

阿立哌唑微粒的制备及其体外释药研究

李 聘¹, 李红鑫¹, 吴 茜¹, 孙常胜¹, 吴婧楠¹, 薛婉莹¹, 郭杏梅¹, 孙腾跃², 蔡程科^{1*}, 王洪飞^{2*}

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

2. 北京量子高科制药科技有限公司, 北京 102200

摘要: 目的 采用快速膜乳化-溶剂挥发法制备不含载体辅料的阿立哌唑微粒, 并对其体外释药行为进行评价。方法 采用快速膜乳化-溶剂挥发法制备阿立哌唑微粒, 将主药于室温条件下超声溶解于有机溶剂中作为油相。将聚乙烯醇(PVA)于磁力搅拌且加热的条件下溶解于去离子水中, 并趁热用0.45 μm的微孔滤膜真空抽滤, 得滤液, 作为水相。油相与水相经磁力搅拌混合均匀后得初乳液, 将初乳液倒入快速不锈钢膜乳化装置, 氮气加压, 过膜, 收集乳液。将乳液与固化液混合后固化至无有机溶剂气味, 离心洗涤, 冷冻干燥即得到阿立哌唑微粒冻干粉。以微粒粒径、跨距及表观形态为指标, 采用单因素考察法对有机溶剂、水相PVA浓度、阿立哌唑质量浓度、油水相体积比、固化液pH值、过膜次数、固化方式进行考察, 并初步确定最优制备条件; 采用直接释药法测定并比较阿立哌唑原料药与微粒在不同时间点的累积释放率, 并对其释放行为进行数学模型拟合。**结果** 经过单因素考察, 确定阿立哌唑微粒的制备工艺条件为: 有机溶剂二氯甲烷, 水相PVA浓度3%, 药物质量浓度7 mg/mL, 油水相体积比1:1, 固化液3%PVA溶液(pH 8.5), 四级串联不锈钢膜乳化器过膜1次, 机械搅拌固化。阿立哌唑微粒平均 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 及跨距分别为2.03、4.38、8.09 μm、1.39; 扫描电镜下呈现较为均匀的薄片状; 差示扫描量热法显示其结晶程度降低; 平均药物质量分数为99.27%。阿立哌唑微粒在48 h时累积释放率可达100.17%, 体外释放符合Logistic方程, 而原料药在48 h时仅释放47.17%, 释放符合一级方程。**结论** 快速膜乳化法可用于提高难溶性药物的溶出速度, 具有广阔的应用前景。

关键词: 快速膜乳化; 溶剂挥发法; 阿立哌唑; 微粒; 体外释放

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)04-0703-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.04.004

Preparation and *in vitro* release of aripiprazole microparticlesLI Pin¹, LI Hongxin¹, WU Qian¹, SUN Changsheng¹, WU Jingnan¹, XUE Wanying¹, GUO Xingmei¹, SUN Tengyue², CAI Chengke¹, WANG Hongfei²

1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. Beijing Quantum Hi-tech Pharmaceutical Technical Co., Ltd, Beijing 102200, China

Abstract: Objective To prepare aripiprazole microparticles without carrier excipients by rapid membrane emulsification-solvent evaporation method and evaluate their drug release behavior *in vitro*. **Methods** Aripiprazole microparticles were prepared by rapid membrane emulsification and solvent evaporation method. The main drug was dissolved in good solvent as oil phase by ultrasound at room temperature. The polyvinyl alcohol (PVA) was dissolved in deionized water under the condition of magnetic stirring and heating, and the filtrate was obtained by vacuum pumping with a 0.45 μm microporous filter membrane as the aqueous phase. After the oil phase and water phase were mixed uniformly by magnetic stirring, the primary emulsion was obtained. The primary emulsion was poured into the rapid stainless steel membrane emulsifying device. The nitrogen was pressurized, the film is passed, and the emulsion was collected. The emulsion was mixed with the curing solution and cured until there was no odor of organic solvent. Then the emulsion was centrifugally washed and freeze-dried to obtain the freeze-dried powder of aripiprazole microparticles. Taking the particle size, span and apparent morphology as indexes, the the organic solvent, aqueous PVA concentration, aripiprazole mass concentration, volume ratio of oil to water, pH value of curing solution, times of membrane crossing and curing method were

收稿日期: 2020-11-23

基金项目: 国家科技重大专项项目(2011ZX09201-201); 北京市科技计划专项研发项目(Z16010101390)

第一作者: 李 聘(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新药研发及新剂型与新制剂研究。Tel: 18810609387 E-mail: purple77lipin@163.com

*通信作者: 蔡程科(1971—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药新剂型与新制剂研究。Tel: (010)64286887 E-mail: cck98@126.com

王洪飞(1963—), 男, 博士, 北京量子高科制药科技有限公司董事长, 研究方向为药物速释制剂的研发和产业化。Tel: (010) 56457353 E-mail: bjwhf@vip.sina.com

investigated by single factor method, and the optimal preparation conditions were preliminarily determined; The cumulative release rates of aripiprazole and its microparticles at different time points were measured and compared by direct release method, and the release behavior was fitted by mathematical model. **Results** After single factor investigation, the preparation conditions of aripiprazole microparticles were determined as follows: organic solvent methylene chloride, aqueous phase PVA concentration of 3%, drug mass concentration of 7 mg/mL, oil-water phase volume ratio of 1 : 1, curing liquid of 3%PVA solution (pH 8.5), four-stage series stainless steel membrane emulsifier through the membrane once, mechanical stirring curing. The average D_{10} , D_{50} , D_{90} and Span of aripiprazole microparticles were 2.03, 4.38, 8.09 μm and 1.39, respectively. Under scanning electron microscope, aripiprazole microparticles showed a relatively uniform sheet shape. The differential scanning calorimetry showed that the crystallinity of aripiprazole microparticles decreased. The average drug content was 99.27%. The cumulative release rate of aripiprazole microparticles was 100.17% at 48 h. The *in vitro* release of aripiprazole microparticles conformed to the logistic equation, while the release of API was only 47.17% at 48 h, and the release followed the first-order equation. **Conclusion** Rapid membrane emulsification can be used to improve the dissolution rate of insoluble drugs and has a broad application prospect.

Key words: rapid membrane emulsification; solvent evaporation method; aripiprazole; microparticles; *in vitro* release

阿立哌唑 (aripiprazole) 是一种第三代抗精神分裂症药物, 出现于 20 世纪 90 年代, 商品名为 Abilify^[1], 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$, 相对分子质量为 448.39, 化学结构式见图 1。众多研究表明, 其对突触前膜 D_2 受体及 5-HT_{1A} 受体具有部分激动活性, 但对突触后膜 D_2 受体与 5-HT_{2A} 受体具有拮抗作用, 常被称为多巴胺系统稳定剂, 这种独特的药理作用, 使得其相较于其他非典型抗精神分裂症药物不良反应更少, 安全性更高^[2-3]。然而阿立哌唑作为一种二氢喹啉酮类药物, 属于生物药剂学分类 (BCS) II 类药物, 在水中的溶解度极低^[4], 可能会限制其在体内的吸收过程。近年来, 微粒分散体系已成为解决药物水溶性差的常用技术, 如微球、微囊等, 但常需加入大量的载体材料如聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA), 易出现载药量低、包封率差的问题^[5]。本实验拟采用快速膜乳化-溶剂挥发法制备不含成球辅料的阿立哌唑微粒, 以期能够改善阿立哌唑的溶出速度, 提高生物利用度以及制剂过程中的含量均匀度。

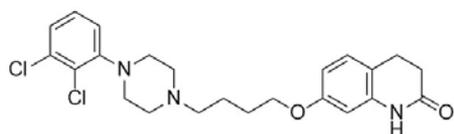


图1 阿立哌唑化学结构式

Fig. 1 Chemical structural formula of aripiprazole

1 材料

1.1 主要仪器

快速膜乳化器 (中国科学院过程工程研究所); 四级串联不锈钢膜 (实验室自制, 北京中医药大学); IKA RT10 高效 10 点加热磁力搅拌器 (德国 IKA 公司); RW20 digital 数显型顶置式机械搅拌

器 (德国 IKA 公司); KQ-400DB 型数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); H1750 离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); RE-501 旋转蒸发器 (北京神泰伟业仪器设备有限公司); LGJ-12 冷冻干燥机 (北京松原华兴科技发展有限公司); BT-Bettersize2600 激光粒度分布仪 (丹东百特仪器有限公司); Supra55 场发射扫描电子显微镜 (德国 Carl Zeiss Jena 公司); DSC 3 型差示扫描量热仪 (瑞士梅特勒-托利多公司); SHA-CA 水浴恒温振荡器 (常州澳华仪器有限公司); BSI10S 型万分之一电子分析天平 (赛多利斯仪器系统有限公司); BT125D 电子天平 (北京赛多利斯有限公司); Thermo HPLC UltiMate3000 (赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司)。

1.2 药物及主要试剂

阿立哌唑原料药 (浙江华海药业股份有限公司, 批号 5667-17-004, 质量分数 99.3%); PVA 088-20 (山西三维集团股份有限公司); 二氯甲烷 (天津市大茂化学试剂厂); 乙腈、甲醇、醋酸乙酯 (Fisher, 色谱纯); 十二烷基硫酸钠 (天津市福晨化学试剂厂); 盐酸、磷酸、氯化钠、氢氧化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠 (北京化工厂); 娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 阿立哌唑微粒的制备

采用快速膜乳化-溶剂挥发法制备阿立哌唑微粒, 将主药于室温条件下超声溶解于有机溶剂中作为油相。将聚乙烯醇 (PVA) 于磁力搅拌且加热的条件下 (转速挡 $\times 4$ 、温度挡 $\times 8$) 溶解于去离子水中, 并趁热用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜真空抽滤, 得续滤液, 作为水相。油相与水相经磁力搅拌 (转速挡 $\times 6$ 、室温) 混合均匀后得初乳液, 将初乳液倒入快速不锈

钢膜乳化装置,氮气加压,过膜,收集乳液。将乳液与固化液混合后固化至无有机溶剂气味,离心洗涤,冷冻干燥即得到阿立哌唑微粒冻干粉。

2.2 评价指标

2.2.1 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 及跨距(S) 取微粒冻干粉适量分散至一定量的纯净水中,超声(100 W, 1 min)后,边搅拌边加入BT-Bettersize2600激光粒度分布仪的样品槽中,直至其遮光率范围在(10±5)%,连续测定3次,取平均值。 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 分别表示有10%、50%、90%的微粒小于此粒径值, $S=(D_{90}-D_{10})/D_{50}$ 常用来衡量样品分布宽度,其值越小说明粒度分布越集中。

2.2.2 表观形态学考察 采用扫描电子显微镜(SEM)观察微粒的表面形态,沾取少量阿立哌唑微粒冻干粉,使其均匀在导电胶上,氮气吹去表面多余的粉末,高真空镀膜仪喷金后,观察阿立哌唑微粒形态。

2.3 单因素考察

2.3.1 有机溶剂考察 微粒制备过程中选用的有机溶剂应与水不相混溶,且药物在其中有良好的溶解度,以二氯甲烷与醋酸乙酯最为常用。实验过程中发现,以二氯甲烷作为良溶剂,所制备的初乳液更细腻,微粒粒径较小,其微粒冻干粉在水中的分散性更好,而以醋酸乙酯为溶剂所制备的微粒粒径明显增大,其粒径测定结果见表1,SEM结果见图2。

推测是由于:①醋酸乙酯在水中的溶解度为8.7%,高于二氯甲烷(2.0%)^[6],醋酸乙酯在固化过程中扩散至水相的速度更快,导致所制备的微粒黏

连,分散性差;②经前期实验测定,阿立哌唑原料药在二氯甲烷、醋酸乙酯的平衡溶解度分别为(73.03±0.11)、(12.15±0.10)mg/mL,阿立哌唑在二氯甲烷中的溶解度更大,因此以二氯甲烷所制备乳液更加细腻;③醋酸乙酯与二氯甲烷的密度分别为0.902、1.325 g/mL,在初乳液制备过程中发现以醋酸乙酯为良溶剂形成的油滴易上浮,而以二氯甲烷为溶剂形成的油滴倾向沉在下部,初乳下部受到的机械剪切力大于上部,油相可与水相及时混合,所形成的初乳液更加均匀细腻,且可减少乳滴团聚。综上,选择以二氯甲烷作为良溶剂。

2.3.2 水相PVA浓度 由Stoke's定律: $V=2r^2(\rho_1-\rho_2)g/9\eta$, V 为粒子的沉降速度, r 为微粒半径, ρ_1 和 ρ_2 分别为微粒与介质的密度, g 为重力加速度常数, η 为介质黏度,可推测介质黏度越大,沉降速度越小,体系稳定性越好。PVA作为乳化剂和分散剂,能够增加乳液的稳定性,阻止乳滴合并,选取水相中PVA浓度分别为1%、2%、3%、4%进行考察,测定结果见表2。由粒径分布结果可知,在一定范围内,随着PVA浓度升高,微粒粒径及 S 值减小,同Stoke's定律相符,但在过膜过程中发现当PVA浓度增加至4%时,初乳液黏稠,过膜困难,约有1/2乳液未能顺利过膜,推测其所测得的粒径大、分布宽与过膜过程中乳化不彻底有关。当PVA浓度为2%、3%时, D_{50} 值接近,但后者所制备的微粒粒径均匀性更好,因此选择水相PVA浓度为3%。

表2 水相PVA浓度考察

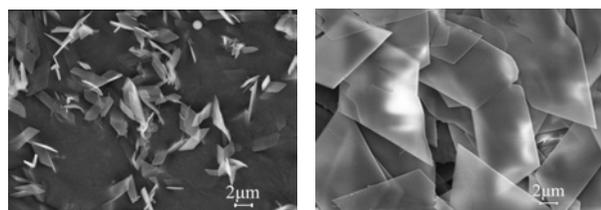
Table 2 Results of PVA mass concentration in aqueous phase

PVA/%	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	S
1	2.53	7.01	17.90	2.19
2	1.93	5.30	12.99	2.09
3	2.30	5.44	11.10	1.62
4	2.53	6.61	15.75	2.00

表1 有机溶剂种类考察

Table 1 Results of organic solvents

有机溶剂	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	S
二氯甲烷	1.50	4.24	8.40	1.63
醋酸乙酯	4.98	11.58	20.88	1.37



二氯甲烷

醋酸乙酯

图2 不同有机溶剂制备的阿立哌唑微粒SEM图(×3 000)

Fig. 2 SEM images of aripiprazole microparticles prepared by different organic solvents (×3 000)

2.3.3 阿立哌唑质量浓度 由Stoke's定律可知,在同一分散介质中,分散相的浓度越高,微粒与介质的密度差越大,其混悬剂的稳定性越差。对阿立哌唑质量浓度的考察如表3所示,随着药物质量浓度增加,微粒粒径有增大趋势,与Stoke's定律相符。当药物质量浓度大于7 mg/mL时,粒径明显增大,且所得到的微粒冻干粉在水中的分散性极差。当药物质量浓度低于7 mg/mL时,粒径均在5 μm以下,故为提高药物的单次制备量,选择药物最大质量浓度为7 mg/mL。

表3 药物质量浓度考察

Table 3 Results of drug concentration

阿立哌唑/(mg·mL ⁻¹)	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	S
3	1.36	4.58	9.43	1.44
5	1.52	4.75	9.74	1.73
7	2.24	4.74	9.14	1.45
9	2.46	6.22	14.09	1.87
15	4.17	9.69	17.41	1.37

2.3.4 油水相体积比 在制备初乳液时,油相所占比例低于25%时,其运动阻力小,分散空间大,易出现分层现象;而当油相所占比例大于50%时,乳滴之间距离近,易发生碰撞合并甚至引起转相^[7],因此以V_{油相}:V_{水相}分别为1:1、1:2、1:3进行考察,粒径分布结果见表4。当油水比为1:3时,粒径明显增大,推测可能是:①由于水相比例增加,二氯甲烷在水相中的溶解度增加,扩散至水相的速度更快,阿立哌唑快速析出并不断晶长;②水相比例增加会造成初乳液的黏度增大,因此当膜乳化器仍然给予同等程度的挤压力时,可能会使得乳液的乳化不彻底,进而造成药物微粒粒径变大。油水比为1:1、1:2时,粒径及形态几乎无差别,但前者更加均匀,且水相比例增加易造成PVA残留。综合考虑选择油水相比例为1:1。

表4 油水相体积比考察

Table 4 Results of oil-water ratio

V _{油相} :V _{水相}	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	S
1:1	2.20	5.43	12.33	1.86
1:2	1.41	5.23	12.23	2.07
1:3	1.95	11.17	41.83	3.57

2.3.5 固化液pH值 前期实验发现,阿立哌唑原料药在中性及碱性环境下的溶解度较低,同相关文献^[4]研究一致,推测是由于N原子的存在,药物呈现弱碱性,可见pH环境对药物的溶出尤为重要。选择以HCl和NaOH作为pH调节剂,其粒径结果见表5。随着pH值增加,阿立哌唑微粒粒径呈减小趋势,且当固化液为碱性时,药物不易逃逸至外水相中,收率更高。当pH值为8.5、9.5时,粒径分布结果几乎无变化,且后期会将微粒制剂制备成更加便于给药的口崩片,口腔pH环境为6.6~7.1,接近中性,为减少pH值的影响,初步选择固化液的pH值为8.5。

2.3.6 过膜次数 选择过膜次数分别为1、2、3次进

表5 固化液pH值考察

Table 5 Results of pH value of curing solution

pH值	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	S
4.5	4.53	11.97	26.26	1.81
5.5	3.84	9.42	22.39	1.97
7.2	2.51	5.47	10.81	1.52
8.5	1.36	4.48	9.43	1.80
9.5	1.74	4.35	9.18	1.71

行考察,其粒径分布结果如表6所示。理论上,随着过膜次数的增加,较大的乳滴被破坏形成更小的乳滴,所得到的乳液均匀性更好,但在实验过程中发现,随着过膜次数增加,四级串联不锈钢乳化膜可能存在堵塞现象,过膜逐渐困难,且连续过膜3次后所得到的乳液量仅约为初乳液体积的1/2。综上,选择过膜1次。

表6 过膜次数考察

Table 6 Results of membrane passing times

过膜次数	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	S
1	1.50	4.24	8.40	1.63
2	2.46	5.55	11.19	1.57
3	2.17	6.30	16.23	2.23

2.3.7 固化方式 固化方式主要考察磁力搅拌、机械搅拌、真空旋蒸3种,粒径测定结果见表7,以机械搅拌最佳,推测是由于阿立哌唑是一种结晶性药物,机械搅拌固化过程中给予的乳液剪切力更强,对于药物晶长现象有一定的抑制作用。综合考虑,选择以机械搅拌器搅拌作为其固化方式。

表7 固化方式考察

Table 7 Results of curing methods

固化方式	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	S
磁力搅拌	2.14	6.31	16.44	1.87
机械搅拌	2.55	5.55	11.12	1.55
真空旋蒸	2.74	8.37	19.96	2.06

2.3.8 工艺验证 经过上述单因素考察,确定阿立哌唑微粒的制备工艺条件为:有机溶剂二氯甲烷,水相PVA浓度3%,药物质量浓度7 mg/mL,油水相体积比1:1,固化液3%PVA溶液(pH 8.5),四级串联不锈钢膜乳化器过膜1次,机械搅拌固化。按照以上条件,进行3批工艺验证,粒径测定结果见表8,说明此工艺条件稳定可行。

原料药与微粒的形态如图3所示。观察SEM

表8 工艺验证结果

Table 8 Results of process validation

序号	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	S
1	1.90	4.24	7.95	1.43
2	2.01	4.55	8.23	1.37
3	2.18	4.35	8.10	1.36
均值	2.03	4.38	8.09	1.39
RSD/%	6.95	3.59	1.73	2.73

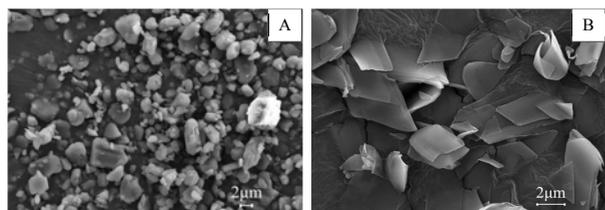


图3 阿立哌唑原料药(A)及微粒(B)的SEM图($\times 5\ 000$)
Fig. 3 SEM graph of aripiprazole raw (A) and microparticles (B) ($\times 5\ 000$)

图可见,通过气流粉碎得到的阿立哌唑原料药粒径有所减小,但大小极不均一,在1~10 μm 内分布,范围较宽。将其制备成微粒后,呈现较为均匀的薄片状,比表面积明显增加,长在4 μm 左右,宽约2 μm ,更加均一,同粒径测定结果相符。

2.4 差示扫描量热法(DSC)

精密称取一定量的阿立哌唑原料药粉末、阿立哌唑微粒冻干粉、阿立哌唑原料与PVA(1:1)的物理混合物,将样品粉末均匀铺于铝坩埚中,加盖,压制薄片状,用空坩埚同法制成空白样品。在100~150 $^{\circ}\text{C}$,充氮保护条件下,按2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速率进行扫描^[8],结果如图4所示,熔融峰位置几乎不变,提示制备成微粒制剂后其晶型可能未发生改变。结晶度 $\theta = \Delta H_f / \Delta H_f^*$, ΔH_f 为样品的熔融热即峰

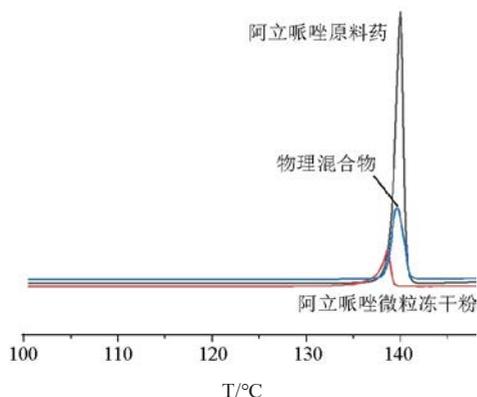


图4 阿立哌唑原料药、微粒冻干粉、物理混合物DSC图
Fig. 4 DSC diagram of aripiprazole raw, microparticles lyophilized powder and physical mixture

面积与称样量的比值, ΔH_f^* 是聚合物结晶度达100%时的熔融热,结晶度与 ΔH_f 呈正比,制备成微粒后 ΔH_f 减小(表9),由此可推测药物结晶程度可能降低。

表9 阿立哌唑原料药、微粒冻干粉、物理混合物的DSC峰值和 ΔH_f 值

Table 9 DSC peak value and ΔH_f value of aripiprazole raw, microparticles lyophilized powder and physical mixture

组别	DSC峰值/ $^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_f/(\text{J}\cdot\text{g}^{-1})$
阿立哌唑原料药	139.26	88.26
物理混合物(阿立哌唑+PVA)	139.40	75.77
阿立哌唑微粒冻干粉	138.92	40.44

2.5 含量测定方法的建立

2.5.1 色谱条件及专属性 色谱柱: InertSustain C_{18} (4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钠溶液(40:60);检测波长254 nm;体积流量1.0 mL/min;柱温30 $^{\circ}\text{C}$;进样量10 μL ^[9]。专属性考察结果如图5所示,结果显示溶剂对主成分测定无干扰。

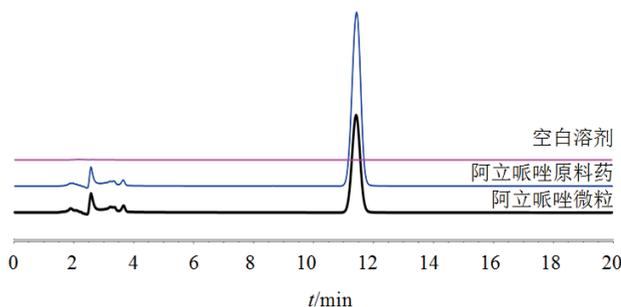


图5 阿立哌唑的HPLC色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of aripiprazole

2.5.2 线性关系考察 精密称取原料药10.10 mg,置25 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为母液,密封备用。分别精密移取适量母液置25 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制得质量浓度为6.464、9.696、16.160、24.240、32.320、48.480、80.800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液,经0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,照“2.5.1”项下色谱条件进样,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标作图,绘制标准曲线,得其线性回归方程为: $Y = 0.308\ 6 X - 0.000\ 3$, $R^2 = 0.999\ 9$,表明阿立哌唑在6.464~80.800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好($n = 7$)。

2.5.3 精密度考察 取适量“2.5.2”项下质量浓度为16.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的阿立哌唑对照品溶液适量,经

0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,连续进样6次,进样量为10 μL ,记录对照品峰面积,峰面积RSD为0.16%,小于2.0%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性考察 精密称定阿立哌唑微粒冻干粉10.12 mg,置25 mL容量瓶中,加甲醇超声溶解并稀释,作为供试品储备液,密封备用。精密吸取1 mL供试品储备液并以甲醇稀释至25 mL,作为供试品溶液,经0.22 μm 微孔滤膜过滤后,取续滤液按“2.5.1”项下方法分别在制备后0、2、4、6、8、10、12、24 h进样10 μL ,记录峰面积,计算RSD值,其峰面积RSD值为0.56%,说明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.5 重复性考察 按照“2.5.4”项下方法,同法制备6份供试品溶液,按“2.5.1”项下方法进样10 μL ,记录峰面积,并计算其含量,峰面积RSD为1.21%,阿立哌唑微粒的平均含量为99.27%。表明此方法重复性良好,且说明此微粒制剂的离心洗涤较彻底,几乎无PVA残留。

2.5.6 加样回收率考察 取“2.5.4”项下的供试品溶液3 mL,按对照品与样品的浓度比为0.8:1.0、1.0:1.0、1.2:1.0加入“2.5.2”项下的对照品溶液,配制得到低、中、高3个浓度的供试溶液各3份,取续滤液,按“2.5.1”项下方法进样。结果显示,低、中、高3种浓度的平均回收率分别为99.84%、100.32%、99.03%,RSD分别为0.29%、0.68%、1.06%。

2.6 体外释放考察

2.6.1 平衡溶解度测定 对阿立哌唑原料药在释放介质:PBS缓冲液(pH 7.4)与含0.05% SDS的PBS缓冲液(pH 7.4)^[10]中的平衡溶解度进行测定。称取过量的阿立哌唑原料药,分别加入新鲜配制的释放介质100 mL,平行操作3份,置于(37 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 水浴恒温振荡器中以120次/min的速度振摇48 h至饱和,上清液经0.22 μm 微孔滤膜滤过后,取续滤液,按照“2.5.1”项下条件进样,测定其含量。结果显示阿立哌唑在2种释放介质中的平衡溶解度分别为(0.22 \pm 0.17)、(41.67 \pm 0.29) $\mu\text{g}/\text{mL}$,可见阿立哌唑原料药在PBS缓冲液中的溶解度极低,为满足漏槽条件,选择以含0.05% SDS的PBS缓冲液(pH 7.4)作为释放介质进行体外释放度的测定。

2.6.2 体外释放度的测定 采用直接释药法对阿立哌唑原料药及微粒在释放介质中的累计释放率进行研究。精密称取2.28 mg的阿立哌唑原料药与微粒,加入250 mL释放介质(满足漏槽条件),置于水浴恒温振荡器中,温度为(37 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$,速度为

120次/min,在规定的的时间间隔(0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、24.0、30.0、36.0、48.0 h)取样1 mL并补充等量的新鲜释放介质。每组实验平行操作3次,取出的样品溶液经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液按“2.5.1”项下方法进行测定,记录峰面积,计算阿立哌唑原料药与阿立哌唑微粒在不同时间点的累计释放率,绘制释放曲线,见图6。由释放曲线可以看出,微粒的释放速率明显高于原料药,在0.5 h时的累计释放率为63.21%,在48 h时释放率可达100.17%,完全释放;而原料药在48 h时仅释放47.17%,可见微粒制剂对于改善难溶性药物的体外释药行为具有明显优势。对原料药及微粒的体外释药过程进行数学模型拟合,结果见表10,原料药的体外释药模型与一级方程的拟合度最优,相关系数 $R^2=0.9231$,微粒的体外释药模型与Logistic方程的拟合度最优,相关系数 $R^2=0.9740$ 。

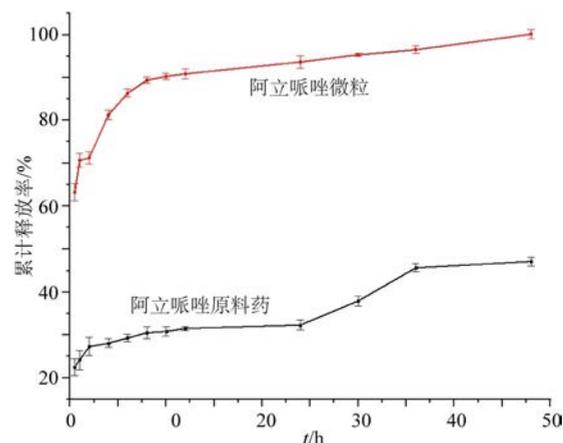


图6 阿立哌唑原料和微粒的释放曲线($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 6 Release curve of aripiprazole raw and microparticles ($\bar{x}\pm s, n=3$)

3 讨论

快速膜乳化-溶剂挥发法是制备微粒制剂的常用方法,采用课题组开发的四级串联不锈钢膜已成功制备了水飞蓟宾微粒^[11-12]、齐墩果酸微粒^[10]、甘草次酸拼合物TOGA-X4微粒^[13-14]等,避免了大量载体材料如聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)造成的载药量低的难题。本实验对阿立哌唑微粒制备过程中的工艺参数进行了初步考察,其中水相PVA浓度与药物质量浓度的考察结果在一定范围内与Stoke's定律相符;通过前期对原料药在不同pH值介质下的平衡溶解度测定发现,其在酸性环境下的溶解度较好,但在中性及碱性环境下溶解度极差,见图7。提示阿立哌唑具有pH依赖性,属于难溶弱碱性药物,因此对固化液的pH值进行考察,发现酸性环境

表10 体外释药数学模型拟合结果

Table 10 Results of mathematical model fitting of drug release *in vitro*

组别	零级方程	一级方程	Higuchi方程
原料药	$Q=0.473 2t+25.100 1, R^2=0.914 6$	$\ln(100-Q)=-0.007 4t+4.321 5, R^2=0.923 1$	$Q=3.596 4t^{1/2}+20.171, R^2=0.908 1$
微粒	$Q=0.602 2t+76.638 2, R^2=0.649 8$	$\ln(100-Q)=-0.085 t+3.419 1, R^2=0.861 2$	$Q=5.204 3t^{1/2}+68.256, R^2=0.827 2$
组别	Logistic方程	Weibull方程	Ritger-Pepps方程
原料药	$Q=\frac{24.088 1-8.653 0 \times 10^5}{1+[t/(1.487 5 \times 10^7)]^{0.833 4}}+8.653 0 \times 10^5, R^2=0.897 2$	$\ln \ln [1/(1-Q/100)]=0.178 3 \ln t-1.322 6, R^2=0.841 0$	$\ln Q=0.145 \ln t+3.158 5, R^2=0.861 1$
微粒	$Q=\frac{58.701 8-100.753 4}{1+(t/3.463 3)^{0.999 3}}+100.753 4, R^2=0.974 0$	$\ln \ln [1/(1-Q/100)]=0.332 6 \ln t+0.112 1, R^2=0.894 8$	$\ln Q=0.097 9 \ln t+4.245 6, R^2=0.955 7$

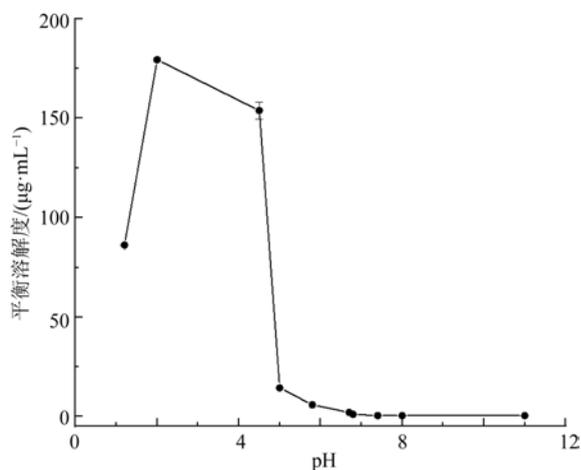


图7 阿立哌唑原料药在不同pH值缓冲液中的平衡溶解度
Fig.7 Equilibrium solubility of aripiprazole raw in different pH buffer solutions

下微粒粒径较大,且离心后药物得率大大降低,推测是由于酸性环境下,大部分药物溶解于固化液中以盐的形式存在,随着离心后上清液的除去而损失,剩余少量药物不断结晶长大,以更稳定的大粒径结晶的形式存在;而当固化液为碱性时,药物不易逃逸至外水相中,收率更高,加之PVA溶液的乳化稳定作用,从而使得微粒粒径得以控制。以单因素考察的工艺条件制备了阿立哌唑微粒,经测定其平均药物含量为99.27%,说明离心洗涤过程较为彻底,几乎无PVA残留。通过单因素考察初步对微粒制备过程中的相关因素进行了考察,但并未综合考虑对因素间的交互作用,后期可采用均匀设计或响应面法进行优化,以期得到粒径更加均一、形貌优良的阿立哌唑微粒。

采用直接释药法对原料药与微粒在pH 7.4的PBS缓冲液中的累积释放度进行考察,由图7可知,

原料药在中性及碱性环境下的溶解度极低,为满足漏槽条件,选择向其中加入0.05%的SDS。释放曲线经数学模型拟合,原料药的释放属于非恒速释药,与一级方程的拟合度最优,一级方程为一个无时间限制的释放模型,即当时间趋近无穷时,释放度接近100%^[15],提示在此释放介质中,随着时间的无限延长,原料药可能会逐渐释放完全;阿立哌唑微粒的释放特征接近Logistic方程,为S型模型^[16],其在释放初期释放很快,之后释放速度减缓直至完全释放。推测原料药与微粒制剂体外释放差异的原因有:①阿立哌唑是一种结晶性药物,原料药通过气流粉碎微粉化后,通过平衡溶解度测定,发现其溶解度并未有明显提高,观察SEM图,原料药呈现大小不一的形态。阿立哌唑微粒为较均匀的薄片状,比表面积明显增加,利于释放;②由DSC结果可知,采用膜乳化技术将原料药制备成微粒后,结晶程度降低,从而提高释放速率。阿立哌唑作为一种难溶性药物,若要完全释放,耗时较长,采用快速膜乳化法将其制备成微粒后,释药速度得以提高。

阿立哌唑是一种难溶多晶型药物,预试验发现原料药经气流粉碎后,在水中的润湿性仍较差,多悬浮在水面上,而阿立哌唑微粒在水中则呈现均匀的混悬态。快速膜乳化技术可用于改善难溶性药物的溶出速度,提高生物利用度,同时可提高药物在制剂过程中的含量均匀度,为其他难溶性药物的剂型开发提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Rapinesi C, Kotzalidis G D, Mazzarini L, et al. Long-acting injectable (LAI) aripiprazole formulations in the

- treatment of schizophrenia and bipolar disorder: a systematic review [J]. *Clin Drug Investig*, 2019, 39(8): 713-735.
- [2] Besagar S, Radabaugh H L, Bleimeister I H, et al. Aripiprazole and environmental enrichment independently improve functional outcome after cortical impact injury in adult male rats, but their combination does not yield additional benefits [J]. *Exp Neurol*, 2019, 314: 67-73.
- [3] 沈英, 黄雅菲, 俞平, 等. 阿立哌唑纳米混悬剂口溶膜的制备与质量评价[J]. *西北药学杂志*, 2020, 35(4): 549-553.
Shen Y, Huang Y F, Yu P, et al. Preparation and quality evaluation of aripiprazole nanosuspension orodispersible films [J]. *North West Pharm J*, 2020, 35(4): 549-553.
- [4] 颜携国. 阿立哌唑口崩片的制备及质量标准研究 [D]. 济南: 山东大学, 2015.
Yan X G. Preparation and quality control of aripiprazole orally disintegrating tablet [D]. Jinan: Shandong University, 2015.
- [5] 吴晨悦, 范文硕, 田娟, 等. 快速膜乳化法制备齐墩果酸微粒的工艺研究 [J]. *中医药信息*, 2017, 34(1): 29-33.
Wu C Y, Fan W S, Tian J, et al. Preparation of oleanolic acid particles through premix membrane emulsification [J]. *Inform Tradit Chin Med*, 2017, 34(1): 29-33.
- [6] 李勋. 局麻药罗哌卡因缓释微球的制备和应用研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2019.
Li X. Preparation and application of ropivacaine loaded microspheres [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2019.
- [7] 李范珠, 李永吉. *中药药剂学* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
Li F Z, Li Y J. *Pharmaceutics of Traditional Chinese Medicine* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012.
- [8] 职雪莹. 阿立哌唑原料多晶型分析及其质量标准提高研究 [D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2017.
Zhi X Y. The polymorphs analysis and quality standard improvement of aripiprazole raw materials [D]. Xianyang: Shanxi University of Chinese Medicine, 2017.
- [9] 王嫦鹤, 郭欢迎, 王荪璇, 等. 阿立哌唑不同晶型的制备、表征及溶解特性研究 [J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(1): 170-176.
Wang C H, Guo H Y, Wang S X, et al. Study on the preparation, characterization and solubility properties of different crystal forms of aripiprazole [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(1): 170-176.
- [10] 吴晨悦. 齐墩果酸微粒的制备工艺及对 CCl₄ 肝损伤的预防作用研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
Wu C Y. Preparation of oleanolic acid microparticles and its preventive effect on CCl₄ induced liver injury [D]. Beijing: BeiJing University of Chinese Medicine, 2017.
- [11] 伊辛. 水飞蓟宾微粒制备工艺及急性 CCl₄ 肝损伤的药效学研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
Yi X. Preparation of silybin microparticles and pharmacodynamics of acute CCl₄ liver injury [D]. Beijing: BeiJing University of Chinese Medicine, 2015.
- [12] 尹雪雁. 不锈钢膜乳化法制备水飞蓟宾微粒及其关联规则模型的建立 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
Yin X Y. Preparation of silybin particles by stainless steel membrane emulsification and establishment of association rule model [D]. Beijing: BeiJing University of Chinese Medicine, 2016.
- [13] 田娟, 赵蕊, 王鹏龙, 等. 甘草次酸拼合物 TOGA-X4 微粒的制备工艺及其体外释药特性研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(8): 1802-1808.
Tian J, Zhao R, Wang P L, et al. Preparation of microparticles of glycyrrhetic acid complex TOGA-X4 and *in vitro* release characteristics [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49(8): 1802-1808.
- [14] 王之洋. 甘草次酸拼合物 TOGA-X4 微粒的工艺优化及其口崩片的体内外研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
Wang Z Y. Optimization of technology of glycyrrhetic acid complex TOGA-X4 microparticles and study on its orally disintegrating tablets *in vitro* and *in vivo* [D]. Beijing: BeiJing University of Chinese Medicine, 2019.
- [15] 储成顶, 王世亮, 许媛媛, 等. 缓释制剂的体外释放拟合模板及释放拟合应用 [J]. *数理医药学杂志*, 2012, 25(6): 631-633.
Chu C D, Wang S L, Xu Y Y, et al. Development and application the *in vitro* release fitting template of slow-release pharmaceuticals [J]. *J Mathemat Med*, 2012, 25(6): 631-633.
- [16] 钱云贤, 刘衡, 乔建军, 等. 盐酸索他洛尔脉冲微丸体外释放特性研究 [J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(5): 358-361.
Qian Y X, Liu H, Qiao J J, et al. Release behavior and model fitting of sotalol hydrochloride pulsatile pellets [J]. *Chin Pharm J*, 2009, 44(5): 358-361.