

他克莫司口服自微乳骨架缓释微丸的制备及其释药机制研究

刘建清¹, 曾棋平², 刘志宏³, 宋洪涛^{3*} (1.泉州医学高等专科学校, 福建 泉州 362000; 2.福建医科大学附属漳州市医院药学部, 福建 漳州 363000; 3.联勤保障部队第九〇〇医院药剂科, 福州 350025)

摘要: 目的 制备他克莫司自微乳骨架缓释微丸, 并探讨其释药机制。方法 采用星点设计-效应面法筛选他克莫司自微乳最优处方, 在此基础上, 采用挤出滚圆技术, 以微晶纤维素(microcrystalline cellulose, MCC)为吸附剂和填充剂、乙基纤维素(ethyl cellulose, EC)与硬脂酸(stearic acid, SA)为骨架材料, 以5%羟丙基甲基纤维素(hypromellose, HPMC)溶液为黏合剂, 制备他克莫司自微乳骨架缓释微丸, 并考察其体外溶出情况。结果 他克莫司自微乳最优处方为 Crodamol EO : Solutol HS15 : Transcutol P=15% : 52.5% : 32.5%。骨架缓释微丸最优处方为 MCC 用量为 45%, EC : SA 用量比为 3 : 2, 5%HPMC 溶液用量为 12 mL。制得的他克莫司自微乳骨架缓释微丸符合市售他克莫司缓释胶囊的体外释放标准, 释药机制为溶蚀与扩散相结合。结论 优选的处方稳定可行, 他克莫司自微乳骨架缓释微丸体外释放符合预期目的。

关键词: 他克莫司; 自微乳; 骨架缓释微丸; 释药机制

中图分类号: R944 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)05-0638-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222093

引用本文: 刘建清, 曾棋平, 刘志宏, 等. 他克莫司口服自微乳骨架缓释微丸的制备及其释药机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(5): 638-645.

Preparation and Release Mechanism of Tacrolimus Oral Self-microemulsion Matrix Sustained-release Pellets

LIU Jianqing¹, ZENG Qiping², LIU Zhihong³, SONG Hongtao^{3*} (1.Quanzhou Medical College, Quanzhou 362000, China; 2.Department of Pharmacy, Zhangzhou Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Zhangzhou 363000, China; 3.Department of Pharmacy, No. 900 Hospital of Joint Logistics Support Force, Fuzhou 350025, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare tacrolimus self-microemulsion matrix sustained-release pellets and investigate its the release mechanism. **METHODS** Optimal formulation of tacrolimus self-microemulsion was screened by the central composite design-response surface methodology, and then the tacrolimus self-microemulsion matrix sustained-release pellets were prepared by extrusion spheronization technology with microcrystalline cellulose(MCC) as adsorbent and filler, ethyl cellulose(EC) and stearic acid(SA) as skeleton materials, 5% hypromellose(HPMC) solution as adhesive. Tacrolimus self-microemulsion matrix sustained-release pellets were prepared, also, their dissolution profiles were investigated *in vitro*. **RESULTS** The optimal formula of tacrolimus self-microemulsion was Crodamol EO : Solutol HS15 : Transcutol P=15% : 52.5% : 32.5%. The optimal formulation of the matrix sustained-release pellets was 45% MCC, 3 : 2 of EC : SA and 12 mL 5% HPMC solution. Tacrolimus self-microemulsion matrix sustained-release pellets met the *in vitro* release standards of commercially available tacrolimus sustained-release capsules. The release mechanism was a combination of erosion and diffusion. **CONCLUSION** The optimized formulation of microemulsion matrix sustained-release pellets is stable and feasible, and its *in-vitro* release fits the intended purpose.

KEYWORDS: tacrolimus; self-microemulsion; matrix sustained-release pellets; drug release mechanism

他克莫司作为第 2 代免疫抑制剂的代表性药物, 是肝肾移植术后抗排斥反应的临床用药之一, 临床应用疗效确切可靠^[1]。但是他克莫司存在溶解度小、吸收困难等缺点^[2]。此外, 他克莫司胶囊需每日给药 2 次, 患者依从性差, 同时存在给药后个体差异大以及治疗窗窄等问题。

自微乳给药系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS)由油相、乳化剂以及少

量助乳化剂组成, 口服进入胃肠道后, 随着胃肠蠕动自发形成纳米粒径大小的微乳^[3-4]。目前通过 SMEDDS 体系增溶并上市的代表药物有环孢素、异维 A 酸、利托那韦等, 为其他难溶性药物剂型研究提供了新的方向^[5]。骨架缓释微丸口服后可广泛分布在胃肠道中, 在体内的释药行为是多个微丸释药行为的综合, 可避免因制备失误导致对整个释药行为产生重大影响, 尤其适用于毒性或小

作者简介: 刘建清, 男, 硕士, 助教 E-mail: 745747054@qq.com

*通信作者: 宋洪涛, 男, 博士, 教授 E-mail: sohoto@vip.163.com

剂量药物。

本研究旨在通过 SMEDDS 改善他克莫司溶解度, 采用挤出滚圆技术将液态的他克莫司-SMEDDS 制备成他克莫司自微乳骨架缓释微丸, 以提高液态自微乳不稳定及减少他克莫司血药浓度波动大等问题。

1 仪器与试剂

AL204 型电子天平(常州国华电器有限公司); Agilent1200 型高效液相色谱仪(DAD 检测器, 美国 Agilent 公司); SK-1 型快速混匀器(梅特勒-托利多仪器有限公司); RCZ-2B6 型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器有限公司); Nicomp380 型纳米激光粒度及电位仪(Particle Sizing Systems, Inc); JBY-200 型多功能离心挤出造粒机(辽宁医联新药研究所); DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥机(上海一恒科技有限公司);

他克莫司对照品(福建科瑞药业有限公司, 含量: 100.5%; 批号: 111101); 油酸乙酯(Crodamol EO, 英国 CRODA 公司, 货号: 3007-04-2); 聚乙二醇 40 氢化蓖麻油(Cremophor RH40, 货号: 61788-85-0)、聚氧乙烯 35 蓖麻油(Cremophor EL35, 货号: 51791-12-6)、聚乙二醇 15 羟硬脂酸酯(Solutol HS15, 货号: 84233-07-2)均购自德国 BASF 公司; 油酸聚乙二醇甘油酯(Labrafil M1944CS, 货号: 9004-96-0)、丙二醇单月桂酸甘油酯(Lauroglycol 90, 货号: 7302-34-1)、丙二醇单辛酸酯(Capryol 90, 货号: 4003-24-5)、乙二醇单乙基醚(Transcutol P, 货号: 4503-12-4)、聚甘油油酸酯(Plurol Oleique CC497, 货号: 1005-15-4)均购自法国 GATTEFOSSE 公司; Avicel PH-101 微晶纤维素(microcrystalline cellulose, MCC, 美国 FMC 公司, 货号: 232-674-9); 乙基纤维素(ethyl cellulose, EC, 上海昌为辅料有限公司, 批号: 20180305); 硬脂酸(stearic acid, SA, 北京凤礼精求商贸有限公司, 批号: 20190413); 十二烷基硫酸钠(诸暨丰盈化工有限公司, 批号: 20170622); 羟丙基甲基纤维素(hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC, 阿拉丁试剂, 货号: 9004-64-2); 乙腈、甲醇均为色谱纯, 均购自 SIGMA-ALDRICH 公司。

2 方法及结果

2.1 他克莫司含量测定

采用 HPLC 测定他克莫司含量。色谱柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水[稀磷酸溶液(3→

50)调节 pH 至 4.5](65 : 35); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 50 °C; 进样量: 20 μL; 检测波长为 210 nm。该方法灵敏性、专属性, 均满足他克莫司制剂质量控制的要求^[6], 以浓度 $x(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 以峰面积 y 为纵坐标进行线性回归, 他克莫司的线性回归方程为 $y=16.93x-10.41(r=0.999\ 6)$, 线性范围为 1~15 μg·mL⁻¹。

2.2 油性溶媒中溶解度的测定

准备多个装有 1 mL 溶媒的具塞试管, 加入足量他克莫司, 将具塞试管放置于 25 °C 水浴中进行震荡 72 h, 震荡后的内容物于 13 350×g 条件下离心 10 min, 离心后用无水乙醇对上清液进行稀释, 并经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液按“2.1”项下条件测定, 计算溶解度。结果见表 1。

表 1 他克莫司在油性溶媒中的溶解度

Tab. 1 Solubility of tacrolimus in oily solution

分类	溶媒	溶解度/ mg·g ⁻¹
油相	Crodamol EO(油酸乙酯)	2.70
	Capryol 90(丙二醇单辛酸酯)	12.59
	Labrafil M1944CS(油酸聚乙二醇甘油酯)	3.04
	Lauroglycol 90(丙二醇单月桂酸甘油酯)	11.10
乳化剂	Solutol HS15(聚乙二醇 15 羟硬脂酸酯)	11.38
	Cremophor RH40(聚乙二醇 40 氢化蓖麻油)	6.67
	Cremophor EL35(聚氧乙烯 35 蓖麻油)	1.89
助乳化剂	Transcutol P(二乙二醇单乙基醚)	317.19
	Glycerol(甘油)	7.73

根据表 1 中溶解度测定结果, 他克莫司在油相 Capryol 90 与 Lauroglycol 90 中溶解度均较高, 但由于他克莫司用作免疫抑制剂时的剂量较小, 考虑辅料配伍情况, 选择所有油相进行下一步的配伍实验研究。Solutol HS15、Cremophor RH40 作为备选乳化剂; 由于他克莫司在 Transcutol P 中的溶解度明显高于其他助乳化剂, 因此选择 Transcutol P 作为助乳化剂。

2.3 配伍试验

经初步筛选得到油相: 乳化剂(一种或几种的混合): 助表面活性剂的质量比为 2 : 6 : 2, 2 : 5 : 3, 2 : 4 : 4。按总处方量为 1 g 计算各组分用量并称定混合, 在室温下放置 24 h, 从最后能形成透明、均一的混合物中取 0.5 mL, 加入 50 mL 蒸馏水中, 在 37 °C 温度下以 50 r·min⁻¹ 速度磁力搅拌至完全乳化, 将形成的乳剂外观分为 4 个等级^[7]。A: 澄清透明或溶液中略带淡蓝色乳光;

B: 轻微白色浑浊并带有蓝色乳光; C: 外观为均匀的亮白色乳液; D: 颜色较为暗淡的乳白色液体或含有未被乳化的油相。

结果发现 Labrafil M1944CS、Lauroglycol 90 与各种乳化剂配伍的乳化效果均较差, Labrasol、Plurol Oleique CC497 对各种油相的乳化能力均较弱, 而作为油相 Crodamol EO、Capryol 90 与除 Labrasol、Plurol Oleique CC497 外的其他 3 种乳化剂配伍效果均较好, 相比之下, Solutol HS15、Cremophor EL35、Cremophor RH40 与 Crodamol EO、Capryol 90 的乳化效果均较好, 因此最终选择 EO、Capryol 90 作为油相, Solutol HS15、Cremophor EL35、Cremophor RH40 作为乳化剂进行下一步考察。

2.4 伪三元相图的绘制

通过使用伪三元相图绘制筛选自微乳处方^[8], 在伪三元相图中分别以筛选得到的油相(或混合油相)、乳化剂(或混合乳化剂)和助乳化剂为三角形的 3 个顶点, 按图形内部各点比例配制 SMEDDS 空白处方 1 g, 混匀后, 取 0.5 mL 于 50 mL 蒸馏水中恒温 37 °C 低转速磁力搅拌, 观察所得乳剂, 外观为澄清透明或乳剂中略带有淡蓝色乳光视为微乳。将能形成微乳的点, 以线条连接, 最后形成的区域即为微乳区。结果见图 1。

由以上伪三元相图可见, 以 Capryol 90 作为油相时所形成的微乳区面积较以 Crodamol EO 为油相的微乳区面积小, 所以最终处方选择 Crodamol EO 作为油相, 在乳化剂的选择上, 以 Cremophor RH40 为乳化剂的微乳区面积较以 Solutol HS15、Cremophor EL35 为乳化剂的微乳区面积小, 而参考“2.2”项下他克莫司的溶解度, 他克莫司在 Cremophor EL35 中的溶解度远小于 Solutol HS15, 因此最终选择 Solutol HS15 作为乳化剂。

因此最终以 Crodamol EO 为油相、以 Solutol HS15 为乳化剂、以 Transcutol P 为助乳化剂作为他克莫司的辅料进行下一步研究。

2.5 处方的优化

2.5.1 因素和水平的确定 根据单因素考察发现, 处方中油相的用量和乳化剂用量对体系的自微乳化效果的影响最为显著, 而且这 2 个因素确定, 处方组成即可基本确定, 药物的含量可根据处方的溶解度来确定。因此, 本实验分别以油相浓度($X_1/\%$)和乳化剂浓度($X_2/\%$)作为自变量, 以微粒平均粒径(Y_1/nm)、微粒粒径分布(Y_2)和自微乳化平均时间(Y_3/s)为因变量, 采用因素、水平的星点设计^[9], 见表 2。以伪三元相图为依据, 确定因素的极大值与极小值。按星点设计进行试验, 每个样

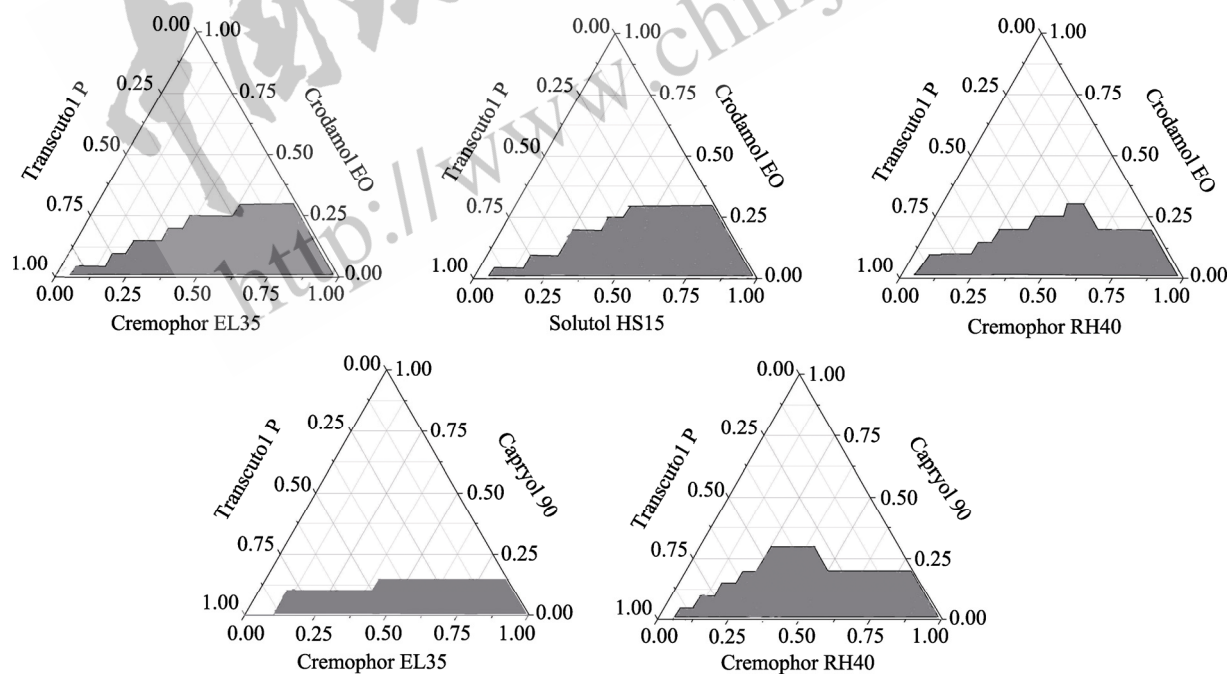


图 1 不同油相、乳化剂、助乳化剂的伪三元相图

阴影部分为微乳区, 且各微乳区不包括三角形左上的点。

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram of different oil phases, emulsifiers and co-emulsifiers

Shadow represented micro-emulsion region which not included the point on the left fringe.

品做 3 份。

表 2 因素水平表

Tab. 2 Table of factors and levels

因素	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1	10.00	12.93	20.00	27.07	30.00
X_2	50.00	52.93	60.00	67.07	70.00

2.5.2 模型组合 用 Design Expert 8.0.5.0 对表 3 中试验数据的多元线性和非线性进行拟合, 按方程回归系数 r 最大且 F 检验合格为原则, 拟合方程如下, 结果可知以下方程拟合最好:

$$Y_1 = 23.12 - 0.88X_2 + 0.57X_{12} + 0.12X_{22} - 0.38X_1X_2 - 0.19X_1^2X_2 + 0.059X_1X_2^2 (r=0.9981, P<0.05);$$

$$Y_2 = 0.032 + (4.950 \times 10^{-3})X_1 + (6.718 \times 10^{-3})X_2 - 4.845 \times 10^{-3}X_1^2 + (9.925 \times 10^{-3})X_2^2 - (8.250 \times 10^{-3})X_1X_2 - 0.015X_1^2X_2 - 0.015X_1X_2^2 (r=0.9339, P<0.05).$$

表 3 试验设计及各指标测定结果($n=3$)

Tab. 3 Test design and measurement results of each index ($n=3$)

序号	X_1	X_2	Y_1	Y_2
1	27.07	67.07	26.5	0.017
2	27.07	52.93	29.4	0.050
3	12.93	67.07	19.0	0.053
4	12.93	52.93	20.4	0.053
5	30.00	60.00	30.0	0.024
6	10.00	60.00	18.5	0.010
7	20.00	70.00	22.1	0.056
8	20.00	50.00	24.6	0.037
9	20.00	60.00	22.8	0.035
10	20.00	60.00	23.6	0.036
11	20.00	60.00	23.3	0.027
12	20.00	60.00	22.7	0.031
13	20.00	60.00	23.2	0.033

2.5.3 效应面优化 采用 Design Expert 8.0.5.0 软件绘制以上拟合方程的效应面。结果见图 2。

随着油相的增加, 粒径逐渐增大。随着乳化剂的增加, 粒径分布先减少后增大。以粒径 <50 nm、粒径分布 <0.1 为条件, 由 Design Expert 软件给出 3 个油相含量不同的优化处方, 处方 1: $X_1=20$, $X_2=60$; 处方 2: $X_1=13$, $X_2=56$; 处方 3: $X_1=15$, $X_2=52.5$ 。

2.6 他克莫司在不同处方中的溶解度

按不同比例配制不同的空白自微乳化处方, 并按“2.2”项下方法操作, 测定他克莫司在不同处方中的溶解度, 结果见表 4。

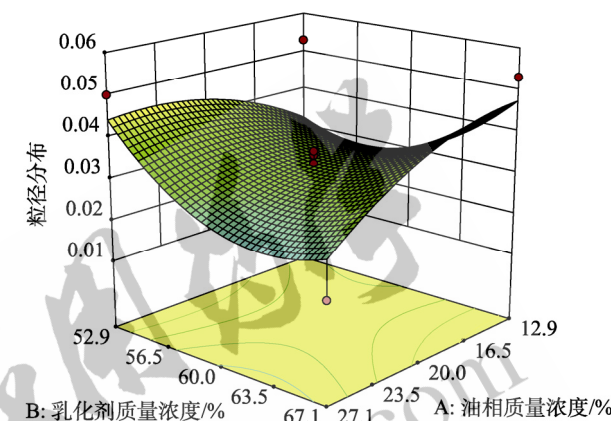
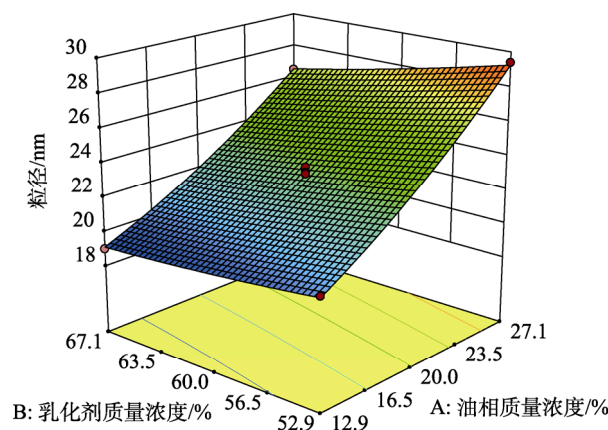


图 2 平均粒径和粒径分布效应面

Fig. 2 Response surface of mean particle size and particle size distribution

表 4 他克莫司在不同处方中的溶解度

Tab. 4 Solubility of tacrolimus in different formulation

处方号	油相-乳化剂-助乳化剂	溶解度/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	20 : 60 : 20	36.3
2	13 : 56 : 31	37.2
3	15 : 52.5 : 32.5	38.0

由表 4 可知, 3 个处方对他克莫司的溶解能力相差较小, 按他克莫司制剂市售常见规格 1 mg 计算, 需约 28 mg 的空白处方才能满足载药需求。为了减小环境变化对他克莫司溶解状态的影响, 同时尽量减少处方总量, 暂定他克莫司与空白 SMEDDS 用量比为 1 : 35。

2.7 他克莫司-SMEDDS 骨架缓释微丸的制备

2.7.1 微丸制备工艺考察优化 以微丸圆整度、收率为质量指标, 考察挤出速度、滚圆速度和滚圆时间 3 个工艺因素对微丸质量的影响, 结果见表 5。

经工艺因素的考察结果, 确定具体制备工艺条件: $928 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (22 Hz) 的挤出速度, $830 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (20 Hz) 的滚圆速度, 滚圆时间 6 min。

表 5 挤出速度、滚圆速度与滚圆时间对微丸质量的影响
Tab. 5 Effects of extrusion speed, spheronization speed and spheronization time on pellet quality

因素	因素大小	圆整度/ Φ	收率/%
挤出速度/Hz	20	18.2	67.45
	22	15.7	73.46
	24	16.2	63.14
滚圆速度/Hz	18	18.4	65.03
	20	15.7	73.46
	22	14.7	61.23
滚圆时间/min	3	19.8	63.85
	6	15.7	73.46
	10	14.4	66.43

2.7.2 处方的考察与优化

2.7.2.1 正交试验设计 在前期单因素考察的基础上确定了正交试验的影响因素及因素水平。固定主药含量 1 mg, 液态自微乳与载体材料用量之比为 1 : 2.5。选择对药物释放影响较大的 3 个因素即 MCC 用量(A)、EC 与 SA 用量之比(B)、5%HPMC 用量(C), 每个因素分为 3 个水平, 见表 6。

表 6 正交试验的因素与水平

Tab. 6 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素		
	A/%	B	C/mL
1	40	3 : 1	10
2	45	3 : 2	12
3	50	1 : 1	14

2.7.2.2 评价指标的选择 以微丸的成球性及主要时间点的释放度为评价标准。参考市售他克莫司缓释胶囊体外释放标准, 以 3 个时间点的累积释放量: $P(0.5\text{ h})$ (0.5 h 累积释放量)、 $P(1.5\text{ h})$ 、 $P(24\text{ h})$, 分别以 30%, 58%, 85%为标准, 其综合指标 $P = |P(0.5\text{ h}) - 30\%| + |P(1.5\text{ h}) - 58\%| + |P(24\text{ h}) - 85\%|$, P 得分越低, 表明与所选的标准趋势接近。对成球性采用加权综合评分, 综合评分 $F = f(18\text{--}24\text{ 目微丸收率}) - 2\phi$ (ϕ 为圆整度)。将 2 个指标化为单一指标, 每个指标权重均为 1, 即总分 $S = F - P$, 总分越高, 即微丸收率越高、圆整度越好、药物体外释放越接近于市售标准。

2.7.2.3 正交试验结果 方差分析结果表明, A、B、C 3 个因素各水平间均不存在显著性差异, 综合考虑各因素, 最终处方定为 $A_2B_2C_2$, 即 MCC 含量为 45%, EC : SA 为 3 : 2, HPMC 黏合剂用量为 12 mL。结果见表 7~8。

表 7 正交试验结果

Tab. 7 Results of the orthogonal experiment

序号	因素			P	F	S
	A	B	C			
1	1	1	1	25.2	27.0	1.8
2	1	2	2	20.8	39.8	19.0
3	1	3	3	12.6	30.9	18.3
4	2	1	2	12.0	40.4	28.4
5	2	2	3	4.0	29.7	25.7
6	2	3	1	8.7	26.7	18.2
7	3	1	3	9.4	27.4	18.0
8	3	2	1	13.4	29.3	15.9
9	3	3	2	16.1	38.5	22.4
K_1	13.033	16.067	11.967			
K_2	24.100	20.200	23.267			
K_3	18.767	19.633	20.667			
R	11.067	4.133	11.300			

表 8 方差分析结果

Tab. 8 Result of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	183.787	2	91.893	6.775	>0.05
B	30.127	2	15.063	1.111	>0.05
C	210.140	2	105.070	7.747	>0.05
误差	27.127	2	13.563		

注: $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

Note: $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

按处方称取各辅料, 采用等量递加法将他克莫司液态自微乳、EC、SA 研磨混匀, 采用挤出滚圆法制备骨架缓释微丸, 筛选目标微丸(18~24 目), 见图 3。



图 3 他克莫司 SMEDDS 骨架缓释微丸外观图

Fig. 3 Picture of tacrolimus SMEDDS sustained release matrix pellets

2.8 他克莫司-SMEDDS 骨架缓释微丸释放度的测定

取他克莫司骨架缓释微丸适量, 填充胶囊, 使每粒胶囊约含他克莫司 1.0 mg 置于沉降篮中;

取他克莫司原料药与 MCC 等辅料混合, 适量填充胶囊, 使每粒胶囊约含他克莫司 1.0 mg 置于沉降篮中; 取市售缓释胶囊(规格: 1 mg)置于沉降篮中。参考市售他克莫司缓释胶囊进口药品注册标准^[10], 以含 0.005%羟丙基纤维素与 0.10% 十二烷基硫酸钠的溶液[用 6%稀磷酸溶液调节 pH 至 4.5]100 mL 为释放介质, 转速为 50 r·min⁻¹, 在 0.5, 1.0, 1.5, 4, 8, 12, 24 h 分别取溶液 5 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 并即刻在相应量杯中补空白释放介质 5 mL, 分别精密量取续滤液 20 μL, 注入高效液相色谱仪进行分析。参考市售他克莫司缓释胶囊的体外释放标准(0.5 h: 20%~40%; 1.5 h: 48%~68%; 24 h: >80%), 自制他克莫司缓释微丸体外释放结果符合要求, 与他克莫司原料药溶出情况相比, 他克莫司的体外溶出情况显著改善, 结果见图 4。

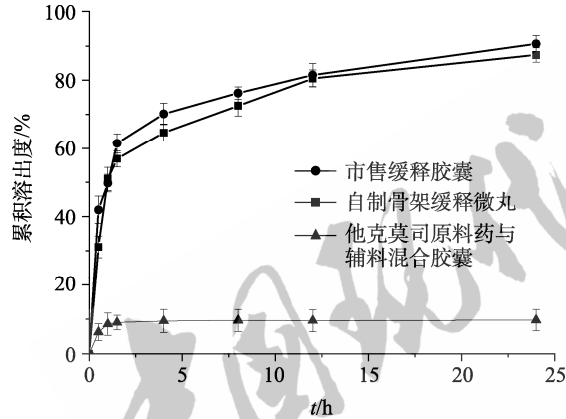


图 4 药物体外释放曲线图($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Drug release curve *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.9 溶出介质对药物释放的影响

按“2.8”项下方法制备 18~24 目的骨架缓释微丸。采用转篮法考察蒸馏水(pH 5.6), 0.1 mol·L⁻¹ HCl、pH 6.8 磷酸盐缓冲液以及注册标准规定的释放介质对药物释放行为的影响, 结果见图 5。

由图 5 可知, 不同的释放介质对药物释放行为有一定的影响, 在 pH 低的溶液中, 药物的前期释放较快, 而在 pH 高的溶液中, 药物释放较缓慢。

2.10 他克莫司-SMEDDs 骨架缓释微丸体外释药的模型拟合

本实验分别采用表 9 中的模型将制剂累积释放率(Q)与时间(t)的体外释药度数据进行拟合^[11], 考察其释放特性。

比较各拟合方程的相关系数, 相关系数 r 越接近 1, 表明拟合效果越好。由表 9 可知, 自制缓释

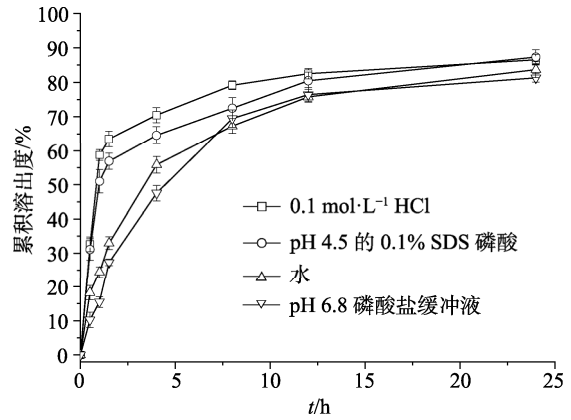


图 5 溶出介质对释药的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Influence of medium on drug release ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表 9 释药方程

Tab. 9 Release equation

模型	方程	r
Zero order 方程	$M_t/M_\infty=0.018t+0.496$	0.840 8
First order 方程	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.064t+0.666$	0.929 2
Higuchi 方程	$M_t/M_\infty=7.358t_{1/2}-2.364$	0.924 7
Ritger-Peppas	$\lg(M_t/M_\infty)=0.231\lg t-0.345$	0.938 6
Hixson Crowell	$(1-M_t)^{1/3}=-0.014t+0.797$	0.919 2
Weibull	$\ln[1/(1-M_t)]=0.399\ln t+0.293 6$	0.977 2

微丸体外释药的规律符合 Ritger-Peppas 和 Weibull 方程。对于圆球型制剂, Peppas 等^[12]指出, 时间项 t 指数的意义是, 当 $n<0.43$ 时, 可认为制剂释放行为为 Fick 扩散; 当 $0.43<n<0.85$ 时, 制剂的释放机制为非 Fick 扩散, 即药物的释放以骨架溶蚀和药物扩散相结合; 当 $n>0.85$ 时, 制剂释放为骨架溶蚀机制。从 Ritger-Peppas 方程拟合结果分析, $n=0.231$, 本实验又采用 Ritger-Peppas 模型将制剂累积释放率(Q)与时间(0~1.5 h)的体外释放度数据进行拟合, 可知 $n=0.568(r=0.979 3)$, 这说明他克莫司骨架缓释微丸前期释放是由于骨架溶蚀和药物扩散协同作用; 将制剂累积释放率(Q)与时间(1.5~24 h)的体外释药度数据进行拟合, $n=0.167(r=0.995 5)$, 表明药物在 1.5~24 h 的释放是由于药物扩散作用。故药物在 24 h 的释放过程中, 药物均存在扩散释药, 但前期也包括载体溶蚀作用。

为了证实以上释药过程, 对微丸进行电镜扫描: 取不同释放时间点的微丸置室温下干燥, 将干燥微丸用刀片纵切, 得横截面。用导电双面胶将微丸粘贴于圆柱形铜质标本台上(微丸截面朝上), 在真空条件下对微丸进行喷雾镀金, 随后置于扫描电镜下观察, 结果见图 6。

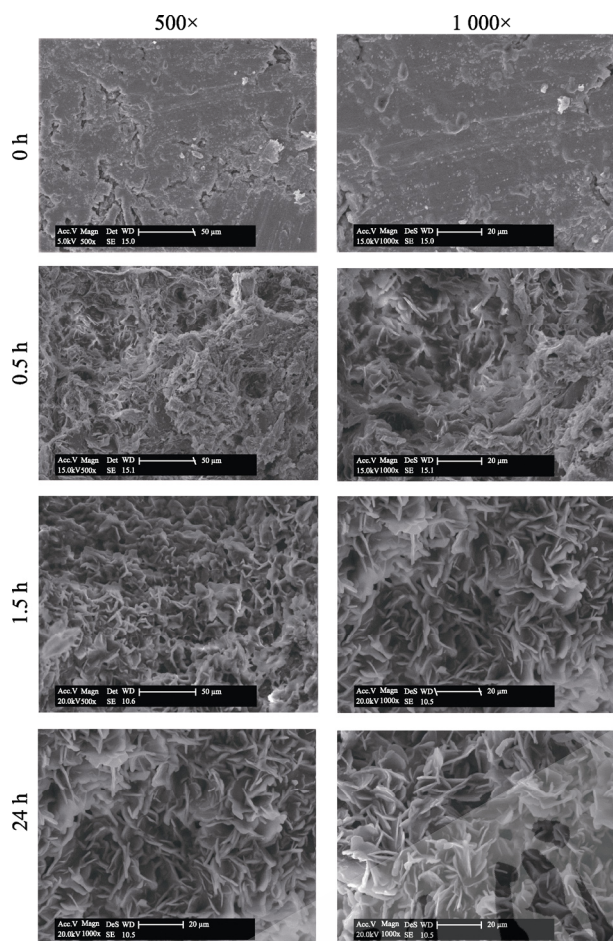


图6 不同时间骨架缓释微丸横截面的电镜扫描
Fig. 6 Scanning electron microscopy of cross section of sustained-release pellet in different time

从扫面电镜图可以看出,微丸在0 h时切面较为光滑,微丸载体紧密结合,随着时间的变化:0.5~1.5 h,微丸切面呈现不规则的孔状结构,为溶蚀性骨架材料SA在溶出介质中溶蚀后形成的孔道;24 h的微丸切面与1.5 h相比,孔状结构变化不大,这说明在1.5~24 h过程中,骨架基本无溶蚀,药物释放主要以扩散为主。

3 讨论

原研厂家采用固体分散体技术对他克莫司进行增溶,专利处于保护期,考虑他克莫司属于BSC II类药物,其水溶性和渗透性均较差。SMEDDS不仅可以增加药物溶解度,成分中的表面活性剂还赋予了乳剂“向水性”的特点,有助于微乳携药跨膜吸收^[13]。此外,SMEDDS中辅料可能存在对P-糖蛋白的外排抑制作用,以及促进乳糜微粒分泌,进而促进药物经淋巴转运的作用^[14]。因此本研究选用SMEDDS作为他克莫司制剂载体。

其他自微乳处方优化以乳化时间为指标进行

考察^[15],在本实验中发现,不同处方混匀取样加入50 mL蒸馏水中至最后乳化完全,时间大致相等且较短,约45 s。因此乳化时间意义不大,本实验仅以粒径和粒径分布作为指标进行处方因素考察。

研究表明,他克莫司的主要吸收部位在小肠上部^[16-18],与其他缓释制剂相比,市售他克莫司缓释胶囊要求前期释放较快(1.5 h释放48%~68%),可能与该药吸收部位有关。骨架缓释微丸研制初期以EC为骨架材料制备微丸,但发现药物释放缓慢,无法达到释放要求。考虑与其他骨架材料联用控制药物的释放速率,硬脂酸具有一定的缓释效果^[19],含量较低时释药较快,而较高含量药物释放不完全,因此本研究通过调整硬脂酸与EC用量比来达到设计要求。

本研究通过星点设计效应面法优化的自微乳系统可显著提高他克莫司的溶解度($37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),以MCC为吸附剂、EC与SA为骨架材料制得的自微乳骨架缓释微丸,其体外释药行为符合市售他克莫司缓释胶囊进口药品注册标准。本研究仅完成体外释放试验,后期将进一步考察该制剂在Beagle犬体内的药动学行为。

REFERENCES

- [1] ONG S C, GASTON R S. Thirty years of tacrolimus in clinical practice[J]. Transplantation, 2021, 105(3): 484-495.
- [2] MANSOURI A, ABNOUS K, ALIBOLANDI M, et al. Targeted delivery of tacrolimus to T cells by pH-responsive aptamer-chitosan-poly(lactic-co-glycolic acid) nano complex[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 18262-18271.
- [3] XU X Y, XIE Q Q, ZHENG D M, et al. Optimization of self-microemulsion containing total saponins from *Lysimachia capillipes* by central composite design-response surface methodology[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2017, 52(22): 2012-2017.
- [4] ZHOU W, LI X F, XIANG Z Y, et al. Combined application of self micro-emulsifying drug delivery system and liquidsolid compact technique in insoluble traditional Chinese medicine formulations[J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药与临床), 2016, 7(2): 87-89.
- [5] ZHAO B X, GU S F, DU Y, et al. Solid lipid nanoparticles as carriers for oral delivery of hydroxysafflor yellow A[J]. Int J Pharm, 2018, 535(1/2): 164-171.
- [6] LEI FANG. Study on tacrolimus sustained release capsules[D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2012.
- [7] PANDEY V, KOHLI S. SMEDDS of pioglitazone: Formulation, *in-vitro* evaluation and stability studies[J]. Future J Pharm Sci, 2017, 3(1): 53-59.

- [8] CHOU Y C, LI S M, HO C T, et al. Preparation and evaluation of self-microemulsifying delivery system containing 5-demethyltangeretin on inhibiting xenograft tumor growth in mice[J]. *Int J Pharm*, 2020(579): 119134.
- [9] YUAN H Q, JIANG S G. Optimization of felodipine self-microemulsifying drug delivery system by central composite design-response surface methodolog[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2021, 38(6): 710-714.
- [10] JX20100019, 他克莫司缓释胶囊进口药品注册标准[S].
- [11] ZHANG K, WANG K, XU Y N, et al. Study on the preparation and drug release mechanism of hawthorn leaf total flavonoids sustained release capsules based on solid dispersion technology[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(3): 378-384.
- [12] PEPPAS N A. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers[J]. *Pharm Acta Helv*, 1985, 60(4): 110-111.
- [13] XIA F, CHEN Z J, ZHU Q G, et al. Gastrointestinal lipolysis and trans-epithelial transport of SMEDDS via oral route[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(4): 1010-1020.
- [14] KIM D S, CHO J H, PARK J H, et al. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) for improved oral delivery and photostability of methotrexate[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019(14): 4949-4960.
- [15] HAN B, GUAN Y B, TIAN Y D, et al. Preparation and evaluation *in vitro* of self-microemulsifying drug delivery system of berberine hydrochloride[J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2018, 41(10): 2398-2402.
- [16] XIE Y H, HU Y, MA Y S, et al. Preparation of metformin hydrochloride sustained-release matrix pellets[J]. *J Hebei Univ Sci Technol*(河北科技大学学报), 2013, 34(3): 224-229.
- [17] KAGAYAMA A, TANIMOTO S, FUJISAKI J, et al. Oral absorption of FK506 in rats[J]. *Pharm Res*, 1993, 10(10): 1446-1450.
- [18] PAN Y H, LIU J E, LI Z H, et al. Effects of tacrolimus on serum creatinine levels in heart transplantation recipients in postoperative early stage[J]. *Pharm Today*(今日药理学), 2021, 31(5): 388-391.
- [19] TAMURA S, OHIKE A, IBUKI R, et al. Tacrolimus is a class II low-solubility high-permeability drug: The effect of P-glycoprotein efflux on regional permeability of tacrolimus in rats[J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91(3): 719-729.

收稿日期: 2022-06-10

(本文责编: 陈怡心)