

文章编号: (2011)02-0030-08

酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸的制备及 Beagle 犬体内药动学研究

余超, 邹梅娟, 史一杰, 程刚*

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 制备酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸, 并对脉冲控释微丸在 Beagle 犬体内的药动学进行研究。**方法** 采用挤出-滚圆法制备载药丸芯, 以水溶胀性材料 CCNa (交联羧甲基纤维素钠) 为内包衣溶胀层, 以乙基纤维素水分散体 Surelease 为外包衣控释层制备酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸; 对 6 条 Beagle 犬进行双制剂双周期交叉试验, 利用高效液相色谱法测定血浆中的药物浓度, 用 DAS 2.0 统计软件计算相关药动学参数。**结果** 所制备的脉冲控释微丸体外释药时滞为 4 h, 时滞后 2.1 h 累积释药量大于 80%(w); 脉冲控释微丸在 Beagle 犬体内的时滞为 3.2 h, 达峰时间为 5.6 h, 可起到延迟释药和短程缓释的作用。

关键词: 药剂学; 酒石酸美托洛尔; 脉冲控释微丸; 药动学; 高效液相色谱

中图分类号: R 94 **文献标志码:** A

酒石酸美托洛尔(metoprolol tartrate, MT)是一种极易溶解于水的药物,其经口给药吸收迅速完全,吸收率大于 90%,首过效应为 25%~60%,故生物利用度仅为 40%~75%,它是无部分激动活性的 β_1 -受体阻断药(即 2A 类心脏选择性 β -受体阻断药),临床上广泛用于心绞痛、高血压等心血管疾病的治疗^[1]。时辰药理学研究表明,心血管疾病的发作具有“日高夜低”及明显低谷与高峰的特征。心绞痛是冠状动脉供血不足,心肌急剧的、暂时的缺血与缺氧所引起的临床综合征,其发作的昼夜节律高峰时段为上午 6~12 时^[2]。因此,要想有效地预防和治疗心绞痛,如能在凌晨给药,治疗效果最佳,但此时用药多有不便;如在睡前给药,凌晨释放药物发挥疗效,则能实现在最佳时间释放药物,从而达到最佳疗效和最小不良反应的目的。脉冲控释制剂是一种服用后不会立即释药,当到达治疗时机时却能爆破式释药的给药系统,非常适合心绞痛等具有昼夜节律特点的疾病的的治疗。因此本文作者以酒石酸美托洛尔为模型药物,采用双层膜时控-崩解的方法制备其脉冲控释微丸,以用药后 4 h、7 h 两点的累积释放量作为评价指标(实验设定累积释放度合格标准分别为 4 h \leq 10%、7 h \geq 80%)考察脉冲控释微丸的药物释放,并对制备的脉冲控释微丸进行了 Beagle 犬体内药动学研究。

1 仪器与材料

JASCO-PU158 型高效液相色谱仪(日本分光公司);UV-2000 型紫外-可见分光光度计(美国 Unico 公司);JBZ-300 型多功能微丸包衣造粒机(辽宁医联新药技术研究所);ZRD6-B 型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器厂);JHQ-100 型流化沸腾颗粒包衣机(辽宁医联新药技术研究所);SLJ-II 电动离心机(沈阳市理化仪器厂);YKH-II 液体快速混合器(江西电动机械厂)。

收稿日期: 2010-08-06

作者简介: 余超(1985-),女(汉族),四川乐山人,硕士研究生, E-mail yuchaoxiaomao@sina.com;程刚(1963-),男(汉族),辽宁康平人,教授,博士,博士生导师,主要从事药剂学研究, Tel. 024-23986326, E-mail chenggang63@hotmail.com。

酒石酸美托洛尔(MT, 上海定康医药化工有限公司, 批号: 081201); 微晶纤维素(MCC, 常熟市药用辅料有限公司); 交联羧甲基纤维素钠(CCNa, Ac-Di-Sol[®], 美国 FMC 公司); 羟丙基甲基纤维素(HPMC, 上海卡乐康包衣技术有限公司); 乙基纤维素水分散体(Surelease, 上海卡乐康包衣技术有限公司); 甲醇(色谱纯, 山东禹王化工有限公司); 乙腈(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); 三乙胺、磷酸(山东禹王化工有限公司); 酒石酸美托洛尔片(参比制剂, 阿斯利康制药有限公司, 批号 0911103, 规格: 50 mg)。

健康 Beagle 犬 6 只, 由沈阳药科大学实验动物中心提供, 雌雄各半, 体质量(11±2) kg。

2 方法与结果

2.1 脉冲控释微丸的研制

2.1.1 载药丸芯的制备

将过 80 目(0.18 mm)筛的酒石酸美托洛尔和微晶纤维素按质量比 3:7 混合均匀, 加入适量的水制成软材, 在挤出速度为 35 r·min⁻¹、滚圆速度为 1 200 r·min⁻¹、滚圆时间为 5 min 的条件下制备湿颗粒, 制得的湿颗粒在 40 °C 下干燥 12 h。筛分 18~24 目(0.80~1.00 mm)的颗粒, 即得载药丸芯。

2.1.2 脉冲控释微丸的制备

取上述载药丸芯置于流化床中, 出口温度为 (38 ± 2) °C, 喷液速率为 0.8 mL·min⁻¹, 鼓风机频率为 33 Hz, 以底喷方式进行喷液包衣。将 CCNa (Ac-Di-Sol[®], 质量浓度为 5 g·L⁻¹)与 HPMC(黏合剂, 质量浓度为 1 g·L⁻¹)分散于水中作为内层(溶胀层)包衣液, 包衣增重为 45%(w), 乙基纤维素水分散体 Surelease[固含量为 15%(w)]为外层(控释层)包衣液, 包衣增重为 28%(w), 每次包衣结束后流化干燥 15 min, 包衣完成后置 40 °C 烘箱中干燥 2 h, 即得酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸。

2.2 体外释放度的测定

按《中华人民共和国药典》2005 版二部附录 XD 释放度测定法第二法, 采用溶出度测定法第一法装置。精密称取适量微丸(含 MT 100 mg)于转篮中, 转速为 100 r·min⁻¹, 介质温度为 (37±0.5) °C。释放介质在前 2 h 为 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 750 mL, 2 h 后加入 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸钠溶液 250 mL, 调 pH 值为 6.8。在预定的时间间隔内取样 10 mL, 取续滤液在 274 nm 处测定吸光度, 并即时在溶出杯中补充释放介质 10 mL。每个批次样品做 3 个平行实验, 取各组的平均值计算不同时间的累积释放率。

2.3 体外释药影响因素考察

2.3.1 溶胀层包衣材料的类型对药物释放的影响

固定控释层包衣增重为 20%(w), 分别用 CCNa 和 L-HPC(低取代羟丙基纤维素)为溶胀层材料, 包衣增重为 20%(w), 制备酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸, 进行释放度的测定, 结果见图 1。结果表明, CCNa 吸水后的溶胀效果优于 L-HPC, 在一定的时滞后能迅速完全的将药物释放出来, 这与文献[3]报道的结论一致, 故选择 CCNa 作为溶胀层材料。

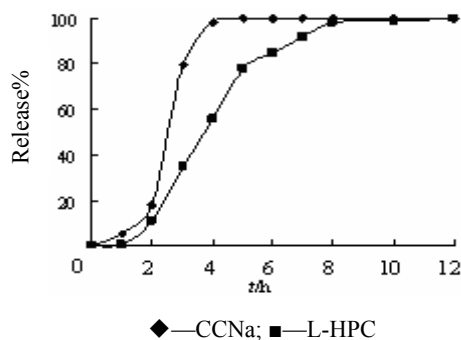


Fig.1 Effect of types of material in the swelling layer on the release profiles

2.3.2 溶胀层包衣增重对药物释放的影响

保持外层控释层包衣增重为 25%(w), 改变内层 CCNa 的包衣增重, 使其分别增重 10%、20%、25%、30%、50%(w), 考察溶胀层包衣增重对药物释放的影响, 结果见图 2。结果表明, 当控释层包衣增重一定时, 随着溶胀层包衣增重的增加, 释药时滞会增大; 当溶胀层增重达到一定程度(30%)后, 再增加其厚度, 释药速率会有所减慢。为了在一定的时滞后使药物迅速完全地释放, 对于水溶性较好的药物来讲, 所需要的溶胀层包衣增重会比较大^[4]。

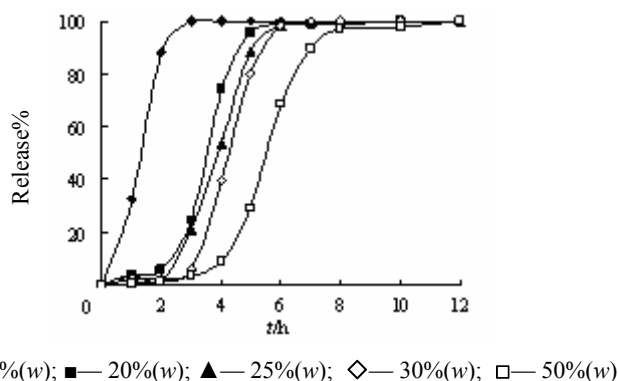


Fig.2 Effect of coating level of the swelling layer on the release profiles

2.3.3 控释层包衣增重对药物释放的影响

固定溶胀层包衣增重 20%(w)不变, 改变控释层包衣增重, 使其分别增重 20%、25%、30%、40%(w), 制备酒石酸美托洛尔延迟-速释微丸, 考察控释层包衣增重对药物释放的影响, 结果见图 3。结果表明, 当溶胀层的包衣增重一定时, 随着控释层厚度的增加, 微丸的释药时滞延长, 释药速率减慢; 当控释层包衣增重为 40%(w)时, 药物的释放变得极其缓慢, 可能是由于此时外层衣膜太厚水分难以渗透至内层所致。

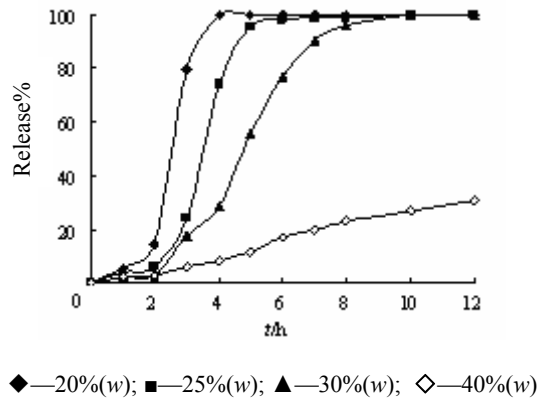


Fig.3 Effect of coating level of the controlling layer on the release profiles

2.3.4 转速对药物释放的影响

将制得的同一批脉冲控释微丸, 按照《中华人民共和国药典》2005 版二部附录 XC 释放度测定法第一法装置进行释放度试验, 转速分别为 50、100、150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 考察转速对药物释放的影响, 结果见图 4。由图 4 可见, 转速对药物的释放影响较小。

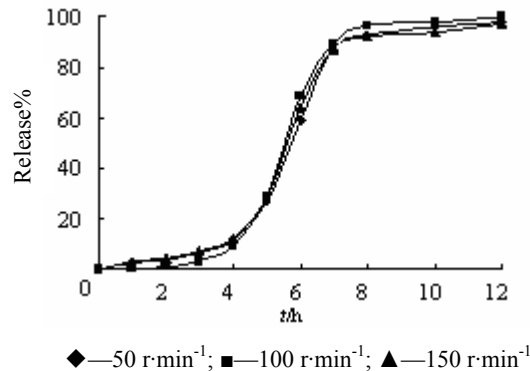


Fig.4 Effect of rotation speed on the release profiles

2.3.5 释放介质的 pH 值对药物释放的影响

将制得的同一批次的脉冲控释微丸, 分别在 $\text{pH}=1.2$ 的盐酸溶液和 $\text{pH}=6.8$ 的磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 中测定释放度, 结果见图 5。试验结果表明, 随着释放介质 pH 值的降低, 微丸的时滞延长, 释药速率减慢。这是由于 CCNa 中含有羧基, 在酸性环境中该基团为非离子化状态, 导致其吸水及膨胀性降低, 因此, 释药时滞延长, 释药速率减慢。

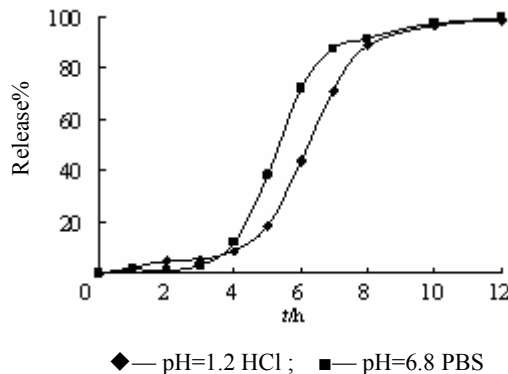


Fig.5 Effect of different media on the release profiles

2.4 微丸在 Beagle 犬体内药动学研究

2.4.1 色谱条件的选择

参照文献[5]的色谱条件进行含量测定。色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-三乙胺(体积比 23:77:0.2, 用磷酸调 pH 值为 3.0); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 274 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 30 μL。

2.4.2 储备液的配制

标准储备液: 精密称取干燥至恒重的酒石酸美托洛尔原料药 100 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制成 1 g·L⁻¹ 的酒石酸美托洛尔标准储备液, 置于 4 °C 冰箱中储存备用。

内标储备液: 精密称取干燥至恒重的盐酸普萘洛尔适量, 用甲醇配制成 50 mg·L⁻¹ 的溶液, 置于 4 °C 冰箱中储存备用。

2.4.3 血浆样品的处理和测定

精密吸取血浆 1 mL 置于 10 mL 具塞离心试管中, 加内标盐酸普萘洛尔甲醇溶液(50 mg·L⁻¹)10 μL 和 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 100 μL, 涡旋混匀 30 s, 加入 3 mL 乙醚-二氯甲烷(体积比 3:2), 涡旋提取 5 min, 于 3 000 r·min⁻¹ 转速下离心 10 min, 定量吸取有机层 2.5 mL 放入另一洁净玻璃试管中, 置于 40 °C 恒温水浴中用氮气吹干, 残渣加甲醇 100 μL 涡旋 30 s, 复溶后精密吸取 30 μL 注入高效液相色谱仪中。

2.4.4 标准曲线的绘制

精密量取酒石酸美托洛尔标准储备液(1 g·L⁻¹), 用蒸馏水分别稀释成质量浓度为 2.5、5、10、20、40、100、250 mg·L⁻¹ 的系列标准溶液。

精密吸取空白血浆 1 mL, 置于 10 mL 具塞离心试管中, 分别加入酒石酸美托洛尔系列浓度标准溶液 10 μL 模拟血浆样品, 使血浆中的药物质量浓度分别为 0.025、0.05、0.1、0.2、0.4、1、2.5 mg·L⁻¹, 按“血浆样品的处理和测定”项下操作, 以酒石酸美托洛尔与内标物的峰面积比(A_S/A_I) 对标准血药质量浓度 c (mg·L⁻¹)作图, 以加权最小二乘法进行回归计算, 权重因子设为 $1/c^2$, 得到校正标准曲线方程: $A_S/A_I = 0.4714c + 0.0383$, $r = 0.9981$ 。结果表明, 在 0.025 ~ 2.5 mg·L⁻¹ 的质量浓度范围内, 酒石酸美托洛尔与内标物峰面积的比值与质量浓度的线性关系良好。

2.4.5 给药方案的确定及血样的采集

采用两制剂两周期交叉试验设计, 取健康 Beagle 犬 6 只, 随机分为两组, 实验前禁食 12 h, 实验当天分别给予市售参比制剂及自制受试制剂各相当于主药 100 mg, 两次给药间隔为一周。实验前, 在 Beagle 犬前肢静脉处安置一支 20 G 的留滞针, 给药前取空白血样, 市售参比制剂于每次给药后 0.25、0.5、1、1.25、1.5、2、2.5、3、4、6、8、10、12 h 取血 3 mL, 受试制剂于每次给药后 1、2、3、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、10、12、14 h 取血 3 mL, 置于涂有肝素的采血管中, 以 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取出上层血浆, 置于 -20 °C 的冰箱中保存待测。

2.4.6 数据处理

采用统计矩的非隔室动力学理论对 6 只 Beagle 犬的血药浓度数据进行处理。其中峰质量浓度 c_{\max}

($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和达峰时间 t_{\max} (h)均采用实测值, 其他参数通过 DAS 2.0 统计软件求算。平均血药质量浓度-时间曲线见图 6 所示。参比制剂与受试制剂的主要药动学参数见表 1。结果表明, 与参比制剂相比, 自制酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸的 T_{lag} 和 t_{\max} 显著延迟, c_{\max} 显著降低, 说明自制酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸可以在体内起到延迟释放的目的, 其在体内的时滞时间为 3.2 h。

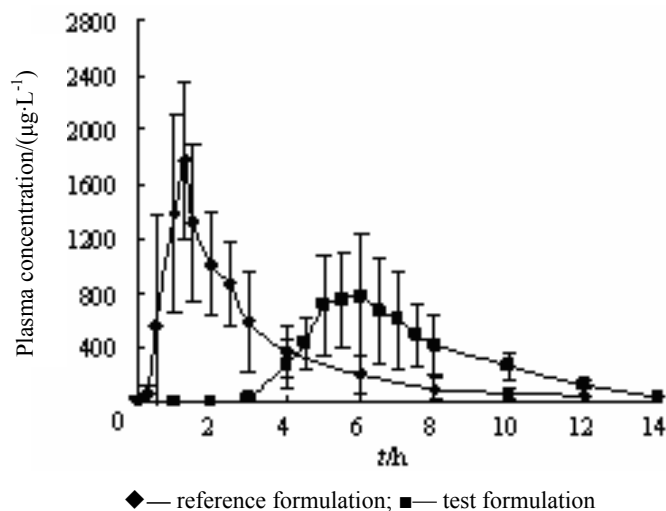


Fig.6 Plasma concentration-time profiles of MT in Beagle dogs after oral administration of test and reference formulation ($n=6$)

Table 1 The main pharmacokinetic parameters after oral administration of reference and test formulation in Beagle dogs ($n=6$)

Parameter	Test formulation	Reference formulation
t_{\max}/h	5.63	1.25
$c_{\max}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	830.47	1 775.26
$k_e/(\text{h}^{-1})$	0.35	0.44
$t_{1/2}/\text{h}$	2.07	1.59
$\text{AUC}_{0\rightarrow t}/(\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 811.81	4 294.34
$\text{AUC}_{0\rightarrow\infty}/(\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 904.58	4 406.75
$\text{MRT}_{0\rightarrow t}/\text{h}$	7.15	2.81
T_{lag}/h	3.21	0.22

生物利用度是衡量药物吸收速度和程度的综合参数, 是评价药物制剂质量的重要指标。以统计结果中的药-时曲线下面积计算市售参比制剂与自制酒石酸美托洛尔延迟-速释微丸的相对生物利用度, 相对生物利用度的计算公式: $Fr(\%) = \frac{\text{AUC}_{(T)} / \text{Dose}_{(T)}}{\text{AUC}_{(R)} / \text{Dose}_{(R)}} \times 100\%$ 。

式中, T-受试制剂; R-参比制剂。相对生物利用度用各 Beagle 犬的 $\text{AUC}_{0\rightarrow t}$ 计算, 并求其平均值和标准差。结果判定以 $\text{AUC}_{0\rightarrow t}$ 为主, 参考 $\text{AUC}_{0\rightarrow\infty}$ 。并且在方差分析的基础上对 $\text{AUC}_{0\rightarrow t}$ 进行双侧 t 检验。结果表明, 与市售参比制剂相比, 自制酒石酸美托洛尔延迟-速释微丸的相对生物利用

度为(92.8 ±12.3)%, 自制受试制剂与参比制剂吸收程度生物等效, 其 90%置信区间为 82.7%~102.6%。

3 结论

本文采用包双层衣膜的方式制备脉冲控释酒石酸美托洛尔微丸, 该系统的释药机制是: 水分缓慢通过控释层而引起溶胀层吸水膨胀, 达到一定程度后产生足够的压力使控释膜破裂, 从而触发药物的大量释放。酒石酸美托洛尔属于弱碱性药物, 在碱性环境中非解离型所占比例较大, 易被有机溶剂提取。实验中用 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液碱化血浆后, 以乙醚-二氯甲烷(体积比 3:2) 作为提取剂, 提取回收率较高, 重现性良好。现有的文献多用高效液相色谱-荧光检测法测定体内酒石酸美托洛尔的血药浓度, 用高效液相色谱-紫外检测法的较少。本文建立了紫外高效液相色谱法测定血浆中酒石酸美托洛尔含量的方法, 采用乙醚-二氯甲烷(体积比 3:2) 的混合溶剂作为提取剂, 提取回收率较高, 最低检测限为 25 μg·L⁻¹, 方法专属性和灵敏度较高, 为药物的处方研究及体内药动学的研究提供了可靠的分析方法。根据体内药动学实验结果, 可以初步判断自制酒石酸美托洛尔脉冲控释微丸可在体内延迟释药, 并且在体内起到短程缓释的作用, 达到了实验预期的设计目的。

参考文献:

- [1] 马培奇. 心血管疾病治疗药物的发展现状及其研发动态[J]. 中国制药信息, 2001, 8(17): 1-6.
- [2] 顾东风. 心血管病预防的现状和展望[J]. 中华预防医学杂志, 2003, 2(37): 75-76.
- [3] BUSSEMER T, PEPPAS N A, BODMEIER R. Evaluation of the swelling, hydration and rupturing properties of the swelling layer of a rupturable pulsatile drug delivery system[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2003, 56(2): 261-270.
- [4] DASHEVSKY A, MOHAMAD A. Development of pulsatile multiparticulate drug delivery system coated with aqueous dispersion Aquacoat® ECD[J]. Int J Pharm, 2006, 318(1/2): 124-131.
- [5] AL-S Aidan S M, KRISHNAIAH Y S, SATYANARAYANA V, et al. Pharmacokinetic evaluation of guar gum-based three-layer matrix tablets for oral controlled delivery of highly soluble metoprolol tartrate as a model drug[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2004, 58(3): 697-703.

Preparation of metoprolol tartrate pulsatile controlled-release pellets and its pharmacokinetics in Beagle dogs

YU Chao, ZOU Mei-juan, SHI Yi-jie, CHENG Gang*

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To prepare metoprolol tartrate pulsatile controlled-release pellets and study its pharmacokinetics in Beagle dogs. **Methods** The pellets prepared by extrusion-spheronization technology were coated with CCNa as swelling layer and with ethylcellulose aqueous dispersion as controlled release layer. Drug concentration in the plasma after taking the test and reference samples was determined by HPLC method and pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 software. **Results** The lag time

of drug release *in vitro* was 4 h and the accumulative drug release was over 80% in 2.1 h after lag time. In contrast, the lag time *in vivo* was 3.2 h and t_{\max} was 5.6 h. The test formulation was shown to have delayed-release property with extended-release in a short period of time *in vivo*.

Key words: pharmaceuticals; metoprolol tartrate; pulsatile controlled-release pellets; pharmacokinetics; HPLC

(本篇责任编辑：秦 昕)