

文章编号：(2008)01-0006-08

乳化溶剂扩散法制备阿奇霉素缓释微球

钱一鑫, 高 坤, 张 伟, 贾增荣, 丁平田, 何仲贵

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 制备阿奇霉素缓释微球并对其进行质量研究。**方法** 采用乳化溶剂扩散法制备阿奇霉素缓释微球, 通过正交设计试验优化制备工艺, 并对所制备微球的粒径分布、载药量、包封率及释放度进行研究; 应用差示扫描量热法考察阿奇霉素在微球中的分散状态; 并对影响微球的形态、粒度分布、收率及其在 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液中累积释放度的处方和工艺因素进行探讨。**结果** 该法制备的微球外观圆整流动性好; 差示扫描量热法的分析结果显示药物以无定形态存在于微球中; 微球粒径随搅拌速度的增加而减小; 随着乙基纤维素用量的增大, 在 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液中药物的释放明显减慢; 随着微粉硅胶比例的增加, 微球的粒径明显增大, 但药物的释放速率也增加; 微球收率受架桥剂和不良溶剂的影响。**结论** 该法制备的微球重现性好, 简单易行, 适用于制备乙基纤维素缓释微球。

关键词: 药剂学; 缓释微球; 乳化溶剂扩散法; 阿奇霉素; 乙基纤维素

中图分类号: R943

文献标志码: A

阿奇霉素(azithromycin, AZI)为15元环大环内酯类抗生素, 其化学结构是在红霉素A的9位碳原子上脱去氧原子, 接上一个被甲基取代的氮原子, 而扩环成为15元环的半合成抗生素^[1]。为了降低阿奇霉素的不良反应, 增强患者的顺应性, 美国辉瑞制药公司开发的阿奇霉素缓释制剂, 已于2005年6月经FDA批准上市, 用于成人轻中度急性细菌性鼻炎(ABS)和社区获得性肺炎(CAP)的治疗。本实验中采用一种新型的微球制备方法——乳化溶剂扩散法, 制得阿奇霉素乙基纤维素(EC)缓释微球。本法是将药物与高分子载体材料溶解在架桥剂和良溶剂中, 再加入到含有乳化剂的不良溶剂中, 搅拌下, 使药物在液相中析出结晶的同时借助液体架桥剂的作用聚结成球形颗粒。目前, 国内外许多药剂工作者已采用此法成功地制备了药物微球和纳米粒, 如: 布洛芬缓释微球^[2]、尼群地平聚乳酸微球^[3]、脂溶性药物氯倍他索的固态脂质纳米粒^[4]等, 这种方法的出现为微球、微囊、纳米球等的制备开辟了一条新的途径, 具有广阔的发展前景。有关阿奇霉素缓释微球的制备以及对其质量的影响因素的研究尚未见报道。

1 仪器与试药

ZRS-8G 型智能溶出仪(天津大学无线电厂); 高效液相色谱仪(Hitachi UV-Vis Detector L-7420, Pump-7110, Anastar 色谱工作站); 78HW-1 型恒温磁力搅拌器(杭州仪表电机厂); 国家统一标准检验筛(陶堰文齐筛具厂); DSC-60 型差示量热分析仪(日本岛津公司)。

收稿日期: 2007-04-26

作者简介: 钱一鑫(1982-), 女(汉族), 贵州清镇人, 硕士研究生, Tel. 024-23986320, E-mail qianyixin@gmail.com; 何仲贵(1965-), 男(汉族), 宁夏盐池人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事生物药剂学与新剂型研究, Tel. 024-23986321, E-mail hezhonggui@gmail.com。

阿奇霉素(AZI, 上海现代浦东药厂有限公司, 批号 : 200504077); 乙基纤维素(EC, 上海化学试剂采购供应站); 微粉硅胶(DA, 营口奥达公司); 十二烷基硫酸钠 (SDS, 分析纯, 天津市博迪化工有限公司); 二氯甲烷(分析纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心); 乙酸乙酯(分析纯, 天津市博迪化工有限公司); 乙腈(色谱纯, 天津市康科德有限公司); 磷酸二氢铵(分析纯, 沈阳试剂一厂); 阿奇霉素对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号: 130352-200304)。

2 方法与结果

2.1 阿奇霉素微球的制备及处方优化

称取处方量的缓释材料乙基纤维素于烧杯中, 加入适量的架桥剂和良溶剂, 振摇溶解, 再加入处方量的药物, 溶解混匀。在搅拌条件下, 将此溶液注入装有不良溶剂的容器中, 形成 O/W 型乳滴。连续搅拌数小时, 使有机溶剂充分扩散到不良溶剂中, 乳滴逐渐固化成球形颗粒, 过滤, 用水洗至颗粒不相互粘连, 将回收的颗粒在 60 °C 烘箱中干燥 6 h。将微球过筛后称量质量, 取粒径为 -50~180 μm (-80~300 目) 的微球, 与投料量进行比较, 计算制备收率。

为优化处方工艺, 根据单因素的试验结果, 对直接影响微球质量的投料比(乙基纤维素与药物的用量, w/w)、药物和乙基纤维素在不良溶剂中的质量浓度($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、良溶剂和架桥剂的比例(乙酸乙酯: 二氯甲烷, V/V) 3 个因素进行考察, 每个因素取 3 个水平, 以收率(W_1)、包封率(W_2)、在 $\text{pH}=6.0$ 的磷酸盐缓冲液中 0.25 h 和 1.0 h 的累积释放量($Q_{0.25}$ 和 $Q_{1.0}$) 为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表, 设计正交试验(见表 1), 对结果进行综合评分 $S = W_1 + W_2 + Q_{0.25} + Q_{1.0}$, 试验结果见表 2。

Table 1 Factors and levels of excipient for orthogonal design

Factors	Levels		
	1	2	3
A (AZI+EC): $\text{CH}_2\text{Cl}_2(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	80	60	100
B EC:AZI(w/w)	1:1	1:2	1:3
C $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5:\text{CH}_2\text{Cl}_2(V/V)$	2:1	4:1	3:1

Table 2 The design and results of orthogonal experiment

No.	A	B	C	$W_1/\%$	$W_2/\%$	$Q_{0.25}/\%$	$Q_{1.0}/\%$	S
1	1	1	1	72.11	82.34	11.32	48.31	214.08
2	1	2	2	65.21	84.24	23.62	51.24	224.31
3	1	3	3	89.05	68.09	14.21	55.84	227.19
4	2	1	2	92.17	76.15	9.81	49.46	227.59
5	2	2	3	93.22	82.64	18.62	62.29	256.77
6	2	3	1	59.23	73.23	17.35	63.35	213.16
7	3	1	3	78.24	68.42	10.22	48.91	205.79

(to be continued)

Continued table 2

8	3	2	1	67.14	65.09	24.56	41.46	198.25
9	3	3	2	81.62	83.68	21.74	38.62	225.66
k_1	221.9	215.8	208.5					
k_2	232.5	226.4	225.9					
k_3	209.9	222.0	229.9					
R	22.6	10.6	21.4					

极差 R 的大小反映的是各因素对所测定指标的影响程度,从表 2 可知,各因素对 AZI 微球质量影响大小的顺序为 $A > C > B$,最优处方为 $A_2B_2C_3$,即 AZI 为 2 g, AZI 与乙基纤维素的质量之比为 2 : 1,二氯甲烷 17 mL,乙酸乙酯 50 mL。

2.2 微球粒径、载药量及包封率的测定

微球表面形态通过透射电镜进行观察,形态呈圆球形(见图 1),采用筛分法测定微球的粒径,求出 D_{50} (50%平均粒直径)。载药量和包封率的测定均采用高效液相色谱法。色谱条件为色谱柱:Kromasil C_8 色谱柱(200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:0.045 mol·L⁻¹的磷酸二氢铵溶液-乙腈(体积比 70:30,用三乙胺和磷酸调节 pH = 7.4);检测波长:204 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:40 ;进样量:20 μ L。

取 AZI 缓释微球研细,精密称取研细粉末适量(约相当于阿奇霉素 20 mg),置 10 mL 容量瓶中,加入甲醇 8 mL,超声处理 30 min,放冷后加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。精密称取阿奇霉素对照品约 250 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,得质量浓度约为 10 mg·mL⁻¹的母液。精密量取该母液 2.0 mL 置 10 mL 容量瓶中,加入甲醇稀释定容,得到质量浓度为 2 mg·mL⁻¹的阿奇霉素对照品溶液。分别精密吸取上述溶液各 20 μ L 注入高相液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算药物含量。按下式计算微球的载药量和包封率。

载药量=(测得含药量/称取微球质量) \times 100%;

包封率=(测得含药量/投药总量) \times 100%。

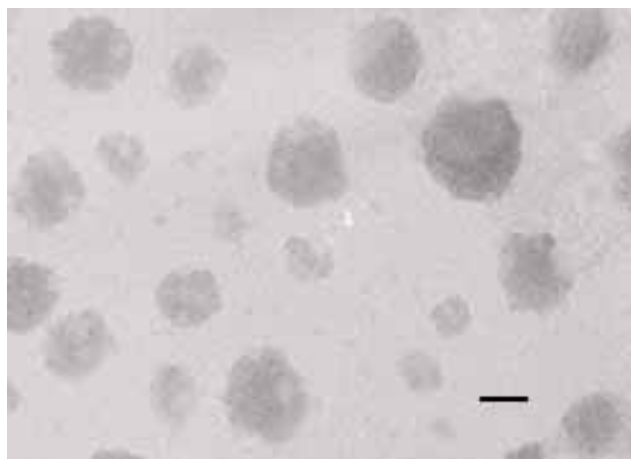


Fig.1 The transmission electron microcopy of microspheres(staff=100 μ m)

2.3 差示扫描量热 (DSC) 分析

分别取 AZI 原料、空白微球、AZI 与空白微球的物理混合物、AZI 缓释微球适量, 在加热速率为 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, 加热范围为 $30\sim 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 分别测得 DSC 曲线(见图 2), 以确定微球中药物的分散状态。由 DSC 曲线可见, AZI 微球的结晶峰消失, 说明 AZI 可能以无定形态存在于微球中。

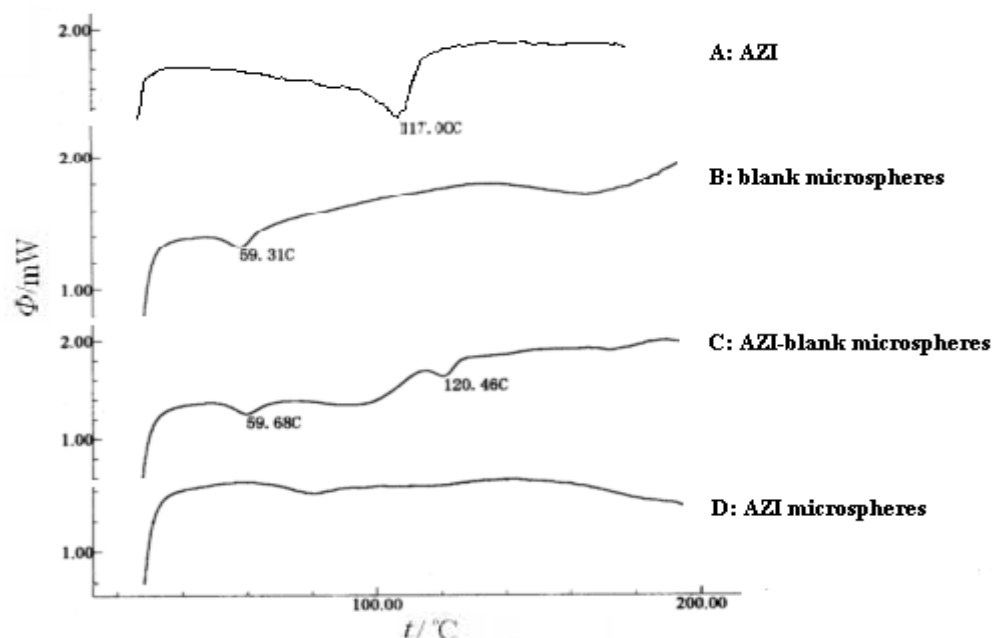


Fig.2 DSC thermotograms of AZI and AZI microspheres

2.4 微球释放度的测定

参考中国药典 2005 年版二部阿奇霉素片项下溶出度测定条件和相关专利的测定方法, 按照释放度的测定方法(中国药典 2005 年版二部附录 XD 第二法), 采用溶出度测定法(中国药典 2005 年版二部附录 XC 第二法)的装置, 以 900 mL 的磷酸盐缓冲液[6 000 mL 的 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸氢二钠溶液, 加盐酸约 40 mL, 调节 pH 值至 (6.0 ± 0.05)]为溶剂, 转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 依法操作, 在 0.25、0.5、1、2、3 h 时分别取溶液 5 mL, 滤过, 并即时在操作容器中补充相同温度、相同体积的 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液, 取续滤液作为供试品溶液。另精密称取阿奇霉素对照品适量, 加适量乙腈, 使阿奇霉素溶解, 再加 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液定量制成质量浓度约为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的阿奇霉素溶液, 作为对照品溶液。采用高效液相色谱法(中国药典 2005 年版二部附录 VA)测定微球中阿奇霉素的含量, 色谱条件同前述载药量和包封率测定项下的色谱条件, 按外标法分别计算出缓释微球在不同时间点的释放量。以在 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液中 0.25 h 和 1.0 h 的累积释放量($Q_{0.25}$ 和 $Q_{1.0}$)为指标, 考察微球中药物的释放行为。

3 影响微球质量的各种因素

3.1 搅拌速率对微球粒径及释放度的影响

采用不同搅拌速率制备的微球粒径累积分布见图 3, 并求出平均粒径 D_{50} 。搅拌速率对微球收率和平均粒径的影响结果见表 3。搅拌速率对微球释放度的影响见图 4 所示。

Table 3 The effect of the agitation speed on recovery and D_{50} of microspheres

$n/(\text{r}\cdot\text{min}^{-1})$	Shape	Total recovery/%	$D_{50}/\mu\text{m}$
450	spherical and smooth	59.11	228
700	spherical and smooth	94.00	175
900	spherical and smooth	96.07	149

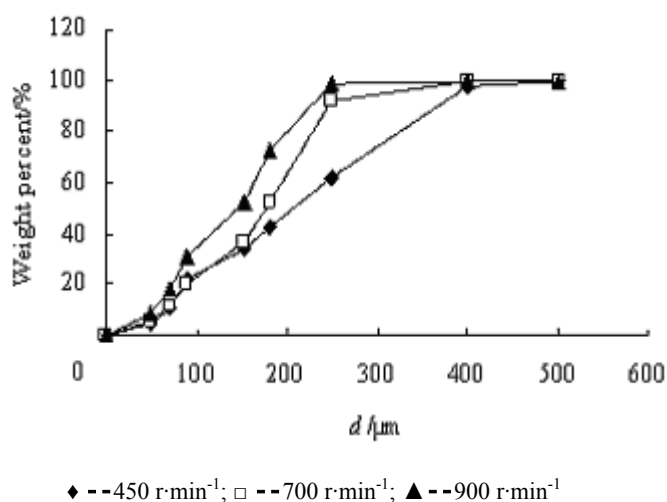


Fig.3 Effect of agitation speed on diameter of microspheres

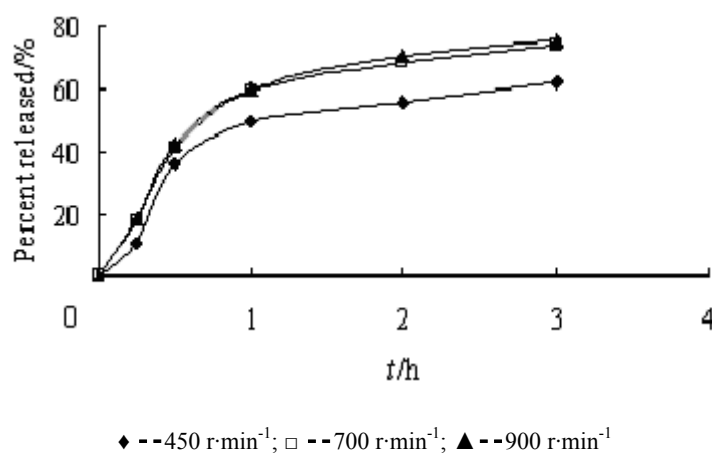


Fig.4 Effect of agitation speed on the release rate of microspheres

由以上结果可以看出, 搅拌速度影响微球的粒径大小, 随着转速的提高, 粒径明显减小, 收率提高, 当搅拌速率大于 $700 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 微球粒径变化较小。由于粒径是影响微球中药物释放速度的一个重要因素, 随着微球粒径的增加, 微球的释放速度降低。研究显示随着搅拌速度的增大, 主药从微球中的释放速度明显增加, 说明搅拌速度对微球的释药行为影响较大; 随着搅拌速度的增加, 微球的释放行为差异不大, 这可能是由于随着搅拌速度增加, 微球的粒径变化减小所致。

3.2 缓释材料用量对微球质量及药物释放的影响

在其他处方工艺条件不变的情况下, 改变阿奇霉素与缓释材料 EC 的质量比制备各种微球, 测定收率和释放度, 结果见表4。

Table 4 The effect of EC on recovery, drug loading, incorporation efficiency and release of microspheres

AZI:EC(<i>m:m</i>)	Recovery/%	Drug loading/%	Incorporation efficiency/%	$Q_{0.25h}/\%$
3 1	90.10	54.43	84.10	25.10
2 1	91.50	53.14	82.10	17.40
1 1	90.35	51.95	80.26	11.20
1 2	92.15	51.57	79.68	9.28
1 3	93.44	52.91	81.74	5.87

由表 4 的结果可以看出，随着乙基纤维素质量的增加，微球的收率及包封产率的变化不明显，说明 EC 的用量变化对微球粒径的影响不明显。但对药物的释放存在显著的影响，随着缓释材料 EC 用量的增大，药物在 pH=6.0 的磷酸盐缓冲液中的释放明显减慢，当阿奇霉素与乙基纤维素的质量比为 1 2 时，药物在 0.25 h 的释放为 9.28%，专利文献^[5]规定该缓释剂在相同条件下的释放量应该大于15%，因此，阿奇霉素与乙基纤维素的用量比应该大于或等于1 2。

3.3 微粉硅胶DA用量对微球质量及药物释放的影响

在处方工艺条件不变的情况下，改变微粉硅胶 DA 的比例分别制备微球，考察 DA 用量对微球质量及药物释放的影响，结果见表5。

Table 5 The effect of DA on D_{50} , recovery, drug loading, incorporation efficiency and release of microspheres

DA/%	$D_{50}/\mu\text{m}$	Recovery/%	Drug loading/%	Incorporation efficiency/%	$Q_{0.25h}/\%$
0	172	89.7	51.24	79.17	11.38
1	159	91.6	49.33	76.21	15.34
2	166	90.8	50.17	77.51	16.95
3	181	92.4	54.59	84.34	18.52
4	205	62.8	48.83	75.44	21.06

结果显示，微粉硅胶的加入有助于提高微球的载药量和包封率。随着微粉硅胶用量的增加，微球粒径明显增大，这可能是微球中包裹了很多硅胶实体的原因。另外，虽然粒径增大会减慢释药速率，但是微粉硅胶的作用占主导地位，所以随着微粉硅胶量的增加，药物释放速率加快。

3.4 架桥剂二氯甲烷用量对收率的影响

在处方工艺条件不变的情况下，改变架桥剂二氯甲烷的用量分别制备微球，考察不同架桥剂用量对微球质量的影响，结果见表6。

Table 6 The effect of CH₂Cl₂ on the shape and recovery of microspheres

V(CH ₂ Cl ₂)/mL	Shape	Recovery/%
1.0	filiform , mass	-
10.0	filiform , mass	-
20.0	filiform , a little sphericity	-
30.0	spherical ,a little filiform	82.66
40.0	spherical , smooth	86.52
50.0	spherical , smooth	93.43
90.0	spherical , smooth	69.70
120.0	spherical and smooth	58.80
150.0	spherical and smooth	38.59

结果表明,当处方中二氯甲烷用量较小时,得到的多为丝状物和团块状物,不成球形,随着二氯甲烷用量的增大,丝状物逐渐减少,球形物增多。但当二氯甲烷的用量较大时,制得微球的收率较低,这可能是由于微球固化时间延长,其中残留的二氯甲烷量增多,使得微球在干燥时粘在一起,无法过筛所致。

3.5 不良溶剂中乳化剂种类对微球收率的影响

乳化溶剂挥发法制备微球的原理是体系中先形成 O/W 型的乳滴,而后随着有机溶剂扩散到不良溶剂中,乳滴逐渐固化形成微球。在形成 O/W 型乳滴的过程中,乳化剂对乳滴的稳定性起着很重要的作用。为此,在其他处方条件不变的情况下,在水中加入不同类型的乳化剂,考察其对微球形成的影响,结果见表 7。

Table 7 The effect of emulsification on the shape and recovery of microspheres

Emulsification	Shape	Recovery/%
1.0 g·mL ⁻¹ gelatin	mass	-
1.0 g·mL ⁻¹ HPMC(50 cps)	filiform ,mass	-
10.0 g·mL ⁻¹ Tween-80	spherical , smooth	71.68
1.0 g·mL ⁻¹ SDS	spherical , smooth	94.00
10.0 g·mL ⁻¹ PVA	spherical,smooth	65.25

由以上结果可以看出,用 1.0 g·mL⁻¹ 的明胶和 1.0 g·mL⁻¹ 的羟丙甲基纤维素(HPMC,黏度为 50 cps)作乳化剂很难形成微球,均粘连成团块状;用 10.0 g·mL⁻¹ 的 Tween-80 和 10.0 g·mL⁻¹ 的聚乙烯醇(PVA)制得的微球圆整光滑,但收率较低;用 1.0 g·mL⁻¹ 的 SDS 制成的微球,外观圆整光滑,收率及载药量均较高,释放度符合要求,所以选用 1.0 g·mL⁻¹ 的 SDS 水溶液作为不良溶剂。

参考文献:

- [1] 李娜然,孟祥军,齐杰. 用 HPLC 法测定乳糖酸阿奇霉素注射液的含量[J].光谱实验室, 2006, 23(2):405-408.

- [2] 丁燕飞, 姚瑶, 陶昱斐. 乳化-溶剂扩散法制备布洛芬乙基纤维素微球[J]. 中南药学, 2003, 1(2):91-93.
- [3] 寸冬梅, 崔福德, 游本刚, 等. 尼群地平聚乳酸微球的制备及影响因素考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5):328-331.
- [4] HU F Q, YUAN H, ZHANG H H, et al. Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization[J]. Int J Pharm, 2002, 239(1):121-128.
- [5] RODERLCK J R, LEAH A, DWAYNE F, et al. Controlled release dosage forms of azithromycin: US, 2005/123615 [P]. 2005-06-09.

Preparation of the sustained release microspheres of azithromycin by the emulsion solvent diffusion method

QIAN Yi-xin , GAO Kun , ZHANG Wei , JIA Zeng-rong , DING Ping-tian, HE Zhong-gui
(School of Pharmacy , Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To prepare and investigate the sustained release microspheres of azithromycin.

Methods The sustained release microspheres of azithromycin were prepared by emulsion solvent diffusion method and some factors effecting the technology were studied with the orthogonal test design. The particle size distribution, drug loading efficiency, entrapment efficiency and release rate of the microspheres were also studied. The DSC scanning method was used to check the drug's crystalline form in the microspheres. The resultant microspheres were evaluated with their shape, size distribution, recovery and the release profiles in the pH= 6.0 phosphate buffer. **Results** The microspheres was of a very round form. The drug in the microspheres was amorphous. The mean size of the microspheres was decreased with increasing the stirring rate. The release rate of the drug in the pH 6.0 phosphate buffer was dramatically decreased with increasing the EC. With the ratio of Aerosil, the particle size was increased and the release rate was faster. The recovery of microspheres was affected by the bridging liquid and poor solvent.

Conclusions The method is easy and suitable to prepare the EC sustained release microspheres with high recovery.

Key words: pharmaceutics; sustained release microspheres; emulsion solvent diffusion method; azithromycin; EC

(本篇责任编辑：秦 昕)