

吲达帕胺肠溶微球的制备及影响因素考察

郭海丽^{1,2}, 阎志飞^{1,3}, 丁红^{1*}, 张文静¹, 赵志娟¹, 杜艳¹ (1.山西医科大学药学院药剂学教研室, 太原 030001; 2.太原市妇幼保健院, 太原 030001; 3.山西大医院, 太原 030001)

摘要: 目的 制备吲达帕胺肠溶微球及影响因素考察。方法 以羟丙甲纤维素酞酸酯(HPMCP)为肠溶载体材料, 采用乳化溶剂扩散法制备吲达帕胺肠溶微球, 对影响微球的成型性、收率、载药量、包封率及其释药性能等因素进行了考察。结果 微球形态圆整, 架桥剂和乳化剂是其成型主要影响因素; 载药量 14.85%, 包封率 76.30%, 药物在模拟肠液中累计释放度符合要求, 载体材料用量控制药物释放速度。结论 本方法适宜制备吲达帕胺肠溶微球, 工艺简单, 体外肠溶释药性良好。

关键词: 吲达帕胺; 羟丙甲纤维素酞酸酯; 肠溶微球; 乳化溶剂扩散法

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)11-0993-05

Preparation of the Enteric Microspheres of Indapamide and Investigation of the Influencing Factors

GUO Haili^{1,2}, YAN Zhifei^{1,3}, DING Hong^{1*}, ZHANG Wenjing¹, ZHAO Zhijuan¹, DU Yan¹ (1. Department of Pharmaceutics, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Taiyuan Hospital Health Center for Women and Children, Taiyuan 030001, China; 3. Shanxi Dayi Hospital, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the enteric microspheres of indapamide and investigate the influencing factors. **METHODS** Enteric microsphere of indapamide was prepared by emulsion solvent diffusion method using hydroxypropyl methylcellulose phthalate(HPMCP) as an enteric polymer. The formulation of the microspheres, recovery, drug loading, encapsulation efficiency and the releasing characteristic of microspheres *in vitro* were investigated. **RESULTS** The microspheres were spherical and smooth in appearance, bridging agent and emulsifying agent were the main factors affecting the formation of microspheres. The drug loading and encapsulation were 14.85% and 76.30%, respectively. The cumulative release of drug in simulated intestinal fluid met the requirements and the amount of carrier material controlled the drug release rate. **CONCLUSION** This method is suitable for preparation of enteric microspheres of indapamide, the technology is simple and the release characters is good *in vitro*.

KEY WORDS: indapamide; HPMCP; enteric microspheres; emulsion solvent diffusion method

吲达帕胺(indapamide, IDP)是一种具有降压作用的吲哚衍生物, 降压作用缓和而持久, 是临床理想的抗高血压药物^[1]。IDP 主要在小肠吸收, 吸收速率常数按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序依次下降, 与循环时间呈线性关系, 吸收动力学为一级吸收^[2]。本实验依据 IDP 在小肠吸收良好的特性, 以羟丙甲纤维素酞酸酯为肠溶载体材料, 采用乳化溶剂扩散法制备 IDP 肠溶微球, 以期增加药物在小肠的释放浓度, 促进吸收, 提高口服药物的生物利用度, 并对微球的载药量、包封率及其体外释放的主要影响因素进行了考察, 为制备优良的球晶颗粒制剂奠定基础。

乳化溶剂扩散法是在液相中一步完成析出结晶和聚集成球形颗粒的新型造粒技术。该技术由于大大简化了传统制粒工艺, 操作方法与设备简单, 形成的球形颗粒可用于直接压片、包衣或装胶囊等, 且球晶颗粒片更优于药物原粉片而备受关注^[3]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱系统(美国 Agilent 公司, VWDG1314B 紫外可见检测器、G1311 A 四元泵、G1316A 柱温箱、Agilent Chemstation 色谱工作站); 扫描电子显微镜(日本 JEOL JSM35C 型);

基金项目: 山西省自然科学基金(2008011077-3); 太原市科技创新项目(110148091)

作者简介: 郭海丽, 女, 硕士生 Tel: (0351)4690137 E-mail: haili166@163.com *通信作者: 丁红, 女, 教授, 硕士 Tel: (0351)4690137 E-mail: qdh26@sohu.com

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通仪器有限责任公司); RCZ-1A 溶出度测定仪(上海黄海药检仪器有限公司); 光学显微镜(太原精密仪器厂); HJ-3 恒温磁力搅拌器(江苏医疗仪器厂)。

1.2 试药

IDP 原药(IDP, 山西亚宝制药有限公司, 批号: 100217, 规格: 98.5%); IDP 标准品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100257-200903, 纯度: 99.7%); 羟丙甲纤维素酞酸酯(HPMCP, 菱湖新望化学有限公司); 透析袋(截留分子量 10 000 Da, 索来宝公司); 甲醇为色谱纯; 无水乙醇、二氯甲烷、十二烷基硫酸钠(SDS)均为化学纯。

2 方法

2.1 IDP 肠溶微球的制备

采用乳化溶剂扩散法制备微球。称取处方量的 IDP 和 HPMCP 等载体材料, 溶解于一定量良溶剂无水乙醇与架桥剂二氯甲烷的混合溶剂中。搅拌条件下, 将该有机相滴入含有 SDS 的不良溶剂水溶液中, 形成 O/W 乳滴。随着搅拌进行, 乳滴中的良溶剂扩散到不良溶剂中, 乳滴逐渐固化形成球形粒子, 20 min 后, 补加等量的不良溶剂, 继续搅拌 40 min, 过滤、洗涤, 干燥, 得到药物微球。

2.2 微球形态与粒径分布

用扫描电子显微镜观察微球的外观与表面形态; 在光学显微镜 10 倍物镜下, 随机选取视野, 记录 500 个微球的粒径, 统计微球粒径分布情况, 绘制频率分布图。

2.3 微球载药量与包封率的测定

采用 HPLC 测定, 色谱条件: 色谱柱 Agilent C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-醋酸(45:55:0.1), 柱温: 25 ℃, 流速: 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长: 240 nm。

用流动相配制 IDP 标准系列浓度, 经 0.45 μm 滤膜过滤后, 进样量 20 μL 注入高效液相色谱仪测定, 求得回归方程为 $A=88.0457C+3.7200$, $r=0.9999$, IDP 在 8~48 μg·mL⁻¹ 内峰面积与浓度线性关系良好。

称取适量微球于 25 mL 量瓶中, 加 2 mL 丙酮, 超声溶解, 用流动相定容, 过滤, 取续滤液 2 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释定容, 摇匀, 0.45 μm 滤膜过滤后, HPLC 测定, 利用回归方程计算 IDP 含量。按下式计算微球载药量与包封率: 载药量(%)=微球中药物含量/微球的质量×100%; 包封

率(%)=微球中药物含量/投入的药量×100%

2.4 微球体外释药试验

目前中国药典 2010 年版未规定专用于微球体外释药的方法, 研究者一般自行设计, 使体外释放条件尽可能地模拟体内^[4]。本实验采用透析法测定微球的体外释药, 避免了采样过程中微球的损失, 同时阻止了高分子载体材料进入释放介质, 避免了其对药物的紫外吸收干扰。具体方法为精密称取适量微球, 置于透析袋中, 扎紧袋口, 系在转轴上。释放前 2 h, 以 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸 400 mL 为释放介质, 转速为 100 r·min⁻¹, 温度为 (37±0.5)℃ 条件下进行, 定时取样 5 mL, 同时补加等量释放介质, 取样时间点为 0.5, 1.0, 2.0 h; 然后弃去盐酸介质, 加入已预热至 37 ℃ 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液为释放介质, 继续搅拌释药 8 h, 取样时间点为更换介质后的 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 h, 按上法操作。用紫外分光光度法测定释放液中 IDP 浓度, 计算药物累计释放百分数。药物在 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸与 pH6.8 磷酸盐缓冲液中的释放能满足漏槽条件。

3 结果与讨论

3.1 微球的形态与粒径分布

扫描电子显微镜显示微球外观圆整, 表面致密光滑, 分散性良好, 表面较少裂隙和孔道, 结果见图 1。粒径在 75~250 μm 范围的微球占到 86.4%, 结果见图 2。

3.2 载体材料 HPMCP 用量对微球的影响

固定乙醇与二氯甲烷用量分别为 2.0 mL 与 1.5 mL, 不良溶剂为 30 mL 时, 加入不同比例的载体材料与药物制备微球, 考察其收率、载药量、包封率及药物在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的释放。结果见表 1 和图 3。

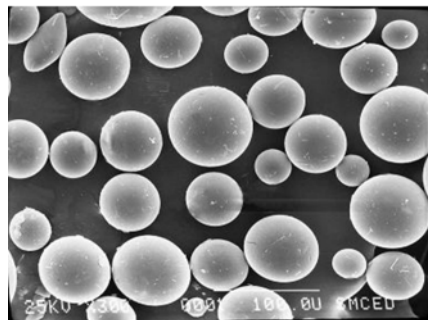


图 1 IDP-HPMCP-微球的扫描电镜图

Fig 1 The scanning electron micrograph of IDP HPMCP microspheres

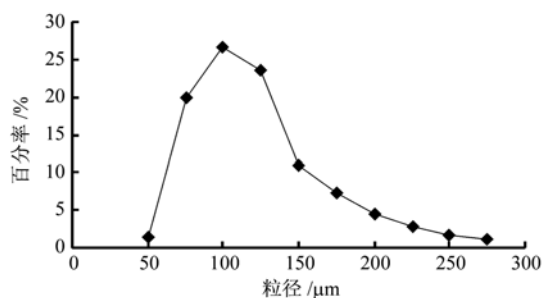


图2 IDP-HPMCP-微球的粒径分布图

Fig 2 Particle size distribution of IDP HPMCP microspheres

表1 HPMCP用量对微球载药量和包封率的影响

Tab 1 Effect of HPMCP amount on drug loading and encapsulation efficiency

IDP : HPMCP	收率/%	载药量/%	包封率/%
1 : 2.5	大量药物结晶游离, 不能完全包封		
1 : 5	90.98	12.58	73.80
1 : 7.5	76.63	9.28	60.26

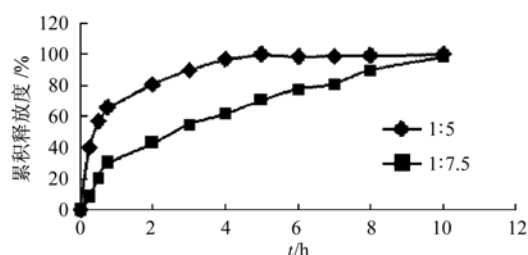


图3 HPMCP用量对微球药物释放的影响

Fig 3 Effect of HPMCP amount on the release from IDP microspheres

结果显示, 载体材料 HPMCP 的用量增大(1 : 7.5)时, 微球载药量与包封率均下降, 药物在 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液中释放明显受阻, 45 min 药物的累积释放量仅为 25%。当药物/载体材料比例为 1 : 5 时, 微球载药量与包封率较高, 药物在 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液中释放 45 min 时累积释放量达到 67.2%。减少 HPMCP 的用量(1 : 2.5), 药物不能被完全包封而结晶游离析出。

3.3 良溶剂无水乙醇用量对微球的影响

固定药物与载体材料 HPMCP 比例为 1 : 5, 其他条件不变, 加入良溶剂无水乙醇分别为 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mL 制备微球, 考察其载药量、包封率及药物在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的释放。结果见表 2 和图 4。

结果显示, 在一定范围内, 随着无水乙醇量的增大, 微球的收率、载药量与包封率减小; 当无水乙醇用量为 2.0 mL 时, 微球收率、载药量与包封率最高。

表2 无水乙醇用量对微球载药量与包封率的影响

Tab 2 Effect of ethanol on drug loading and encapsulation efficiency

乙醇/mL	收率/%	载药量/%	包封率/%
1.0	77.20	12.21	57.02
2.0	90.98	12.58	73.80
4.0	78.48	10.68	49.87
6.0	59.92	8.54	30.88

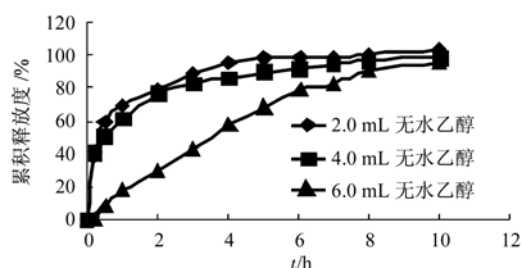


图4 无水乙醇用量对微球药物释放的影响

Fig 4 Effect of absolute ethanol amount on the release of IDP microspheres

由结果可知, 无水乙醇用量增大, 微球中药物释放减慢。这可能是由于无水乙醇用量增大后, 微球载药量下降, 使得药物释放减慢。IDP 易溶于无水乙醇, HPMCP 易溶于无水乙醇-二氯甲烷的混合有机溶剂中, 当体系中含有较多的无水乙醇时, 部分药物与载体材料随着良溶剂扩散到外相中而有所损失, 使得微球的收率、载药量与包封率均下降, 微球中药物释放量减小。

3.4 架桥剂二氯甲烷用量对微球质量的影响

选择不同的二氯甲烷用量, 固定其他条件制备微球, 考察架桥剂对微球形态、收率与载药量的影响, 结果见表 3。

表3 二氯甲烷用量对微球形态、收率与载药量的影响

Tab 3 Effect of CH₂Cl₂ on the shape, recovery and drug loading

二氯甲烷/mL	形态	收率/%	载药量/%
0.5	不规则	/	/
1.0	不规则	/	/
1.5	圆整球形	90.98	12.58
3.0	圆整球形	92.40	11.24
4.5	圆整球形, 粒径小	79.30	10.96

当良溶剂扩散至不良溶剂中, 使药物和载体材料析出时, 必须依靠架桥剂的作用使微球保持球形形态^[5]。当架桥剂二氯甲烷用量过少时, 得到不规则的沉淀团块, 不能形成微球; 二氯甲烷用量为 1.5 mL 时, 微球形态圆整, 收率与载药量均较高; 但二氯甲烷用量过多, 达 4.5 mL 时, 固化

时间延长至 2 h,且微球收率与载药量均有所下降。因此,乳化溶剂扩散法制备微球的必要条件是体系中有适量的架桥剂。

3.5 乳化剂 SDS 浓度对微球质量的影响

不良溶剂中的乳化剂对乳化溶剂扩散过程中乳滴的稳定性有很大作用。本试验选择 SDS 为乳化剂,结果显示,当体系中 SDS 浓度较低时,乳滴稳定性较差,生成少量微球并发生粘连;当 SDS 浓度达 0.08%时,成球性较好,释放收率与载药量较高。继续提高 SDS 浓度后,微球的收率与载药量均出现下降趋势。结果见表 4。

表 4 SDS 浓度对微球形态、收率与载药量的影响

Tab 4 Effect of concentration of SDS on the shape, recovery and drug loading

SDS 浓度/%	形态	收率/%	载药量/%
0.04	不规则	/	/
0.08	圆整球形	90.98	12.45
0.5	圆整球形	79.59	9.72
1.0	圆整球形,粒径小	80.06	8.13

3.6 正交设计试验

在单因素考察的基础上,进行正交设计试验,进一步对直接影响微球质量的药物/载体材料比例,乙醇用量,二氯甲烷用量,SDS 浓度 4 个因素进行了考察,每个因素取 3 个水平,见表 5,以微球的载药量、释放率和包封率为主要考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表进行试验,结果与分析见表 6 至表 9。

极差 R 表明因素对微球载药量影响程度的大小,R 值越大,影响程度越大。以微球的载药量为指标评价,对微球载药量影响最大的因素是药物/载体材料比例,其次为 SDS 浓度,二氯甲烷用量,乙醇影响最小,即 $A>D>C>B$,最佳工艺组合为 $A_1B_2C_1D_1$ 。以微球在 pH6.8 磷酸盐缓冲液中 45 min 累计释放率为评价指标,对微球释放性能影响最大的因素是药物/载体材料比例,其次为乙醇用量,二氯甲烷用量,SDS 浓度影响最小,即 $A>B>C>D$,最佳工艺组合为 $A_1B_2C_1D_2$;以微球的包封率为评

表 5 正交试验因素及其水平

Tab 5 Experiment factor and level

水平	IDP/HPMCP	乙醇/mL	二氯甲烷/mL	SDS 浓度/%
1	1:4	1.0	1.5	0.08
2	1:5	2.0	2.0	0.2
3	1:6	3.0	2.5	0.3

表 6 正交试验结果

Tab 6 Results of orthogonal experiment- drug loading and cumulative release

序号	A	B	C	D	载药量/%	释放度/%	包封率/%
1	1	1	1	1	14.78	76.81	76.50
2	1	2	2	2	13.06	76.93	63.45
3	1	3	3	3	9.07	75.48	58.26
4	2	1	2	3	8.21	74.59	53.20
5	2	2	3	1	10.70	75.06	57.36
6	2	3	1	2	11.41	75.04	58.15
7	3	1	3	2	8.51	70.29	45.50
8	3	2	1	3	9.59	70.56	55.20
9	3	3	2	1	9.97	67.28	51.45
$\bar{K}_1$	12.30	10.50	11.93	11.82			
$\bar{K}_2$	10.11	11.12	10.41	10.99			
$\bar{K}_3$	9.36	10.15	9.43	8.96			
R	2.95	0.97	2.50	2.86			
$\bar{K}_1'$	76.41	73.90	74.14	73.05			
$\bar{K}_2'$	74.90	74.18	72.93	74.09			
$\bar{K}_3'$	69.38	72.60	73.61	73.54			
R'	7.03	1.58	1.20	1.04			
$\bar{K}_1^+$	66.07	58.40	63.28	61.77			
$\bar{K}_2^+$	56.24	58.67	56.03	55.7			
$\bar{K}_3^+$	50.71	55.95	53.71	55.55			
R ⁺	15.35	2.71	9.58	6.22			

表 7 载药量指标的方差分析表

Tab 7 The results of analysis of variance-drug loading

因素	偏差平方和	自由度	平均平方	F	差异性
A	42.21	2	21.11	131.91	¹⁾
B	4.31	2	2.16	13.47	¹⁾
C	28.54	2	14.27	89.19	¹⁾
D	39.02	2	19.51	121.93	¹⁾
Error	2.88	2	0.16		

注: ¹⁾ $P<0.01$

Note: ¹⁾ $P<0.01$

表 8 释放率指标的方差分析表

Tab 8 The results of analysis of variance-cumulative release

因素	偏差平方和	自由度	平均平方	F	差异性
A	275.53	2	137.77	72.66	²⁾
B	13.91	2	6.95	3.67	¹⁾
C	6.00	2	3.00	1.58	
D	3.30	2	1.65	0.87	
Error	34.13	2	1.90		

注: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

表 9 包封率指标的方差分析表

Tab 9 The results of analysis of variance- encapsulation efficiency

因素	偏差平方和	自由度	平均平方	F	差异性
A	362.89	2	181.45	27.00	1)
B	13.44	2	6.72	1.00	
C	149.69	2	74.85	11.14	
D	75.51	2	37.76	5.62	
Error	13.44	2	0.75		

注: 1) $P < 0.05$ Note: 1) $P < 0.05$

价指标时, 对微球包封率影响最大的因素是药物/载体材料比例, 其次为二氯甲烷用量, SDS 浓度, 乙醇用量影响最小, 即 $A > C > D > B$, 最佳工艺组合为 $A_1B_2C_1D_1$ 。依照表 8 释放率指标的方差分析, 结果表明 D 因素对微球释放影响差异无统计学意义, 即 D 因素对微球药物释放影响不明显。因此综合分析确定微球的最佳制备工艺为 $A_1B_2C_1D_1$, 即药物/载体材料比例 1:4, 乙醇 2.0 mL, 二氯甲烷 1.5 mL, SDS 浓度 0.08%。

3.7 正交试验的验证

采用 $A_1B_2C_1D_1$ 工艺制备 3 批微球, 依法测定微球的载药量与释药率, 结果见表 10 和图 5。

表 10 正交试验的验证结果

Tab 10 The verification of orthogonal experiment

批次	载药量/%	包封率/%	释放度/%
1	14.85	76.30	76.20
2	14.92	77.15	73.29
3	15.24	78.74	74.56
RSD/%	1.39	1.60	1.95

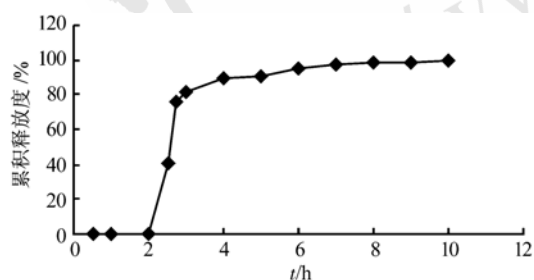


图 5 IDP 肠溶微球的体外释药曲线

Fig 5 Release profiles of IDP HPMCP microspheres *in vitro*

制得的微球在不同 pH 释放介质中的释放曲线分为 2 个部分: ①前 2 h, 微球在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸释放介质中几乎不释放药物。②当释放介质更

换为 pH 6.8 磷酸盐缓冲液后, 起初药物释放较快, 在 45 min 内累计释药量达 76.20%, 药物在小肠中可以达到较高浓度, 有利于药物在小肠的充分吸收。

4 结论

采用乳化溶剂扩散法制备 IDP 肠溶微球, 在酸性介质中药物不释放, 说明肠溶材料已将药物包裹完全, 且微球表面无药物结晶; 肠溶介质中释放良好, 有利于药物在肠道迅速达到有效浓度, 提高药物的生物利用度。

由微球的扫描电镜图可知, 微球外形圆整, 光滑, 表面无明显孔道。突释原因除了药物通过微球内部有机溶剂扩散时形成的孔道和骨架的溶解释放外, 推测药物在微球内的分布内疏外密。当良溶剂向不良溶剂扩散时, 易溶于无水乙醇的 IDP 随之外移, 但微球表面的瞬间固化, 阻止了药物向外扩散而密集, 使得微球外层载药量增大, 加之良溶剂起初扩散时速度快而形成的孔道多, 造成释药较快。随后药物缓慢释放主要依赖于骨架的溶解。试验中发现, 微球粒径越小, 突释越明显。

乳化溶剂扩散法是 20 世纪 80 年代出现的新技术, 制备工艺的功效率和稳定依赖于多种因素, 本实验采用乳化溶剂扩散法制备 IDP 肠溶微球, 架桥剂和乳化剂是影响微球成型的主要因素; 载体材料和良溶剂的用量是影响药物释放的主要因素; 微球的载药量和包封率则受综合因素的影响。

REFERENCES

- [1] YANG L H, DING L, ZHAO L H, et al. Study on pharmacokinetics of indapamide in Chinese volunteers [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2006, 41(14): 1102-1104.
- [2] CUI S M, ZHAO C S, HE Z G, et al. Studies on the absorption kinetics of indapamide in rats' stomachs and intestines [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2002, 19(3): 161-164.
- [3] YANG M S, CUI F D. Application and advance of spherical crystallization technique in pharmaceutical particale design field [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2004, 39(2): 85-89.
- [4] FU X D, GAO Y L. Test for *in vitro* release rate of microspheres and correlation of its *in vivo-in vitro* [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2003, 12(8): 608-611.
- [5] YANG M S, CUI F D, YANG H, et al. Preparation of sustained-release nitrendipine microspheres with a solid dispersed structure in liquid system [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2003, 38(8): 634-638.

收稿日期: 2011-11-01