

西罗莫司缓释片的制备及其释药因素考察

张 晶¹,王 娟^{1,2},宋洪涛¹,唐 星²,何忠贵² (1.南京军区福州总医院药学科,福建 福州 350025; 2 沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

[摘要] 目的 制备西罗莫司缓释片并对其释药因素进行考察。方法 采用羟丙基甲基纤维素(HPMC)为基本骨架材料制备了西罗莫司凝胶骨架片,对影响释药的因素,如采用羟丙基甲基纤维素(HPMC)规格、用量、填充剂种类、致孔剂用量、压片压力及释放介质等进行了考察。结果 以30%羟丙基甲基纤维素(HPMC K4M)为骨架材料、2%乳糖为致孔剂、微晶纤维素(MCC)为填充剂时,缓释片呈明显一级释放特征。结论 该制剂在体外具有良好的缓释效果,且制备工艺简单易行。

[关键词] 西罗莫司;凝胶骨架缓释片;体外释放;羟丙基甲基纤维素(HPMC)

[中图分类号] R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)02-0126-05

Preparation of sirolimus sustained-release tablets and observe of influence factors on releasing drug

ZHANG Jing¹, WANG Juan^{1,2}, SONG Hong-tao¹, TANG Xing², HE Zhong-gu² (1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective** To prepare the sirolimus sustained-release tablets and study the influence factor. **Methods** The sirolimus sustained-release tablets were prepared by HPMC as the matrix material. The effects of viscosity of HPMC, sort of an adhesive amount of a lubricant, and the preparation methods on the release of sirolimus from matrix tablets were observed. **Results** Based on the results of single factor tests, an optimal self-prepared matrix sustained-release tablets which contained 30% HPMC (K4M), 2% lactose and MCC was defined. The release of the drug was an obvious characteristic in first class. **Conclusion** The tables have desirable sustain-release property *in vitro*. The preparation process was simple and can be applied in production.

[Key words] sirolimus; matrix sustained-release tablets; drug release *in vitro*; HPMC

西罗莫司(Sirolimus, SRL)是一种新型的免疫抑制剂,具有较强的抗排斥作用和延长移植存活的能力。临床上可用于器官移植抗排斥作用和治疗类风湿性关节炎、红斑狼疮、牛皮癣等自身免疫性疾病^[1,2]。与环孢素和他克莫司相比,疗效高,毒性低,引起了人们的广泛重视^[3,4]。但SRL由于其治疗窗窄(4~8 ng/ml),高脂血症的发生率高达44%。但有报道指出,随着血药浓度的降低,该不良反应可明显改善。因此,开发SRL缓控释给药系统,维持平稳的血药浓度,降低不良反应发生率,这对于临床用药有着重要意义。凝胶骨架缓释片主要是以高分子聚合物(如HPMC)或天然胶类(如果胶)为骨架材料,口服后遇消化液发生水化作用生成凝胶,通过凝胶屏障效应,控制释药速率。与其他缓控释制剂相比,凝胶骨架片具有生产工艺简单,调释方法

多,安全性等显著特点^[5,6]。本实验设计和制备了体外释放12h的SRL凝胶骨架缓释片,并对其释药机理进行了初步研究。

1 仪器与材料

HP1100高效液相色谱系统(美国Agilent公司);PHS-3C精密pH计(上海雷磁科学仪器有限公司);FA1104电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);RCZ-6BZ型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器有限公司);DZF-6051型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);TDP-5A型单冲压片机(上海天凡药机制造厂);YPD-200C型片剂硬度仪(上海黄海药检仪器厂)。

西罗莫司对照品(福建科瑞药业有限公司,含量99.9%);西罗莫司原料药(福建科瑞药业有限公司,批号060702,含量99.5%);十二烷基硫酸钠(SDS,诸暨丰盈化工有限公司);羟丙基甲基纤维素(K100lv, K4M、K15M、K100M,上海卡乐康包衣技术有限公司);微晶纤维素(MCC,美国FMC公司);淀粉(黄龙食品工业有限公司);乳糖(美国MEGGLE

[基金项目] 福建省科技计划项目(2007Y0063)。

[作者简介] 张 晶(1982-),女,硕士。Tel: (0591)22859169, E-mail: chzj2009@hotmail.com。

[通讯作者] 宋洪涛。Tel: (0591)83712298, E-mail: sohoto@vip.sohu.com。

公司);乙腈、甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 SRL 凝胶骨架缓释片制备工艺 为了提高 SRL 的溶解度,改善其在缓释制剂中的溶出度,本课题前期研究了 SRL 的固体分散体。以 SRL 10倍量的泊洛沙姆 188 (F68)为载体,先将 SRL 溶解于适量的乙醇溶液中,待 F68加热至熔融后混匀、剧烈搅拌,并将熔融物倾倒在不锈钢板上形成薄层,使之迅速冷却成固体,再将此固体放置于真空干燥箱内 24 h后取出,研磨,过 80目筛备用。

将各种辅料粉碎过 80目筛,称取处方量的 SRL 固体分散体及其他辅料采用等量递加法混合均匀,采用 7.5 mm冲模直接压片(片重为 140 mg,药物剂量为 1 mg/片,硬度为 40~50 N),即得。

2.2 体外释放度分析方法的建立

2.2.1 色谱条件 HP1100 高效液相色谱系统(二级管阵列检测器,美国 Agilent公司),色谱柱为 Zorbax SB-C₈ (150 mm ×4.6 mm, 5 μm,美国 Agilent公司),以甲醇-水-乙腈(30:30:40)为流动相,流速为 1 ml/min,检测波长 277 nm,柱温 50 °C;进样量为 20 μl。理论塔板数为 1998,分离度为 3.13。

2.2.2 线性关系考察 精密称取 SRL 对照品 5.0 mg,置 50 ml量瓶中,加无水乙醇溶解并定容,得浓度为 100 μg/ml储备液。精密量取储备液适量加 0.4% SDS溶液稀释成浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 μg/ml的对照品溶液。进样 20 μl,记录峰面积,以浓度 c (μg/ml)为横坐标,以峰面积 y 为纵坐标做线性回归,得回归方程为: $y = 56.74c - 0.3824$ ($r = 0.9996$)。结果表明 SRL 在 0.1~10 μg/ml浓度范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系。本法精密度和回收率试验结果符合要求。

2.2.3 释放度测定方法 取 SRL 缓释片 6片,装入沉降篮中,照 2005版药典释放度测定法(中国药典 2005版二部附录 XD 第三法),采用溶出度测定法(中国药典 2005版二部附录 XC 第三法)的装置,以 0.4% SDS溶液 250 ml为溶出介质,转速为 100 r/min,在 1、2、4、6、8、10、12 h分别取溶液 5 ml,用 0.45 μm微孔滤膜滤过,并即时在操作容器中补充空白介质溶液 5 ml,分别精密量取续滤液适量,于 277 nm处,进样 20 μl测定;另精密称取 SRL 对照品适量,用上述溶出介质制成每 1 ml中约含 2.0 μg 的对照品溶液,同法测定,分别计算不同时间内 SRL 累积释放量,绘制溶出曲线。

2.3 不同因素 SRL 凝胶骨架缓释片释放速度的影响

2.3.1 HPMC 规格对药物释放的影响

不同规格的 HPMC,即 K100lv、K4M、K15M 和 K100M,用量均为片重的 20%,其他辅料均相同,制备缓释片,考察 HPMC 规格对药物释放的影响,采用 f_2 [7,8]法进行相似性判定。结果表明 HPMC 的黏度对药物释放有显著性影响,其释放速率随 HPMC 黏度的增加而减慢。由图 1可知,采用 K4M 作为凝胶骨架材料时,对其进行小幅度地调节,就能够获得较好的缓释性能,故将其确定为凝胶骨架缓释片的骨架材料。

表 1 不同 HPMC 规格所制备西罗莫司缓释片相似性分析

Row ₁	Row ₂	f_2
K4M	K100lv	34.19
K4M	K15M	18.50
K4M	K100M	8.894

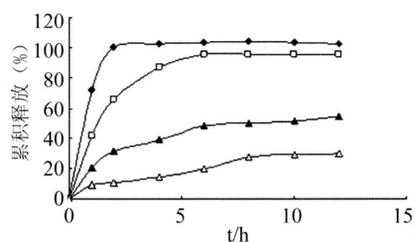


图 1 HPMC 的黏度对西罗莫司释放的影响 ($n = 6$)

-K100lv; -K4M; -K15M; -K100M

2.3.2 HPMC 用量对药物释放的影响 选用 HPMC (K4M)为骨架材料,用量分别为 0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%,其他辅料均相同,制备缓释片,考察 HPMC 用量对药物释放的影响,采用 f_2 法进行相似性判定。结果表明 HPMC 用量对药物释放有显著性影响。当 HPMC 用量在 15%~20% 以上时,才具有缓释作用,且 SRL 的释药速度随着 HPMC 用量的增加而减慢。

表 2 不同 HPMC 用量所制备西罗莫司缓释片相似性分析

Row ₁ (%)	Row ₂ (%)	f_2
20	0	27.29
20	5	32.51
20	10	32.56
20	15	49.79
20	25	43.65
20	30	28.62

2.3.3 致孔剂用量对药物释放的影响 选用乳糖作为致孔剂,使其用量分别占片重的 0%、2%、4%、6%,其他辅料均相同,制备缓释片,考察致孔剂用量对药物释放的影响,采用 f_2 法进行相似性判定。结果表明乳糖用量对药物释放有一定影响。随着乳糖用量的增加,药物释放速率有加快的趋势。

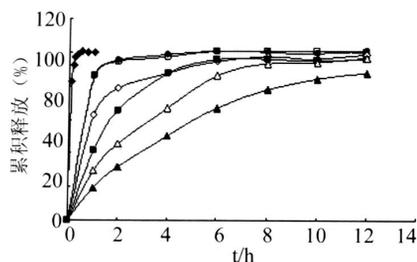


图 2 HPMC的用量对西罗莫司释放的影响 (n=6)
-0%; -5%; -10%; -15%; -20%; -25%; -30%

表 3 不同乳糖用量所制备的西罗莫司缓释片相似性分析

Row ₁ (%)	Row ₂ (%)	f ₂
0	2	59.82
0	4	48.24
0	6	42.80

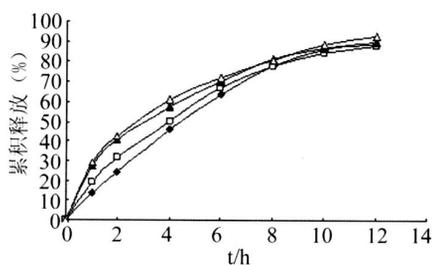


图 3 乳糖用量对西罗莫司释放的影响 (n=6)
-0%; -2%; -4%; -6%

2.3.4 填充剂种类对药物释放的影响 比较淀粉、微晶纤维素 2种填充剂对药物释放影响,考察填充剂种类对药物释放的影响,采用 f₂法进行相似性判定,结果 f₂为 52.47,表明不同填充剂对药物释放有一定影响:释药速率 MCC > 淀粉。故本实验选择 MCC作为凝胶骨架缓释片的填充剂。

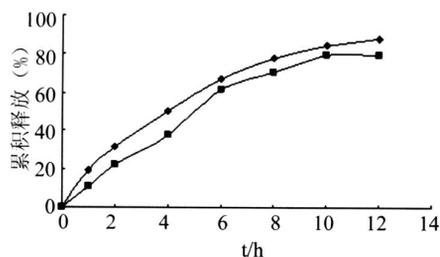


图 4 填充剂种类对西罗莫司释放的影响 (n=6)
MCC; 淀粉

2.3.5 压片压力对药物释放的影响 将 HPMC (K4M)用量调整为 30%,乳糖为 2%,以 MCC为填充剂,固定主药含量,在不同压片压力 (30 N、50 N、70 N)条件下制备缓释片,考察压片压力对药物释放的影响,采用 f₂法进行相似性判定。结果表明压片压力对药物释放无显著性影响。

表 4 不同压片压力所制备的西罗莫司缓释片相似性分析

Row ₁	Row ₂	f ₂
30 N	50 N	72.21
30 N	70 N	69.18

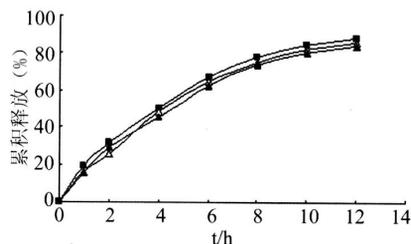


图 5 压片压力对西罗莫司释放的影响 (n=6)
-30N; -50N; -70N

2.3.6 溶出装置对药物释放的影响 按“2.3.5”项下的处方,片剂硬度约 50 N制备缓释片。分别采用小杯法和沉降篮法进行溶出试验,考察不同装置对药物释放行为的影响。并采用 f₂法进行相似性判定,结果 f₂为 68.20,表明溶出装置对药物的释放行为无显著性影响。

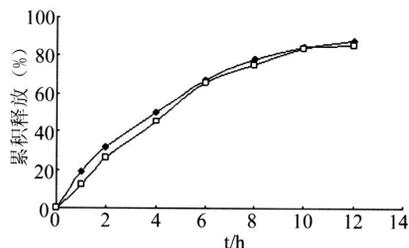


图 6 不同溶出装置对西罗莫司释放的影响 (n=6)
沉降篮法; 小杯法

2.3.7 转速对药物释放的影响 采用沉降篮法分别以 50 r/min和 100 r/min的转速进行溶出度试验,考察不同转速对药物释放行为的影响。并采用 f₂法进行相似性判定,结果 f₂为 56.94,表明转速对药物的释放有一定影响。随着转速的增加,药物释放有加快的趋势。

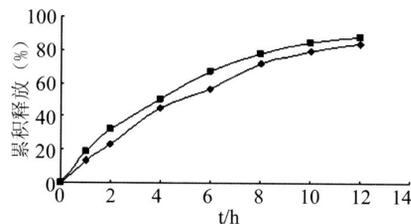


图 7 转速对西罗莫司释放的影响 (n=6)
-50r/min; -100r/min

2.3.8 溶出介质对药物释放的影响 采用沉降篮

法,分别以蒸馏水、0.1 mol/L HCl溶液、pH 6.8磷酸盐缓冲液、0.2% SDS溶液和 0.4% SDS溶液为溶出介质进行溶出度试验,考察不同溶出介质对药物释放行为的影响,结果见图 8。表明不同溶出介质对药物的释放有一定的影响。

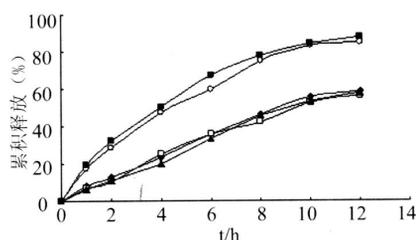


图 8 溶出介质对西罗莫司释放的影响 (n=6)

水; - 0.1 mol/L 盐酸溶液; - pH6.8 缓冲溶液;
- 0.2% 十二烷基硫酸钠水溶液; - 0.4% 十二烷基硫酸钠水溶液

2.3.9 自制 SRL 凝胶骨架缓释片处方的确定 由单因素考察试验结果可知, SRL 缓释片影响因素较少,因而通过调节 HPMC 黏度、用量、填充剂种类等因素,就可以得到 SRL 凝胶骨架缓释片最佳处方。根据药典对缓释、控释制剂指导原则,为避免制剂的突释效应,保证释药特性和保证释药完全,控制释放度为:取样时间 2、6、10 h,释放度分别为 $F_t\% < 30\%$, $45\% < F_t\% < 65\%$ 和 $F_t\% > 80\%$ 。综合考虑上述实验结果,确定 SRL 凝胶骨架缓释片的最终处方如下,并将片剂硬度维持在 50 N 左右,片重约为 140 mg。

SRL 固体分散体 (含 SRL 9%)	1.1 g
HPMC	4.2 g
乳糖	0.28 g
MCC	8.4 g
硬脂酸镁	0.070 g
压制 100 片	

按上述处方制备样品,其体外释药曲线见图 9,其缓释特性符合要求。

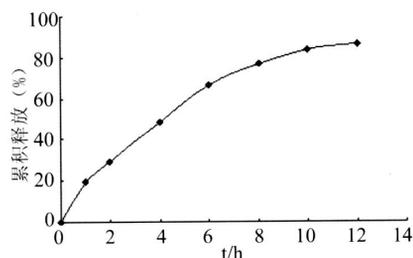


图 9 西罗莫司缓释片优化处方的体外释放曲线 (n=6)

2.4 SRL 凝胶骨架缓释片释药机制的初步探讨 分别采用零级模型: M_t/M_∞ 、一级模型: $M_t/M_\infty = 1 -$

e^{-kt} 、Higuchi 模型: $M_t/M_\infty = kt^{1/2}$ 、Ritger-Peppas 模型: $M_t/M_\infty = kt^n$ (M_t 为 t 时刻的药物释放量, M_∞ 为最大药物释放量, k 是药物释放速度常数)对 SRL 凝胶骨架缓释片的释药曲线进行拟合,考察其释放到机制,结果见表 5。

表 5 西莫英司缓释片释药方程拟合结果

释药模型	释药方程	r
零级模型	$M_t/M_\infty = 0.0632t + 0.1978$	0.9685
一级模型	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.1714t - 0.0304$	0.9961
Higuchi 模型	$M_t/M_\infty = 0.2921t^{1/2} - 0.0948$	0.9923
Ritger-Peppas 模型	$\log(M_t/M_\infty) = 0.6345 \log t - 0.7078$	0.9951

由上表可知,除零级释药方程拟合的相关系数外,其余均在 0.990 以上,故本缓释片接近一级释放,且体外释药规律符合 Higuchi 方程。此外,也通过 Ritger-Peppas 方程来描述药物从骨架片中的释放机制。公式中释放指数 n 是表征释放机制的特征参数,对于圆柱型制剂(如片剂)而言,当 $n < 0.45$ 时,为 Fick 扩散;当 $0.45 < n < 0.89$ 时,药物释放机制为非 Fick 扩散,即为水凝胶溶蚀与药物扩散的共同控制的释药机制;当 $n > 0.89$ 时,为骨架溶蚀机制。其实,亲水骨架材料水化、凝胶层形成是一个时间过程,因而亲水凝胶骨架片在不同的时间段很可能具有不同的药物释放机制。从对 Ritger-Peppas 方程拟合结果分析, $n = 0.6345$,故本缓释片属于药物扩散和骨架溶蚀的综合效应的混合控释机制。

3 讨论

3.1 处方因素对释药的影响 HPMC 黏度的影响:由实验结果可知,缓释片的释放速率随着 HPMC 黏度的增加而减慢,这是因为高黏度 HPMC 与低黏度者相比,水化速度快,吸水能力强,形成的凝胶层黏度大,药物通过胶层扩散以及凝胶本身溶蚀变慢,凝胶层对片芯的保护作用强,因而药物释放变慢。

HPMC 用量的影响:由实验结果可知,随着 HPMC 含量增加,释药速率减慢。Higuchi 曾提出, HPMC 亲水凝胶骨架片中药物释放速率取决于药物的扩散性和骨架的渗透性,对难溶药物而言,骨架的溶蚀为药物释放的主要机制。当 HPMC 用量增加时,吸水增加,形成的凝胶层增厚,凝胶强度增大,从而使药物释放减慢^[9,10]。另外,从本实验结果还可知,当 HPMC 用量过低时,无缓释特性,这可能是由于当 HPMC 含量较低时,片剂表面快速形成的凝胶层为非连续性的,反而导致片剂局部膨胀,在一定意义上起到了崩解剂的作用,药物迅速释放。乳糖用量 (下转第 139 页)

已基本提取完全。

3.2 色谱条件的优化 我们试用了 3 种型号的 C₁₈ 柱,包括: Agela Promosil C₁₈ 250 mm ×4.6 mm, 5 μm; Agela Venusil MP C₁₈ 250 mm ×4.6 mm, 5 μm; SHISEDO Capcell Pak C₁₈ 250 mm ×4.6 mm, 5 μm。结果表明用 SHISEDO Capcell Pak C₁₈ 柱能更好的分离瓜子金药材成分,而且对照品瓜子金皂苷己峰形较好,理论板数较高。考察了不同柱温(20、25、30)对分离效果的影响,结果表明柱温对分离效果的影响不大,在合适的流动相条件下,瓜子金皂苷己峰都能与其他峰达到基线分离,但考虑到其可操作性,我们选用最接近室温的 25。

3.3 质量差异 从表 1 中结果可以看出,受气候、土壤、生态环境等因素的影响,不同产地的瓜子金药材中瓜子金皂苷己的含量存在很大的差异,其含量在 0.19% ~ 1.41%。因此在瓜子金药材进一步研

究开发的过程中,应当监控其中瓜子金皂苷己的含量,尽量选择含量较高的药材。

【参考文献】

- [1] 都海鸥,扬转云,王灿岭. 瓜子金的生药学研究[J]. 国医论坛, 2001, 16(3): 46.
- [2] Wang HL, Gao J, Zhu DN, *et al*. Quality evaluation of Polygala japonica through simultaneous determination of six bioactive triterpenoid saponins by HPLC-ELSD [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43: 1552.
- [3] Wang H, Gao J, Kou J, *et al*. Anti-inflammatory activities of triterpenoid saponins from Polygala japonica [J]. Phytomedicine, 2008, 15: 321.
- [4] 申劲松,杜培刚. 民族药瓜子金的生药学研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2000, 44: 167.
- [5] 中国药典 2005年版[S]. 二部. 2005: 322.

[收稿日期] 2009-10-22

[修回日期] 2009-12-14

(上接第 129页)

的影响:由于乳糖为水溶性辅料,随着乳糖的溶解,扩散孔道和孔隙率增加,从而使得释放速率加快,因此乳糖的用量对释药行为有一定的影响。填充剂种类的影响:由结果可知,释药速率 MCC > 淀粉,这可能是由于淀粉与 MCC 相比,具有较强的溶胀性,能使已形成的孔道及孔隙率减小,所以其释药速率要慢于 MCC。

3.2 压片压力对释药的影响 从结果可知,压片压力对释药行为基本无影响,这是因为虽然压力的改变可影响骨架片的密度,使未水化骨架片的孔道和孔隙率发生变化,但对于 HPMC 骨架片,影响释药的主要因素是凝胶层的形成速度和凝胶层性质,当压力达到一定值后,释药行为与压力无关。

3.3 体外释放条件对释药的影响 溶出装置的影响:实验结果表明,不同的释放度测定装置对释药无显著性影响。但在实验过程中发现,采用小杯法时释放前片剂直接接触溶出杯底部,凝胶骨架片遇水后会生成亲水凝胶而粘附在杯壁上,从而可能造成有效释药面积的减少,影响释放测定结果。故本实验选择沉降篮法进行释放度试验考察。溶出介质的影响:难溶性药物 HPMC 骨架片的释放主要受骨架溶蚀为主和药物扩散为辅的协同控制,而 HPMC 在生理 pH 范围内性质稳定,故在不同溶出介质中,药物释放表现出一定的差异主要是由扩散所引起的。而药物从骨架片中扩散到介质中的驱动力则是取决于药物在介质中的溶解性^[11]。由前几章实验可知,药物在水、0.1 mol/L HCl 溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶解度几乎相同,故其释放

行为也相似,即药物的释放不受 pH 值的影响。但 SDS 溶液对药物的溶解度有显著的影响,可使药物释放明显加快。同时,由实验结果可以看出,不同浓度的 SDS 溶液对药物释放基本无影响。

【参考文献】

- [1] 朱曼,郭代红. 新型大环内酯类免疫抑制剂——西罗莫司[J]. 中国药物应用与监测, 2005, 6: 26.
- [2] Vignot S, Faivre S, Aguirre D, *et al*. mTOR——targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives[J]. Ann Oncol, 2005, 16(4): 525.
- [3] 吴亚铭,陈晓. 新型免疫抑制剂——西罗莫司[J]. 天津药学, 2003, 15(2): 72.
- [4] 江红,程元荣,黄捷,等. 免疫抑制剂 F904 的免疫抑制作用[J]. 中国抗生素杂志, 2000, 25(5): 382.
- [5] 闫丽霞,陈建红. 缓释、控释片剂的发展概况[J]. 天津药学, 1998, 10(4): 6.
- [6] 徐冬羽,屠锡德. 口服亲水凝胶骨架片的研究进展[J]. 药学进展, 2002, 26(1): 10.
- [7] 洪燕龙,冯怡,徐德生. 关于缓控释制剂的处方优化指标[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 15.
- [8] Kavita YH, Angela H, Moore D. Effects of Manufacturing process variables on *in vitro* dissolution characteristics of extended release tablets formulated with hydroxypropylmethylcellulose [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2003, 29(1): 791.
- [9] 林晓,陈济民. 水溶性药物骨架片释放达零级的几种方法[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(3): 192.
- [10] 秦婷婷,姚静,周建平. 溶胀型骨架片释药机制及其模型研究综述[J]. 药学进展, 2007, 31(4): 159.
- [11] 徐翔,田国祥,许东航,等. 不同 pH 的溶出介质对 HPMC 骨架片释药的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(2): 108.

[收稿日期] 2009-10-24

[修回日期] 2009-12-27