

羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸的制备及体外释放度考察

张祥*, 孙亚楠, 丁启, 刘力, 鲁传华[#](安徽中医药大学药学院, 合肥 230031)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3895-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.18

摘要 目的:制备羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸,并考察其在大鼠体内的药动学特征。方法:以羧甲基玉米朊为肠溶材料,与阿司匹林按2:1混合,加入乙醇作为黏合剂,采用挤压滚圆法制备羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸。以阿司匹林微丸作为参比制剂,考察受试制剂羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸灌胃给予15 mg/kg后在大鼠体内48 h内的药动学特征和4 h(前2 h在人工胃液中,后2 h在人工肠液中)内的体外释放度($n=5$)。结果:所制羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸粒径为1 mm,规格为每丸3 mg。受试制剂与参比制剂的药动学特征均符合二室模型,主要药动学参数分别为 $t_{1/2\beta}$:(12.63±0.60)、(2.42±0.61) h, t_{max} :(11.07±1.10)、(3.41±0.84) h, c_{max} :(34.45±5.33)、(45.78±3.30) μg/ml, $AUC_{0-\infty}$:(613.52±41.14)、(550.69±34.44) μg·h/ml;与参比制剂比较,受试制剂的 $t_{1/2\beta}$ 、 t_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 均明显增加, c_{max} 明显减小($P<0.05$)。参比制剂2 h的累积释放度为87%,受试制剂2 h的累积释放度为1.7%、3 h的累积释放度达100%。结论:成功制得体外释放符合肠溶制剂要求的羧甲基玉米朊阿司匹林肠溶微丸。

关键词 羧甲基玉米朊;阿司匹林;肠溶微丸;药动学;体外释放度

Preparation of Carboxymethyl Zein Aspirin Enteric-coated Pellets and Its Release Rate *in vitro*

ZHANG Xiang, SUN Ya-nan, DING Qi, LIU Li, LU Chuan-hua (School of Pharmacy, Anhui University of TCM, Hefei 230031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Carboxymethyl zein aspirin enteric-coated pellets, and to investigate pharmacokinetic characteristics of it in rats. METHODS: Carboxymethyl zein was used as enteric-coated material and mixed with aspirin with ratio of 2:1 using ethanol as adhesive. Carboxymethyl zein aspirin enteric-coated pellets were prepared by extrusion spherulization method. Using Aspirin pellets as reference preparation, 48 h pharmacokinetic characteristic and 4 h *in vitro* drug release of Carboxymethyl zein aspirin enteric-coated pellets as test preparation were investigated in rats after intragastric administration of test preparation 15 mg/kg ($n=5$). RESULTS: Prepared pellets was 1 mm in particle size and 3 mg/pellet in specification. The pharmacokinetics of both reference and test preparations were in line with two-compartment model. Main pharmacokinetic parameters of reference preparations vs. test preparations: $t_{1/2\beta}$: (12.63±0.60) h vs. (2.42±0.61) h; t_{max} : (11.07±1.10) h vs. (3.41±0.84) h; c_{max} : (34.45±5.33) μg/ml vs. (45.78±3.30) μg/ml; $AUC_{0-\infty}$: (613.52±41.14) μg·h/ml vs. (550.69±34.44) μg·h/ml. Compared with reference preparation, $t_{1/2\beta}$, t_{max} and $AUC_{0-\infty}$ of test preparation increased significantly, while c_{max} decreased greatly ($P<0.05$). 2 h accumulative release rate of reference and test preparation were 87% and 1.7%, and test preparation was released completely within 3 h. CONCLUSIONS: Prepared Carboxymethyl zein aspirin enteric-coated pellets which are up to the requirements of enteric-coated preparation are prepared successfully.

KEYWORDS Carboxymethyl zein; Aspirin; Enteric-coated pellets; Pharmacokinetics; Release rate *in vitro*

肠溶制剂是利用肠溶材料在低pH下不溶、在高pH下可溶的特性建立的一种给药系统^[1],通常是在口服制剂外部包裹肠溶性材料制得。肠溶制剂能防止某些药物对胃黏膜的刺激,增加酸敏感药物的稳定性,延缓药物吸收时间等。常用的肠

溶材料有虫胶、邻苯二甲酸乙酸纤维素、丙烯酸树脂等^[2]。阿司匹林通过抑制花生四烯酸代谢过程中的环氧化酶,使前列腺素合成减少而产生强大的解热镇痛抗炎作用,但其最大的缺点是对胃黏膜有刺激作用,常使患者出现恶心、呕吐,甚至

- [1] 刘慧敏,朱雪松,陈富超,等.胰岛素新型给药系统的研究进展[J].实用药物与临床,2013,16(4):329.
[2] 何文,代文兵,吴燕,等.N-三甲基壳聚糖对胰岛素液体栓剂直肠吸收的促进作用研究[J].中国药学杂志,2006,41(16):1240.
[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:846.

- [4] 王军.胰岛素眼用温度敏感型凝胶的制备及其体外释药考察[J].广东药学院学报,2011,27(4):1132.
[5] 肖金宝,李洪斌,刘福强,等.银杏叶提取物温度敏感型原位凝胶体外释放研究[J].中成药,2013,35(1):46.
[6] 袁园,王晓辉,张莉,等.无膜释放模型考察直肠用温敏型原位凝胶的体外释放情况[J].中国药房,2011,22(29):2750.
[7] Adikwu AU. Evaluation of snail mucin motifs as rectal absorption enhancer for insulin in non-diabetic rat models[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(9):1801.

* 硕士研究生。研究方向:药用高分子材料及其新型制剂。电话:0551-65169146。E-mail:514926112@qq.com

通信作者:教授。研究方向:药用高分子材料和纳米药物。电话:0551-65169146

(收稿日期:2013-03-18 修回日期:2014-07-17)

溃疡、出血的副作用^[3]。为了克服这一缺点,阿司匹林通常制成肠溶制剂^[4]。玉米朊(Zein)或称玉米醇溶蛋白,是一种天然的生物可降解材料,在酸和弱碱环境下均不溶解。羧甲基玉米朊(CM-Zein)是笔者用羧甲基对Zein结构进行修饰后制得的产品,其可在pH>4.5的水中溶解,符合肠溶材料的特点。本研究利用自制羧甲基玉米朊的肠溶性质,探索采用挤压滚圆法制备阿司匹林肠溶微丸,并与自制阿司匹林微丸作比较,考察其体外释放行为;同时以大鼠为实验动物,以阿司匹林微丸为参比制剂,考察其体内药动学特征。

1 材料

1.1 仪器

ALC-210.4分析天平(德国Sartorius公司);挤出滚圆机(重庆英格制药机械有限公司);ZRS-8G智能溶出仪(天津大学无线电厂);LC-20A型高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公司);TGL-16C高速离心机(上海安亭科学仪器厂,离心半径:6.2 cm);WH-3微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司);金尼克超声清洗器(合肥金尼克机械制造有限公司)。

1.2 药品与试剂

阿司匹林原料药(批号:09112025,纯度:99.5%)和阿司匹林对照品(批号:20120616,纯度:99.9%)均由山东新华制药厂提供;水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:20120713,纯度:>99%);羧甲基玉米朊、阿司匹林肠溶微丸(批号:20130301,规格:每丸3 mg)、阿司匹林微丸(淀粉微丸,批号:20130401,规格:每丸3 mg)均由安徽中医药大学药剂实验室自制;甲醇为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

Wistar大鼠,体质量(300±10)g,♂,肥东长临实验动物科技有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(皖)2009-0012。

2 方法与结果

2.1 微丸的制备

先将过100目的阿司匹林原料药粉末和羧甲基玉米朊的粉末按1:2质量比混合,加入适量的4%的乙醇溶液为黏合剂,充分搅拌均匀制成软材;将混合好的软材倒入挤出机中,在挤出螺杆推力作用下湿料经孔板孔径挤出,此时软材呈直径均匀的细条状;将挤出的条状软材倒入滚圆机中,在高速(1 100 r/min)旋转的齿板上,条状颗粒滚圆成圆球;将制备好的湿颗粒在60℃下干燥,分筛,直至获得粒径约1 mm的微丸,即阿司匹林肠溶微丸^[5]。另以淀粉代替羧甲基玉米朊按上述方法制备阿司匹林微丸。

2.2 体外分析方法^[6]

采用HPLC法。色谱条件:Kromasil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(50:50),流速为1.0 ml/min;测定波长为276 nm;柱温为30℃;进样量为20 μl。该色谱条件下,阿司匹林峰面积(A)对质量浓度(c)的标准曲线方程为: $A=8711.8c-2167.2$ ($r=0.9999, n=7$),阿司匹林检测质量浓度的线性范围为1.0~100 μg/ml。

2.3 体外释放度的测定

2.3.1 释放介质的选择。参照2010年版《中国药典》二部附录XD第二法肠溶制剂中的(二)法^[7],选择0.1 mol/L盐酸溶液(即人工胃液)900 ml为前2 h的释放介质,pH 6.8磷酸盐缓冲溶液(即人工肠液)900 ml为2 h后的释放介质,可满足漏槽条件。

2.3.2 测定条件。采用溶出度测定法(2010年版《中国药典》二部附录XC第二法)测定阿司匹林肠溶微丸和阿司匹林微丸的体外释放度^[7],转速为100 r/min,温度为(37±0.5)℃。分别于0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4 h取样5 ml,同时在溶出杯中补入同温同体积的新鲜介质。取样液经0.45 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液20 μl进样测定其中药物含量,计算累积释放度。

2.3.3 体外释放度测定结果。阿司匹林肠溶微丸在人工胃液中几乎都不释放,而在人工肠液中立即开始释放且2 h内都能释放完全。阿司匹林微丸在人工胃液中就开始释放。2种制剂的体外释放试验结果见表1。

表1 2种制剂的体外释放试验结果(%)

Tab 1 Results of *in vitro* release test of 2 kinds of preparations(%)

制剂	时间,h							
	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
阿司匹林肠溶微丸	0.1	0.9	1	1.7	83.3	100	100	100
阿司匹林微丸	19.1	61.2	80.6	87	91.2	97.5	100	100

2.4 血浆中水杨酸含量测定方法

由于阿司匹林口服后在体内很快转化为其活性代谢产物水杨酸,故在进行阿司匹林的药浓度研究时大多测定血浆中水杨酸的浓度^[8]。

2.4.1 色谱条件。色谱柱:Shim-pack VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm)(加C₁₈保护柱);流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(50:50),流速:1.0 ml/min;测定波长:303 nm;柱温:30℃;进样量:20 μl。在该色谱条件下,理论板数以水杨酸峰计应不低于2 000。

2.4.2 血浆样品的处理。精密量取大鼠血浆0.2 ml,置于2.0 ml具塞离心管中,加入0.6 ml甲醇沉淀蛋白,涡旋3 min,10 000 r/min离心10 min,取上清液置于1.5 ml具塞离心管中,12 000 r/min离心10 min,取上清液,进样20 μl,记录色谱。

2.4.3 方法专属性考察。精密称取水杨酸对照品10 mg,用1%冰醋酸甲醇溶液溶解,配成100 μg/ml水杨酸对照品溶液。取对照品溶液、空白血浆、空白血浆+对照品(50 μg/ml)、血浆样品(释放4 h后),处理后进样测定,记录色谱。结果显示,水杨酸的保留时间为8.7 min左右,分离度满足测定要求,血浆中的内源性物质对水杨酸的测定无干扰,色谱图见图1。

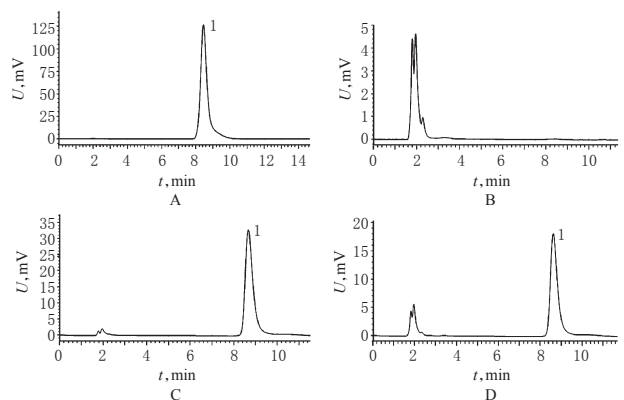


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 空白血浆; C. 空白血浆+对照品; D. 血浆样品; 1. 水杨酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. blank plasma; C. blank plasma+substance control; D. plasma sample; 1. hydroxybenzoic acid

2.4.4 线性关系与定量限考察。精密称取水杨酸对照品适量,用甲醇溶解后定容,配制成一定质量浓度的贮备液。取贮备液稀释制成质量浓度分别为0.2、1.0、2.0、10.0、20.0、100.0、200.0 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品系列溶液。精密量取空白血浆100 μl ,共计7份,分别置于2.0 ml的具塞离心管中,依次加入水杨酸对照品系列溶液100 μl ,使水杨酸的血液浓度分别为0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/ml}$,处理后进样测定,记录色谱。以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归分析,得标准曲线方程为: $A=8\ 167.8c+2\ 439.6(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,血浆溶液中水杨酸检测质量浓度的线性范围为0.1~100.0 $\mu\text{g/ml}$,定量限为0.05 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4.5 回收率试验。方法回收率:取大鼠空白血浆100 μl ,加入水杨酸对照品系列溶液100 μl ,制成水杨酸质量浓度分别为0.5、5.0、50.0 $\mu\text{g/ml}$ 的样品溶液,每一质量浓度配制5份,处理后进样测定,记录峰面积,以测得值与实际值之比计算方法回收率,以测得值与相同质量浓度对照品测得值之比计算提取回收率。结果方法回收率平均值为(100.71 \pm 0.74)% ,RSD=1.49% ($n=3$);提取回收率平均值为(98.28 \pm 0.55)% ,RSD=1.58% ($n=3$)。

2.5 药动学考察

取大鼠随机分为受试制剂(阿司匹林肠溶微丸)组和参比制剂(阿司匹林微丸)组,每组5只,服药前禁食12 h,称质量后根据人临床常用剂量换算动物给药剂量,以15 mg/kg灌胃给予相应药物。于给药前和给药后0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、18.0、24.0、36.0、48.0 h眼眶取血0.4 ml,置于1.5 ml肝素化EP管内,3 000 r/min离心15 min,取上层澄清血浆,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻放置,分别按“2.4.2”项下方法处理后,进样测定,计算血药浓度,绘制药-时曲线,见图2。

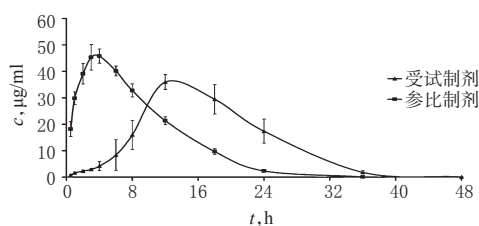


图2 2种制剂在大鼠体内的药-时曲线($n=5$)

Fig 2 Drug concentration-time curves of 2 kinds of preparations in rats($n=5$)

利用3p97软件对血药浓度数据进行分析,经自动拟合后,受试制剂和参比制剂均以二室模型拟合最佳,选择权重均为 $1/C^2$ 。进行权重房室模型拟合,计算药动学参数,并用SPSS 17.0统计学软件进行 t 检验,药动学参数结果见表2。

经计算,阿司匹林肠溶微丸的相对生物利用度为111.41%,表明阿司匹林肠溶微丸生物利用度与参比制剂相当。

3 讨论

市售肠溶片均是采用肠溶薄膜包衣来实现其肠溶性。本研究采用挤压滚圆法制备微丸,最终在体外释放试验中达到肠溶制剂的要求。另外羧甲基玉米朊不会吸水膨胀而崩解,

表2 2种制剂在大鼠体内的药动学参数($\bar{x}\pm s,n=5$)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of 2 kinds of preparations in rats($\bar{x}\pm s,n=5$)

参数	受试制剂组	参比制剂组
$t_{1/2\alpha}$,h	3.39 \pm 0.18*	2.09 \pm 0.37
$t_{1/2\beta}$,h	12.63 \pm 0.60*	2.42 \pm 0.61
CL(s),mg·kg/h	0.001 854 \pm 0.000 368	0.002 291 \pm 0.000 645
t_{\max} ,h	11.07 \pm 1.10*	3.41 \pm 0.84
c_{\max} , $\mu\text{g/ml}$	34.45 \pm 5.33*	45.78 \pm 3.30
AUC _{0-48h} , $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	612.70 \pm 40.91	550.69 \pm 34.44
AUC _{0-∞} , $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	613.52 \pm 41.14*	550.69 \pm 34.44
MRT _{0-∞} ,h	16.96 \pm 1.43*	8.45 \pm 0.29

与参比制剂比较: * $P<0.05$

vs. reference preparation: * $P<0.05$

在胃内会保持原微丸的形状,在肠内可因碱性环境而缓慢溶解释放药物。

由图2可知,参比制剂在灌胃后很快就释放药物,0.5 h在血液中即测到较高浓度的药物,4 h左右达到最高,之后血药浓度开始降低,表明阿司匹林微丸灌胃后基本在胃和小肠中被吸收。受试制剂在灌胃后4 h内释放很少,4 h后才开始缓慢释放,并在12 h左右达到最高血药浓度,之后血药浓度缓慢降低;整个血药浓度上升和降低的过程比参比制剂缓慢,且最高血药浓度低于参比制剂,表明阿司匹林肠溶微丸在胃里释放很少,几乎不释放,而在肠道内能较快释放,相对于参比制剂有一定缓释性。

从药动学参数结果来看,与参比制剂比较,受试制剂的 $t_{1/2\beta}$ 、 t_{\max} 、AUC_{0-∞}均明显增加, c_{\max} 明显减小($P<0.05$),再次表明阿司匹林肠溶微丸具有一定缓释性。综上所述,本实验室研发的羧甲基玉米朊可以作为肠溶性辅料,具有一定的开发价值。

参考文献

- [1] 平其能.现代药剂学[M].北京:中国医药科技出版社,1998:659-667.
- [2] 杨季,毕茹,王征.肠溶包衣材料的发展及其应用[J].中国药理学杂志,2006,41(12):885.
- [3] 温晓娜,毛静怡.非甾体抗炎药的不良反应[J].中国药师,2006,9(10):959.
- [4] Manoj NS, James SB, Robert S. Chewable enteric coated aspirin tablets: US,10/961563 [P].2006-04-13.
- [5] 张兆旺.中药药剂学[M].北京:中国中医药出版社,2007:363.
- [6] 李飞玲.HPLC与UV测定阿司匹林肠溶片中阿司匹林和水杨酸的含量[J].长治医学院学报,2011,25(1):11.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录XC、XD.
- [8] 王艳玲,王国海,李学明.阿司匹林肠溶片在犬体内的药代动力学研究[J].西北药理学杂志,2010,25(1):42.

(收稿日期:2013-12-31 修回日期:2014-03-10)