

· 研究报告 ·

盐酸溴己新滴鼻剂的研制及含量测定与透皮性能评价

金伟华¹, 蒲志强¹, 陈 华¹, 于波涛¹, 罗钰洁² (1. 西部战区总医院药剂科, 四川 成都 610083; 2. 西南医科大学药学院, 四川 泸州 646000)

[摘要] 目的 研究盐酸溴己新滴鼻剂的制备工艺, 采用 HPLC 法测定主药盐酸溴己新的含量并考察其体外透皮效果。方法 采用分散法制备盐酸溴己新滴鼻剂; 流动相为甲醇-醋酸溶液(55 : 45), 流速 1.0 ml/min, 检测波长为 247 nm, 柱温 30 ℃; 以 KM 小鼠为模型进行体外透皮试验。结果 盐酸溴己新滴鼻剂为混悬型液体制剂, 在 37.44~187.2 μg/ml 范围内, 盐酸溴己新线性关系良好, 回归方程为 $Y=11.996X+124.6$ ($r=0.9999$), 低、中、高三浓度的平均回收率分别为 104.00%、101.59%、98.51%, RSD 为 0.89%、1.35%、0.35% ($n=9$); 24 h 体外透皮试验累积透过率为 60.29%。结论 该制剂处方合理, 工艺可行, 含量测定方法准确可靠。

[关键词] 盐酸溴己新; 滴鼻剂; 高效液相色谱法; 体外透皮试验

[中图分类号] R927; R943 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)02-0166-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.013

Preparation and assay of bromhexine hydrochloride nasal drop and its transdermal performance evaluation

JIN Weihua¹, PU Zhiqiang¹, CHEN Hua¹, YU Botao¹, LUO Yujie² (1. Department of Pharmacy, General Hospital of Western Theater Command, Chengdu 610083, China; 2. Pharmacy Department of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective** To study the preparation process of bromhexine hydrochloride nasal drop, develop the assay method for the main component in the drop and evaluate its transdermal penetration in vitro. **Methods** The bromhexine hydrochloride was prepared with dispersion method. HPLC was used for the assay. The flow phase is methanol-acetic acid solution (55 : 45). The flow rate was 1.0 ml/min. The detection wavelength was 247 nm. The column temperature was 30 ℃. The *in vitro* transdermal test was carried out on KM mice. **Results** Bromhexine hydrochloride nasal drop was a suspension preparation. Bromhexine hydrochloride presented good linearity in the range of 37.44-187.2 μg/ml with the regression equation $Y=11.996X+124.6$ ($r=0.9999$). The average recoveries of low, medium and high concentrations were 104.00%, 101.59%, 98.51% respectively with RSD of 0.89%, 1.35%, 0.35% ($n=9$). The cumulative penetration rate of bromhexine hydrochloride in 24 h was 60.29%. **Conclusion** This nasal drop formulation was acceptable. The preparation process was feasible and assay method was accurate and reliable.

[Key words] bromhexine hydrochloride; nasal drop; HPLC; in vitro transdermal performance

盐酸溴己新是临床常用祛痰药, 有较强的溶解粘痰作用, 属黏液调节剂, 该药可直接作用于支气管腺体, 促使黏液分泌细胞的溶酶体释出, 使痰中的黏多糖纤维分化裂解, 还可抑制黏液腺和杯状细胞中酸性糖蛋白的合成, 使之分泌黏滞性较低的小分子糖蛋白, 从而使痰液的黏稠度降低, 易于咳出。临床

适用于急、慢性支气管炎及其他呼吸道疾病, 如肺气肿、哮喘、支气管扩张等痰液黏稠不易咳出的患者。目前已有片剂、注射剂等剂型。临床上常有用盐酸溴己新注射液雾化吸入给药, 但在 2016 年《雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识》^[1] 中已明确指出, 静脉制剂不推荐雾化使用。从患者用药角度考虑, 经鼻腔用药吸收快, 生物利用度高, 使用方便, 尤其适合于儿童, 进而可提高患者用药依从性, 同时可避免首过效应, 减轻胃黏膜刺激, 降低患者不适感。为此, 本研究对制备的滴鼻剂进行了体外透皮试验, 累积透过率较满意, 证明作为滴鼻剂可透过鼻黏膜发挥治疗作用。

[基金项目] 四川省卫生厅面上项目(16PJ027)

[作者简介] 金伟华, 本科, 副主任医师, 研究方向: 医院药学, Email: jwh311@sina.com

[通讯作者] 于波涛, 博士, 主任药师, 研究方向: 医院药学、药剂学, Email: yu-bo-tao@sohu.com

1 试验材料

1.1 仪器

1200型 HPLC 仪(美国安捷伦公司);PHS-3C 精密 pH 计(上海康仪仪器有限公司);AL204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];HH-S24S 数显恒温水浴锅(上海君竺仪器制造有限公司);改良的 Franz 扩散池(自制)。

1.2 试药

盐酸溴己新对照品(含量 $\geq 98\%$,批号 15159, Med Chem Express LLC);液状石蜡(吉林市吉化江城油脂化工有限责任公司,批号 170101);无水乙醇(含量 $\geq 99.7\%$ 中国长江磷化股份有限公司,成都市科隆化学品有限公司);甲醇为色谱纯;水为超纯水;冰醋酸、三乙胺均为国产分析纯,盐酸溴己新滴鼻剂供试品自制(规格:0.1%,批号:180310、180311、180312)。

1.3 动物

雄性 KM 小鼠[20~25 g,成都达硕实验动物公司,生产合格证 SCXK(川)2015-030]。

2 处方与制备

2.1 处方

盐酸溴己新 1.0 g,无水乙醇 50 ml,加液状石蜡制成 1 000 ml。

2.2 制备

取适量液状石蜡与无水乙醇混合,加入盐酸溴己新,搅拌均匀,然后加液状石蜡至全量,搅拌并超声使药物均匀分散,即得。

3 含量测定

3.1 色谱条件

Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-醋酸溶液(取冰醋酸 40 ml 置于 1 000 ml 容量瓶,加水定容至刻度,用三乙胺调节 pH 至 3.2)(55 : 45);流速:1 ml/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:247 nm。

3.2 溶液的制备^[2]

对照品溶液:精密称取盐酸溴己新对照品适量,加流动相溶解并稀释制成每 1 ml 中含盐酸溴己新约 187.2 μ g 的溶液,即得,作为对照品储备液备用。

供试品溶液:取同批次的盐酸溴己新滴鼻剂 10 ml,用 50 ml 流动相进行萃取,分取下层溶液,用微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

阴性对照溶液:取不含盐酸溴己新的阴性样品 10 ml,同供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

3.3 系统适应性试验

按“3.1”项下色谱条件,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μ l,注入色谱仪,测定,即得,结果见图 1,阴性无干扰,专属性良好,理论板数按盐酸溴己新峰计算不低于 3 000。

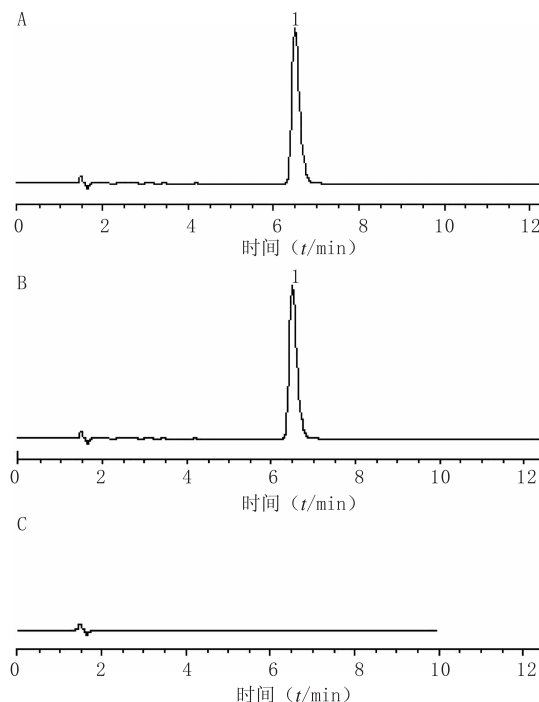


图 1 盐酸溴己新滴鼻剂 HPLC 图

A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 阴性对照溶液;1. 盐酸溴己新

3.4 线性关系考察

精密量取盐酸溴己新对照品储备液(浓度为 187.2 μ g/ml),加流动相溶液分别稀释制成浓度为 37.44、74.88、112.32、149.76 μ g/ml 的对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液各 10 μ l 注入液相色谱仪,记录色谱图。以进样浓度(X)为横坐标,盐酸溴己新峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $Y=11.996X+124.6(r=0.9999)$ 。结果表明,盐酸溴己新在 37.44~187.2 μ g/ml 浓度范围内呈良好线性关系。

3.5 精密度试验

精密吸取“3.2”项下盐酸溴己新对照品溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,重复测定 6 次,记录峰面积,计算盐酸溴己新 RSD 为 0.44%,表明仪器精密度良好。

3.6 稳定性试验

取盐酸溴己新滴鼻剂(批号:180303),精密量取,按“3.2”项下方法制成供试品溶液,分别于 0、2、4、8、24 h 进样,记录峰面积,计算盐酸溴己新 RSD 为 0.97%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.7 重复性试验

精密量取同批次盐酸溴己新滴鼻剂 6 份(批号: 180303),按“3.2”项下方法制成供试品溶液,分别进样测定,记录峰面积,计算盐酸溴己新 RSD 为 0.63%,表明该方法重复性良好。

3.8 回收率试验

按照处方比例配置缺溴己新空白基质滴鼻剂样品,然后精密量取空白基质样品 3 份,每份 10 ml,再分别精密加入低、中、高浓度的溴己新对照品溶液(浓度分别为 0.609、0.734、0.871 mg/ml)10 ml,依次用 50 ml 流动相进行萃取,分取下层溶液,用微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液,进样测定,记录峰面积,计算回收率,结果低、中、高 3 种浓度的样品平均回收率分别为 104.00%、101.59%、98.51% ($n=9$),RSD 为 0.89%、1.35%、0.35%,结果见表 1。

表 1 盐酸溴己新滴鼻剂回收率测定结果($n=9$)

对照品浓度 ($\rho_B/\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.609	6.09	6.27	102.96	104.00	0.89
0.609	6.09	6.35	104.27		
0.609	6.09	6.38	104.76		
0.734	7.34	7.47	101.77	101.59	1.35
0.734	7.34	7.35	100.14		
0.734	7.34	7.55	102.86		
0.871	8.71	8.55	98.16	98.51	0.35
0.871	8.71	8.58	98.51		
0.871	8.71	8.61	98.85		

3.9 样品含量测定

取批号分别为 180310、180311、180312 的盐酸溴己新滴鼻剂,按“3.2”项下的方法制备供试品溶液,进样测定,记录峰面积,计算 3 批样品的含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

批号	盐酸溴己新含量 ($\rho_B/\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	平均值 ($\rho_B/\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	RSD (%)
180310	0.82	0.83	1.20
	0.84		
	0.83		
180311	0.81	0.80	1.25
	0.80		
	0.79		
180312	0.79	0.79	0.73
	0.78		
	0.79		

4 体外透皮试验

4.1 离体鼠皮制备^[3]

取雄性 KM 小鼠,6%Na₂S 溶液褪除背部毛,用生理盐水洗净皮肤,次日断颈处死,处死后立即剥离背部皮肤,去除皮下组织和脂肪等粘连物,用生理盐水清洗干净,放入生理盐水中 4℃短期保存。使用前检查鼠皮完整性,不得有破损。

4.2 体外透皮试验^[4-5]

采用改良的 Franz 扩散池,接收池体积为 13 ml,接收池与离体皮肤之间的有效接触面积为 2.5 cm²,流动相为接收介质。恒温水浴加热,温度控制在(37±1)℃,接收池内加入磁力搅拌子,以 300 r/min 恒速搅拌。

将保存的离体鼠皮用生理盐水清洗,固定在供给室和接收池之间,角质层朝上,真皮一侧与接收液充分接触,排尽气泡。精密量取 2 ml 摇匀后的盐酸溴己新滴鼻剂(批号:180311),滴于试验皮肤上,打开磁力加热搅拌器。于 1、2、4、6、8、12、24 h 取接收液 1 ml(立即补充同温等量空白接收介质)。采用 HPLC 法测定接收介质中盐酸溴己新含量并计算累积透过量 Q_n 与累积透过率 P 。累积透过量 Q_n 的计算公式为:

$$Q_n = C_0 V_0 + V \sum_{i=1}^{n-1} C_i$$

累积透过率 $P = (\text{累积透过量 } Q_n / \text{加样量}) \times 100\%$

式中: Q_n 为第 n 个取样点的累积透过量(μg), C_n 、 C_i 为第 n 个和第 i ($i \leq n-1$) 个取样点的盐酸溴己新质量浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$), V_0 为扩散池体积(13 ml), V 为取样体积(1 ml)。以盐酸溴己新累积透过量 Q_n (μg) 对时间 t (h) 作图,绘制体外透皮曲线(图 1),结果 24 h 内累积透量为 964.56 μg ,透过量达给药量的 60.29%,表明盐酸溴己新滴鼻剂透皮效果良好。

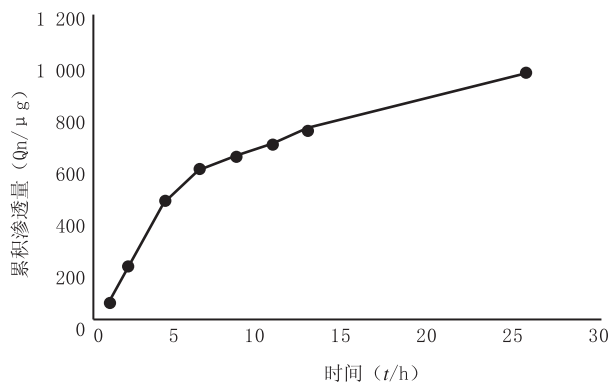


图 2 盐酸溴己新滴鼻剂体外累积渗透曲线($n=3$)

5 讨论

5.1 制剂溶媒的选择

制备盐酸溴己新滴鼻剂时,由于盐酸溴己新水溶性较差,若选择水为分散介质,盐酸溴己新漂浮于液面,且易粘附在容器壁上,经搅拌无法均匀分散;若以甘油为分散介质,但滴鼻液处方中甘油含量过大时,使用后鼻黏膜会有不适灼烧刺激性;以液状石蜡为分散介质,药物均匀分散,且粒子沉降速度慢,沉降后没有结块现象,振摇后能迅速均匀分散,故选择液状石蜡为制剂分散介质。

5.2 流动相的确定

关于流动相选择,曾试验《中国药典》上盐酸溴己新含量测定项下流动相磷酸盐缓冲液-乙腈(20:80)^[6],但试验结果发现出峰情况较差,峰型不正常不对称,基线不平稳,所以未采用该流动相。根据参考文献[7]中使用的流动相甲醇-醋酸溶液(70:30),通过预试验发现盐酸溴己新出峰情况较好,再经过调试,最终确定流动相为甲醇-醋酸溶液(55:45),系统适用性试验结果良好,样品分离度好,峰型对称,基线平稳。

5.3 透皮接受液的选择

体外透皮试验中,根据盐酸溴己新的溶解性,选

择流动相甲醇-醋酸溶液(55:45)作为接收介质,同时为了防止流动相挥发,整个透皮试验均在密封下进行。通过检测24h渗透给药后接收液中盐酸溴己新含量,发现药物渗透量与时间成正相关,表明盐酸溴己新滴鼻剂的透皮效果良好。

【参考文献】

- [1] 中华医学会呼吸病学分会《雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识》制定专家组. 雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(34): 2696-2708.
- [2] 金伟华, 陈华, 于波涛, 等. 盐酸溴己新栓剂的制备及含量测定[J]. 解放军药学学报, 2017, 12(30): 542-544.
- [3] 于波涛, 范开华, 金伟华, 等. 氮酮用量对马尼地乳膏离体透皮吸收影响的研究[J]. 西南国防医药, 2011, 21(3): 250-252.
- [4] 宋玉华, 杜光焰, 隋广志, 等. 不同浓度的氮酮对鼻宁滴鼻剂透皮吸收的影响[J]. 解放军药学学报, 1999, 15(5): 53-54, 封三.
- [5] 周密, 徐晓勇, 马凤森, 等. 雷公藤涂膜剂的制备及其体外透皮试验[J]. 中成药, 2015, 37(3): 526-529.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)2015年版[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 9-10.
- [7] 王烽, 方东伟, 谢展鹏. 高效液相色谱法测定盐酸溴己新片的含量[J]. 中国药业, 2007, 16(19): 19.

[收稿日期] 2018-07-06 [修回日期] 2019-01-26

[本文编辑] 陈盛新

(上接第161页)

- [17] FANG F, QI Y, LU F, et al. Highly sensitive on-site detection of drugs adulterated in botanical dietary supplements using thin layer chromatography combined with dynamic surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Talanta, 2016, 146: 351-357.
- [18] LEE P C, MEISEL D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols[J]. J Phys Chem, 1982, 86(17): 3391-3395.
- [19] JANA N R, GEARHEART L, MURPHY C J. Seed-mediated growth approach for shape-controlled synthesis of spheroidal

and rod-like gold nanoparticles using a surfactant template[J]. Adv Mater, 2001, 13(18): 1389-1393.

- [20] PREMASIRI W R, LEE J C, SAUER-BUDGE A, et al. The biochemical origins of the surface-enhanced Raman spectra of bacteria: a metabolomics profiling by SERS[J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408(17): 4631-4647.
- [21] SAYIN I, KAHRAMAN M, SAHIN F, et al. Characterization of yeast species using surface-enhanced Raman scattering[J]. Appl Spectrosc, 2009, 63(11): 1276-1282.

[收稿日期] 2018-05-05 [修回日期] 2018-11-13

[本文编辑] 陈盛新