

孟鲁司特钠咀嚼片体外溶出研究

许丽华¹, 王乐健², 吴惠芳², 孙洁胤^{2*} (1.浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2.浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

摘要: 目的 研究孟鲁司特钠咀嚼片体外溶出行为及其影响因素, 为该品种新剂型开发和仿制药一致性评价提供参考。方法 考察 pH、胆盐、表面活性剂等因素对孟鲁司特钠咀嚼片溶出的影响。结果 孟鲁司特钠在 pH 7.5 的介质中, 随着胆盐浓度的增加, 溶解度明显上升; 孟鲁司特钠咀嚼片在 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐溶液、pH 6.8 磷酸盐溶液的溶出过程中, 会迅速析出形成混悬液, 而 0.5% 十二烷基硫酸钠水溶液会抑制其析出。结论 孟鲁司特钠咀嚼片的体外溶出受 pH、胆盐、表面活性剂的影响较大, 可以为新型给药系统的开发和质量一致性评价提供参考。

关键字: 孟鲁司特钠; 体外溶出; 溶解度; 胆盐

中图分类号: R944.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)12-1498-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.12.010

引用本文: 许丽华, 王乐健, 吴惠芳, 等. 孟鲁司特钠咀嚼片体外溶出研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(12): 1498-1501.

Study on the Dissolution of Montelukast Sodium Chewable Tablets *in Vitro*

XU Lihua¹, WANG Lejian², WU Huifang², SUN Jieying^{2*} (1.Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2.Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate *in vitro* dissolution behavior and its influencing factors of montelukast sodium chewable tablets, to provide reference for the development of new dosage forms and consistency evaluation of generic drugs. **METHODS** The effects of pH, bile salts, surfactants and other factors on the dissolution of sodium chewable tablets were investigated. **RESULTS** In the medium with pH 7.5, the solubility of montelukast sodium increased significantly with the increase of bile salt concentration. The dissolution of montelukast sodium chewable tablets in pH 1.0 hydrochloric acid solution, pH 4.0 acetate solution and pH 6.8 phosphate solution rapidly precipitated to form a suspension, while 0.5% SDS aqueous solution inhibited its precipitation. **CONCLUSION** The dissolution of montelukast sodium chewable tablets is greatly affected by pH, bile salts and surfactant. It will be the reference and experience of formulation and quality consistency evaluation for generic drugs in future.

KEYWORDS: montelukast sodium; *in vitro* dissolution; solubility; bile salt

孟鲁司特钠是一种强效选择性 Cys-LT1 受体拮抗剂, 临床上用于治疗成人及 6 个月以上儿童支气管哮喘和过敏性鼻炎等^[1-2], 是一线哮喘治疗用药。其制剂最早于 1998 年由默克公司研制并获准在美国上市。目前使用的口服剂型包括普通片、口崩片、咀嚼片及颗粒剂。

孟鲁司特钠属于 BCS II 类药物, 其咀嚼片体内生物利用度为 58%~66%^[3], 溶出可能是影响其体内吸收的重要因素。本实验对孟鲁司特钠咀嚼片(顺尔宁®)的体外溶出进行研究, 考察其在不同介质中的溶出行为, 考察 pH、胆盐、表面活性剂等因素对溶出的影响, 为今后孟鲁司特钠新剂型的开发和仿制药一致性评价提供参考依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公

司); AT7 智能溶出试验仪(瑞士 Sotax 公司); pH 酸度计(METTLER TOLEDO); ZKT-18F 真空脱气仪(天津市天大天发科技有限公司); RV8, HB10 旋转蒸发仪(德国 IKA 集团); XS105 型电子分析天平(METTLER TOLEDO)。

乙腈(色谱纯, TEDIA); 盐酸、氢氧化钠、二水合氯化钙、氯化钠均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 三水乙酸钠(分析纯)、磷酸二氢钾(分析纯)、卵磷脂(PC, 80%)均购自阿拉丁; 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS, 分析纯, 成都艾科达化学试剂有限公司); 牛黄脱氧胆酸钠(NaTDC, 纯度: 97%)、三羟甲氨烷-马来酸(Trizma mealate, 纯度: 99.5%)均购自 Sigma 公司; 孟鲁司特钠原料(Morepen Laboratories Ltd./印度, 批号: MKTB4005); 孟鲁司特钠对照品

作者简介: 许丽华, 女, 硕士生 Tel: (0571)88215628 E-mail: 978456203@qq.com
(0574)88223719 E-mail: sunjieyin@163.com

*通信作者: 孙洁胤, 女, 博士, 副教授 Tel:

(EDQM, 仅供实验室化学分析用, 批号: 1429); 孟鲁司特钠咀嚼片(顺尔宁 4 mg, 杭州默沙东制药有限公司, 批号: R013437, 市售品)。

2 方法

2.1 孟鲁司特钠 HPLC 测定方法

2.1.1 色谱条件 Zorbax Eclipse XDB-Phenyl 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm); 流动相: 0.2%三氟乙酸水溶液-0.2%三氟乙酸乙腈溶液(1:1); 流速: 0.9 mL·min⁻¹; 柱温: 50 °C; 进样量: 10 μL; 检测波长: 389 nm。避光操作。

2.1.2 线性范围考察 取孟鲁司特钠对照品, 用甲醇-水(3:1)混合液溶解并稀释, 制成含孟鲁司特 250 μg·mL⁻¹ 的溶液。取上述溶液, 用流动相定量稀释, 制成含孟鲁司特浓度为 0.035, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 75 μg·mL⁻¹ 的溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。以孟鲁司特浓度(C)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标, 绘制标准曲线。

2.1.3 对照品溶液的制备 取“2.1.2”项下孟鲁司特 50 μg·mL⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.4 仪器精密度试验 取孟鲁司特对照品溶液 6 份, HPLC 测定峰面积, 考察仪器精密度。

2.1.5 回收率试验 取孟鲁司特钠咀嚼片, 测定平均片重和药物含量。取 9 片, 分别加入 0.5% SDS 水溶液 900 mL, 振摇使药物溶解。分别精密加入孟鲁司特对照品 1, 2, 4 mg(每个浓度 3 份), 摇匀, 离心取上清液, 测定药物浓度, 计算回收率。

2.1.6 溶液稳定性 取对照品溶液, 于室温避光条件下放置 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h, HPLC 分别测定峰面积, 计算 RSD。

2.2 胆盐对孟鲁司特钠溶解度的影响

2.2.1 不同浓度胆盐-磷脂混合消化液的制备 制备含 Trizma maleate(50 mmol·L⁻¹), NaCl(150 mmol·L⁻¹), CaCl₂(5 mmol·L⁻¹)的水溶液, 用 0.2 mol·L⁻¹ 的 NaOH 调节 pH 至 7.5, 作为消化液。在圆底烧瓶中用氯仿溶解 PC, 旋转蒸发除去氯仿。加入 NaTDC 和消化液 10mL, 搅拌 12 h, 制成含有 PC(5 mmol·L⁻¹) 和 NaTDC(0, 0.5, 1, 2.5, 5 mmol·L⁻¹)的胆盐-磷脂混合消化液。

2.2.2 不同浓度胆盐对孟鲁司特钠溶解度的影响 取孟鲁司特钠咀嚼片, 研细, 取细粉适量(相当于孟鲁司特 4 mg), 加入胆盐-磷脂混合消化液, 调

节 pH 至 7.5, 37 °C 搅拌 2 h, 离心 30 min (33 000 ×g, 37 °C), 取上清液和沉淀分别测定药物含量。用流动相稀释上清液至适宜浓度, HPLC 测定峰面积计算药物含量。沉淀用甲醇-水(3:1)混合液提取, 测定药物含量。

2.3 不同介质中溶出行为的研究

2.3.1 不同介质中溶出曲线研究 按中国药典 2015 年版第二法(浆法)进行考察。分别以 900 mL pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液(50 mmol·L⁻¹)、pH 6.8 磷酸盐(50 mmol·L⁻¹)缓冲液、水、0.5%SDS 水溶液为溶出介质, 转速为 50 r·min⁻¹, 温度为 37.0 °C, 于 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min 取样 5 mL, 作为供试品溶液, 同时补充 5 mL 溶出介质。

2.3.2 供试品溶液中溶解部分浓度测定 取供试品溶液 1 mL, 离心(16 000 r·min⁻¹, 5 min), 吸取上清液 0.5 mL, 加入 0.2 mol·L⁻¹ NaOH 溶液 0.5 mL, 充分混匀, HPLC 测定药物含量, 即为溶解态孟鲁司特的含量。计算累积溶出量, 绘制溶出曲线。

2.3.3 供试品溶液中混悬液总浓度 取 4 mL 供试品溶液加入等量 0.2 mol·L⁻¹ NaOH 溶液, 充分混合, 离心(16 000 r·min⁻¹, 5 min), 取上清液, HPLC 测定药物含量, 即为混悬态孟鲁司特的含量。计算累积溶出量, 绘制溶出曲线。

3 结果

3.1 含量测定方法学结果

结果表明, 孟鲁司特钠浓度在 0.035~75 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好, 回归方程为 $A=47.25C+1.44(r=0.9999)$; 检测限为 35 ng·mL⁻¹, 定量限为 100 ng·mL⁻¹; 仪器精密度良好, RSD 为 0.22%; 低、中、高浓度的平均回收率分别为(99.13±1.17)%、(98.90±0.98)%、(98.36±0.35)%; 对照品溶液在室温避光条件下 24 h 内稳定, 其 RSD 为 0.28%。

3.2 胆盐对孟鲁司特钠溶解度的影响

在 pH 7.5 消化液中, 随着胆盐浓度的增加, 孟鲁司特钠在水相中的溶解度呈上升趋势。与不含胆盐相比, 胆盐浓度为 1 mol·L⁻¹ 时, 水相中溶解度增加约 10 倍(从 0.02 mg·mL⁻¹ 上升为 0.2 mg·mL⁻¹); 胆盐浓度为 5 mol·L⁻¹ 时, 则增加约 20 倍(从 0.02 mg·mL⁻¹ 上升为 0.42 mg·mL⁻¹)。结果见图 1。

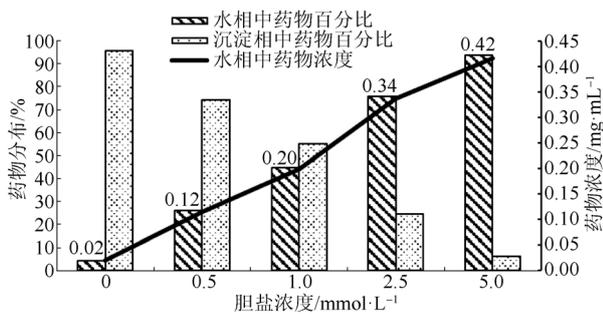


图 1 不同浓度胆盐-磷脂混合消化液中孟鲁司特钠在水相和沉淀相中的分布及水相中药物浓度

Fig. 1 Distribution and concentration of montelukast sodium in aqueous and precipitated phases in different concentrations of bile salt

3.3 孟鲁司特钠咀嚼片的体外溶出行为

在 pH 1.0 盐酸溶液中，混悬液中药物量约为 60%，以溶解状态溶出的药物约为 50%。在 pH 4.0 和 pH 6.8 缓冲盐溶液中，药物以混悬态溶出约 60%，而溶解状态的药物溶出量 ≤ 5%。以水为溶出介质时，混悬态药物溶出量约为 70%，溶解的药物约为 14%。在 0.5% SDS 介质中，溶解状态的药物溶出量可达 98%。以上结果表明孟鲁司特钠溶出过程中，在没有表面活性剂的存在条件下，溶解状态的药物较少，药物多以混悬状态均匀分布于溶出液中。溶出曲线见图 2。

对 pH 1.0 溶出介质中的供试液离心所得沉淀进行分析，沉淀为黄色，与孟鲁司特酸颜色一致。加入 0.2 mol·L⁻¹ NaOH 后，沉淀复溶，溶液呈无色透明。表明混悬态药物为孟鲁司特酸。

4 讨论

4.1 孟鲁司特钠咀嚼片在不同介质中体外溶出行为的探讨

孟鲁司特钠的 pKa 为 2.7 和 5.8^[4]，因此在碱性条件下溶解度较好。孟鲁司特钠在 pH 为 1, 4, 7, 9 时溶解度分别为 0.036, 0.020, 0.005, 3.92 mg·mL⁻¹。结果显示，孟鲁司特钠在酸性介质中溶解后，其钠盐易转变为溶解度更低的孟鲁司特酸，从而以固体形式析出形成混悬液。

为考察溶出液中溶解的孟鲁司特钠及析出的孟鲁司特酸的含量，本研究采用 2 种方法测定溶出样品中的药物含量。将样品离心后取上清液，可测得溶解的药物浓度；另一部分样品溶液通过 NaOH 溶液碱化后，重新溶解析出孟鲁司特酸，测得混悬液中的药物总含量。本研究中，曾尝试采用常规的滤膜过滤方式处理样品溶液，测得的浓度远远低于离心方式，且滤膜阻力迅速增加，其原因可能为药物析出。

在 pH 4.0 和 pH 6.8 缓冲盐溶液中，采用 2 种方法测得的溶出曲线差异较大，推测其原因可能为孟鲁司特在 pKa 附近溶解度较低。以水为溶出介质时，溶解状态的孟鲁司特溶出量高于 pH 6.8 缓冲盐，推测离子强度可能会影响药物的溶出。与水作为溶出介质相比，孟鲁司特在 0.5% SDS 介质中，溶解状态的药物溶出量可达 98%，表明表面活性剂对孟鲁司特有增溶作用，且能抑制药物析出。

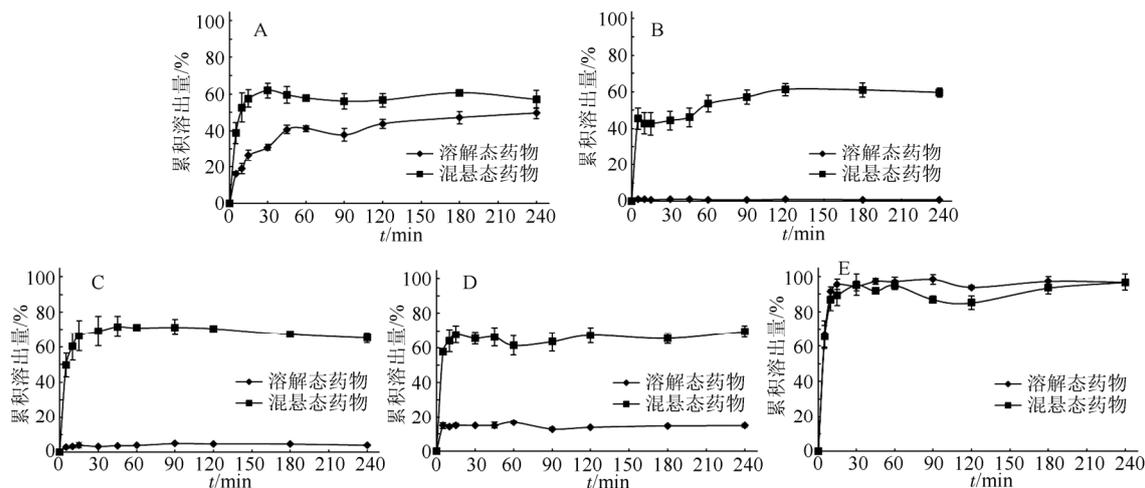


图 2 孟鲁司特钠咀嚼片在 5 种溶出介质中的溶出曲线图(n=6)

A-pH 1.0 盐酸溶液；B-pH 4.0 醋酸盐缓冲溶液；C-pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液；D-水；E-0.5% SDS 水溶液。

Fig. 2 Dissolution profiles of montelukast sodium chewable tablets in different mediums(n=6)

A-pH 1.0 hydrochloric acid solution; B-pH 4.0 acetate buffer solution; C-pH 6.8 phosphate buffer solution; D-water; E-0.5% SDS aqueous solution.

4.2 胆盐浓度对孟鲁司特钠溶解度的影响

在 pH 7.5 消化液中, 随着胆盐浓度的增加, 孟鲁司特钠在该介质中的溶解度呈上升趋势。这可能是由于胆盐和 PC 形成了混合胶束, 对脂溶性的孟鲁司特钠 ($\log P=8.79$)^[3] 具有较强的增溶能力。推测人体内胆盐浓度可能是影响孟鲁司特钠体内吸收的重要因素。据文献报道^[5], 人体消化道内的胆盐浓度约为 0.03%~0.3%, 可能会导致孟鲁司特钠的生物利用度个体差异较大。

4.3 孟鲁司特钠咀嚼片体外溶出对方剂设计的参考意义

孟鲁司特钠原料在 pH 为 1.0, 4.0 和 6.8 介质中的溶解度均较低, 但其咀嚼片在上述 3 种介质中的溶出研究中, 5 min 时混悬液中药物含量 >45%, 说明其钠盐溶出较快, 但在酸性条件下会以孟鲁司特酸形式迅速析出。根据对原研药品进行调研可知, 其处方组成包括^[6]: 甘露醇、微晶纤维素、羟丙纤维素、交联羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁、氧化铁、阿司帕坦和香精。其中羟丙纤维素对于难溶性药物具有较好的改善润湿及增溶作用^[7]。这对今后孟鲁司特钠口服制剂一致性评价具有一定的参考意义。因此针对该药物, 在进行剂型、处方和工艺设计时, 应该考虑一定的手段, 如增溶、抑晶等以促进药物溶出, 并能稳定地维持其溶解状态, 以提高生物利用度。

综上, 孟鲁司特钠咀嚼片的体外溶出受 pH、胆盐、表面活性剂的影响较大, 可为其剂型开发和质量一致性评价提供参考。

REFERENCES

- [1] JONES T R, LABELLE M, BELLEY M, et al. Pharmacology of montelukast sodium (Singulair™), a potent and selective leukotriene D₄ receptor antagonist [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 1995, 73(2): 191-201.
- [2] ZHOU B, HOU L, CHEN J, et al. Effect of azithromycin combined with montelukast sodium on immune function and lung function in children with mycoplasma pneumonia [J]. *Her Med(医药导报)*, 2018, 37(9): 1071-1075.
- [3] CHENG H, LEFF J A, AMIN R, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, and safety of montelukast sodium(MK-0476) in healthy males and females [J]. *Pharm Res*, 1996, 13(3): 445-448.
- [4] OKUMU A, DIMASO M, LÖBENBERG R. Dynamic dissolution testing to establish *in vitro/in vivo* correlations for montelukast sodium, a poorly soluble drug [J]. *Pharm Res*, 2008, 25(12): 2778-2785.
- [5] WANG Y H, GAO J, FENG Y, et al. Study on acid and bile salt tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* [J]. *Food Sci (食品科学)*, 2008, 29(12): 449-451.
- [6] 日本医院药剂师协会. IF 使用指南概要 87449[M]. 第 33 版: 2015.
- [7] TALUKDER R, REED C, DÜRIG T, et al. Dissolution and solid-state characterization of poorly water-soluble drugs in the presence of a hydrophilic carrier [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(4): 1227-1233.

收稿日期: 2018-12-01

(本文责编: 沈倩)