

伏立诺他胶囊的制备及其稳定性考察

陈钦伟*, 归小龙, 安富荣, 崔 岚, 王 勤*(上海交通大学医学院附属仁济医院药剂科, 上海 200001)

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3126-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.19

摘要 目的:制备伏立诺他胶囊并考察其稳定性。方法:用研磨法制备伏立诺他微粉,测定其粒径,并以差示扫描量热仪(DSC)和粉末X射线衍射(XRD)法检测晶型的变化,测定研磨前后堆密度和休止角以考察微粉的流动性。将伏立诺他微粉与微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁混合后直接填充制备成伏立诺他胶囊。采用高效液相色谱法测定主药含量、有关物质和60 min内的累积溶出度。考察高温(60℃)、高湿(相对湿度92%)和强光(4 500 lx)条件下放置10 d的稳定性。结果:研磨后伏立诺他的粒径从11 μm减小到3 μm;126℃的吸热峰消失,晶型改变;堆密度从0.24 g/ml增加到0.31 g/ml;休止角从40°减小到36°;每粒胶囊平均装量为215 mg,每粒胶囊装量偏差RSD=3.96%(n=20);含量为(100.17±1.48)%,有关物质为(0.41±0.08)%,60 min内的累积溶出度约为90%,在高温、高湿、强光下各检测指标变化不大。结论:研磨法成功制备了伏立诺他胶囊,其稳定性良好。
关键词 制备;伏立诺他;胶囊;稳定性;研磨;溶出度

Investigation of the Preparation and Stability of Vorinostat Capsule

CHEN Qin-wei, GUI Xiao-long, AN Fu-rong, CUI Lan, WANG Qin (Dept. of Pharmacy, Renji Hospital Affiliated to College of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Vorinostat capsules and to investigate its stability. METHODS: Vorinostat micropowder was prepared with grinding. The particle size of micropowder was determined. The crystal forms were tested by DSC and XRD. Bulk density and angle of repose of micropowder were tested to investigate the flowability of micropowder. The vorinostat micropowder, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl starch and magnesium stearate were mixed and filled into capsules. The contents of main component, related substance and accumulative dissolution within 60 min were determined by HPLC. The stability of the product was investigated in some intensive conditions such as temperature of 60℃, relative humidity of 92% and light of 4500 lx for 10 days, respectively. RESULTS: After grinding, the particle size of vorinostat decreased from 11 μm to 3 μm; endothermic peak disappeared at 126℃, and crystal form changed; bulk density increased from 0.24 g/ml to 0.31 g/ml and angle of repose decreased from 40° to 36°; average amount of each capsule was 215 mg, and RSD of amount deviation of each capsule was 3.96% (n=20); the content of capsule was (100.17±1.48)%, and relevant substance was (0.41±0.08)%; accumulative dissolution was 90% within 60 min, and the index had no significant change under high temperature, high moisture and high light. CONCLUSIONS: Vorinostat capsule has been prepared by grinding successfully with good stability.

KEY WORDS Preparation; Vorinostat; Capsule; Stability; Grinding; Dissolution rate

伏立诺他(Vorinostat)是默克公司开发的第一个能抑制组蛋白去乙酰基酶(HDAC)的小分子靶向抗癌药。抑制HDAC活化可使乙酰基积聚于组蛋白酪氨酸残基上,从而使染色质结构解聚和转录激活,引起乙酰化组蛋白聚集和细胞周期停滞的变异细胞凋亡^[1]。2006年美国FDA批准伏立诺他上市,用于治疗经2种全身治疗方案后仍发生进展、耐药或复发的明显侵犯皮肤的T细胞淋巴瘤(CTCL)。2010年和2011年,欧洲药品管理局(EMA)批准此药作为孤儿药治疗恶性间皮细胞瘤和多发性骨髓瘤。2012年发现伏立诺他能诱导出被人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的休眠细胞中病毒基因的表达,因此其临床应用受到越来越多的关注^[2]。

伏立诺他难溶于水,酸度系数(pKa)为9.2。增加难溶性药物溶出的方法有很多,常用的包括成盐、采用环糊精包合、制成固体分散体或自微乳制剂等^[3]。伏立诺他胶囊每粒含主药100 mg,由于每粒胶囊壳的容量有限,能加入的辅料量就不

能太多,因此需要一种辅料用量少、简单有效的增加溶出度的方法制备伏立诺他胶囊。笔者采用研磨法,通过减小伏立诺他原料的粒径,转变晶型,改善伏立诺他的溶出度,同时改善原料的流动性,以制备稳定的伏立诺他胶囊。

伏立诺他的分子式为C₁₄H₂₀N₂O₃,化学结构式见图1。

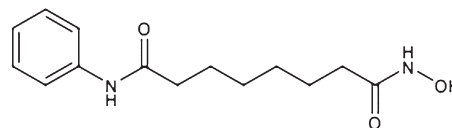


图1 伏立诺他的化学结构

Fig 1 Chemical structure of vorinostat

1 材料

Pulverisette 7 行星式研磨机、Analysette 22 MicroTec Plus 粒度分析仪(德国 Fritsch 公司);Alliance e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);KBF240 恒温恒湿箱(德国 Binder 公司);DSC822e 型差示扫描量热仪(DSC,瑞士 Mettler-Toledo 公司);XRD-600 型粉末衍射仪(日本岛津公司);ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津天大天发科技有限公司)。

* 药师。研究方向:医院药学。电话:021-53882105。E-mail: gww731@163.com

通信作者:主管药师。研究方向:医院药学。电话:021-53882105。E-mail:wq0916@126.com

伏立诺他原料药(济南伟都医药科技有限公司,批号:111001,纯度:99.5%);Avicel PH102微晶纤维素(美国FMC公司,批号:91227c);羧甲基淀粉钠(批号:20110801)、硬脂酸镁(批号:20100502)均为山东曲阜天利辅料有限公司产品。

伏立诺他胶囊(自制,批号:20120201,规格:每粒100 mg,含量:47.2%)。

2 方法与结果

2.1 伏立诺他的研磨

采用行星式研磨机研磨伏立诺他原料药,行星式研磨机的球磨罐内嵌在转盘上,当转盘转动时,球磨罐在绕转盘轴公转的同时又围绕自身轴心自转,作行星式运动。转盘的旋转能产生最高达 $95\times g$ 加速度的离心力,使物料与研磨介质从罐的内壁分开,在自转的条件下,从罐的一侧飞到另一侧,相互撞击,提供足够的能量研磨物料^[4]。本试验采用干磨法,研磨介质为直径3 mm的氧化锆小球,伏立诺他与小球的比例为1:20(m/m)。将物料和氧化锆小球投入研磨罐里,设定转速为500 r/min,研磨时间45 min,经过100目筛网过筛,分离小球和伏立诺他,即得伏立诺他微粉。

2.2 粒径

用粒度分析仪测定研磨前后伏立诺他的粒径,分布见图2。

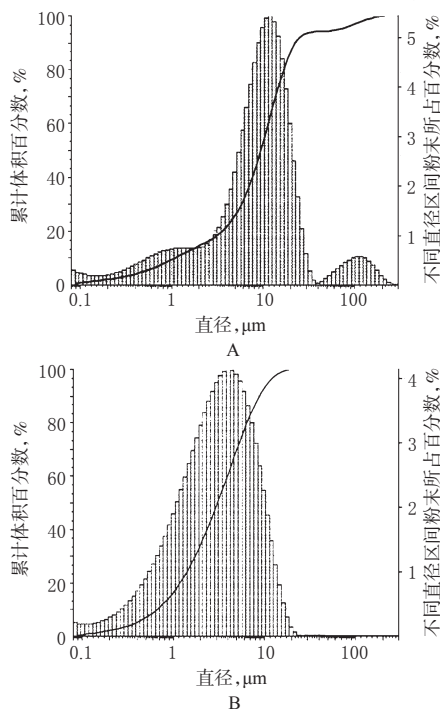


图2 伏立诺他粒径分布

A.原料药;B.微粉

Fig 2 Distribution of particle size of vorinostat

A. raw material; B. micropowder

由图2可见,经过研磨机的研磨,伏立诺他微粉的平均粒径从11 μm 减小到3 μm 。根据Noyes Whitley的扩散理论,减小难溶性药物的粒径,能增加其扩散面积,有利于药物的溶出。

2.3 晶型

根据文献^[5]报道,伏立诺他有5种不同的晶型。不同的晶型可能有着不同的溶出度性质。为了研究研磨前后伏立诺他晶型的变化,用DSC和粉末X射线衍射法(XRD)进行测定。DSC测定时,将药品放入铝坩埚内,以空铝坩埚为参比,以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温,从50 $^{\circ}\text{C}$ 扫描到170 $^{\circ}\text{C}$,结果见图3。

XRD测定时,发散狭缝(DS)和防散射狭缝(SS)设定为 1° ,接受狭缝(RS)为0.3 mm,扫描速度为 $2^{\circ}/\text{min}$,步宽为 0.02° ,扫描范围为 $7\sim 35^{\circ}$,结果见图4。

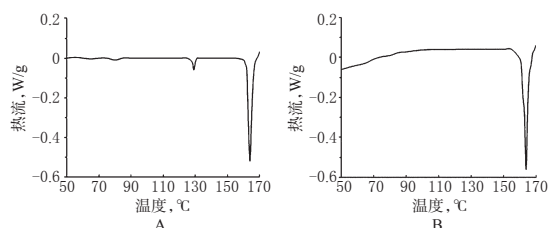


图3 伏立诺他原料药及微粉的差示扫描量热分析图

A.原料药;B.微粉

Fig 3 Differential scanning calorimetry thermograms of vorinostat raw material and micropowder

A. raw material; B. micropowder

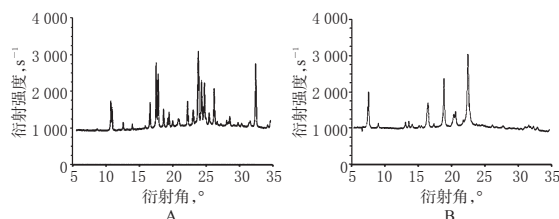


图4 伏立诺他原料药及微粉的X射线衍射图

A.原料药;B.微粉

Fig 4 X-ray diffraction pattern of vorinostat raw material and micropowder

A. raw material; B. micropowder

从图3可见,未研磨前,伏立诺他原料药在126 $^{\circ}\text{C}$ 和163 $^{\circ}\text{C}$ 时有2个吸热峰;研磨后的微粉,126 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热峰消失,根据文献^[5]报道,表明其晶型发生了变化。图4的结果也证实,伏立诺他的晶型在研磨后发生了明显的变化。

2.4 堆密度和休止角

填充胶囊的粉末需足够的流动性,否则会影响胶囊的装量差异。为了考察研磨过程对伏立诺他流动性的影响,分别测定原料药和微粉的堆密度和休止角。取适量的粉末,加入到干燥的量筒中,至体积 V ,称定粉末的质量 M ,其堆密度为 M/V 。另取粉末倒入漏斗中,使其自由落下,在半径为 R 的圆盘上形成高为 H 的圆锥体, $\tan\theta=H/R$, θ 为休止角。经过测定,伏立诺他的堆密度从研磨前的0.24 g/ml增加到研磨后的0.31 g/ml,休止角从 40° 下降为 36° 。一般情况下,粒径的减小会使粉末的流动性变差,但是伏立诺他微粉的堆密度和休止角数据表明,研磨后,伏立诺他微粉的流动性更好。这是因为在行星式研磨机工作时,转盘旋转产生巨大的离心力,使大量的氧化锆小球(伏立诺他与氧化锆小球的质量比为1:20)在研磨罐内撞击、挤压伏立诺他,在粉碎药物的同时,也使伏立诺他粉末变得更加紧实,密度增加,而且粉末的形状变得更加圆整,所以流动性增加。

2.5 填充胶囊

粉末混合后直接填充胶囊。取研磨后的伏立诺他粉末10 g,加微晶纤维素10 g、羧甲基淀粉钠1 g、硬脂酸镁200 mg,混匀,以每粒胶囊100 mg的规格填充至2号胶囊中。每粒胶囊中,伏立诺他的含量约占50%。平均装量为215 mg,每粒胶囊装量偏差 $\text{RSD}=3.96\%$ ($n=20$),说明胶囊内容物的流动性良好。

2.6 溶出曲线

根据伏立诺他胶囊的质量标准,溶出度采用浆法测定。取伏立诺他胶囊置于沉降篮中,溶出介质为2%聚山梨酯80溶液900 ml,温度为(37±0.5)℃,转速为100 r/min,在10、20、30、45、60 min时分别取样,并用新鲜的溶出介质补足900 ml,吸取的溶液经0.45 μm微孔滤膜过滤后,注入高效液相色谱仪测定,计算累积溶出度。另取未经研磨的伏立诺他原料药,制备与伏立诺他胶囊相同处方的对照胶囊,同法测定溶出度。比较2种伏立诺他胶囊的溶出行为。溶出曲线见图5。

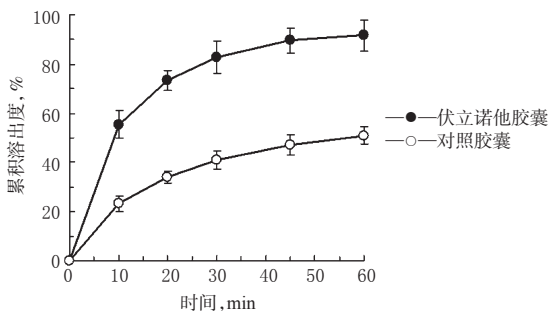


图5 2种伏立诺他胶囊60 min内的体外溶出曲线
Fig 5 Dissolution profiles of 2 kinds of Vorinostat capsules within 60 min *in vitro*

由图5可见,研磨法能明显改善难溶性药物的溶出。从“2.2”和“2.3”项下试验结果可知,研磨后,伏立诺他微粉的粒径减小,有利于药物的溶出。研磨后伏立诺他晶型发生转变,比原晶型有着更好的溶出行为。两者共同的作用,使伏立诺他胶囊的溶出度明显提高。

2.7 含量、有关物质及其稳定性

采用高效液相色谱法^[6]测定伏立诺他的含量及有关物质。

2.7.1 含量测定方法学考察。色谱条件:色谱柱:Zorbax SB C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:水-乙腈(70:30),流速:1 ml/min;检测波长:242 nm;进样量:20 μl;柱温:40℃;检测器:二极管阵列检测器。

相关标准曲线回归方程为 $A=50\ 041c-49\ 986$ ($r=0.999\ 9$),伏立诺他检测质量浓度线性范围为25~300 μg/ml;重复性的RSD=0.74% ($n=5$);日间精密度RSD=1.27% ($n=5$);低(80%)、中(100%)、高(120%)3个浓度下伏立诺他的回收率分别为(99.6±1.28)%、(101.36±1.94)%、(99.66±1.01)% ($n=3$)。

2.7.2 含量、有关物质测定。取伏立诺他胶囊内容物50 mg,置于50 ml的量瓶中,加流动相超声10 min后,放冷定容至刻度,以10 000 r/min的速度离心20 min,取上清液1 ml置于10 ml量瓶中,加流动相定容至刻度,注入色谱仪中测定。按“2.7.1”项下建立的色谱方法,以外标法计算伏立诺他的含量。

取上述方法中离心后的上清液为供试液;取1 ml置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,作为对照液。分别注入色谱仪中,供试品的色谱峰记录至主峰保留时间的3倍。以不加校正因子的自身对照法计算伏立诺他胶囊的有关物质。

为考察研磨过程对伏立诺他的影响,比较了研磨前后伏立诺他的含量及有关物质,结果伏立诺他原料药的含量和有关物质分别为(100.42±2.76)%、(0.37±0.06)%,伏立诺他胶囊的含量和有关物质分别为(100.17±1.48)%、(0.41±0.08)%,表明研磨过程并未影响伏立诺他的含量及有关物质的稳定性。

2.7.3 稳定性考察。为了研究伏立诺他晶型的转变对药物的

化学稳定性以及溶出度的影响,在高温(60℃)、高湿(相对湿度92%)和强光(4 500 lx)的条件下放置10 d,考察伏立诺他胶囊的稳定性,结果见表1。

表1 高温、高湿、强光条件下样品的含量、有关物质及溶出度测定结果(% , $n=6$)

Tab 1 The contents, related substance and dissolution of samples under high temperature, high moisture and high light (% , $n=6$)

条件	含量			有关物质			30 min溶出度		
	0 d	5 d	10 d	0 d	5 d	10 d	0 d	5 d	10 d
高温	100.17±1.48	99.86±1.68	98.74±2.38	0.41±0.08	0.51±0.10	1.21±0.62	80±2.1	79±3.1	81±1.6
高湿	100.17±1.48	100.34±2.51	99.84±3.44	0.41±0.08	0.54±0.38	0.88±0.58	80±2.1	78±3.6	79±2.8
强光	100.17±1.48	99.11±2.58	98.44±2.78	0.41±0.08	0.95±0.26	1.10±0.44	80±2.1	79±4.1	81±3.4

由表1结果可见,在高温、高湿和强光条件下放10 d,胶囊的含量、有关物质和溶出度均无明显变化,稳定性良好。

3 讨论

一般而言,难溶性药物的微粉化经常用气流粉碎,减小药物的粒径以增加其溶出度。但是,气流粉碎减小了药物的粒径,药物的流动性会随之变差,在采用粉末直接压片或填充胶囊时,常常满足不了流动性的要求。笔者采用了行星式研磨机研磨的方式,既减小了粒径,又转变了晶型,达到了改善溶出的目的;同时,药物的流动性也得以提高,适合采取粉末直接填充的工艺,方便了操作。

在研磨过程中采用了氧化锆作为研磨介质,这是因为与常用的研磨介质如玛瑙、不锈钢珠、碳化钨等比较,氧化锆的硬度最高,达到了7.5,是一种高硬度、高强度、高韧性、极高耐磨性及耐化学腐蚀性的材料,最适合用于药物的研磨。同时,在试验中采用转速为500 r/min,研磨时间为45 min,是比较温和的研磨方式,能有效控制研磨介质的磨损。

许多情况下,当药物的晶型转变为亚稳态时,其溶出度以及生物利用度增加,但同时稳定性可能会降低,或者容易在存储过程中变回原来的晶型,使溶出度降低。因此,笔者特别考察了研磨后伏立诺他胶囊在高温、高湿、强光条件下的稳定性。由于伏立诺他胶囊中含有了辅料,因此很难通过直接的方法如DSC来测定伏立诺他在储存过程中晶型的转变,所以笔者通过溶出度检查来检测在这些条件下晶型有无转变。试验证明,伏立诺他胶囊的稳定性良好。

参考文献

- [1] 杨梅.皮肤T细胞淋巴瘤治疗新药伏立诺他[J].中国新药杂志,2010,19(8):646.
- [2] Archin NM, Liberty AL, Knshuba AD, et al. Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy[J]. *Nature*, 2012, 487(7 408): 482.
- [3] 王勤,顾王文.应用纳米技术增加难溶性药物吸收的研究进展[J].药学服务与研究,2009,9(1):48.
- [4] 孙新,周宁生.行星式球磨机[J].中国粉体技术,2001,7(专辑):125.
- [5] Cristina P, Rafael B, Anna D, et al. A cocrystal is the key intermediates for the production of a new polymorph of vorinostat[J]. *CrystEngComm*, 2012, 2(14): 362.
- [6] 肖健.高效液相色谱法测定伏立诺他的含量及有关物质[J].今日药学,2012,22(2):71.

(收稿日期:2012-11-27 修回日期:2013-01-31)