

罗替戈汀原位形成植入剂的处方研究

朱云¹, 许蒙蒙¹, 仇春晓¹, 申洁¹, 唐亚男¹, 胡筱¹, 李洪才¹, 王爱萍^{1,2*}

1. 烟台大学药学院, 山东烟台 264005

2. 山东绿叶制药有限公司 长效和靶向制剂国家重点实验室, 山东烟台 264003

摘要: **目的** 通过单因素考察优化处方, 制备罗替戈汀原位形成植入剂。**方法** 采用聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)为载体, 以体外累积释放度为指标考察 PLGA 类型、PLGA 相对分子质量、PLGA 质量浓度和载药量对罗替戈汀原位形成植入剂的影响, 优化最佳处方。**结果** 罗替戈汀原位形成植入剂的最佳处方为: 以 PLGA 7525 5A 为载体、*N*-甲基-2-吡咯烷酮为溶剂的 PLGA 质量浓度为 25%、载药量为 50%。制备的罗替戈汀原位形成植入剂体外释药 30 d 累积释放度达 85%以上, 具明显的缓释特征。**结论** 罗替戈汀原位形成植入剂结合了缓释注射剂和植入剂的优点, 体外具有良好的缓释效果。

关键词: 罗替戈汀原位形成植入剂; 罗替戈汀; 累积释放度; PLGA; 缓释

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)07-0795-05

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.07.009

Formulation study of Rotigotine in situ Forming Implant

ZHU Yun¹, XU Meng-meng¹, ZHANG Chun-xiao¹, SHEN Jie¹, TANG Ya-nan¹, HU Xiao¹, LI Hong-cai¹, WANG Ai-ping^{1,2}

1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China

2. State Key Laboratory of Long-Acting and Targeting Drug Delivery System, Shandong Luye Pharmaceutical Co, Ltd, Yantai 264003, China

Abstract: **Objective** To optimize the formulation by single factor method, and prepare Rotigotine in situ Forming Implant. **Methods** Poly (lactide-co-glycolide) acid (PLGA) was used as vehicle to prepare Rotigotine in situ Forming Implant. The optimum formulation was screened by *in vitro* cumulative release rate as the index, and the type of PLGA, molecular weight of PLGA, concentration of PLGA, and drug loading were studied. **Results** The optimized formulation of Rotigotine in situ Forming Implant was as following: prepared by PLGA 7525 5A as the vehicle with the concentration of 25% in the *N*-methyl-2-pyrrolidone solution and 50% drug loading. Rotigotine in situ Forming Implant showed sustained release characteristics with *in vitro* cumulative release rate above 85% after 30 d. **Conclusion** Rotigotine in situ Forming Implant has advantages of sustained release injection and implant, and also has good sustained release *in vitro*.

Key words: Rotigotine in situ Forming Implant; rotigotine; ISFI; cumulative release rate; PLGA; sustained release

罗替戈汀是一种新型非麦角类多巴胺受体激动剂, 通过激动 D3、D2、D1 受体产生抗帕金森作用, 用于早期帕金森病的治疗及中晚期帕金森病的辅助治疗^[1]。罗替戈汀具有明显的肝首过效应, 口服生物利用度低(仅为 5%)^[2], 国外上市的罗替戈汀贴片存在患者敷贴不便、个体透皮吸收差异大等问题^[3-4], 因而需要开发一种新型长效释药系统, 使其持续缓慢释药从而实现持续多巴胺能刺激, 用于治

疗帕金森病。原位形成植入剂是一种新型的缓释给药系统, 包括温敏型、离子敏感型、pH 值敏感型等。还有一种原位形成植入剂的形成是由于溶剂的扩散, 将水不溶性可生物降解的高分子载体材料及药物溶于亲水性有机溶剂中形成可注射的高分子溶液注入体内, 溶剂向周围组织液扩散, 使载体材料固化成形, 形成包裹药物的贮库^[5]。该系统具有可用于病变部位的局部给药、延长释药周期、降低给药

收稿日期: 2015-03-04

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2013HQ009)

作者简介: 朱云, 女, 烟台大学药学院本科生。E-mail: 18253593212@163.com

*通信作者 王爱萍, 女, 博士, 讲师, 研究方向为长效缓释控制剂的研究。Tel: (0535) 3808226 E-mail: wangaiping@luye.cn

剂量和药物不良反应、避免植入剂手术植入时的痛苦、制备工艺相对简单等优点。本实验以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)为载体, *N*-甲基-2-吡咯烷酮为溶剂制备罗替戈汀原位形成植入剂, 通过考察不同处方因素对罗替戈汀原位形成植入剂体外释放特性的影响, 优选出最佳处方, 旨在制备可长周期持续缓慢释药的罗替戈汀原位形成植入剂, 以期实现持续多巴胺能刺激为治疗帕金森病提供一种方便、实用、有效的给药方式。

1 仪器与试药

电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司); HZS-HA 水浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司); XW-80A 涡旋混合器(上海精科实业有限公司); TGL-16B 台式离心机(海安亭科学仪器有限公司); Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦); Brookfield DV-C 数显黏度计(美国博力飞公司)。

罗替戈汀对照品、原料药(批号 A45005-04/01-09, 质量分数>99.8%, 山东绿叶制药有限公司); PLGA 7525 5A(批号 LP460)、PLGA 7525 2A(批号 LP702)、PLGA 5050 5A(批号 LX00111-38)均购自 Lakeshore Biomaterials Co., Ltd; *N*-甲基-2-吡咯烷酮(NMP, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 十二烷基磺酸钠(化学纯, 北京市旭东化工厂); 磷酸氢二钠(分析纯, 北京化学试剂公司); 磷酸二氢钠(分析纯, 天津市天大化工实验厂); 乙腈、甲醇(色谱纯, J & K Scientific)。

2 方法与结果

2.1 罗替戈汀原位形成植入剂的制备

按处方量精密称取 PLGA, 置西林瓶中, 精密加入 NMP 0.4 mL, 室温下由微型涡旋混合仪混合至完全溶解, 得到均一透明的高分子溶液。然后加入处方量罗替戈汀, 充分混合均匀, 即得罗替戈汀原位形成植入剂。

各处方信息如下:

处方 1: PLGA 7525 5A, 100 mg(质量浓度 25%), 罗替戈汀 100 mg(载药量为 50%);

处方 2: PLGA 7525 2A, 100 mg(质量浓度 25%), 罗替戈汀 100 mg(载药量为 50%);

处方 3: PLGA 5050 5A, 100 mg(质量浓度 25%), 罗替戈汀 100 mg(载药量为 50%);

处方 4: PLGA 7525 5A, 150 mg(质量浓度 30%), 罗替戈汀 150 mg(载药量为 50%);

处方 5: PLGA 7525 5A, 80 mg(质量浓度 20%),

罗替戈汀 80 mg(载药量为 50%);

处方 6: PLGA 7525 5A, 100 mg(质量浓度 25%), 罗替戈汀 150 mg(载药量为 60%);

其中处方 1、2、3 用于高分子型号及相对分子质量的筛选, 处方 1、4、5 用于 NMP 溶液中高分子浓度的筛选; 处方 1、6 用于载药量的筛选。

2.2 体外释放度的测定

2.2.1 色谱条件 Discovery C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.3%磷酸水溶液(34:66); 柱温 35 ℃; 检测波长 223 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取罗替戈汀对照品 50 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 5 mL 甲醇溶解, 并用稀盐酸溶液稀释至刻度, 备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 0.1 mL 罗替戈汀原位形成植入剂, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇 5 mL, 超声溶解, 以流动相稀释并加至刻度, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.4 标准曲线的制备 以移液管分别精密量取罗替戈汀对照品溶液 0.2、0.4、0.6、1.0、2.0、5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用稀盐酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液 20 μL, 分别进样, 记录峰面积。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得回归方程 $A=4\,700\,C+10.6$, $r=0.999\,3$ 。结果表明罗替戈汀在 0.4~10.0 μg 与峰面积线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 取罗替戈汀对照品溶液, 连续进样 5 次, 记录罗替戈汀峰面积, 计算得其 RSD 值为 0.68%。

2.2.6 稳定性试验 取罗替戈汀原位形成植入剂供试品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、24 h 进样分析, 记录罗替戈汀峰面积, 计算得其 RSD 值为 1.33%。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取罗替戈汀原位形成植入剂 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录罗替戈汀峰面积, 计算其质量浓度, 结果其 RSD 值为 1.08%。

2.2.8 回收率试验 取空白高分子溶液 3 份, 各 0.1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 分别精密加入 1 mg/mL 罗替戈汀对照品溶液 4、6、8 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。结果罗替戈汀的平均回收率为 99.34%, RSD 值为 1.24% ($n=9$)。

2.2.9 测定方法 用移液器准确量取含药物约 10 mg 的各处方溶液, 置 50 mL 锥形离心管底部, 立即加入 35 mL 预热至 (37±0.5) ℃ 的 PBS 缓冲溶

液 (pH 7.4, 0.02% 十二烷基硫酸钠, 0.05% 叠氮化钠), 置于 (37±0.5) °C 的水浴振荡器中, (50±3) r/min 振荡。分别于 3、6 h 以及 1、2、4、8、10、12、14、16、18、21、24、28、31、35 d 取样, 3 000 r/min 离心 5 min。取上清液 10 mL, 作为供试品溶液。同时补充同温、同体积的释放介质。进样测定, 外标法计算罗替戈汀的质量浓度, 计算药物的累积释放量, 并绘制释放曲线。

2.3 罗替戈汀原位形成植入剂的处方优化

影响罗替戈汀原位形成植入剂释药特性的因素有很多, 本研究以体外释放度为考察指标对影响原位形成植入剂的处方因素如 PLGA 类型、PLGA 相对分子质量、PLGA 质量浓度 (即 PLGA、NMP 质量体积比) 及载药量进行考察。PLGA 为罗替戈汀原位形成植入剂的载体材料, 其类型和相对分子质量会影响药物的释药周期及释药特性; PLGA 质量浓度及载药量会影响原位形成植入剂凝胶过程中所形成的孔洞的大小, 从而影响突释及释药速率。

2.3.1 PLGA 类型对药物释放的影响 固定 PLGA 质量浓度为 25%、载药量为 50%, 分别以 5050、7525 型 PLGA 为载体制备罗替戈汀原位形成植入剂, 测定累积释放量, 结果见图 1。以 PLGA 5050 5A 制备的制剂释药周期较 7525 5A 短, 仅为 20 d, 而 PLGA 7525 2A 制备的制剂释药周期可达 30 d, 且释药平稳。这主要是由于当丙交酯乙交酯的比例由 75:25 变为 50:50 时, 乙交酯比例增加, 高分子亲水性增加, 降解速率加快, 从而加快了药物释放。

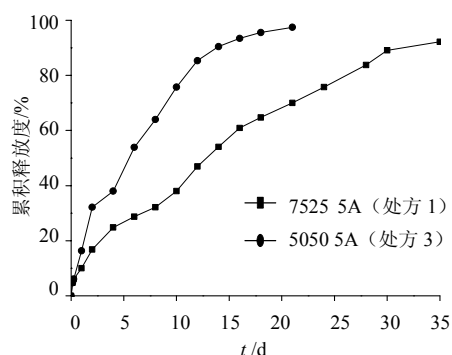


图 1 PLGA 不同类型对罗替戈汀原位形成植入剂体外释放曲线的影响

Fig. 1 Effect of different types of PLGA on *in vitro* release curves of Rotigotine in situ Forming Implant

2.3.2 PLGA 相对分子质量对药物释放的影响 固定 PLGA 质量浓度为 25%、载药量为 50%, 考察不

同相对分子质量的 7525 型 PLGA 对药物释放的影响, 结果见图 2。可以看出, 7525 2A (相对分子质量 1.3×10^4) 制备的制剂释药速率比 7525 5A (7.0×10^4) 快, 即在 LA 和 GA 比例相同的原位形成植入剂中, 随着高分子相对分子质量的增加, 药物释放随之减缓。因此 PLGA 7525 5A 为载体制备的罗替戈汀原位形成植入剂可持续缓慢释药达 30 d, 释药周期可满足实验设计需求。

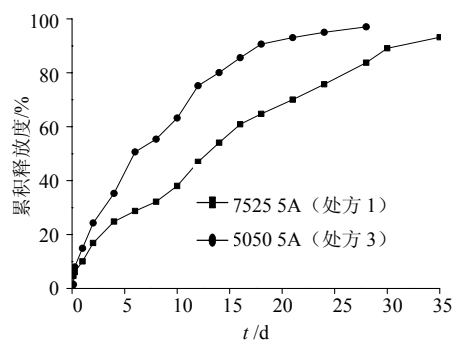


图 2 不同相对分子质量 PLGA 对罗替戈汀原位形成植入剂体外释放曲线的影响

Fig. 2 Effect of different molecular weight of PLGA on *in vitro* release curves of Rotigotine in situ Forming Implant

2.3.3 PLGA 质量浓度对药物释放的影响 以 PLGA 7525 5A 为载体材料, 载药量为 50%, 考察 PLGA 质量浓度对罗替戈汀原位形成植入剂中药物释放的影响, 结果见图 3。随着处方中 PLGA 质量浓度增加, 药物突释降低, 释放减缓, 这主要是由于 PLGA 质量浓度增加, 增大了凝胶黏度, 药物在其中的扩散速度降低, 但当高分子质量浓度继续增大至 30% 时, 所得溶液的黏度较大, 通针性降低, 不利于注射。因此优选 PLGA 质量浓度为 25%。

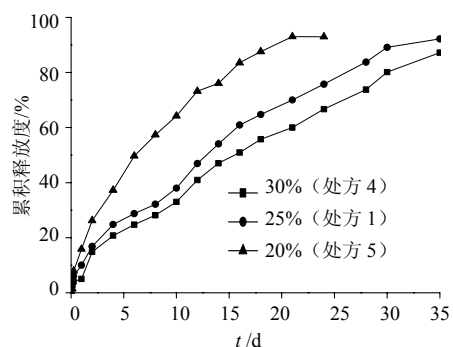


图 3 不同 PLGA 质量浓度对罗替戈汀原位形成植入剂体外释放曲线的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of PLGA on *in vitro* release curves of Rotigotine in situ Forming Implant

2.3.4 载药量对药物释放的影响 提高原位形成植入剂的载药量可有效减少原位形成植入剂的注射量,因此实验以 PLGA 7525 5A 为载体,固定 PLGA 质量浓度为 25%,考察不同载药量(50%、60%)对药物释放的影响,结果见图 4。体外释药结果显示,载药量对罗替戈汀原位形成植入剂的突释有着显著的影响,当理论载药量为 60%时,药物突释明显,24 h 内释放量达 20%。这是由于载药量较高时,药物在聚合物沉淀中所占的比例越大,聚合物沉淀中所形成的孔洞就越多,从而引发较高的突释。当理论载药量降低至 50%时,突释效应明显降低,24 h 累积释放量仅为 10%,而且药物释放明显减缓。因此选择理论载药量为 50%。

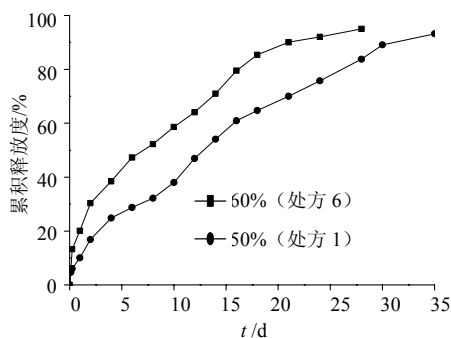


图4 不同载药量对罗替戈汀原位形成植入剂体外释放曲线的影响

Fig. 4 Effect of different drug loadings on *in vitro* release curves of Rotigotine in situ Forming Implant

2.3.5 罗替戈汀原位形成植入剂的黏度考察 黏度为原位形成植入剂重要考察指标之一^[6],黏度太大不利于注射给药,而且黏度影响溶剂的扩散速率,因此溶液的流变性对药物贮库的突释效应也至关重要。取罗替戈汀原位形成植入剂适量,参考《中国药典》2010 年版二部附录黏度测定法,使用 Brookfield DV-C 数显黏度计在 25 °C 条件下测定黏度,结果见表 1。可以看出,除处方 4 外其他各处方制备的高分子溶液的黏度均小于甘油的黏度(400 mPa·s),说明上述高分子溶液的黏度小,流动性好,易于注射,而处方 4 的黏度较大,不易于注射。

2.4 验证试验

根据上述单因素考察结果,确定罗替戈汀原位形成植入剂的最佳处方组成为: PLGA 7525 5A 为载体,质量浓度为 25%,载药量为 50%,体外释药 30 d 累积释放达 85%以上,具明显的缓释特征,满足制剂设计需求。见图 5。

表 1 罗替戈汀原位形成植入剂黏度测定结果

Table 1 Determination of viscosity of Rotigotine in situ Forming Implant

处方编号	黏度/(mPa·s)
1	261.9
2	203.9
3	303.2
4	410.3
5	202.6
6	259.0

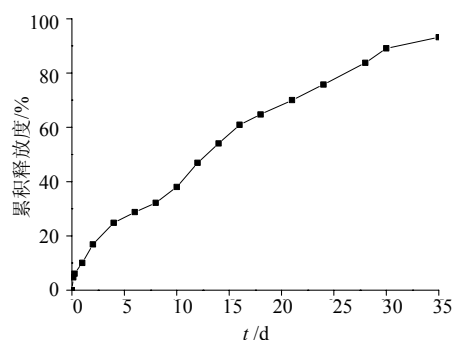


图5 最优处方制备罗替戈汀原位形成植入剂体外释放曲线

Fig. 5 *In vitro* release curve of Rotigotine in situ Forming Implant with optimized formulation

3 讨论

原位形成植入剂是近年来缓控型注射剂领域的研究热点^[7]。本研究以生物可降解的 PLGA 为载体, *N*-甲基-2-吡咯烷酮为溶剂,通过对其处方进行优化,制备出缓释周期可达 30 d 的可注射型的罗替戈汀原位形成植入剂。

PLGA 为美国 FDA 批准的药用辅料,因其可生物降解,目前在可注射缓控释制剂领域应用非常广泛。影响原位形成植入剂中药物释放的因素较复杂,如高分子的相对分子质量、高分子中丙交酯已交酯的比例、高分子溶液的质量浓度、载药量等。本实验结果显示,在 LA 和 GA 比例相同的高分子中,随着高分子相对分子质量的增加,溶剂从高分子溶液中扩散困难,扩散速率降低,药物释放随之减缓;当丙交酯乙交酯的比例由 75:25 变为 50:50 时,乙交酯比例增加,高分子亲水性增加,降解速率加快,药物释放加快。由于生物可降解注射型原位形成植入剂在注射进体内后,经过一个从溶液转变为固体的过程,在这个转变过程之间会引起一个药物突释的现象,容易引起毒副作用。研究结果表明增

加载体高分子质量浓度或降低载药量可在一定程度上降低突释,但增加高分子质量浓度会导致溶液通针性降低,并且容易产生皮肤的刺激性,过多的降低载药量会增加注射量。

本研究通过考察影响原位形成植入剂中药物释放的因素,优化处方,制备的罗替戈汀原位形成植入剂结合了缓释注射剂和植入剂的优点,体外具有良好的缓释效果,可以满足帕金森病治疗的需要,该制剂的开发具有一定的应用前景。

参考文献

- [1] Jenner P. A novel dopamine agonist for the transdermal treatment of Parkinson's disease [J]. *Neurology*, 2005, 65: S3-S5.
- [2] Rotigotine [OL]. [2012-03-05] <http://en.wikipedia.org/wiki/Rotigotine>.

Rotigotine.

- [3] Sujith O K, Lane C. Review: therapeutic options for continuous dopaminergic stimulation in Parkinson's disease [J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2009, 2: 105-113.
- [4] 谭初兵, 时丽丽, 王士伟, 等. 2012 年美国 FDA 批准新药介绍和分析[J]. *现代药物与临床*, 2013, 28(3): 415-420.
- [5] 董吉, 蒋曙光, 平其能. 注射型原位凝胶植入剂的研究进展 [J]. *药学进展*, 2007, 31(3): 109-113.
- [6] Gao Z H, Shukla A J, Johnson J R *et al*. Controlled release of a contraceptive steroid from biodegradable and injectable gel formulations: *in vitro* evaluation [J]. *Pharm Res*, 1995, 12(6): 857-863.
- [7] 杨琳, 张永萍. 原位凝胶系统在可注射缓释制剂中的研究进展 [J]. *贵阳中医学学报*, 2009, 31(2): 84-86.