

可分剂量甲磺酸二氢麦角碱缓释微囊片的制备及体外释放机制的研究

方瑜, 向柏, 潘振华, 曹德英(河北医科大学药学院, 石家庄 050017)

摘要: **目的** 对可分剂量甲磺酸二氢麦角碱缓释微囊片(EDDTEM)的处方进行研究, 并研究其体外释放机制。**方法** 以海藻酸钠-壳聚糖为囊材, 采用复凝聚法制备甲磺酸二氢麦角碱缓释微囊(EEM)并压制成片, 采用正交设计实验优化处方。**结果** EEM 的最优处方为: 海藻酸钠与药物比例为 6:1, 海藻酸钠-壳聚糖比例为 4:1, 海藻酸钠浓度为 2.5%。所制缓释片释药行为符合 Higuchi 方程, 释药机理为扩散和溶蚀并存。**结论** EDDTEM 具有良好的体外缓释效果, 可进一步进行体内释药行为考察。

作者简介: 方瑜, 男, 讲师, 硕士 Tel: (0311)86265591 E-mail: tri99@126.com

关键词: 甲磺酸二氢麦角碱; 壳聚糖; 海藻酸钠; 缓释微囊; 释放机制

中图分类号: R943.41; R944.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2010)03-0231-05

Studies on Preparation and Dissolution Mechanism in Vitro of Ergoloid Mesylates Divided Dose Tablet of Extended-Release Microcapsule

FANG Yu, XIANG Bai, PAN Zhenhua, CAO Deying(Pharmacy Faculty of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study prescription of ergoloid mesylates divided dose tablet of extended-release microcapsule (EDDTEM) and inspect dissolution mechanism in vitro. **METHODS** Ergoloid mesylates extended-release microcapsule (EEM) were prepared with alginate-chitosan as capsule wall material. The orthogonal experiment was designed to screen prescription. **RESULTS** The optimization of prescription was as follows: the proportion of alginate to drug is 6 : 1, the proportion of alginate to chitosan is 4 : 1, the concentration of alginate is 2.5%. The release behavior of EDDTEM was coincident with Higuchi equation. The dissolution mechanism were both diffusion and corrosion. **CONCLUSION** EDDTEM had good effect of extended-release in vitro and the release behavior in vivo needs to be inspected.

KEY WORDS: ergoloid mesylates; chitosan; alginate; extended-release microcapsule; dissolution mechanism

甲磺酸二氢麦角碱(ergoloid mesylates)临床用于脑血管病变,其主要药理作用为扩张脑血管,改善微循环,主要不良反应为由于血管扩张引起的体位性低血压^[1]。本试验以海藻酸钠-壳聚糖为囊材,制备可分剂量甲磺酸二氢麦角碱缓释微囊片(EDDTEM),可减少服药次数,增加患者顺应性,保持血药浓度平稳,有效降低体位性低血压发生率。

缓释微囊片具备了缓释片剂和微囊的共同优点,其每片中含数百个球形微囊,可掰开服用,一分为二的每一部分仍保持稳定的缓释特性。药物释放过程十分稳定,不受进食,体液pH值,肠蠕动等生理因素影响。更为重要的是,缓释微囊片属于多剂量给药系统,与普通缓释片相比,安全系数更高^[2]。普通缓释片若有崩释现象,因其单次剂量比普通制剂大,可能发生严重的不良反应。而缓释微囊片如有个别微囊发生崩释,不会影响整体释药特性,因此特别适用于药理作用强,剂量小的药物。

1 仪器与材料

ZDY 单冲异性压片机(上海制药机械三厂); LabAlliance seriesIII型高效液相色谱仪(美国 SSI 公司); D-800L 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); JL-1155 型激光粒度分布测试仪(四川省轻工业研究院); 甲磺酸二氢麦角碱(斯洛文尼亚 Lek, Pharmaceutical and Chemical Company); 微晶纤维素(江苏常熟药用辅料厂); 羧甲基淀粉钠(湖州展望药业有限公司); 海藻酸钠(青岛鹰飞化工有限公司); 脱乙酰壳聚糖(山东荣城鲁阳化工集团)

司); 脱乙酰壳聚糖(山东荣城鲁阳化工集团)

2 方法与结果

2.1 EDDTEM 的含量测定方法

结合文献方法[3],并略作改进,确定甲磺酸二氢麦角碱含量测定色谱条件:色谱柱: Hypeysil-ODS C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 以水-乙腈-三乙胺(42:60:1)为流动相; 流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μL; 柱温 30 °C。方法学考察结果表明:甲磺酸二氢麦角碱的峰面积与浓度呈良好线性关系, $\sum AM = 3.334 2 \times 10^6 C + 1.184 1 \times 10^6$ (浓度范围为 5~250 μg·mL⁻¹, $r = 0.999 6$), $\sum AM = A_1 M_1 + A_2 M_2 + A_3 M_3 + A_4 M_4$, M₁, M₂, M₃ 依次为甲磺酸二氢麦角考宁、隐亭(α 型和 β 型)及汀的分子量,分别为 659.81, 673.87, 707.86; 方法回收率为 99.4%~100.7%, 日内日间精密度 RSD<2.3%。

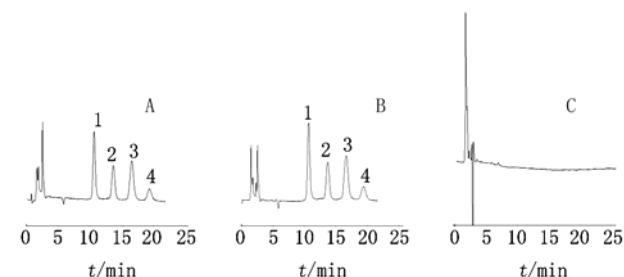


图1 甲磺酸二氢麦角碱含量测定 HPLC 图谱

A-对照品; B-供试品; C-空白辅料; 1-甲磺酸二氢麦角考宁; 2-α-甲磺酸二氢麦角隐亭; 3-甲磺酸二氢麦角汀; 4-β-甲磺酸二氢麦角隐亭

Fig 1 HPLC chromatogram of content assaying of ergoloid mesylates

A-control; B-sample; C-blank; 1-dihydroergocornine; 2-dihydro-α-ergocryptine; 3-dihydroergocristine; 4-dihydro-β-ergocryptine

2.2 释放度测定方法

取 EDDTEM, 照释放度测定法(附录 XD 第 1 法), 采用溶出度测定法第 3 法装置, 以 200 mL 盐酸溶液(6-1000)为释放介质, 转速为 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 依法操作, 经 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 分别取溶液 2 mL 滤过, 并即时在操作容器中补充相同温度、相同体积的空白介质; 取续滤液, 照“2.1”项下方法测定, 分别计算每片在不同时间的累计释放百分率。

2.3 甲磺酸二氢表角碱缓释微囊(EEM)的制备

在海藻酸钠水溶液中加入处方量甲磺酸二氢表角碱, 研磨, 搅匀得混悬液, 利用雾化喷枪喷入壳聚糖-氯化钙水溶液中, 持续搅拌反应 3 h, 过滤沉淀, 蒸馏水洗涤 3 次, 55°C 干燥 2 h, 即得。

2.4 海藻酸钠-药物比例对 EEM 释放度的影响

初步拟定海藻酸钠-药物比例为 7:1, 6:1, 5:1 和 4:1, 海藻酸钠-壳聚糖比例为 5:1, 制备 EEM, 测定释放度, 结果见图 2。海藻酸钠-药物比例为 4:1 时, 4 h 累计释放百分率为 71.7%。海藻酸钠-药物比例为 7:1, 6:1 和 5:1, 4 h 累计释放百分率分别为 14.6%, 37.1%和 58.5%。结果表明, 随海藻酸钠-药物比例的增加, 药物释放呈现减慢趋势。海藻酸钠-药物比例为 4:1, 突释效应十分明显, 因此海藻酸钠与药物比例至少应在 4:1 以上。

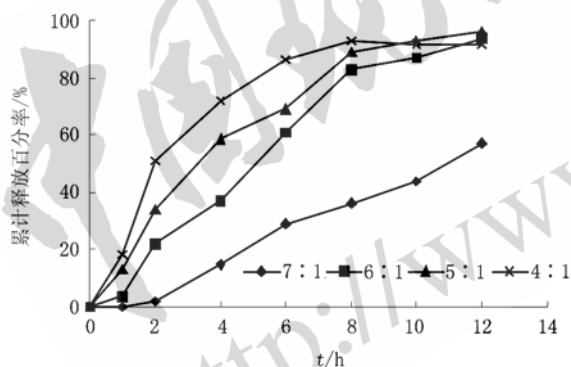


图 2 海藻酸钠与药物比例对 EEM 释放度的影响

Fig 2 The influence of the proportion of alginate to drug on EEM drug release profile

2.5 海藻酸钠-壳聚糖比例对 EEM 释放度的影响

拟定海藻酸钠与药物的比例为 7:1, 制备海藻酸钠-壳聚糖比例分别为 6:1, 5:1, 4:1 的 EEM, 测定释放度, 结果见图 3。海藻酸钠-壳聚糖比例为 6:1, 5:1 和 4:1, 4 h 累计释放百分率分别为 48.3%, 41.5%和 19.2%, 12 h 累计释放百分率分别为 94.3%, 82.1%和 68.4%。结果表明, 海藻酸钠-壳聚糖比例在 6:1 以上, 能够有效控制突释效

应, 随壳聚糖用量增加, 药物释放明显减少, 如果壳聚糖用量过多, 可能导致药物释放不完全。

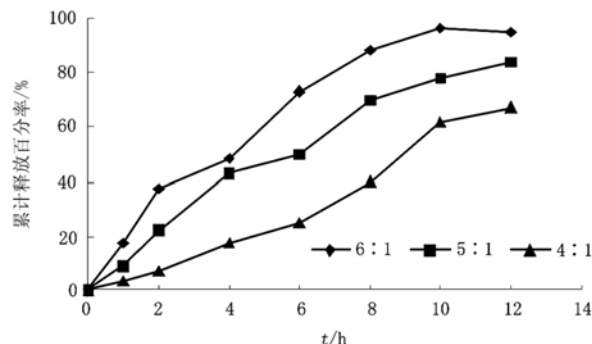


图 3 海藻酸钠-壳聚糖比例对 EEM 释放度的影响

Fig 3 The influence of the proportion of alginate to chitosan on EEM drug release profile

2.6 正交设计优化 EEM 处方

选择对 EEM 释放度有影响的因素: 海藻酸钠-药物比例、海藻酸钠-壳聚糖比例与海藻酸钠浓度, 进行 3 因素 3 水平正交设计实验, 以释放度为指标, 通过极差分析, 确定优化处方组成。

释放度评价指标: 依据中国药典 2005 年版二部附录 XIX D 缓释、控释制剂指导原则, 取 3 个时间点用于评价缓释片的体外释放度。如果 EEM 在 2~12 h 内第 2, 6, 12 h 3 个时间点呈零级释放, 则相应的累积释放率为 25%, 50%和 90%。设第 2, 6 h 2 个时间点的评分随着实际累积释放率与零级释放情况状态下相应的累积释放率的偏离而逐渐递减, 而第 12 h 的累积释放率必须大于 75%, 由此设定释放度测定过程中: 第 2 h 累积释放率(d25)评分 $L=25-|d25-25|$; 第 6 h 累积释放率(d50)评分 $M=25-|d50-50|$; 第 12 h 累积释放率(d90)评分 $N=(d90-75)$; 综合评分: $R=L+M+N^{[4]}$ 。

正交实验因素水平表见表 1, 综合评分表见表 2。优化的处方为 $A_2B_2C_3$, 即海藻酸钠-药物比例为 6:1, 海藻酸钠-壳聚糖比例为 4:1, 海藻酸钠浓度为 2.5%。根据极差分析结果可知, 各因素对药物释放性能的影响程度为 $B>A>C$, 即海藻酸钠-壳聚糖比例与海藻酸钠-药物比例影响较大, 海藻酸钠浓度影响较小。

表 1 正交试验因素水平表

Tab 1 Factors and levels of the orthogonal test

因 素	水平		
	1	2	3
海藻酸钠-药物比例	7:1	6:1	5:1
海藻酸钠-壳聚糖比例	5:1	4:1	3:1
海藻酸钠浓度	3.5%	3.0%	2.5%

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 Results of the orthogonal test

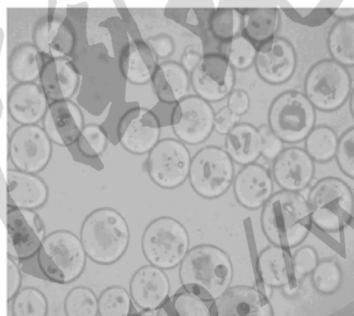
试验号	A	B	C	r
1	1	1	1	37.2
2	1	2	2	51.4
3	1	3	3	47.9
4	2	1	2	37.2
5	2	2	3	52.8
6	2	3	1	48.2
7	3	1	3	33.1
8	3	2	1	37.2
9	3	3	2	34.9
K1	45.5	35.8	40.9	
K2	46.1	47.1	41.2	
K3	35.1	43.7	44.6	
K	10.4	11.3	3.7	

2.7 EEM 包封率的测定

精密称取 EEM 适量(约相当于甲磺酸二氢麦角碱 1 mg),于研钵中研细后,置于 50 mL 量瓶中,加入 20%柠檬酸钠溶液 20 mL,振荡 10 min,加乙腈 20 mL,超声 30 min,加乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,照“2.1”项下方法测定,按照中国药典 2005 版附录计算包封率。制备的 EEM 包封率为 84.7%。

2.8 EEM 粒径分布及形态学研究

干燥的 EEM 可迅速重新分散于生理盐水中,在光学显微镜下观察,EEM 外观圆整且粒径分布均匀。用激光粒度测定仪测定,其粒径分布在 2~100 μm 内,平均粒径(63.7 ± 7.2) μm 。

图4 EEM 光学显微镜照片($\times 400$)Fig 4 Optical photography of EEM($\times 400$)

2.9 EDDTEM 的制备

EDDTEM 与传统缓释片不同,其以微囊形式释药,要求整片迅速崩解,因此选择易于崩解的处方制备 EDDTEM。称取 EEM 1 g,与微晶纤维素 6 g、羧甲基淀粉钠 0.9 g 混合均匀,加入 30%乙醇适量,制成干湿适中的软材,20 目筛制粒,50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 2 h,20 目筛整粒,加入硬脂酸镁 0.1 g 充分混匀,压片即得,片剂硬度控制在 4.0~6.0 kg。制得的片剂能够在 10 min 内崩解完全,符合设计要求。

2.10 药物释放机理研究

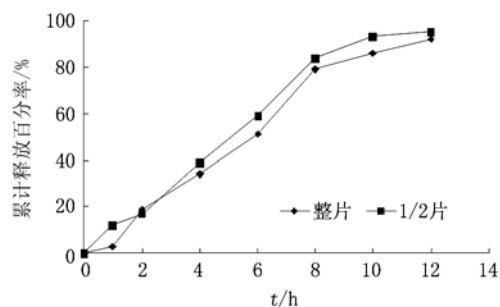


图5 EDDTEM 整片及 1/2 片释放曲线相似性评价

Fig 5 The similarity evaluation of release curve of the whole tablet and the half tablet of EDDTEM

将 EDDTEM 整片及 1/2 片进行释放度测定,结果见图 5。采用相似因子法(the similarity factor)评价释放曲线相似性,计算公式如下^[5]:

$$f_2 = 50 \cdot \log \{ [1 + (1/n) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2]^{-0.5} \cdot 100 \}$$

f_2 大于 65 可判定 2 条释放曲线相似。EDDTEM

整片与 1/2 片的释放曲线 $f_2 = 76.3$, 表明分剂量后的 EDDTEM 与整片释放度相似。

释放度数据分别用 Higuchi 模型、零级和一级动力学方程进行拟合,所得回归方程分别为: $R = 0.2207 t^{1/2} - 0.203$, $r = 0.9924$; $R = 0.0376 t + 0.0712$, $r = 0.9816$; $\ln(100 - R) = -0.0948 t + 0.1875$, $r = 0.9750$ 。

由回归方程分析,EDDTEM 的释药行为很好地符合 Higuchi 模型,具有明显缓释特征。

采用 Peppas 方程对 EDDTEM 药物释放机制作出判断;方程的对数形式为: $\log(M_t/M_\infty) = \log k + n \log t$ 。其中, M_t/M_∞ 为药物累积释放百分率, k 为释药速率常数, n 为扩散释放指数。当 $n \leq 0.45$ 时,药物释放以 Fick 扩散为主;当 $0.45 < n < 0.89$ 时,药物呈现不规则(非 Fick's)转运,药物释放呈现扩散和溶蚀并存的现象;当 $n > 0.89$ 时,药物释放属于屏障控制过程^[6]。EDDTEM 释放度数据 Peppas 方程处理结果: $\log(M_t/M_\infty) = -1.1435 + 0.8101 \log t$, $n = 0.8101$,推断药物释放为不规则(非 Fick's)转运,呈现扩散和溶蚀并存的现象,属于混合型药物释放机制。

3 讨论

壳聚糖和海藻酸钠是具有生物相容性的可降解天然多糖。海藻酸钠与氯化钙接触形成海藻酸钙而凝聚成囊,而此种微囊不能较好控制药物释放,存在突释效应。壳聚糖分子链上有大量的伯氨基,海藻酸钠的分子链上有大量的羧基,两者通过正、负电荷吸引形成聚电解质膜^[7],可有效控制药物释放速度,使之符合设计要求。

本试验采用喷雾-凝聚法制备微囊,其核心原理为使药物与海藻酸钠形成诸多微小液滴,而囊膜的凝聚反应发生在此液滴中,可有效避免常规复凝聚法产生的大量空囊,有效提高包封率,且生产过程中不使用有机溶剂,整个环节在一密封容器内一步完成,非常适合于工业化生产。

使用本法制备微囊,影响微囊包封率的主要因素有搅拌速度,壳聚糖浓度以及反应时间。搅拌速度太快,囊材及囊心物因离心作用附于瓶壁,使包封率降低;搅拌速度太慢,微囊易粘结,本试验选择适中搅拌速度 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。壳聚糖的浓度较高使溶液粘度增加,导致成囊困难,因此选择较低的壳聚糖浓度1.5%。为保证壳聚糖与海藻酸钠反应完全,选择较长的反应时间3 h。

REFERENCES

- [1] WANG Z H, YIN X J, LIN C Q. Effect of dihydroergotamine mesilate on rehabilitation of cerebral infarction patient [J].

- Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis(中西医结合心脑血管病), 2004, 2(9): 519-520.
- [2] THIMMA R T, TAMMSHETTI S. Study of complex coacervation of gelatin with sodium carboxymethyl guar gum: microencapsulation of clove oil and sulphamethoxazole [J]. *Microencapsulation*, 2003, 20(2): 203-206.
- [3] LIANG G H, PAN J L. In vitro release evaluation of dihydroergotamine mesylate in sustained-release tablets [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm(广东药学院学报)*, 2005, 21(3): 276-277.
- [4] CHIDAMBARAM N, PORTER W, FLOOD K, et al. Formulation and characterization of new layered diffusional matrices for zero-order sustained release [J]. *J Control Release*, 1998, 52(1/2): 149-153.
- [5] Department of Health and Human Services. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms [M]. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), ROCKVILLE, MD: 1997.
- [6] SATHE P, TSONG Y, SHAH V P, et al. In vitro dissolution profile comparison: statistics and analysis, model dependent approach [J]. *Pharm Res*, 1996, 13(12): 1799-1805.
- [7] FAN H, ZHANG Q Q. The research progress of alginate in the application of pharmaceuticals [J]. *J China Pharmacy(中国药房)*, 2006, 17(6): 465-466.

收稿日期: 2009-06-10