

双氯芬酸钾延迟缓释微丸的制备及体外释放

胡晓, 吴瑞, 宗莉*

(中国药科大学药剂研究所, 南京 210009)

摘要 以乙基纤维素水分散体为包衣材料, 采用双层包衣法制备双氯芬酸钾延迟缓释微丸, 考察释放条件及处方因素对释药行为的影响, 并用星点设计-效应面法对处方进行优化。结果表明, 微丸的体外释药受介质 pH 的影响较大, 受介质黏度影响较小; 内外层包衣增重比例和外层包衣中致孔剂用量可影响释药时滞、释药速度以及最终释药量; 星点设计-效应面法可用于微丸处方的优化。

关键词 双氯芬酸钾; 延迟缓释微丸; 双层包衣法; 星点设计-效应面法

中图分类号 R944 **文献标识码** A **文章编号** 1000-5048(2010)02-0135-06

Preparation and *in vitro* evaluation of diclofenac potassium delayed-sustained release pellets

HU Xiao, WU Rui, ZONG Li*

Institute of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Diclofenac potassium delayed-sustained release pellets were prepared by double-layer coating method with ethylcellulose aqueous dispersion. The effects of release condition and pellet compositions on the *in vitro* drug release were evaluated. The formulation was optimized by the central composite design-response surface methodology. It was shown that the pH of the media greatly affected the *in vitro* drug release of the pellets while the viscosity of the media had little influence. Drug release from the pellets was related to the proportion of the inner coat to the outer coat and the amount of pore forming agent in the outer coat. The optimization of the formulation could be achieved by the central composite design-response surface methodology.

Key words diclofenac potassium; delayed-sustained release pellets; double-layer coating method; central composite design-response surface methodology

时辰药理学研究表明, 心血管疾病、哮喘、关节炎等疾病的发作具有明显的昼夜节律特征。对于这些疾病, 理想的给药方式应调控血药浓度与疾病的昼夜节律保持同步, 使血药浓度在疾病高发时段达峰, 以发挥最佳疗效, 同时降低不良反应。

临床研究表明, 类风湿性关节炎多在清晨发病。这是因为体内褪黑激素、催乳素等激素在凌晨分泌旺盛, 促进了缓激肽、前列腺素等小分子炎症介质的产生, 使水肿、晨僵、疼痛等症状在清晨 5~7 时加剧, 严重影响患者的生活质量^[1-2]。

双氯芬酸钾(diclofenac potassium)为非甾体抗炎药, 临幊上可用于风湿和类风湿性关节炎等疾病

的治疗。该药物已有普通片剂和胶囊上市, 且已有缓释制剂和脉冲制剂的研究^[3-4]。缓释制剂可提供稳定的血药浓度, 但未考虑到疾病的时辰节律特征。脉冲制剂可使血药浓度在疾病高发时段达峰, 但有释药时间短、血药浓度波动大的缺点。鉴此, 本研究制备了双氯芬酸钾延迟缓释微丸, 经过约 4 h 时滞后释放药物, 以期在清晨 5~7 时获得较高血药浓度。同时, 由于时滞后释药缓慢, 可提供平稳有效的血药浓度, 从而提高了制剂的安全性。

本文采用双层包衣法制备双氯芬酸钾延迟缓释微丸, 考察释放度的影响因素, 并采用星点设计-效应面法进行释药模型拟合和处方优化。

1 材 料

1.1 药品与试剂

双氯芬酸钾(武汉富驰生物科技有限公司);空白丸芯(德国 JRS 公司);乙基纤维素水分散体(Surelease E-7-19040),聚乙烯吡咯烷酮(PVP K30),羟丙甲纤维素(HPMC E5/E50/K4M)(上海卡乐康包衣技术有限公司)。

1.2 仪 器

Agilent 8453 紫外-可见分光光度计(美国安捷伦公司);ZRS-4 型智能溶出仪(天津大学无线电厂);JHQ-100 型流化沸腾颗粒包衣机(辽宁医联新药研究所);HL-2 恒流泵(上海沪西分析仪器厂)。

2 方 法

2.1 延迟缓释微丸的设计原理

目前国内外口服固体延迟缓释制剂研究一般采用不同材料的双层或多层包衣技术,如常见的溶胀层/控释层结构^[5]。本文制备的延迟缓释微丸,采用了同种材料(EC)进行双层包衣,且外层衣膜含有适量致孔剂^[6]。其释药过程为:介质中水分渗透进入外层衣膜后,致孔剂缓慢溶解,随后水分通过衣膜向内渗透,进入含药丸芯,使药物溶解,并在渗透压作用下,依次通过内层衣膜和含微孔的外层衣膜向外释放。

2.2 延迟缓释微丸的制备

2.2.1 含药微丸的制备 称取适量药物,置烧杯中,加入 2% 的 PVP K30 水溶液使其完全溶解,备用;称取空白丸芯(22~26 目)10 g 置流化床中,38 °C 预热 10 min,流化床出口温度 38~40 °C,喷液速度 0.5 mL/min,鼓风频率 27 Hz,雾化压力 0.2 MPa,以底喷方式进行喷液上药。

2.2.2 包衣微丸的制备 将 Surelease(固含量为 25%)用双蒸水稀释(固含量为 10%),作为内层包衣液,另取稀释后的 Surelease,加入适量致孔剂溶解,作为外层包衣液。称取上述载药丸芯置流化床中,38 °C 预热 10 min,流化床出口温度 34~38 °C,其他参数同“2.2.1”项,持续磁力搅拌下包衣。包衣后经流化干燥 10 min,筛选 20~22 目的微丸,即得双氯芬酸钾延迟缓释微丸。

2.3 分析方法的建立

2.3.1 标准曲线的制备 精密称取干燥至恒重的

双氯芬酸钾标准品 20 mg,用 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS)配制成约 400 μg/mL 储备液备用。分别精密吸取储备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL 置 10 mL 量瓶中,再加入 PBS 定容,于 276 nm 处测定紫外吸收度(A),将 A 与对应浓度(c)作线性回归,得到线性关系良好的标准曲线,其回归方程: $c(\mu\text{g}/\text{mL}) = 34.568A - 0.0097, r = 0.9999$ 。

2.3.2 回收率和精密度 精密称取恒重的双氯芬酸钾对照品及相应处方量的辅料,制成高、中、低 3 种浓度溶液,测定 A,回收率分别为 100.1%、100.3% 和 99.9%,日内精密度分别为 0.07%、0.90% 和 0.80%,日间精密度分别为 0.08%、0.24% 和 1.20%,均符合要求。

2.3.3 释放度测定 依照《中华人民共和国药典》(2005 年版,二部)附录 XC 第一法装置(转篮法),按附录 XD 第一法测定,释放介质 900 mL,转速 100 r/min,介质温度(37 ± 0.5) °C,定时取样 5 mL(同时补充同温等量介质),经 0.8 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液适当稀释后,于 276 nm 处测定吸收度,按“2.3.1”项下所得标准曲线计算累积释放百分率。

2.4 释放条件对微丸体外释放度的影响

2.4.1 介质 pH 对释放的影响 分别以 pH 1.2 的盐酸溶液、pH 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液(ABS)、pH 6.8 和 pH 7.4 的 PBS 作为释放介质,比较释放介质 pH 对延迟缓释微丸释放行为的影响。

2.4.2 介质黏度对释放的影响 人体胃液和肠液具有一定黏稠性,可能影响微丸在体内环境的摄水能力和释药,本研究分别以 pH 6.8 的 PBS、含 0.5% HPMC K4M 的 PBS、含 1% HPMC K4M 的 PBS 作为释放介质^[7],初步考察介质黏度对微丸体外释放的影响。

2.5 处方单因素考察

2.5.1 包衣增重对微丸释药的影响 在载药丸芯外包 EC 衣膜(不加致孔剂),增重分别为 20%、30%、35% 和 40%,考察包衣微丸的释药情况。

2.5.2 内外层包衣增重比例对微丸释药的影响 分内外两层先后对微丸进行包衣,使内外层包衣增重总量为载药丸芯的 40%(内层与外层包衣增重均以载药丸芯为基准计)。固定外层包衣中致孔剂 HPMC E5 用量为 EC 干重的 10%,而内层不含致孔剂,使内外层包衣增重比例分别为 1:1、2:1、

3:1、4:1,制备微丸,测定释放度。

2.5.3 致孔剂种类对微丸释药的影响 固定内外层包衣增重比例为3:1,分别以乳糖、HPMC E5、KCl和SDS作为外层致孔剂,用量为外层EC干重的10%,考察致孔剂种类对释放的影响。

2.5.4 致孔剂用量对微丸释药的影响 固定内外层包衣增重比例为3:1,外层致孔剂HPMC E5用量分别为外层EC干重的5%、10%、20%和40%,制备缓释微丸,测定释放度。

2.6 释药模型拟合及处方优化^[8]

在单因素考察的基础上,选择对微丸释放度影响较大的内外层包衣增重比例(X_1)及HPMC E5用量(X_2)作为考察因素,以微丸在4,6,8,10 h的累积释放度作为指标,采用Design Expert软件安排2因素5水平的试验方案,对结果进行模型拟合,绘制因素对指标的等高线图,按照所设定的释放度目标值,通过等高线图重叠,对处方进行优化。各因素的标准代码值与及水平表见表1。

Table 1 Independent variables; factors and their levels for central composite design-response surface methodology

Variable	Level				
	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1	1.58:1	2:1	3:1	4:1	4.41:1
X_2	2.93	5	10	15	17.07

X_1 :w(inner coating)/w(outer coating); X_2 :HPMC E5(%)

3 结果与讨论

将释药时滞定义为体外释药量达到微丸含药量10%所需的时间^[9]。根据双氯芬酸钾延迟缓释微丸的设计目的,将其各时间段释放度的目标值设定为: $Q_{4\text{h}}$ 为0~10%, $Q_{6\text{h}}$ 为40%~50%, $Q_{8\text{h}}$ 为70%~80%, $Q_{10\text{h}}$ 为90%~100%,其中4 h时间点保证释药时滞符合要求,6 h时间点描述药物的初始释放效果,8 h时间点观察药物的后期释放,而10 h时间点确保药物释放完全。

3.1 释放条件对微丸体外释放度的影响

3.1.1 介质pH对药物释放的影响 微丸在不同pH释放介质中的释放见图1。由图可见,微丸在pH 1.2的HCl中12 h仅释药约8%,在pH 4.5的ABS中12 h释药约25%,在pH 6.8和7.4的PBS中释药时滞约为4 h,时滞后6 h内药物可基本释放完全。结果表明,该微丸的释药行为与介质pH有关,这是因为双氯芬酸钾的溶解度具有明显的

pH 依赖性。因此,应选择中性或偏碱性释放介质,以期与体内吸收相关。考虑到延迟缓释微丸的释药特征以及相关文献报道^[3],选择pH 6.8的PBS为释放介质。

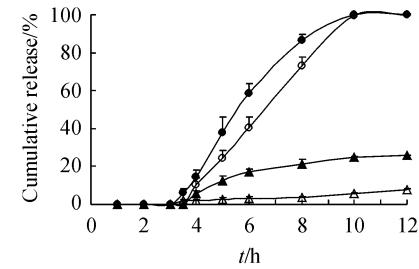


Figure 1 Effect of media pH on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s$, $n=6$). ABS:Acetate buffer solution

3.1.2 介质黏度对药物释放的影响 结果如图2所示,用比较两条释放曲线等价性的 f_2 方程对释放曲线进行分析。其公式为:

$$f_2 = 50 \lg \{ [1 + (R_t - T_t)^2]^{-0.5} \times 100 \} \quad (1)$$

R_t :参比样品t时间的释放度; T_t :试验样品t时间的释放度。

文献报道,扑热息痛速释片剂在分别含0.5%和1% HPMC K4M的PBS中,与在普通PBS中相比,其崩解时限明显延长,释药速度明显减慢^[7]。本文亦以此3种介质考察介质黏度对微丸释放度的影响,结果如图2所示,3条释放曲线基本重叠,释放曲线相互比较, f_2 分别为80.1、66.4和71.8,表明微丸在3种介质中的释放行为相似,所考察的两种黏性介质对微丸的释药没有明显影响,这可能与微丸相对较大的比表面积有关。

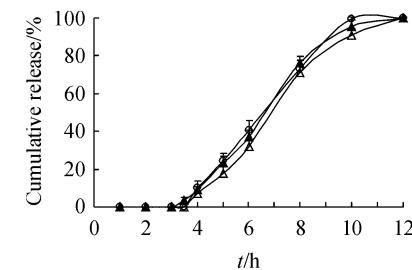


Figure 2 Effect of media viscosity on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.2 处方因素对微丸体外释放度的影响

3.2.1 包衣增重对微丸释药的影响 由图3可

知,4种微丸时滞时间分别为2,2.6,3.5,4.5 h,20%与30%包衣增重的微丸10 h内可释药完全,35%与40%包衣增重的微丸在10 h分别仅释放73.1%和48.0%。由此可见,仅通过改变包衣增重,不能同时满足时滞和时滞后释放度的要求。

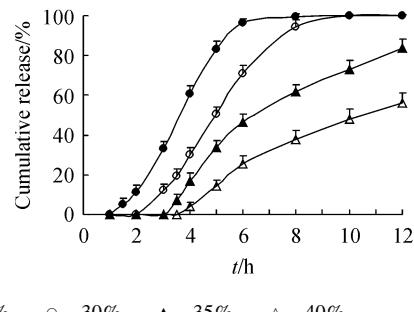


Figure 3 Effect of coating amount on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2.2 内外层包衣增重比例对微丸释药的影响
从图4可观察到,内外层包衣增重比例为1:1和2:1时,释药时滞较短。当该比例为3:1时,时滞和时滞后释药行为均达到要求;当该比例为4:1时,时滞符合要求,但时滞后释药较慢。可以推断,内外层包衣增重比例越大,内层包衣对药物的阻滞作用越大,时滞越长,时滞后释药越慢。

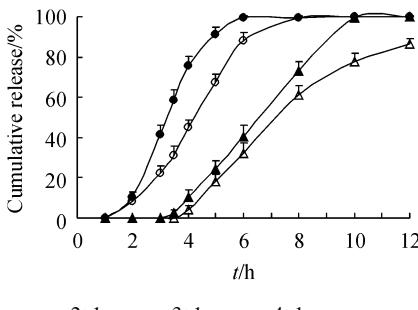


Figure 4 Effect of the proportion of the inner coating to the outer coating on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2.3 致孔剂种类对微丸释药的影响 致孔剂种类对释放的影响结果如图5所示。小分子糖类、盐类及表面活性剂可快速溶解于释放介质,能够在很短时间内形成释药孔道,从而加快药物释放。采用高分子类物质作为致孔剂时,其在介质中需要较长的溶胀时间,因而具有较长的释药时滞。HPMC E5作为致孔剂的微丸,释药时滞符合设计要求,乳糖、KCl和SDS分别作为致孔剂时,释药时滞均比 HPMC E5 作致孔剂时短,因此采用 HPMC E5 作为致孔剂。

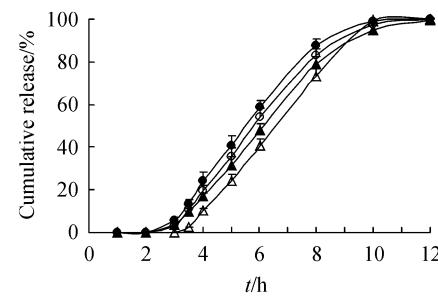


Figure 5 Effect of several types of pore-forming agents on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2.4 致孔剂用量对微丸释药的影响 释放度测定结果如图6所示。结果表明,随致孔剂用量增加,释药时滞缩短。HPMC E5 用量为 5% 或 10% 时,时滞符合要求,但 5% 用量的微丸,6 h 和 8 h 的释药量低于目标值。当致孔剂用量为 20% 以及 40% 时,时滞约为 3 h。因而采用 10% 用量 HPMC E5 作为外层致孔剂。

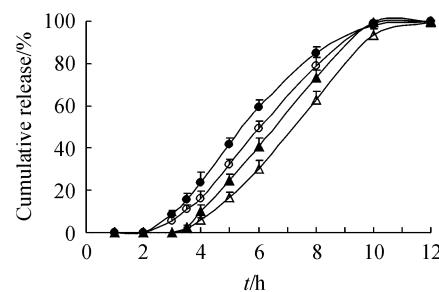


Figure 6 Effect of the amount of HPMC E5 on the drug release of the pellets ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.3 释放模型拟合及处方优化

在药物制剂处方筛选和优化过程中,常需同时考察多个因素对结果的影响。现在应用比较成熟的方法为均匀设计和正交设计法,二者的一个共同缺点是,选择的试验取值往往仅接近最佳取值,无法精确到最佳点,且不易确定因素的较优范围。星点设计-效应面法是近年来应用较多的一种实验设计方法,能够建立数学模型以表征因素与指标之间的关系,利用等高线图和效应面图反映指标随因素的变化趋势,通过等高线重叠预测不同因素水平下的试验结果,获得最佳处方的优化区域。

本试验中以内外层包衣增重比例和外层包衣中的致孔剂用量为自变量,微丸在 4,6,8,10 h 的累积释放度(即 $Q_{4\text{h}}$ 、 $Q_{6\text{h}}$ 、 $Q_{8\text{h}}$ 、 $Q_{10\text{h}}$)为因变量,对

各影响因素和指标进行回归计算,并以拟合优度(R^2)和置信度(P)作为模型判定标准。其方程如下:

$$Q_{4\text{ h}} = 24.06 - 6.21X_1A + 0.52X_2B (R^2 = 0.9942, P < 0.05)$$

$$Q_{6\text{ h}} = 101.56 - 22.83X_1 + 1.28X_2B (R^2 = 0.9712, P < 0.05)$$

$$Q_{8\text{ h}} = 95.90 - 13.80X_1 + 1.95X_2 (R^2 = 0.9739, P < 0.05)$$

$$Q_{10\text{ h}} = 107.26 - 6.03X_1 + 0.45X_2 (R^2 = 0.7246, P < 0.05)$$

上述方程拟合度良好,相应的 P 值均小于0.05,具有统计学意义,说明多元线性模型可较好地描述各因素与指标之间的定量关系。方程中 X_1 项之前的负号表明,提高微丸内外层包衣增重比例,可降低微丸在各时间点的累积释放度。相反, X_2 项之前的正号表明增加致孔剂的用量,可提高微丸在各时间点的累积释放度。

根据上述多元线性模型,绘制因素 X_1 和因素 X_2 对微丸在4 h、6 h、8 h、10 h累积释放度的效应面图和等高线图。由图7可见,微丸在各时间点的累积释放度均随内外层包衣增重比例的提高而减小,随致孔剂用量的增加而增加,这与单因素考察的结果一致。

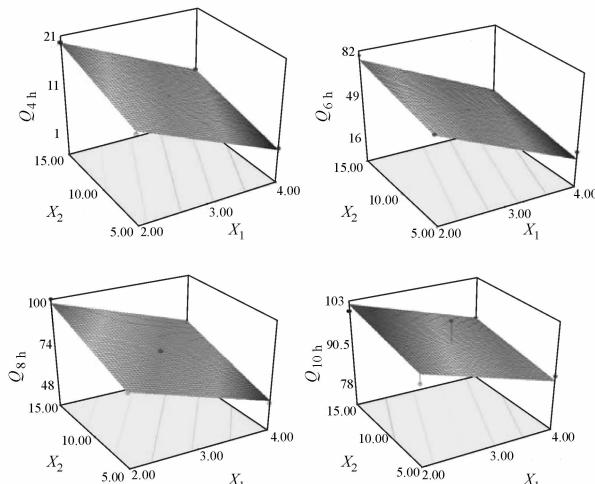


Figure 7 Predicted response surface of cumulative release percentage at 4 h, 6 h, 8 h, 10 h by multilinear model($n=6$)

X_1 : w (inner coating)/ w (outer coating); X_2 : HPMC E5(%)

将图7中各指标的等高线重叠,如图8所示。

各线上的数字标记表示各时间点及其指标值,相同时间点等高线之间的区域即为该指标的目标区域,各等高线目标区域的重合区域(图8中的深色区域),同时满足微丸在各时间点累积释放度的目标值,即为双氯芬酸钾延迟缓释微丸最优处方所在区域。

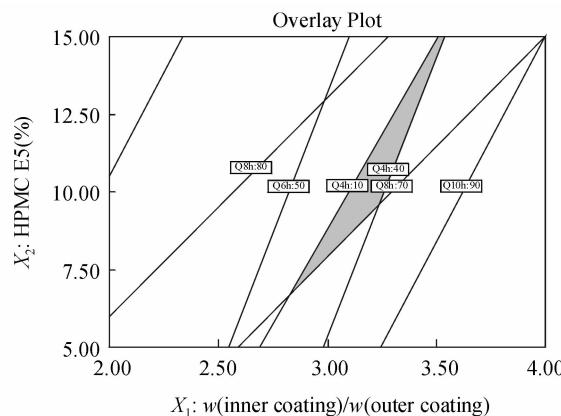


Figure 8 Overlay contour plot of the optimized formulation of diclofenac potassium delayed-sustained release pellets based on multilinear model

由图8可知,优化区域中内外层包衣增重比例为2.8:1~3.5:1,HPMC E5用量为外层EC干重的6.8%~15%。单因素考察试验中获得的较优处方为:内外层包衣增重比例为3:1,HPMC E5用量为10%,该点即为试验设计的中心对照点。由图可见,该中心对照点虽未落在试验设计所获得的优化区域内,但该点位于优化区域附近,说明单因素考察中获得的较优处方比较合理。在单因素处方筛选基础上,采用星点设计-效应面法,获得了微丸的处方优化区域,从而提高了试验预测的准确性。

从上述优化区域中随机取一个点(A:3:1,B:9.5%),按相同工艺制备3批样品,测定释放度,并与模型预测值进行比较,3批微丸所获得的实测值与预测值基本一致,偏差的绝对值均小于4%(表2),说明所建立的拟合模型具有较高的可靠性,获得的优化区域预测性良好。

Table 2 Comparison of the practical and predicted release of three batches of pellets

No.	Predicted/%				Observed/%			
	$Q_{4\text{ h}}$	$Q_{6\text{ h}}$	$Q_{8\text{ h}}$	$Q_{10\text{ h}}$	$Q_{4\text{ h}}$	$Q_{6\text{ h}}$	$Q_{8\text{ h}}$	$Q_{10\text{ h}}$
1	10.0	44.1	74.2	93.8	9.6	43.6	73.9	93.9
2	10.0	44.1	74.2	93.8	9.8	44.5	74.0	94.1
3	10.0	44.1	74.2	93.8	10.3	45.0	74.4	94.5

4 结 论

本文制备的双氯芬酸钾延迟缓释微丸,释药行为主要取决于内外层 EC 包衣增重比例和外层包衣中致孔剂的用量。所采用的同种材料双层包衣的方法可达到延迟缓释的目的,在国内尚未见报道。

本文通过单因素试验考察药物释放的影响因素,之后采用星点设计-效应面法安排试验,并对结果进行拟合分析,以较少的试验次数,建立了各因素与指标之间的多元线性模型,并获得了符合释放度目标的优化区域。上述结果表明,星点设计-效应面法具有良好的预测性,可用于双氯芬酸钾延迟缓释微丸的处方筛选和优化。

参 考 文 献

- [1] Cutolo M, Villaggio B, Otsa K, et al. Altered circadian rhythms in rheumatoid arthritis patients play a role in the disease's symptoms [J]. *Autoimmun Rev*, 2005, 4(8): 497–502.
- [2] Cutolo M, Straub RH. Circadian rhythms in arthritis: Hormonal

effects on the immune/inflammatory reaction[J]. *Autoimmun Rev*, 2008, 7(3): 223–228.

- [3] 符旭东(Fu XD),汤 韬(Tang R),刘 宏(Liu H). 双氯芬酸钾缓释片的释药特征和体内外相关性研究[J]. 解放军药学学报(*Pharm J Chin PLA*), 2005, 21(2): 124–126.
- [4] 任延久(Ren YJ), 刘凤荣(Liu FR), 宋 励(Song X). 双氯芬酸钾脉冲释药微丸口服给药系统的研制[J]. 黑龙江医药(*Heilongjiang Med*), 2004, 17(2): 116–117.
- [5] 陈志鹏(Chen ZP),肖衍宇(Xiao YY),陈洪轩(Chen HX),等. 盐酸维拉帕米缓释微丸的研制及犬体内药代动力学[J]. 药学学报(*Acta Pharm Sin*), 2006, 41(8): 765–771.
- [6] Percel PJ, Vishnupad KS, Venkatesh GM. Timed, sustained release systems for propranolol: US, 6500454[P]. 2002-11-31 [2009-11-09].
- [7] Parojski J, Vasiljevi D, Ibri S, et al. Tablet disintegration and drug dissolution in viscous media: Paracetamol IR tablets[J]. *Int J Pharm*, 2008, 355(1): 93–99.
- [8] Kramar A, Turk S, Vrecek F. Statistical optimisation of diclofenac sustained release pellets coated with polymethacrylic films[J]. *Int J Pharm*, 2003, 256(1-2): 43–52.
- [9] 郭 涛(Guo T), 郑春丽(Zheng CL), 宋洪涛(Song HT), 等. 双氯芬酸钠脉冲控释微丸的研究[J]. 药学学报(*Acta Pharm Sin*), 2003, 38(9): 707–710.

· 校园信息 ·

中国药科大学药物科学研究院成立

2010年1月中国药科大学药物科学研究院成立大会隆重举行。

江苏省人大常委会副主任、党组副书记李全林,江苏省教育厅副厅长殷翔文,中国药科大学彭司勋院士,以及来自医药界的企事业单位代表、校内外嘉宾、教师代表、学生代表400人参加成立大会。吴晓明校长代表学校发表重要讲话。南京医科大学胡刚副校长和威尔曼国际新药开发集团孙明杰董事长代表嘉宾发表了热情洋溢的讲话,向中国药科大学药物科学研究院的成立表示热烈的祝贺。大会由中国药科大学副校长王广基主持。

江苏省人大常委会副主任、党组副书记李全林和中国药科大学校长吴晓明共同为中国药科大学药物科学研究院揭牌。

根据成立药物科学研究院的目的,学校将把有关实验室组织进入药物科学研究院,同时考虑中国药科大学综合性新药研究开发技术大平台建设的系统性、综合性,药物科学研究院对校内的有关研究中心和重点实验室进行整合建成与新药研究开发技术链相关的8个子平台即新药发现技术平台、新药筛选研究平台、新药药效学研究平台、药物代谢动力学研究平台、新药安全性评价技术平台、药物质量控制技术平台、新药制剂研究技术平台、新药发现中试及转化服务平台。这8个子平台充分体现各技术节点的衔接,通过这种资源的有效整合,将会大大的提高新药研究开发的效率,同时为组建国家重点实验室做好准备。

药物科学研究院的成立,将进一步发挥科学研究对推动科技进步、人才培养、服务社会的重要支撑作用,有力提升我校的科技创新能力,为我校跻身国际先进行列奠定坚实基础。

(本刊讯)