

盐酸沃尼妙林肠溶微丸的制备及质量评价

胡晓芬¹ 张金林¹ 陈向丹² 马立保^{3*}

1. 武汉华扬动物药业有限责任公司, 武汉 430205; 2. 湖北兽药监察所, 武汉 430070;

3. 华中农业大学动物科技学院, 武汉 430070

摘要 采用挤出滚圆法制备盐酸沃尼妙林微丸, 将含不同比例丙烯酸树脂 II 和 III 及不同包衣增重的几种微丸进行体外释放度试验, 选择合适的丙烯酸树脂 II 和 III 比例及包衣增重, 同时对制剂的稳定性进行考察, 以对自行研制的盐酸沃尼妙林质量进行初步评价。结果显示: 丙烯酸树脂 II 和丙烯酸树脂 III 的比例为 2:1、包衣增重为 15% 时, 包衣样品具有典型的肠溶特征, 在模拟胃部环境中前 2 h 累积释放量均小于标示量 10%, 进入肠道内 45 min 的累积释放量大于 70%, 具有明显的定位释放功能。稳定性试验结果表明, 在模拟市售包装的条件下, 本品外观、含量等指标均保持稳定, 说明微丸具有良好的稳定性、制备工艺可靠。

关键词 盐酸沃尼妙林; 肠溶微丸; 丙烯酸树脂 II; 丙烯酸树脂 III; 质量评价; 制备

沃尼妙林 (Valnemulin) 是新一代截短侧耳素 (Pleuromutilin) 类半合成抗生素, 属二萜烯类, 与泰妙菌素属同一类药物, 是动物专用抗生素, 主要用于防治猪、牛、羊及家禽的支原体病和革兰氏阳性菌感染。沃尼妙林主要浓集于肺部, 是治疗各种霉形体引起的肺部疾病的理想药物^[1]。

沃尼妙林原料为盐酸沃尼妙林 (Valnemulin Hydrochloride), 其味苦、粉末刺激性强、对光不稳定、吸湿性强、不耐高温, 给其制剂的开发带来了极大的困难。为了改善盐酸沃尼妙林的适口性、提高其治疗肠道疾病的效果、降低其刺激性及吸湿性, 本试验采用挤出滚圆法制备盐酸沃尼妙林微丸, 选用丙烯酸树脂 II 和 III, 应用流化床对盐酸沃尼妙林进行肠溶包衣, 并对盐酸沃尼妙林微丸体外释放度进行测定。

1 材料与方法

1.1 仪器

挤出滚圆机和流化床包衣机, 由深圳信宜特科技有限公司生产; RC-6 释放度测定仪, 由天津天光光学仪器有限公司生产; LC-10AT 型高效液相

色谱仪, 由岛津仪器有限公司生产; PHS-3C 精密 pH 计, 由上海精密科学仪器有限公司生产。

1.2 药品与试剂

盐酸沃尼妙林原料, 购自湖北龙翔药业有限公司, 含量 95.80%, 批号 20120925; 酒石酸单氢沃尼妙林标准品, 购自欧洲药品质量管理委员会 (EDQM), 含量 98.70%, 编码 Y0000533; 不同肠溶包衣材料制得 5 批 (分别标示为 1、2、3、4、5) 盐酸沃尼妙林肠溶微丸, 规格为 10%, 由武汉华扬动物药业有限责任公司提供; 10% 盐酸沃尼妙林粉, 由武汉华扬动物药业有限责任公司提供, 含量 9.84%; 微晶纤维素, 购自湖州展望化学药业有限公司; 丙烯酸树脂 II 和 III, 购自连云港万泰医药材料有限公司。

淀粉、乳糖和微晶纤维素均为医药级原料; 纯水, 自制; 乙腈和磷酸为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

1.3 盐酸沃尼妙林微丸的制备

以盐酸沃尼妙林为原料, 把淀粉、乳糖和微晶纤维素按最适比例混合均匀后作为载体, 加适量水制成软材, 经挤出机筛板挤成细条状; 然后置滚圆机

内,调节转速、滚圆时间等,使颗粒完全滚圆;最后于流化床中 50 °C 干燥 3~4 h,筛分后以不同比例的丙烯酸树脂 II 和 III 配制包衣液进行包衣,并考察其外观性状、含量等指标,选择各指标最佳者进行稳定性试验。

1.4 盐酸沃尼妙林微丸含量测定

色谱柱:十八烷基键合硅胶柱(依利特 C18 色谱柱,4.6 mm×150 mm,5 μm);流动相:磷酸盐缓冲液(取 Na₂HPO₄ 940 mg、KH₂PO₄ 8 700 mg,加水使之溶解并定容至 1 000 mL,用磷酸调节 pH 值至 2.5)-乙腈(57:43);流速:1 mL/min;检测波长:210 nm;进样量:20 μL。

检测方法:取本品适量,研细;然后精密称量本品(以沃尼妙林计)20 mg,放入 25 mL 容量瓶中,用 50%乙腈溶液溶解并定量稀释;超声提取 15 min,冷却至室温;加 50%乙腈定容,过滤,20 μL 进样。另取酒石酸单氢沃尼妙林对照品适量,同法测定。按外标法以峰面积计算并乘以 0.791,即得样品中沃尼妙林含量。

1.5 盐酸沃尼妙林微丸释放度测定

参照《中华人民共和国兽药典》^[2] 2010 版第一部附录的释放度测定法的第二法进行测定,称取适量样品,以 0.1 mol/L 盐酸溶液(人工胃液)为释放介质,转速为 100 r/min,依法操作;2 h 后取释放液 5 mL,用直径 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,精密吸取各滤液 20 μL 注入高效液相色谱仪。

弃去上述各释放杯中的酸液,立即加入温度为(37.0±0.5) °C 的磷酸盐缓冲液(即人工肠液,pH 6.8)900 mL,转速 100 r/min,分别于 10、20、30、45、60、90、120、180、240 和 360 min 定点取样,每次取 5 mL 于 100 mL 容量瓶中,及时补充(37.0±0.5) °C 的释放介质 5 mL,用流动相定容、0.45 μm 滤膜过滤,取 20 μL 进样。

另取酒石酸单氢沃尼妙林对照品适量,放入 25 mL 容量瓶中,用 50%乙腈溶液溶解并定量稀释;超声提取 15 min,冷却至室温;加 50%乙腈定容,过滤,20 μL 进样。

然后按下式计算累积释放度。

$$\text{累积释放度} = \frac{\text{测定沃尼妙林量} \times \text{稀释倍数}}{\text{药物总量}} \times 100\%$$

1.6 盐酸沃尼妙林微丸稳定性试验

依据《中华人民共和国兽药典》^[3] 附录指导原则

进行了影响因素试验和加速试验。

强光照射:将 3 份供试品置 120 mm 的培养皿内,裸露,置于光照箱中,光照度设为(4 500±500) lx,分别在第 5 天和第 10 天取样检测。

高湿:将 3 份供试品于 25 °C、相对湿度(90±5)% 的恒温恒湿箱中放置 10 d,分别在第 5 天和第 10 天取样检测。

高温:将 3 份供试品密封置于洁净容器中,在 60 °C 条件下放置 10 d,于第 5 天和第 10 天取样检测。

加速试验:将 3 份供试品按市售包装置于温度(40±2) °C、相对湿度(75±5)% 的药品稳定性试验箱内 6 个月,于第 1、2、3、6 个月末分别取样 1 次,对样品的性状、含量等进行检测。

2 结果与分析

2.1 盐酸沃尼妙林微丸载药量的测定

采用高效液相法对各批样品平均载药量进行了测定,结果如表 1 所示;酒石酸单氢沃尼妙林对照品主峰的保留时间与包衣前后样品的主峰保留时间如图 1、图 2 和图 3 所示。

表 1 不同包衣类型及增量
盐酸沃尼妙林肠溶微丸的载药量

批次	1	2	3	4	5
载药量/%	9.86	9.73	9.92	9.81	9.66

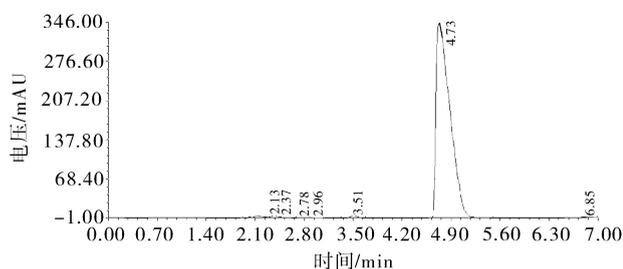


图 1 酒石酸单氢沃尼妙林对照品主峰保留时间

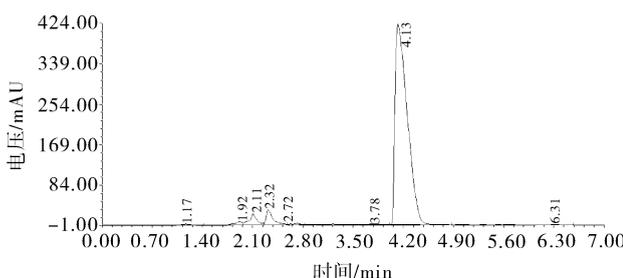


图 2 盐酸沃尼妙林微丸包衣前主峰保留时间

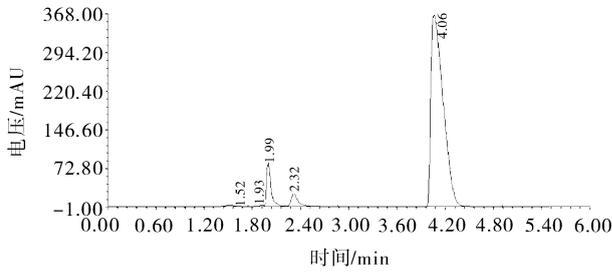


图 3 盐酸沃尼妙林肠溶微丸主峰保留时间

由表 1 可知,各批样品的平均载药量差异不明显。由图 1、图 2 和图 3 可知,包衣前后样品的主峰保留时间与酒石酸单氢沃尼妙林对照品的保留时间

一致。

2.2 盐酸沃尼妙林微丸释放度的测定

考察不同比例的丙烯酸树脂 II 和 III 对微丸释放度的影响。丙烯酸树脂 II 在 pH 6 以上的介质中溶解,丙烯酸树脂 III 在 pH 7 以上的介质中溶解。丙烯酸树脂 II 外观较差、粘度低,包衣时不易发生粘连。丙烯酸树脂 III 易成膜、光泽较好,但易粘连。实际应用的是丙烯酸树脂 II 和 III 的混和物,不同比例丙烯酸树脂 II 和 III 包衣盐酸沃尼妙林微丸释放度的测定结果见表 2。

表 2 不同比例丙烯酸树脂 II 和 III 包衣盐酸沃尼妙林微丸释放度

丙烯酸树脂 II 和 III 的比例(包衣增重 15%)	前 2 h 人工胃液中释放度	人工肠液中各时间段释放度								
		15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	360 min
4 : 1	10.26	40.15	58.47	80.34	86.27	92.31	95.24	95.38	94.56	96.11
2 : 1	9.75	36.28	52.31	71.13	77.74	88.72	96.48	93.76	97.25	93.96
1 : 1	8.31	32.17	38.30	43.28	55.17	61.76	63.41	70.16	76.84	83.49

由表 2 可见,随着丙烯酸树脂 III 比例的增加,药物的释放速度减慢;但考虑到随着丙烯酸树脂 III 的增加微丸在包衣过程中的粘连也比较严重,最终确定丙烯酸树脂 II 和 III 的合适比例为 2 : 1。

固定丙烯酸树脂 II 和丙烯酸树脂 III 的比例为 2 : 1,包衣增重分别设为 10%、15% 和 20%,进行释放度测定试验,结果见表 3。

表 3 的结果表明,包衣增重 10% 的肠溶微丸在

酸中释放度大于 10%;15% 和 20% 的包衣增重均可以满足肠溶的要求,即在前 2 h 人工胃液中累积释放度均小于标示量 10%、在人工肠液(pH 6.8 的磷酸盐缓冲液)中 45 min 的累积释放度大于 70%,考虑到生产成本故决定将包衣增重定为 15%。

2.3 盐酸沃尼妙林微丸的稳定性

高温、高湿、强光照射试验结果见表 4,加速试验结果见表 5。

表 3 丙烯酸树脂不同包衣增重微丸的释放度

肠溶包衣增重	前 2 h 人工胃液中释放度	人工肠液中各时间段释放度								
		15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	360 min
10	18.52	40.13	56.23	79.66	85.24	92.14	96.23	95.47	95.38	92.11
15	9.75	36.28	52.31	71.13	77.74	88.72	96.48	93.76	97.25	93.96
20	5.33	37.68	46.27	54.29	59.59	60.90	67.08	65.70	73.06	79.21

表 4 高温、高湿、强光照射试验结果

样品	处理	5 d			10 d		
		外观	含量标示量/%	含量变化/%	外观	含量标示量/%	含量变化/%
10% 盐酸沃尼妙林粉	原始样品	白色粉末	98.39		白色粉末	98.39	
	强光照射	白色粉末	94.88	-3.51	白色粉末	94.62	-3.77
	高湿	白色粉末,结块,潮湿,药味较浓	85.19	-13.20	微黄,结块,潮湿、药味浓	85.99	-12.40
	高温	白色粉末,结块,药味较浓	100.20	+1.81	微黄粉末,结块、药味浓	102.79	+4.40
10% 盐酸沃尼妙林微丸	原始样品	类白色微丸	97.48		类白色微丸	97.48	
	强光照射	类白色微丸	96.54	-0.94	类白色微丸	96.11	-1.37
	高湿	类白色微丸	95.24	-2.24	类白色,轻微结块,手捏即散	94.38	-3.10
	高温	微黄	96.48	-1.00	微黄,结块,手捏即散	95.47	-2.01

由表 4 可以看出,10% 盐酸沃尼妙林粉在强光照射下,样品有一定的降解;高湿条件下,样品含量急剧下降,与样品的引湿性有关;样品在 5 和 10 d

的高温条件下含量增高,可能与水分的减少有关。表明 10% 盐酸沃尼妙林粉在高温、高湿及强光照射条件下均不稳定。

10% 盐酸沃尼妙林微丸在光照强度为(4 500 ± 500) lx 条件下放置 10 d, 色泽、含量均无显著变化; 在相对湿度(90 ± 5)% 条件下放置 10 d, 样品色泽、含量均无明显变化, 但有点粘连; 在 60 °C 条件下放置 10 d, 色泽、含量均有少许变化。说明本品在光照条件下较稳定, 湿度和温度对本品有一定影响, 但本品对高温高湿和强光的稳定性明显好于 10% 盐酸沃尼妙林粉。

表 5 10% 盐酸沃尼妙林微丸加速试验结果

时间/月	性状	含量均值/%	含量变化/%
0	类白色微丸	97.33	
1	类白色微丸	97.98	+0.65
2	类白色微丸	97.21	-0.12
3	类白色微丸	96.67	-0.66
6	类白色微丸, 稍有结块, 手捏即散	96.16	-1.17

由表 5 可以看出, 10% 盐酸沃尼妙林微丸在温度(40 ± 2) °C、湿度(75 ± 5)% 的模拟上市包装条件下加速试验 6 个月, 样品外观及含量无明显变化, 均在质量标准规定范围内, 表明本品在高温、高湿条件下较为稳定。

3 讨论

丙烯酸树脂是目前国内应用最为广泛的包衣材料, 具有安全、操作简单、干燥好、受湿热影响较小、成本低、质量好等优点^[4]。试验采用丙烯酸树脂 II 和丙烯酸树脂 III 的适当比例及包衣增重来控制药物的释放速度。发现随着丙烯酸树脂 III 用量的增加, 药物在酸中释放减慢, 但粘连也随之加重; 丙烯酸树脂 II 和 III 的比例为 2 : 1 时, 药物释放稳定, 微丸粘连也不严重。

盐酸沃尼妙林微丸在 0.1 mol/L 盐酸溶液及 pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液中的释放度表明, 丙烯酸树脂 II 和 III 的比例为 2 : 1、包衣增重为 15% 时, 包衣样品具有典型的肠溶特征; 在模拟胃部环境中前 2 h 累积释放度均小于标示量 10%, 可避免胃酸对药物的破坏及降效^[5]; 进入肠道内 45 min 的累积释放量大于 70%, 具有明显的定位释放功能, 微丸在碱性介质中以壁材溶解的方式释放, 是临床理想的肠溶制剂。

影响因素试验结果显示, 光照对本品影响不大, 湿度和温度对本品有一定影响, 但本品对高温高湿和强光的稳定性明显好于 10% 盐酸沃尼妙林粉, 建议本品于干燥处密闭避光保存。加速试验结果表明, 在模拟市售包装的条件下, 本品外观、含量等指标均保持稳定, 说明微丸具有良好的稳定性、制备工艺可靠。

参 考 文 献

[1] EMEA. Econor, INN-Valnemulin [DB/OL]. <http://www.emea.europa.eu/vetdocs/PDFs/EPAR/econor/003199en6.pdf>, 2004.

[2] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 附录 117.

[3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 附录 246.

[4] 杨季, 毕茹, 王征. 肠溶包衣材料的发展及应用[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(12): 885-888.

[5] 杨秀玉, 岳光, 黄显会, 等. 沃尼妙林注射液的研制[J]. 中国兽医学, 2009, 39(9): 830-834.

(责任编辑: 郭会田)