

# 罗替戈汀微球体外释放度的检查方法

左朋礼 王爱萍 刘万卉<sup>①</sup>

(烟台大学药学院 山东省烟台市清泉路 32 号 264005)

**摘要** 分别采用摇床法和流通池法测定罗替戈汀微球的体外释放度, 并通过与体内药动学曲线拟合进行选择。结果表明, 摇床法和流通池法测定的体外释放度均与体内吸收具有明显相关性, 相关系数  $r$  分别为 0.9937 和 0.9978, 且流通池法可检测到微球存在的较小突释。摇床法和流通池法均可用于罗替戈汀微球的体外释放度检查, 流通池法作为一种新型溶出度检测方法, 对指导处方筛选有较大意义。

**关键词** 罗替戈汀微球; 释放度; 摇床法; 流通池法

中图分类号: O657.7<sup>+</sup> 2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)04-2025-03

## 1 引言

体外释放度是缓控释制剂处方筛选及进行质量控制的重要指标, 分析方法有浆法和转篮法<sup>[1]</sup>, 但国内外尚无长效缓释微球制剂体外释放度检查标准分析方法。目前文献中长效缓释微球研究常用摇床法作为释放度测定的方法<sup>[2,3]</sup>, 上市产品利培酮微球等均采用此法。流通池法是一种新的缓释制剂释放度测定方法, 由于能模拟体液的流动性质, 在植入剂和微球<sup>[4]</sup>等新剂型的研究和质量控制中有广泛的应用前景。

本文分别采用摇床法和流通池法开展了微球制剂的体外释放度研究, 对两种方法用于罗替戈汀体外释放度检查的结果进行了比较, 并与体内释放结果做相关性考察, 旨在建立罗替戈汀微球的体外释放度测定方法, 为处方筛选及产品质量控制提供依据。

## 2 实验部分

### 2.1 实验材料

#### 2.1.1 试药

罗替戈汀微球(山东绿叶制药有限公司, 载药量 24.0%); 罗替戈汀对照品(山东绿叶制药有限公司, 纯度 99.50%); 乙腈为色谱纯; 磷酸为分析纯。实验用水为去离子水。

#### 2.1.2 仪器

Agilent-1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); SOTAX CE7 Offline 流通池溶出度仪(瑞士 Sotax 公司); HZS-H 水浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司); 飞鸽牌 Anke DL-4000B 低速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

① 联系人, 电话: (0535) 6903046; (0535) 6906066; E-mail: wanhui@ytu.edu.com

作者简介: 左朋礼(1968—), 男, 山东省临沂市人, 在读硕士, 主要从事药物化学研究工作。

收稿日期: 2011-03-28; 接受日期: 2011-04-13

## 2.2 体外释放度检查

### 2.2.1 摇床法

取微球样品约 6mg, 准确称定, 分别置于 10mL 具塞离心管中, 加入含 0.1mol/L 的十二烷基硫酸钠(SDS) 的 pH7.4 磷酸盐缓冲液 9.0mL, 振荡至混悬均匀后, 置  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  的水浴振荡器中, 以  $50 \pm 3\text{r/min}$  的速度振荡, 于设定的时间点取出离心管, 在  $4-10^{\circ}\text{C}$  下, 以  $3600\text{r/min}$  的转速离心 15min. 待离心结束后, 取上清液 6.0mL 作为供试品溶液, 同时补充同温同体积的释放介质, 混悬均匀后放回水浴振荡器中振荡。

### 2.2.2 流通池法

取微球样品约 10mg, 准确称定, 置于锥形部装满 1mm 玻璃珠的流通池内, 使溶出介质在流通池内以层流方式流动, 以脱气处理的含 0.1mol/L SDS 的 pH 7.4 的磷酸盐缓冲溶液 50mL 为释放介质, 活塞泵流速  $8\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 温度  $37^{\circ}\text{C}$ , 启动 CY7-50 活塞泵, 自溶出介质浸过样品时开始计时, 于设定的时间点取样 10mL( 同时补充等温等体积的释放介质), 过滤得供试品溶液。

## 2.3 释放介质中罗替戈汀含量的测定

采用高效液相色谱法(HPLC)测定供试品溶液中罗替戈汀的含量。色谱条件如下: 色谱柱: Agilent TC-C18 柱( $4.6\text{mm} \times 250\text{mm}$ ,  $5\mu\text{m}$ ), 柱温为  $35^{\circ}\text{C}$ , 流动相为 0.2% 磷酸水溶液-乙腈(66:34), 流速  $1\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长 230nm, 进样量  $20\mu\text{L}$ 。罗替戈汀在 0.0010—0.10mg/mL 的浓度范围内与峰面积 A 具有良好的线性关系, 校准曲线的回归方程为:  $A = 45545C + 25.269$ ,  $r = 0.9999$ 。所建立的 HPLC 适合于罗替戈汀微球的释放度检查法的测定。

## 2.4 体内释放度检查

大鼠肌内注射给予罗替戈汀微球, 剂量为  $5.0\text{mg/kg}$ , 共 6 只, 雌雄各半。给药后于设定时间经大鼠眼球后静脉丛取血 0.25mL, 置于肝素化试管中,  $4000\text{r/min}$  离心 10min, 分离血浆,  $-35^{\circ}\text{C}$  保存待测。采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析方法, 测定血浆中罗替戈汀的浓度。

# 3 结果与讨论

## 3.1 体外释放度测定结果

摇床法和流通池法测定罗替戈汀微球的体外释放度结果分别见图 1 和图 2。

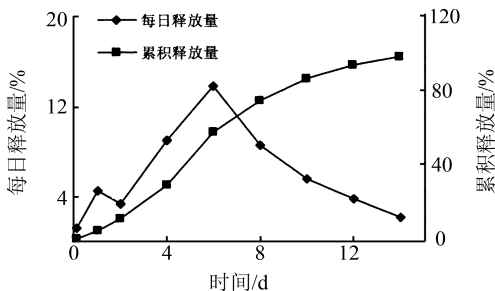


图 1 摇床法测定罗替戈汀微球的体外释放度结果

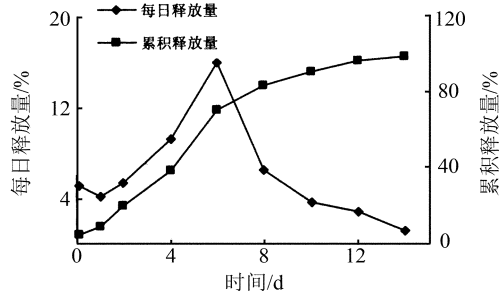


图 2 流通池法测定罗替戈汀微球的体外释放度结果

由图 1 和 2 可以看出, 摇床法和流通池法测定的罗替戈汀微球体外累积释放曲线相似, 罗替戈汀微球可持续平稳释药 14d, 表明罗替戈汀微球具有明显的长周期缓释特征。图 2 显示 3h 时微球的释放量约为 6%, 提示罗替戈汀微球有一个较小的突释。图 1 未能检测到微球存在的突释。

## 3.2 体内释放度结果

大鼠给药后平均血药浓度随时间变化的曲线如图 3 所示。从图中可以看出, 给药后罗替戈汀在大鼠体内有一个小的突释, 然后药物持续释放。12d、14d 后血浆中仍可检测到罗替戈汀制剂呈显著

的长周期缓释特征。

### 3.3 体内外相关性研究

根据体内血药浓度-时间曲线的数据, 以 Wagner-Nelson 方程计算换算成体内吸收百分率, 并以体内吸收百分率( $x$ )为横坐标、体外累积释放度( $y$ )为纵坐标进行线性回归, 得回归方程分别为: 摇床法  $y = 0.9837x - 6.265 (r = 0.9937)$ , 流通池法  $y = 0.9753x + 0.2361 (r = 0.9978)$ , 相关系数  $r$  均大于临界相关系数(0.99116,  $P < 0.001$ )。

### 3.4 讨论

摇床法和流通池法测定体外释放结果与体内相关性较好, 说明二者均可用于罗替戈汀微球的体外释放度考察。但流通池法能检测到罗替戈汀微球存在的较小的突释, 与体内释药特点相一致。通常微球制剂的突释越小, 安全性越高。流通池法较摇床法能够更准确的描述罗替戈汀微球的释药特性。但是流通池法仪器价格昂贵, 且一台仪器只有 7 个通道, 只能同时进行 7 个平行样品的测定, 通量小; 而摇床法, 仪器便宜, 且一台仪器可同时进行数百个平行样品的测定, 通量大。因此本文选用摇床法作为罗替戈汀微球的处方筛选和质量控制方法, 而流通池法则作为罗替戈汀微球关键处方的体外释放度测定方法。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 85—89.
- [2] Mu L, Feng S S. Fabrication, Characterization and In Vitro Release of Paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>) Loaded Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Microspheres Prepared by Spray Drying Technique with Lipid/ Cholesterol Emulsifiers[J]. *Journal of Controlled Release*, 2001, **76** (3): 239—254.
- [3] Andreas B S, Egger C, Imam M E *et al.* Preparation and In Vitro Characterization of Poly-(Acrylic Acid)-Cysteine Microparticles [J]. *Journal of Controlled Release*, 2003, **93**(1): 29—38.
- [4] Zolnik B S, Burgess D J. Evaluation of In Vivo-In Vitro Release of Dexamethasone from PLGA Microspheres[J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, **127**(2): 137—145.

## Method for *In Vitro* Release of Rotigotine Microspheres

ZUO Peng-Li WANG Ai-Ping LIU Wan-Hui

(School of Pharmacy, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, P. R. China)

**Abstract** *In vitro* release of rotigotine microspheres were carried out according to orbital shaker bath method and flow-through cell method, and it was determined by *in vitro-in vivo* correlations. *In vitro* release obtained by the orbital shaker bath method and flow-through cell method both had good correlation with *in vivo* absorption, the correlation coefficients were 0.9937 and 0.9978, respectively. And a small initial burst was detected by the flow-through cell method. The orbital shaker bath method and flow-through cell method can both be used to determine the *in vitro* release of rotigotine microspheres. The flow-through cell method, as a new method, give more significant results for formulation screening.

**Key words** Rotigotine Microspheres; Release; Orbital Shaker Bath Method; Flow-Through Cell

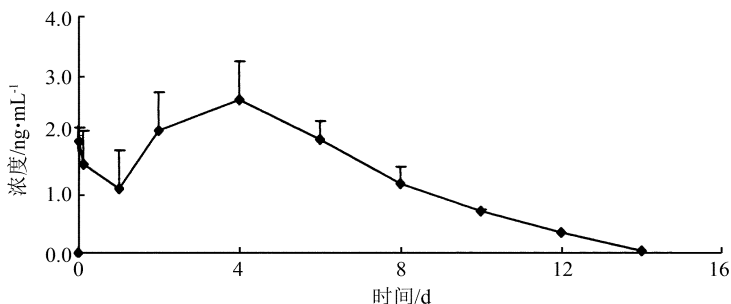


图 3 大鼠平均血药浓度-时间曲线