

·药剂·

关节腔内注射用氟比洛芬明胶微球的制备及体外释药的研究

钟延强 王春燕* 居红卫

(第二军医大学药学院药剂教研室 上海 200433)

摘要 氟比洛芬是布洛芬类非甾体抗炎药物(NSAIDs),临床上用于急性或长期类风湿性关节炎与骨关节炎的治疗,但口服给药对胃肠道有刺激性,且代谢迅速,局部药物浓度低,为了提高局部药物浓度,延长作用时间,探求缓释微球关节腔给药的可行性,我们选用药用 A 型明胶为材料,氟比洛芬为模型药物制备了粒径大小符合关节腔注射要求的氟比洛芬明胶微球,粒径分布集中在 2.5 ~ 12.3 μm 范围内,药物的包封率为 5.02%,氟比洛芬明胶微球体外释药缓慢, $t_{70} = 12\text{h}$,符合 Higuchi 释药规律。

关键词 氟比洛芬;明胶微球;粒径分布;体外释药

早在 50 年代,临床上首次将皮质甾类药物通过关节腔注射治疗风湿性关节炎,但药物从关节腔的快速清除,缩短了药物在局部的作用时间,有人将甾体药物包封在脂质体腔内给药可显著延长药物的滞留时间,但药物的治疗作用在兔体内也仅维持 3 ~ 4d。

氟比洛芬(Flurbiprofen FP)是布洛芬类非甾体抗炎药物(NSAIDs),于 1977 年首次在欧洲投放市场,其片剂获准用于急性或长期类风湿性关节炎与骨关节炎的治疗,口服给药吸收快,达峰时间约为 1.5h,体内生物半衰期约为 3 ~ 5h,其体内主要代谢途径为水解和甲基化,20% ~ 25% 的原型药物经肾排泄。

鉴于文献报道^[1,2],我们选用与关节腔相容性较好的药用 A 型明胶为材料,氟比洛芬为模型药物制备了粒径大小符合关节腔注射要求的氟比洛芬明胶微球,并对微球的粒径分布,药物包封率,体外释药特性进行了研究。

一、实验材料与仪器

氟比洛芬(德国 Kno11 制药公司产品),药用明胶(A 型)(上海延安制药厂购得),异

丙醇、氢氧化钠、磷酸二氢钾、无水乙醇均为分析纯,Shimadzu UV - 256 紫外分光光度计(岛津公司),JB50 - D 型增力电动搅拌器(上海标本模型厂),CQ250W 超声清洗器(中船七院七二六所超声仪器厂),RCD - 6 型药物溶出度测定仪(上海黄海药检仪器厂)。

二、实验方法和结果

(一)FP 明胶微球的制备

1. 均匀设计优化关节腔内注射用微球的处方和工艺

我们在初步实验的基础上选取影响粒径大小的 3 个因素:乳化搅拌速度,明胶浓度,乳化剂用量,采用均匀设计拟水平处理成 7 个水平,见表 1。

表 1 明胶微球均匀设计表

水平	因 素		
	搅拌速度 (RPM)	明胶浓度 (%)	乳化剂用量 (ml)
1	780	15	0.2
2	780	20	0.3
3	780	25	0.2
4	780	15	0.3
5	910	20	0.2
6	910	25	0.2
7	910	25	0.3

参照文献^[1]称取明胶适量于 4ml 0.2N 氢氧化钠液中 70℃ 水浴溶胀,增力搅拌下加至

* 本科 94 级毕业学员

盛有 30ml 液状石蜡和适量 Span - 80 的 100ml 高脚烧杯中,乳化分散约 5min,冰浴迅速冷却至 5℃ 以下,加入异丙醇 40ml 脱水 5min,抽滤,加异丙醇适量淋洗,取微球用 10ml 含甲醛 2.5% 的异丙醇溶液固化,抽滤,用少许异丙醇洗去甲醛,分离微球,35℃ 烘箱干燥,得流动性粉末状微球。

2. 微球的粒径分布测定

分别取均匀设计 7 种处方制得的微球少许,用精制棉子油涂于细胞计数板中央,用带目测镜的光学显微镜随机目测微球不少于 500 个,得每批微球的粒径分布,用每一粒径段数量百分比与该段平均粒径乘积加和($\sum X\% \cdot \Phi$)得该处方的平均粒径,见表 2。

表 2 均匀设计 7 种处方粒径分布测定结果

处方	粒 径 分 布 (μm)						平均粒径(μm)
	2.5~4.9	4.9~7.4	7.4~9.8	9.8~12.3	12.3~14.7	14.7~26.8	
1	/	/	/	/	/	/	(粘连)
2	103	154	74	120	118	9	8.75
3	14	141	120	110	98	134	12.84
4	232	141	77	46	21	8	6.37
5	166	152	143	132	18	12	7.53
6	123	79	66	88	146	14	9.18
7	167	100	84	87	79	40	10.60

从均匀设计 7 种处方微球的粒径分布看,处方 4、5 平均粒径较小,都有 95% 的微球集中在 2.5~12.3 μm 范围内,但从球的粒径分布、圆整性等综合考虑,我们选择处方 5 作为制备明胶微球的基本处方工艺条件。其粒径分布见下图:

(二) 明胶微球中 FP 的含量测定

1. 测定方法的建立

将 FP 原料溶于无水乙醇中紫外扫描 (200~400nm),得吸收曲线在 247nm 处有最大吸收峰,同时将研细的空白微球分散于无水乙醇中,超声提取得乙醇液进行相同波长紫外扫描,结果在 247nm 处无吸收干扰。

2. 标准曲线的绘制

精密称取 FP 原料 25mg 于 25ml 容量瓶中无水乙醇定容,以此为储备液分别配成浓度为 2、3、4、6、8、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 FP 溶液,紫外分光光度法 247nm 处测定吸收度,结果见表 3。

表 3 FP 乙醇溶液的吸收度测定结果

浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)	吸收度(A)
2	0.171
3	0.251
4	0.329
6	0.481
8	0.640
10	0.801

线性回归得标准曲线方程:

$$A = 0.0784C + 0.0141 \quad r = 0.9999$$

3. 明胶微球中 FP 的含量测定方法

精密称取 5 种处方含药微球 20mg,分别

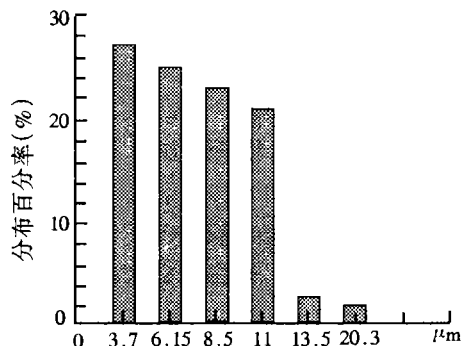


图 1 FP-GMS 的粒径分布

3. 含药微球的制备

分别称取 FP100、150、200、250、300mg 溶于 0.2N 氢氧化钠液 4ml 中,加入明胶 0.8g,70℃ 水浴使溶胀,待完全溶胀后,加入盛 30ml 液状石蜡和 0.2ml Span80 的 100ml 高脚烧杯中,搅拌速度为 910rpm,乳化分散 5min,其余步骤同空白微球的制备,得处方 5FP 明胶微球。

于研钵中研磨,加无水乙醇并调节 pH5 左右,超声提取并定容于 50ml 容量瓶中,分别按标准曲线项下测定微球中药物含量。

表 4 微球中 FP 含量测定结果

处方	微球量(mg)	测得量(mg)	%
1	20.0	0.40	2.00
2	20.1	0.68	3.40
3	20.0	1.04	5.02
4	20.0	1.14	5.70
5	20.0	1.18	5.90

4. 提取方法的回收率和精密度

精密称取 FP 原料 20mg 3 份分别加入空白微球适量研磨,加入无水乙醇超声提取并定容于 25ml 容量瓶中,照标准曲线项下测得该提取方法的回收率和精密度分别为 96.24% 和 1.99%。

(三)FP-GMS 的体外释放试验

1. 标准曲线的绘制 精密称取 FP 原料 25mg,用 pH7.4 的磷酸盐缓冲液溶解并定容于 250ml 容量瓶中,再分别移取 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5ml 定容于 25ml 容量瓶中,得浓度为 2, 3, 4, 6, 8, 10 μ g/mlFP 溶液,在

246.2nm 处测定吸收度见表 5。

表 5 FP pH7.4 磷酸盐缓冲液的吸收度测定结果

浓度(μ g/ml)	吸收度(A)
2	0.174
3	0.262
4	0.344
5	0.420
6	0.510
8	0.678
10	0.839

线性回归得标准曲线方程:

$$A = 0.083C + 0.010 \quad r = 0.9999$$

2. 微球的体外释放测定

称取 FP 明胶微球约 100mg 6 份精密称定,装入 Viskae 透析膜后放入 6 只转篮中,溶出介质为 500mlpH7.4 磷酸盐缓冲液,水浴温度 $37 \pm 1^\circ\text{C}$,转篮转速 100r/min,分别在 0.17h, 0.33h, 0.50h, 0.75h, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h 取样 5ml,测定 FP 的累积溶出量,并及时补充相同体积的释放液于溶出杯中。同法测定 FP 原料的释放度。见表 6。

表 6 FP 明胶微球的体外释放数据

	时间(h)									
	0.17	0.33	0.50	0.75	1	2	4	8	12	24
1	0.38	3.17	5.78	9.02	12.77	22.14	37.01	49.84	57.88	80.11
2	0.49	4.06	7.89	12.47	16.52	28.63	39.46	52.73	61.40	85.98
3	0.45	3.66	7.41	12.03	15.21	27.44	42.15	59.10	74.83	93.33
4	0.45	3.59	5.95	10.96	15.90	27.97	43.00	57.49	70.03	89.07
5	0.47	4.12	6.84	10.88	14.08	24.02	36.91	61.66	72.51	92.41
6	0.41	4.50	9.81	14.12	19.30	34.74	49.75	66.04	78.40	94.06
\bar{X}	0.44	3.85	7.28	11.58	15.63	27.49	41.39	57.81	69.17	89.16
\pm SD	± 0.04	± 0.47	± 1.48	± 1.72	± 2.24	± 4.35	± 4.81	± 5.89	± 7.96	± 5.36

将微球的累积体外释放数据前八点用 Higuchi 方程拟合:

$$Q = 24.29t^{1/2} - 8.92 \quad r = 0.9974$$

从药物的释放曲线来看,在释放开始阶段,较好的符合 Higuchi 释放模式,但从 8h 开始,其释放逐渐脱离 Higuchi 规律而产生一负偏差,该负偏差的出现可能与微球释放最后阶段中,游离微球部分的增加有关。

讨论

1. 文献报道^[1]即使做成缓释微球注射仍有一定量药物快速渗漏关节腔以外的组织或血液,其程度取决于微球粒径的大小。微球粒径愈小,药物从球中的释放愈快,但粒径愈小,腔内注射后微球愈易被腔内滑液中的吞噬细胞所吞噬,这种吞噬作用可延缓药物的清除时间,同时也减轻因高浓度药物与软骨组织接触而引起的刺激作用,一般认为粒径在 0.0025 ~ 10 μ m 范围内较易被吞噬细胞

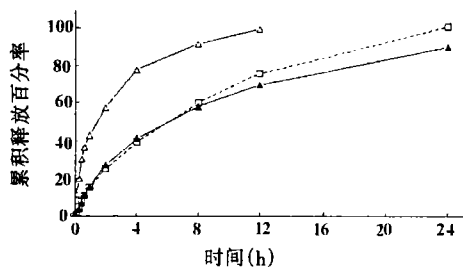


图2 氟比洛芬明胶微球的体外释药曲线

—▲—FP 明胶微球 —□—Higuchi 方程 —△—原料药

所摄取,本方法制备的 FP-GMS 其粒径分布集中,2.5~12.3 μm 范围的微球数占总数的 95%左右,FP 明胶微球体外释放较为缓慢,12h 仅释放 70% 的药物。但从微球的体外释药仅能说明微球在体外的缓释作用和释药规律,应结合微球腔内给药后体内药物动力学和腔内组织的药物浓度随时间的变化来进一步验证微球关节腔注射给药优越性。

2. 明胶骨架作成微粒制剂用于静脉、肌肉、皮下以及动脉栓塞给药已有不少文献报道^[5~10],根据固化程度的不同,粒径大小的不同以及给药途径的不同,其体内降解时间

不尽相同,微粒对腔内组织的刺激性也受粒径大小、交联剂残留量等因素的影响。对于明胶微球的体内降解时间和与关节腔生物相容性研究是解决缓释微球关节腔注射给药的一个首要解决的课题,这一部分工作以及体内药物动力学和关节腔组织的药物分布有待于今后作进一步的研究。

参考文献

- [1] Ratcliffe JH, Hunneyball IM, Smith A, et al. Preparation and evaluation of biodegradable polymeric system for the intra articular delivery of drugs. *J Pharm Pharmacol*, 1984; 36:431~6
- [2] Ratcliffe J H, Hunneyball I M, Wilson C G, et al. Microspheres for intra-articular drug delivery; investigation of their retention in normal and arthritic knee joints of rabbits. *J Pharm Pharmacol*, 1987; 39:290~5
- [3] 陈庆华, 陆伟根, 葛庆华, 等. 靶向给药系统——甲氨喋呤肝动脉栓塞微球特征及其对大鼠肝癌的实验治疗. *药学报*, 1991; 26(4):293
- [4] 王剑红, 陆彬, 胥佩菱等. 肺靶向米托蒽醌明胶微球的研究. *药学报*, 1995; 30(7):549
- [5] 曾凡彬, 陆彬, 杨红等. 盐酸川穹嗪肺靶向微球的研究. *药学报*, 1996; 31(2):132

5 - 氟尿嘧啶温度敏感性脂质体制备方法的优化

肖 旭

(成都军区重庆药材仓库 重庆 400050)

摘要 用正交设计法 $L_9(3^4, 四因素三水平)$ 筛选 5-氟尿嘧啶温度敏感性脂质体的制备工艺。用 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热导致制剂破坏的方法作为稳定性测定标准,对制备工艺进行筛选。最终选定 5-氟尿嘧啶温度敏感性脂质体的制备方法为:取主药和各种辅料,用匀浆机 7000r/min 搅拌 1h,再用超声波乳化器在超声强度(out-put1)、超声间隙(cycle)50%状态下,超声 10min,同时用水浴冷却,控制脂质体溶液温度在 30~40 $^{\circ}\text{C}$ 之间。

关键词 5-氟尿嘧啶;温度敏感;脂质体;制备方法

脂质体的制备方法很多,按原理和操作方法可分为薄膜法^[1]、注入法^[2]和乳化法^[3]这三大类。如著名的逆相蒸发法就属于乳化法的一种。

除这三大类方法以外,还有冷冻干燥法、超声波法以及我国药剂学家顾学裘首先提出

的熔融法等。

本文采用的脂质体的制备方法结合了熔融法中的高速搅拌和超声法中的超声波技术,既保留了熔融法不残留有机溶剂的优点,又在使用超声波技术的同时,使所制得的脂质体稳定、均匀。