

琥珀酸美托洛尔缓释微丸的制备及大鼠体内药代动力学

汪宇星¹, 孙敏捷¹, 平其能^{1*}, 张 灿^{2**}

(中国药科大学¹药剂学教研室; ²新药研究中心, 南京 210009)

摘 要 采用空白丸芯上药制备含药丸芯, 以乙基纤维素为缓释材料, 采用流化床包衣法制备了琥珀酸美托洛尔缓释微丸。以美国药典为标准对比, 分析了自制品和市售品在 pH 6.8 PBS、0.1 mol/L 盐酸 (pH 1.0) 和水 3 种介质中的释放曲线, 计算出相似因子 (f_2), 并进一步对比分析了自制品和市售品在大鼠体内药代动力学行为差异。结果显示, 采用 60~88 目空白丸芯, 上药增重为 100%, 缓释层增重为 22.7%~25.46% 的缓释微丸与市售品在 3 种介质中的释放曲线的 f_2 均大于 50, 相似性良好, 同时方差分析显示两种制剂在大鼠体内的主要药代动力学参数没有显著性差异。

关键词 琥珀酸美托洛尔; 缓释; 微丸; 药代动力学

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2013)04-0334-05

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20130409

Preparation of metoprolol succinate sustained-release pellets and its pharmacokinetics in rats

WANG Yuxing¹, SUN Mingjie¹, PING Qineng^{1*}, ZHANG Can^{2**}

¹Department of Pharmaceutics; ²Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The sustained-release pellets of metoprolol succinate which comprise a drug-layered sugar core and a ethyl cellulose layer were prepared by a fluid bed dryer. The release of the domestic products and the commercial ones were tested in pH 6.8 PBS, 0.1 mol/L HCl and water based on the USP standard. And f_2 value was calculated. *In vivo* pharmacokinetic parameters of self and domestic products were also compared. The results showed that the formula could reach the USP standard and the optimal ratio of sugar core (200-300 μm in diameter), drug layer and EC layer based on the sugar core weight was 100:100:45.4-50.92. The f_2 value of the release curves in pH 6.8 PBS, water and 0.1 mol/L HCl was 79.34, 65.04, 54.43, respectively. Analysis of variance indicated no significant deviation between the two products.

Key words metoprolol succinate; sustained-release; pellets; pharmacokinetics

琥珀酸美托洛尔 (metoprolol succinate, MS) 是种选择性 β_1 -肾上腺受体拮抗剂, 有较弱的膜稳定作用, 无内在拟交感活性^[1], 临床上广泛应用于高血压、心绞痛、心肌梗死的治疗^[2], 在整个胃肠道有广泛的吸收, 目前国内外市场有注射剂、普通片和缓释片。Marucci 等^[3]报道了一种 MS 的乙基纤维素和羟丙基纤维素 (EC/HPC) 混合物包衣微丸, 达到一定的缓释效果; Kranz 等^[4]报道了使用 Aquacoat[®] ECD 30 (乙基纤维素水分散体) 和 Kollicoat[®] MAE 30DP (甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物水分散体) 的

混合聚合物进行 MS 微丸包衣, 获得了接近零级的释放; Cuppok 等^[5]报道了使用 Kollicoat[®] SR 30D (聚醋酸乙烯酯) 和 Eudragit[®] NE 30D (丙烯酸乙酯和甲基丙烯酸甲酯) 的混合物进行 MS 微丸包衣老化, 可以达到将近 24 h 的缓释效果。MS 缓释微丸提供了一个恒速释放, 24 h 内血药浓度均衡一致, 药效更加理想, 从而带来了更好的临床疗效。

本研究采用空白丸芯上药, 然后使用乙基纤维素水分散体进行包衣的方法制备 MS 一天一次缓释微丸, 避免了有机溶剂的使用, 制备过程安全, 且

不需考虑溶剂残留问题;通过调节不同的乙基纤维素增重调控药物的释放,过程简单。研究中考察了上药液中黏合剂的用量、MS 上药增重、空白丸芯大小以及乙基纤维素增重等因素对释放的影响,以市售琥珀酸美托洛尔缓释片作为参比制剂,比较自制品和市售品在 pH 6.8 PBS、pH 1.0 盐酸和水中的释放,计算相似因子 f_2 ,并且比较了两种制剂在大鼠体内的释药行为。

1 材料

1.1 药品与试剂

琥珀酸美托洛尔缓释片(每片含琥珀酸美托洛尔 95 mg,阿斯利康制药有限公司,批号 N15683);琥珀酸美托洛尔原料药(纯度 99.1%,批号:1014-1009002,浙江普洛家园医药有限公司);羟丙甲纤维素(商品名:美多秀 E5,批号 PD357580)、乙基纤维素(商品名:苏丽丝, E7-19010 Clear,批号 IN521865)(上海卡乐康包衣技术有限公司);空白糖丸(50~60 目,60~80 目,常州法码赛克药用辅料有限公司,批号: C20100716);甲醇(色谱纯,上海凌峰化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,山东禹王制药公司);其余试剂均为市售分析纯;纯净水(自制)。

1.2 仪器

JHQ-100 型流化沸腾颗粒包衣机(沈阳医联新药研究所);BT 100-2J 蠕动泵驱动器(保定兰格恒流泵有限公司);紫外分析仪 UV-9600(北京瑞利分析仪器公司);ZRS-8 型智能溶出试验仪(天大天发科技有限公司);S10-3 恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);LC-2010HT 液相色谱系统(日本岛津公司)。

1.3 动物

健康雄性大鼠,体重 180~200 g,购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,合格证号: SCXK(浙)20080033。

2 方法和结果

2.1 MS 含量分析方法的建立

2.1.1 标准曲线的制备 精密称定 MS 适量,用 pH 6.8 PBS 制备成储备液。精密量取储备液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7, 2.0, 2.4 mL, 分别置 10 mL 的量瓶中,用 pH 6.8 PBS 稀释至刻度,摇匀,在 274 nm 波

长处测定吸收度。以 MS 的吸收度(A)为纵坐标,质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,回归方程为 $A = 0.0045c - 0.0005$, R^2 为 0.9992,结果表明在 25.4~203.2 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内线型良好。

2.1.2 回收率及精密度 按处方量 120%、100%、80%精密称取 MS 对照品,分别加入处方辅料,用 pH 6.8 PBS 配制成低、中、高 3 种浓度的溶液,超声,过 0.45 μm 微孔滤膜,在 274 nm 波长处测定吸收度,每个浓度平行 3 份,平均回收率分别为 $(100.44 \pm 0.51)\%$, $(99.50 \pm 0.57)\%$, $(99.43 \pm 0.34)\%$,辅料对 MS 测定无影响,日内精密密度 RSD 小于 1.48%,日间精密密度小于 1.41%,精密度良好。

2.2 微丸中 MS 含量测定

取微丸研细,精密称取适量(相当于 MS 95 mg),置 100 mL 量瓶中,加 pH 6.8 PBS 适量,超声 15 min,放置至室温,定容至刻度,摇匀。过滤,精密量取滤液 2 mL,置 10 mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,于波长 274 nm 处测定吸收度,计算药物含量。

2.3 微丸释放度测定

按《中华人民共和国药典》(2010 年版二部附录)溶出测定法第二法装置,称取适量微丸(含 MS 95 mg),以 pH 6.8 PBS 为溶出介质,转速 50 r/min,介质温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。在 1, 2, 4, 6, 8, 20 h, 取样 10 mL,并即时补加同温度的介质 10 mL,样品过 0.45 μm 微孔滤膜,于波长 274 nm 处测定吸收度,计算累积释放度。为考察不同介质对释放的影响,分别在水中和 pH 1.0 盐酸中进行实验。根据 USP 规定的缓释制剂 1 h 释放量不超过 25%, 4 h 释放量为 20%~40%, 8 h 释放量为 40%~60%, 20 h 释放量不少于 80% 的要求进行处方的筛选。

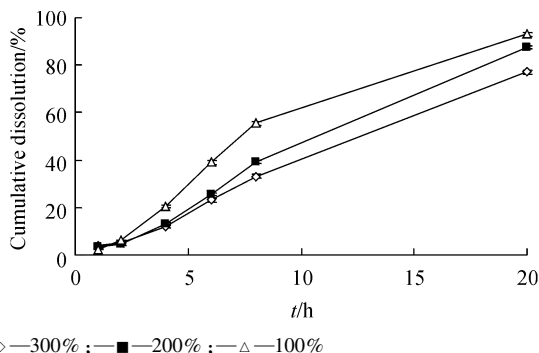


Figure 1 Release profiles of metoprolol succinate (MS) sustained-release pellets with different drug amount ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.4 处方筛选

2.4.1 上药液中黏合剂用量的选择 分别配制2%、3%、4% 3种质量分数的HPMC E5(羟丙甲纤维素)水溶液40 mL,分别加入MS 12.00 g,磁力搅拌15 min分散,过80目筛,制备成上药液。称取50~60目的空白丸芯4 g,置流化床底喷包衣锅中,设置进风温度为34~35℃,雾化压力为0.05~0.1 mPa,喷液速率为1.5~5.5 r/min(软管内径2 mm,根据流化状态随时调整流速)。在蔗糖丸心处于流化状态下,将含药包衣液以底喷的方式喷雾于空白丸心表面,观察包衣过程,上药结束,得到载药小丸,40℃烘箱干燥2 h,称重,上药率(%)=(微丸总质量-空白丸芯质量-黏合剂质量)/投药量×100。

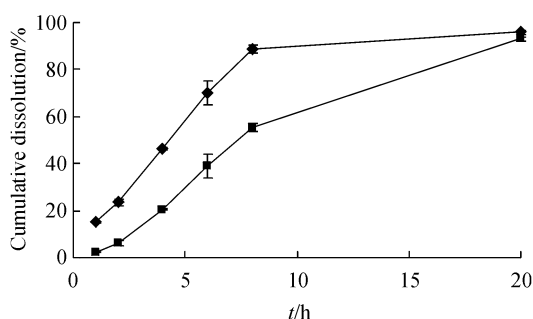
2%、3%、4% 3种浓度E5水溶液制备的包衣液的上药率分别为18.25%、48.13%、34.50%。在上药的过程中,相同的雾化压力以及喷液速度下,4% E5配制的上药液上药的过程中出现了微丸黏连以及堵喷嘴的现象;其余两种处方未观察到,包衣状况良好。E5浓度3%较2%上药率高,故选择E5浓度3%作为黏合剂。

但是3种处方的上药率都较低(均小于50%),可能是因为投入的空白丸芯太少,空白丸芯和包衣液的接触面积较小导致,后加大了空白丸芯的投量至15 g,上药率明显提高,至83.14%。故选择3% E5溶液,药物、E5质量比为10:1,作为上药液。

2.4.2 空白丸芯大小及上药增重的选择 称取50~60目空白微丸,分别上药增重至100%、200%、300%(基于空白糖丸),并且分别筛出粒径范围在30~35目、25~30目、20~25目的目标微丸,进一步包乙基纤维素缓释层至增重15%,按照USP标准,进行pH 6.8 PBS中释放度的研究。结果见图1,由图可见相同的空白丸芯大小和乙基纤维素增重下,药物层增重越大,缓释微丸的释放越缓慢。可能是因为药物增重越大,导致含药微丸的粒径越大,而比表面积较小,在同样的乙基纤维素增重下,比表面积小的微丸表现出释放速率比较缓慢。根据USP对释放的要求,药物层增重100%的微丸符合标准,而另外两种处方释放过于缓慢。

称取60~80目的空白微丸,上药增重100%

(基于空白糖丸丸芯),筛选出粒径分布范围在40~60目的目标微丸,续包乙基纤维素缓释层至增重15%,和50~60目相同操作的丸芯进行释放度的比较。结果见图2,图2显示相同的乙基纤维素和药物增重下,空白丸芯目数越大,缓释微丸的释放越缓慢。同理,相同的药物增重下,空白丸芯越小,导致含药丸芯体积越小,比表面积增大,相同的乙基纤维素增重下,比表面积大的微丸相较于比表面积小的表现出较快的药物释放特性。

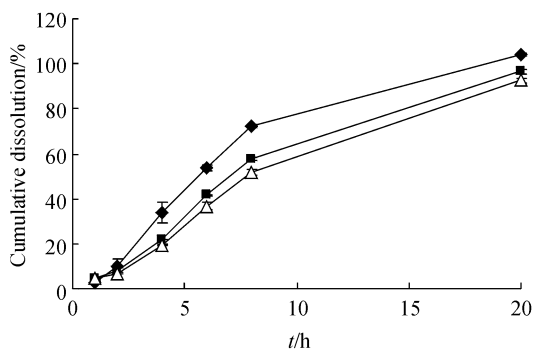


—◆— 60-80 mesh; —■— 50-60 mesh

Figure 2 Release profiles of MS sustained-release pellets with different sugar cores ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.4.3 乙基纤维素增重的影响

2.4.3.1 50~60目丸芯制备的缓释处方 将50~60目的空白丸芯上MS 100%增重,筛选出粒径分布在25~30目的微丸,使用乙基纤维素包缓释衣膜,分别包至乙基纤维素增重12.15%、14.09%、15.76%(基于含药丸芯),在pH 6.8 PBS中测试其释放,结果见图3。



—◆—12.15%; —■—14.09%; —△—15.76%

Figure 3 Release profiles of MS sustained-release pellets with 50-60 mesh sugar cores at different ratios of EC layer ($\bar{x} \pm s, n=3$)

根据美国药典规定的缓释制剂1 h释放量不超过25%,4 h释放量为20%~40%,8 h释放量为40%~60%,20 h释放量不少于80%。由图可见,

3 种处方 1 h 和 20 h 的释放百分率均符合美国药典标准;12.15%、14.09%、15.76% 3 种增重 4 h 的释放分别为 33.67%、21.83%、19.42%;8 h 的释放分别为 72.21%、57.81%、51.68%,可见只有 14.09% 增重的处方,4 个时间点的释放百分率都符合美国药典标准,3 种处方的乙基纤维素增重相差在 2% 以内,但是释放曲线差别明显,可以看出较小的乙基纤维素增重的变化可能会带来处方较大的变动,甚至导致释放不符合美国药典,流化床包衣不可能将缓释层的增重精确的控制 在 14.09%,所以该处方不稳健。故进一步考察更小的丸芯。

2.4.3.2 60~80 目丸芯制备的缓释处方 将 60~80 目的空白丸芯上药 100% 增重,筛选出粒径分布在 40~60 目的微丸使用乙基纤维素包缓释衣膜,分别包至增重 22.7%、24.1%、25.46% (基于空白糖丸丸芯),在 pH 6.8 PBS 中测试其释放,结果见图 4。

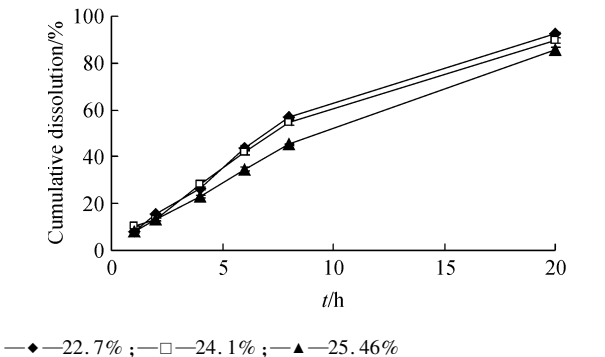


Figure 4 Release profiles of MS sustained-release pellets with 60-80 mesh sugar cores at different ratios of EC layer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 种处方 1 h 和 20 h 的释放均符合标准;12.15%、14.09%、15.76% 增重 4 h 的释放分别在 26.49%、28.05%、23.18%;8 h 的释放分别在 56.95%、54.48%、45.17%,3 种处方均合格。可见在 22.7%~25.46% 乙基纤维素增重 的情况下,处方均合格,流化床包衣可以将包衣层的增重控制在此范围内,本处方稳健,可调性良好。故进一步考察本处方与市售品在不同介质中的释放度差异。

2.5 自制品和市售品对比

称取自制微丸 (含 MS 95 mg),在 pH 6.8 PBS、水、pH 1.0 盐酸中进行释放度实验,以市售制剂作为参比,计算相似因子 f_2 。

在 pH 6.8 PBS、水和 pH 1.0 盐酸中 f_2 分别为 79.34、65.04、54.43,均大于 50,可以视为自制和市售制剂相似性良好。

2.6 大鼠药代动力学考察^[6]

2.6.1 液相条件 色谱柱: C_{18} 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相:水-甲醇-乙腈-磷酸 (60:25:15:0.05);检测波长:224 nm;流速:1 mL/min;进样量:20 μ L;柱温:室温。

2.6.2 血浆预处理 精密取血浆 100 μ L,加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 50 μ L,涡旋 30 s;加入乙醚-二氯甲烷 (3:2) 混合液 300 μ L,涡旋 2 min,离心 (3 000 r/min) 10 min。取上清液,压缩空气挥干溶剂,精密加入流动相 200 μ L 复溶,进样测定。回归方程: $y = 37.458x - 3\,963.9$, $R^2 = 0.997$,说明在 107.5~3 225 ng/mL 质量浓度范围内线型良好。

2.6.3 药代动力学试验 清洁级雄性大鼠 16 只,体重 180~200 g,普通饲料喂养 1 周。禁食 12 h 后随机分为 2 组,每组 8 只。分别灌服市售或者自制缓释片 1 片 (95 mg),在给药后 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、24 h 眼眶取血 200 μ L,置 1% 肝素泡过的离心管中,离心 (4 000 r/min) 10 min,取血浆,预处理后,进样。

大鼠体内血药浓度-时间曲线如图 5 所示,用 Kinetica 4.4 程序拟合结果表明,市售品和自制品均符合单室模型特征。药代动力学参数见表 1。计算得自制品相对于市售品的相对生物利用度为 104.1%。使用 SPSS 对 K_a 、 c_{max} 、 t_{max} 、AUC、MRT 进行方差分析, $P > 0.05$ 说明以上参数没有显著性差异,市售品和自制品相关性良好。

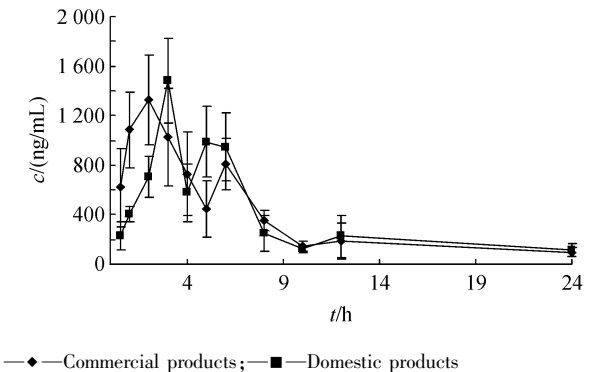


Figure 5 Time-concentration curves of MS in rats following oral administration ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Pharmacokinetics parameters of commercial and domestic products

Parameter	Commercial	Domestic products	P
t_{\max}/h	2.35 ± 0.94	2.86 ± 0.42	0.189
$c_{\max}/(ng/mL)$	1 332.86 ± 635.33	1 095.37 ± 445.64	0.401
$AUC_{0-\infty}/(ng\cdot h/mL)$	7 224.33 ± 1 590.23	7 870.62 ± 2 018.43	0.506
MRT/h	5.22 ± 1.78	6.92 ± 2.00	0.095
Ka/h	0.492 ± 0.174	0.633 ± 0.29	0.258
$V/F/(mg\cdot mL)/ng$	0.042 0 ± 0.022 5	0.046 0 ± 0.039 8	-
$CL/F/(mg\cdot mL)/(ng\cdot h)$	0.015 3 ± 0.004 3	0.015 0 ± 0.004 1	-

3 讨 论

膜控包衣片存在突释的隐患,而微丸显著改善了包衣膜破裂带来的突释问题。自制品采用不被蛋白酶水解的乙基纤维素多聚体外膜包裹,来准确控制药物的释放速度。服用后体液经外膜渗入微丸内溶解活性药物琥珀酸美托洛尔形成饱和溶液,并以恒速持续不断向外释放,供机体吸收利用。这一释放吸收过程持续 20 h,只要微丸内存在未被溶解的药物,溶液即一直维持饱和,释放速度也保持恒定。

本研究考察了不同大小的空白丸芯和不同的上药增重对体外释放的影响,结果表明 50 ~ 60 目空白丸芯,MS 上药增重 100%、200%、300% 的含药丸芯虽然比较有利于包衣过程(微丸黏连较少),但是较小的比表面积会导致乙基纤维素的增重比较小,从而会带来处方可调性差,处方不稳定,释放不符合标准等问题。60 ~ 80 目空白丸芯上药增重 100% 的 MS 丸芯包完乙基纤维素衣膜后,乙基纤维素增重在 22.7% ~ 25.46% 的范围内均符合 USP 标准,当包衣增重在 22.7% 时,与市售品在 pH 6.8 PBS、水、pH 1.0 盐酸 3 种介质中的释放曲线的比较, f_2 分别为 79.34、65.04、54.43,均大于 50,相似性良好。因此判断,60 ~ 80 目上药增重 100% 的 MS 丸芯比较适合 MS 缓释微丸的制备,且可调性

良好。市售品与自制品进行了在大鼠体内的药代动力学研究,灌胃给药后,在一定的时间点眼眶取血,HPLC 测定血药浓度,使用 Kinetica 4.4 进行药代动力学参数的计算,并且进行方差分析,结果显示二者的参数之间没有显著差异,两种制剂在体内相似性良好。

综上所述,本研究采用 60 ~ 80 目空白丸芯上药,上药增重 100%,然后使用乙基纤维素包衣的方法进行缓释微丸的制备,避免了有机溶剂的使用,实验过程安全,且不需考虑溶剂残留问题;可以通过调节不同的乙基纤维素增重调控药物的释放速度,过程简单。自制品与市售品进行了体外释放度的考察,以及体内药代动力学的考察,结果显示自制品与市售品体内外相似性良好

参 考 文 献

[1] Chen XQ, Jin YY, Tang G. *New pharmacology* (新编药理学) [M]. 17th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011;356.

[2] Zhao WG, Cui J. The effects of β -blocker of metoprolol succinate on chronic heart failure[J]. *China Pract Med* (中国实用医药), 2009,4(27):58-59.

[3] Marucci M, Ragnarsson G, Corswant C, et al. Polymer leaching from film coating: effects on the coating transport properties[J]. *Int J Pharm*, 2011,411(1/2):43-48.

[4] Kranz H, Gutsche S. Evaluation of the drug release patterns and long term stability of aqueous and organic coated pellets by using blends of enteric and gastrointestinal insoluble polymers[J]. *Int J Pharm*, 2009,380(1/2):112-119.

[5] Cuppok Y, Muschert S, Marucci M, et al. Drug release mechanisms from Kollicoat SR; Eudragit NE coated pellets[J]. *Int J Pharm*, 2011,409(1/2):30-37.

[6] Huang J, Mei XG. Study on sustained release pellets of metoprolol tartrate[D/OL]. Beijing: academy of military medical science(军事医学科学院), 2006 [2006-12-53]. <http://cdmd.cnki.com.cn>.