	50	0.5	2	76.4	0.2	1.9	97.9
8	12	55	1.5	1	79.6	0.2	2.5	98.1

注:A:包衣液浓度(%);B:进风温度(℃);C:喷雾压力(bar);D:输液速度(mL/min);R₁:盐酸溶液(9-1000)中 2h 释放度;R₂:pH6.8 磷酸盐缓冲液中 4h 释放度;R₃:pH7.8 磷酸盐缓冲液中 1h 释放度;f:微丸回收率

Note: A: the concentration of coating liquor(%); B: temperature of in air(℃); C: pressure of spray(bar); D: speed of transfuse(mL/min); R₁: the release percentage at 2th hour in HCl solutions(9-1000); R₂: the release percentage at 4th hour in pH6.8 phosphate buffer; R₃: the release percentage at 1th hour in pH7.8 phosphate buffer; f: Recovery of pellets

实验结果表明,各工艺参数制备的包衣微丸都具有良好的结肠靶向释药特性。由于微丸体积较小,在包衣过程中易粘连,降低成品收率。因此以 18-24 目微丸收率 f 为评价指标,以各因素为自变量,进行多元回归处理,得到如下方程:

$$f = 89.486 - 0.034A^2 - 0.039D^2 - 0.039AD + 0.012BC$$
$$r^2 = 0.965 \quad S = 0.4729 \quad F = 53.15 \quad N = 8$$

查表得 F_{0.05}(4,3)=9.12, F > F_{0.05}(4,3), P < 0.05, 回归方程具有显著意义。对此回归方程进行分析可知,低浓度包衣液、低喷雾速率可显著改善微丸粘连现象。进风温度与喷雾压力对结果影响不大,可根据经验选择经济方便的水平。由实验结果分析并结合实践经验,确定优化工艺条件为:包衣液浓度 6%,进风温度 45℃,喷雾压力 0.5kg,输液速度 2mL/min。将优化工艺参数带入回归方程,得到预测值 f = 87.7%。按优化工艺条件试验,实际 18 ~ 24 目微丸收率为 91.6%,与预测值比较接近。

5 讨论

微丸制剂属多剂量剂型,与片剂等单剂量剂型相比,很少受消化道输送食物节律的影响,在胃肠道表面分布面积大,生物利用度高,局部刺激减小或消除,体内滞留时间延长,因此在缓控释制剂中有着广泛的应用。结肠的 pH 值在整个胃肠道中最高,可达 7.5 ~ 8.0。因此认为可用只在较高 pH(如 pH7.0)以上环境中才溶解的材料包衣,使制剂口服后到达结肠才开始溶解释药,以实现结肠靶向给药^[8]。而近年来研究发现,回肠末端 pH 上升为 7.5,在结肠中由于短链脂肪酸、CO₂ 和一些发酵产物的存在,在某些区域 pH 可能下降至 6.5 左右。同时结肠中液体含量相对较低,因此现在认为 pH 控制型结肠溶材料包衣的结肠靶向释药系统的最佳释药部位为回肠末端,在进入结肠时就应该开始释药,否则可

能释药太迟或根本不释放药物^[9]。同时研究证明药物制剂的大小对其转运速度影响较大,通过结肠的时间与体积成反比^[10]。pH 控制型结肠溶材料包衣的片剂、胶囊相对表面积较小,包衣层较厚,通过结肠的时间短,因此由于上述的原因,可能造成不崩解。微丸制剂包衣后,表面积大,包衣层薄,在结肠内分布广,且转运速度慢,可以克服生理条件的影响,实现良好的结肠靶向释药特性。同时包衣微丸制剂的制备工艺相对简单,所需设备和辅料均为成熟产品,适于工业化生产,是一种很有潜力的结肠靶向释药系统。

参考文献

- [1] Prakash A, markham A. Oral delayed-release mesalazine [J]. Drugs, 1999, 57(3):383.
- [2] Raimundo AH, Evans DF, Rogers J, *et al.* Colonic pH in ulcerative colitis: relevance to mesalazine therapy[J]. Gastroenterology, 1993, 88:1581.
- [3] Shah RS, Shan SA. Spectrophotometric determination of mesalazine and its dose form[J]. Indian Drugs, 1994, 31(1):34.
- [4] 潘家祯, 孙晓明, 陈庆华, 等. 挤出滚圆法制备药用微丸[J].

中国医药工业杂志, 1998, 29(8):378.

- [5] 包泳初, 陈庆华, 刘伟伦, 等. 挤出滚圆法制备药用微丸[J]. 中国医药工业杂志, 1999, 30(1):18.
- [6] Pinto JF, Podczek F, Newton JM, *et al.* Investigation of pellets produced by extrusion and spheronisation[J]. Pharm, 1997, 152(1):7.
- [7] 陈燕忠. 均匀设计法在法莫替丁脉冲控释微丸处方设计中的应用[J]. 中国现代应用药学, 1997, 14(5):23.
- [8] Rodriguez M, Vila-Jato JL, Torres D. Design of a new multiparticulate system for potential site-specific and controlled drug delivery to the colonic region[J]. Controlled Release, 1998, 55(1):67.
- [9] Khan MZ, Stedul HP, Kurjakovic N. A pH dependent colon targeted oral drug delivery system using methacrylic acid copolymers. Manipulation of drug release using Eudragit L100 and Eudragit S100 combination[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2000, 26(5):549.
- [10] Marvola M, Nykanen P, Rautio S, *et al.* Enteric Polymers as binders and coating materials in multiple-unit site-specific drug delivery systems[J]. Pharm Sci, 1999, 7(3):259.

收稿日期:2005-12-11