

文章编号 1006-8147(2015)01-0080-04

论 著

单池药物溶出仿生系统考察卡马西平组合微丸的溶出特征

罗 配^{1,2}, 孙精通³, 王爱潮^{1,2}, 秦 璐^{1,2}, 庞晓晨^{1,2}, 郭丽丽^{1,2}, 何 新⁴, 刘志东^{1,2}

(1.天津市现代中药重点实验室制剂室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193; 2.现代中药发现与制剂技术教育部工程研究中心, 天津 300193; 3. 天津中医药大学附属保康医院, 天津 300193; 4.天津中医药大学中药学院, 天津 300193)

摘要 目的: 动态考察卡马西平组合微丸溶出特征。方法: 采用 Single cell-DDASS 法, 连续、动态地模拟组合微丸从胃移行至肠道崩解、释放, 以模拟药物在人体中的溶出过程。联合使用高效液相色谱法测定药物含量随时间的变化情况。采用动力学方程拟合药物在体外的释放行为, 根据拟合优度判定拟合情况。结果: 卡马西平组合微丸累积释放最优拟合方程为一级释放动力学方程。 $\ln(1-0.01Q) = -0.0229t + 0.5521$ ($r=0.9896$)。释放机制为溶蚀机制。其释放度曲线拥有两个峰。峰谷波动小, 释放时间延长。结论: 卡马西平组合微丸具有一定的缓释效果。

关键词 卡马西平; 单池药物溶出/吸收仿生系统; 高效液相色谱; 溶出度; 药物评价

中图分类号 R9

文献标志码 A

Dissolution of carbamazepine by single cell-DDASS

LUO Pei^{1,2}, SUN Jing-tong³, WANG Ai-chao^{1,2}, QIN Lu^{1,2}, PANG Xiao-chen^{1,2}, GUO Li-li^{1,2}, HE Xin⁴, LIU Zhi-dong^{1,2}

(1. Tianjin Modern Chinese Medicine Key Laboratory-Province and Ministry Co-established State Key Laboratory Cultivation Base, Tianjin 300193, China; 2. Engineering Research Center of Modern Chinese Medicine Discovery and Preparation Technique, Ministry of Education, Tianjin 300193, China; 3. Bao Kang Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 4. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract Objective: To evaluate the dissolution behavior of the combined pellets of carbamazepine (CPC) on time. **Methods:** The formulation process from stomach to intestine was simulated by single the cell-DDASS. And the CPC was dissolved and released in the process. The high performance liquid chromatography method (HPLC) was applied to measure the content of carbamazepine to show the changes over time. And several mathematical models of drug release were used to fit the vitro release of the CPC. Therefore, the best simulations for the vitro release could be obtained by the degree of fitting. **Results:** The release pattern of the CPC *in vitro* could be described by first order kinetic equation. $\ln(1-0.01Q) = -0.0229t + 0.5521$ ($r=0.9896$). The release mechanism was based on the dissolution mechanism. Furthermore, with low volatility the release curve had two peaks, and CPC release time was increased. **Conclusion:** The CPC has certain slow-release effect.

Key words carbamazepine; single cell drug dissolution and absorption simulating system; the high performance liquid chromatography; dissolution; drug revaluation

单池药物溶出/吸收仿生系统 (single cell-DDASS), 通过不断被研究改进, 成功评价了一系列的药物吸收释放规律, 受到国内外广泛关注^[1-3]。该系统不但可以连续模拟人体生理状态下胃肠道变化而且能够动态模拟肠溶制剂从胃移行至肠道崩解释放, 继而在肠道跨膜吸收的过程。有研究结果显示在 Single cell-DDASS 法中累积释放度与比格犬体内吸收百分数之间的相关性明显优于《中国药典》溶出法释放百分数与比格犬体内吸收百分数的相关性^[4]。本研究利用该系统优势评价卡马西平组

合微丸 (the combined pellets of carbamazepine, CPC) 的溶出特征。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器 单池药物溶出/吸收仿生系统 (天津中医药大学); Agilent 1200 液相色谱仪 (Agilent, 美国); Milli-Q 超纯水系统 (Millipore, 美国); AX205 电子天平 (METTLER TOLEDO, 瑞士); JA2103N ELEC-TRONIC BALANCE 电子天平 (上海民桥精密科学仪器有限公司); PB-01 PH 计 (Sartorius, 北京) 等。

1.1.2 材料 卡马西平组合微丸 (自制, 合格); 卡马西平标准品 (中国食品药品检定研究院, 批号

作者简介 罗配 (1988-), 女, 硕士在读, 研究方向: 药物制剂; 通信作者: 刘志东, E-mail: lonerliuzd@163.com。

100142-201105);甲醇(天津康科德科技有限公司,色谱纯,批号 20140428)。磷酸(天津市光复精细化工研究所,色谱纯,批号 20140314)等。

1.2 溶出介质配制方法 (1)介质 1:称取 NaCl、 Na_2HPO_4 、D-glucose、 CaCl_2 等适量,溶于水中。以 0.1 mol/L 的 HCl 调节 pH 为 2.30 ± 0.05 。(2)介质 2:称取 NaCl、 Na_2HPO_4 、D-glucose、 CaCl_2 等适量,溶于水中。以 2.0 mol/L 的 Tris 溶液调节 pH 为 6.80 ± 0.05 。(3) pH 调节液:称取 KCl、 KH_2PO_4 、NaCl、 Na_2HPO_4 等适量,溶于水中。以 2.0 mol/L 的 Tris 溶液调节 pH 为 6.80 ± 0.05 。

1.3 色谱分析方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C_{18} (200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇:0.05%磷酸水(60:40, V/V),流速 1.0 mL/min,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,检测波长:285 nm,进样量:20 μL 。

1.3.2 供试品溶液制备 前 130 min,取样经 0.45 微孔滤膜,用去离子水稀释 10 倍,待测;后 60 min,取样过 0.45 微孔滤膜,待测。

1.3.3 标准品溶液制备 精密称取卡马西平标准品 2 mg 置于 25 mL 量瓶中,甲醇溶解至刻度,摇匀,作为母液。精密量取母液 5 mL 置于 50 mL 量瓶中,甲醇定容,即可。

1.3.4 专属性 将空白辅料代替组合微丸加入溶出系统,从系统中随机取样,经 0.45 微孔滤膜法过滤,待测。取卡马西平标准品溶液,待测。

1.3.5 标准曲线的绘制 精密称取卡马西平标准品 2 mg,用甲醇配制/稀释成浓度为 29.28、14.64、7.32、3.66、2.01、1.83 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。高效液相色谱分别进样,记录其峰面积。用峰面积与浓度进行线性回归。

1.4 Single cell-DDASS 法释放度实验

1.4.1 释放度实验 CPC 投药总量为 8.5 mg(总含药 5 mg),平行 3 次试验。整个系统见图 1,37 $^{\circ}\text{C}$ 保温。溶出介质 1、2 与 pH 调节液模拟人体胃液、肠液,流速均设为 0.5 mL/min。药物溶解室开始时通入介质 1,30 min 后更换为介质 2;不连通药物溶解室的管道实验过程中一直通入 pH 调节液。使用样品程控自动收集器收集样品。每 10 min 取一个点,测定其含量。

1.4.2 释放度与累积释放度 释放度,是指单位时间内(10 min)制剂所释放的药物含量所占总投药量的百分率。由于本实验是将介质缓慢置换出来,即认为每 10 min 所测得的样品含量为该 10 min 药物溶解室中药物释放的量。 t 时的累积释放度,是指制

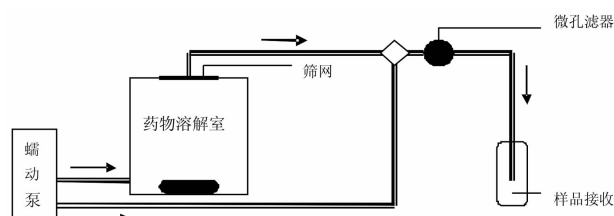


图1 单池药物溶出仿生系统示意图

Fig 1 Schematic diagram of single cell-DDASS

剂从 0 到 t 时,所释放出来的总药物含量占总投药量的百分率。

1.4.3 释放模型的拟合 计算不同时刻药物释放度和累积释放度,绘制释放度曲线和累积释放度曲线,用 SPASS 软件拟合累积释放度-时间的释药方程,考察其拟合方程及拟合优度。不同释药方程如下:

零级释放动力学方程: $Q = bt + a$

一级释放动力学方程: $\ln(1 - 0.01Q) = bt + a$

Weibull 方程: $\ln[-\ln(1 - 0.01Q)] = blnt + a$

Higuchi 方程: $Q = b t^{1/2} + a$

Ritger-Peppas 方程: $\ln Q = blnt + a$

其中 Q 为累积释放度(%), t 为时间(min), a 、 b 为常数。

2 结果

2.1 色谱分析方法的结果

2.1.1 专属性 专属性实验结果见图 2~4,可以看出:在本实验条件下,介质、系统和空白辅料对卡马西平的测定均无干扰,方法的专一性良好。

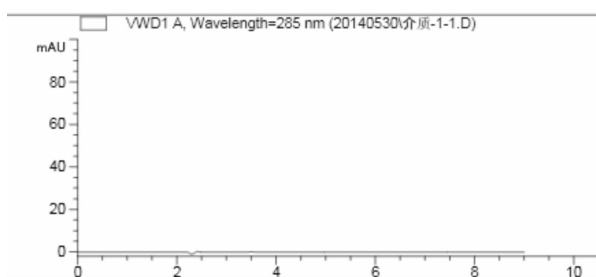


图2 介质1+空白辅料

Fig 2 HPLC chromatogram of the dissolution media 1 and blank

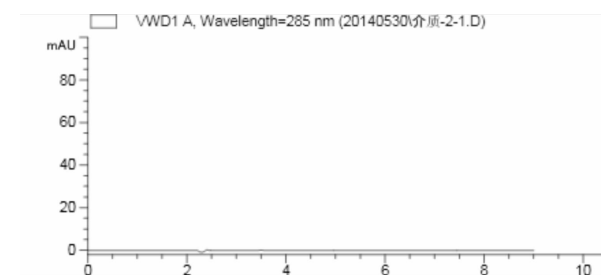


图3 介质2+空白辅料

Fig 3 HPLC chromatogram of the dissolution media 2 and blank

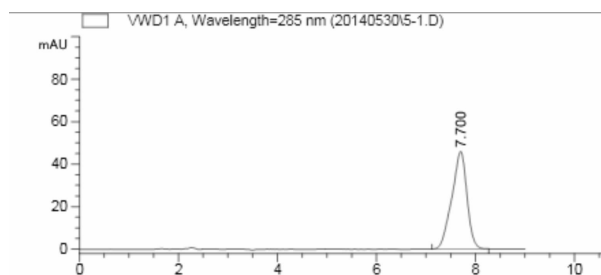


图 4 卡马西平标准品

Fig 4 HPLC chromatogram of carbamazepine

2.1.2 标准曲线 卡马西平标准品系列浓度 C 与其峰面积 A 比值的线性回归方程为 $A=66.159 C+14.123$ ($r=0.9998$)。结果表明,卡马西平在 $1.83\sim 14.64\ \mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,见图 5。

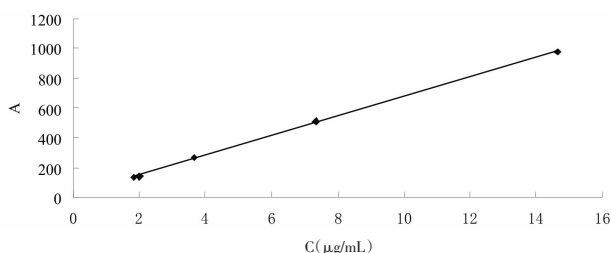
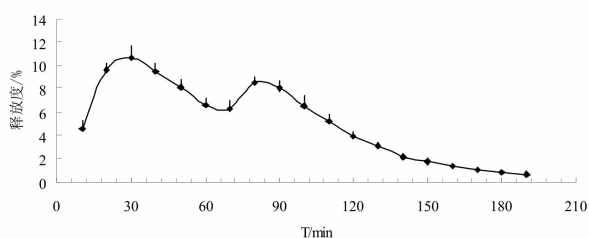
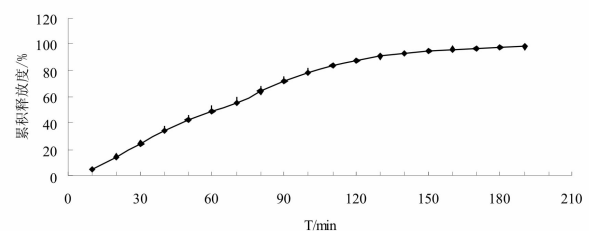


图 5 卡马西平标准曲线

Fig 5 The assaying standard curve of carbamazepine

2.2 释放度与累积释放度 见图 6、7。

图 6 CPC 释放度/瞬时曲线($n=3$)Fig 6 The release rate of the CPC($n=3$)图 7 CPC 累积释放度($n=3$)Fig 7 The accumulated dissolution rate of the CPC($n=3$)

CPC 由速释微丸、缓释微丸和肠溶微丸组成。本研究在第 30 min 时,CPC 释放度曲线出现拐点,提示速释颗粒微丸中药物基本释放完全,而此时累积释放度为 24.8%,如图 7。缓释微丸占总含药量的 40%左右,其释药时间可维持较长时间。60 min 左右

CPC 中肠溶微丸开始释放,如图 6,于 80 min 左右 CPC 释放度又达峰值,吸收入血后可维持一段时间一定范围内的血药浓度。此外,整观 CPC 释放度曲线的两个峰,峰谷波动小,见图 6,提示该组合微丸有一定的缓释效果。

2.3 累积释放度拟合结果 见表 1。

表 1 CPC 累积释放度拟合结果

Tab 1 Release kinetic model fitting of the CPC

释放模式	拟合方程	r
零级动力学方程	$Q = 0.523t + 14.815$	0.9568
一级动力学方程	$\ln(1-0.01Q) = -0.0229t + 0.5521$	0.9896
Weibull 方程	$\ln[-\ln(1-0.01Q)] = -0.785\ln t + 0.1901$	0.6801
Higuchi 方程	$Q = 9.6616t^{1/2} - 24.808$	0.9878
Ritger-Peppas 方程	$\ln Q = 0.9715\ln t - 0.2408$	0.9735

如表 1 所示,CPC 整个体外释放度最优拟合方程是一级动力学方程。Weibull 方程形状参数 $b=0.785$ ($b<1$),表明其溶出曲线非指数型曲线也非 S 形曲线。CPC 中每个单元均为球形,而 Ritger-Peppas 方程幂指数 n 为 0.9715 ($n>0.85$),表明 CPC 的释放机制为溶蚀机制。

3 讨论

累积释放度常作为药物的释放评价指标^[5-6],方法快捷简便,可以直观读出药物释放是否完全,可拟合释放动力学方程等,但释放度能够直观地评价出某个时间点或者较小的时间段药物释放行为。本研究采用了释放度和累积释放度两种评价指标。

CPC 释放度曲线出现双峰现象,是因为该组合微丸是由速释、缓释、肠溶三部分微丸组合。其中速释微丸未包衣膜,其在接触溶出介质后迅速释放,使释放度迅速上升;缓释微丸包衣膜为尤特奇 RL30D,该包衣膜在 pH1-8 介质中溶胀形成 $0.1\sim 0.6\ \mu\text{m}$ 释药孔道,使药物缓慢持续释放;肠溶微丸包衣膜为尤特奇 L100,该包衣膜在大于 pH6.0 的介质中开始溶解。本研究在 60 min 时介质 pH 达到肠溶包衣膜溶解条件^[7],故在 60 min 前,速释微丸迅速释放(30 min 左右释放完全,达峰),缓释微丸缓慢持续释放,而肠溶微丸不释放,使释放度出现峰值。在 60 min 后,肠溶微丸开始释放,缓释微丸可能未释放完全而继续释放,使释放度在 60 min 后呈上升趋势,在 80 min 时达另外一个峰值。此外,有研究显示经过制剂手段可使血药浓度时间曲线出现双峰现象^[8]。在该组合微丸中,缓释微丸使血药浓度不低于治疗剂量,而速释、肠溶微丸或使血药浓度迅速达到稳态血药浓度,或延长药物作用时间,三者共同作用,可以使制剂具有良好的缓释效果。

口服药物只有释放/溶出后,才能被吸收入血,所以药物的释放溶出至关重要。卡马西平是一种高效和低毒的广谱抗癫痫药物,是治疗部分性发作尤其是复杂部分性发作的首选药,对全身性强直-阵挛发作也有良好疗效^[9-12]。其主要机制是阻滞电压依赖性钠通道,降低神经元迅速发动动作电位的能力^[13-14]。因该药物有效血药浓度范围是4~12 $\mu\text{g/mL}$,疗效指数小,安全度较低,其不良反应的个体差异大^[15-16]。研究显示,卡马西平蛋白结合率较高,采用连续血液灌流串联血液透析治疗卡马西平中毒患者,效果显著^[17-20]。但把剂量控制在治疗范围内,提高用药的安全性更为重要。本研究的制剂具有一定的缓释效果。而至于该组合的微丸经过体内吸收代谢是否真具有缓释效果,缓释效果如何,以及是否出现血药浓度过大而出现中毒现象,还需进一步的体内药代动力学等研究。

(感谢谷升盼同学及其实验组对本研究的帮助)

参考文献:

- [1] 李自强,刘志东,顾慧,等.药物溶出/吸收仿生系统研究丹酚酸B缓释片释放规律[J].药物评价研究,2010,33(5):367
- [2] Li Z Q, He X, Gao X M, et al. Study on dissolution and absorption of four dosage forms of isosorbide mononitrate: level A in vitro-in vivo correlation[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 79(2): 364
- [3] He X, Kadamura S, Takekuma Y, et al. A new system for the prediction of drug absorption using a pH-controlled Caco-2 model: evaluation of pH-dependent soluble drug absorption and pH-related changes in absorption[J]. J Pharm Sci, 2004, 93(1): 71
- [4] 寻明金, Peter Y, 谷升盼,等.基于单池药物溶出/吸收仿生系统评价格列吡嗪不同制剂的释药特征及其体内外相关性[J].天津中医药,2014(2):102
- [5] 李美珍,卢欣,王旭,等.不同厂家硝苯地平缓释片体外释放试验[J].天津医科大学学报,2011,17(4):493
- [6] 胡荣,罗先钦,励娜,等.丹参酮缓释微囊的制备工艺研究[J].中草药,2012,43(11):2173
- [7] Liu W J, He X, Li Z Q, et al. Development of a bionic system for the simultaneous prediction of the release/absorption characteristics of enteric-coated formulations[J]. Pharm Res, 2013, 30(2): 596
- [8] 陈燕忠,岗艳云,金志忠,等.法莫替丁脉冲控释胶囊剂的研究[J].中国药科大学学报,1997(3):25
- [9] 陈卓佳,王雪丁,周列民,等.卡马西平对癫痫患者丙戊酸及其毒性代谢物血药浓度的影响[J].药科学,2014(4):530
- [10] 许维刚,王雨生,李娜.45例三叉神经痛患者体感诱发电位的分析与探讨[J].天津医科大学学报,2011,17(1):78
- [11] 赵文岩.卡马西平治疗阵发性癫痫的临床疗效观察和体会[J].中国医药指南,2014(5):95
- [12] 王芳.醒脑静辅助卡马西平治疗脑卒中后继发性癫痫疗效观察[J].中国实用神经疾病杂志,2014(8):46
- [13] 陈少川,刘特炯.癫痫性精神障碍的临床分析[J].现代医院,2014,14(2):16
- [14] 林苗,朱珠.传统和新型抗癫痫药的合理选择[J].中国医院用药评价与分析,2007,7(3):183
- [15] 许德河,陈英颖,孙颖.125例癫痫患者抗癫痫药物血药浓度监测结果分析[J].中国乡村医药,2014(5):46
- [16] 冯绍文,何小敏,容颖慈,等.卡马西平血药浓度监测的临床意义[J].中国实用医药,2009,4(36):41
- [17] 穆殿平.奥卡西平与卡马西平的药动学研究及代谢差异的初步理论分析[D].天津:天津医科大学,2006
- [18] 周小虎.HPLC测定兔体内卡马西平浓度及其药代动力学分析[J].临床和实验医学杂志,2014,13(4):311
- [19] 赵毓敏,鲁新.连续血液灌流串联血液透析治疗大剂量卡马西平中毒临床分析[J].中外医疗,2014(14):109,111
- [20] 王咏梅,楚瑞琦,刘占全,等.多次血液灌流串联血液透析抢救大剂量卡马西平中毒6例临床分析[J].河北职工医学院学报,2008,25(5):35

(2014-06-09 收稿)