论著

文章编号:1000-5404(2008)22-2142-04

地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶的体外释药特性

吴 青,朱照静,李欣宇,马俐丽 (重庆医科大学药学院药剂学教研室,重庆 400016)

摘 要:目的 考察地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶的体外释药特性。**方法** 采用旋转流变仪测定黏度随温度的变化;无膜溶出法测定地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶的溶蚀行为,以pH 7.2的磷酸盐缓冲溶液为释放介质,温度(37±0.5)℃,水平振荡(频率50 r/min,振幅2.5 cm);采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定凝胶的释药行为,色谱柱:Diamonsil™ C_{18}(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:三乙胺水溶液-甲醇-乙腈(38∶28∶34),流速1.0 ml/min,紫外检测波长242 nm。**结果** 当温度接近相转变温度时,黏度陡然上升。以2 ml pH7.2的磷酸盐缓冲溶液为释放介质,体外凝胶的溶蚀和药物的释放均遵循零级动力学方程,其累积溶蚀百分量(Q_1)和累积释放百分量(Q_2)对时间t的回归方程分别为$Q_1=0.823\,8\,t$($r=0.999$,$P<0.01$)和$Q_2=0.843\,1\,t$($r=0.999$,$P<0.01$),且2者线性相关,$Q_2=1.023\,2Q_1$($r=0.998$,$P<0.01$)。**结论** 采用无膜溶出法测定地塞米松磷酸钠温度敏感型原位凝胶的累积溶蚀百分量与其累积释放百分量相等,体外的溶蚀行为与释放行为遵循零级动力学方程,二者间存在良好的线性关系。

关键词: 地塞米松磷酸钠;温度敏感原位凝胶;体外释药;高效液相

中图法分类号: R913;R961;R977.1 **文献标识码:** A

Release *in vitro* of dexamethasone sodium phosphate from thermosensitive *in situ* gels

WU Qing, ZHU Zhao-jing, LI Xin-yu, MA Li-li (Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the release feature of dexamethasone sodium phosphate from thermosensitive *in situ* gels *in vitro*. **Methods** Rotation rheometer was used to measure the changes of viscosity with temperature. The membraneless model was applied in assessing corrosion behavior of gel using a thermostatic shaker (50 r/min) at an amplitude of 2.5 cm, taking phosphate buffered solution (pH 7.2) as releasing media. The release behavior was investigated by HPLC on a C_{18} reverse column Diamonsil™ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of triethylamine solution-methanol-acetonitrile (38∶28∶34), pumped at 1.0 ml/min, and the detection wavelength was set at 242 nm. **Results** When the temperature was near to the sol-gel transition temperature, the viscosity rose suddenly. Taking dexamethasone sodium phosphate (2 ml, pH 7.2) as media, the gel dissolution and drug release rate followed the zero order kinetics, and the cumulative gel dissolution (Q_1) and cumulative drug release (Q_2) equations were $Q_1=0.8238t$ ($r=0.999$, $P<0.01$) and $Q_2=0.8431t$ ($r=0.999$, $P<0.01$), respectively. There was good liner relationship between cumulative drug release and drug release time. **Conclusion** The drug release behavior of thermosensitive *in situ* gels is clearly shown in our experiment.

Key words: dexamethasone sodium phosphate; thermosensitive *in situ* gel; drug release *in vitro*; HPLC

温度敏感原位凝胶(thermosensitive *in-situ* gel)是一种新型的药物传递系统。该系统在储藏条件下是自由流动的液体,当环境温度升高时,可迅速发生相转变,形成半固体凝胶。该系统给药前为液态,注射后可填充于组织间隙,并迅速变成凝胶,可延缓药物释放,有利于局部给药。如其抗炎药制剂用于治疗烧伤[1],利多卡因制剂用于坐骨神经封闭以治疗慢性疼痛[2],紫杉醇制剂用于肿瘤部位注射[3],以及可作为白介素-2[4]、促性腺激素释放激素[5]的载体,加替沙星、氧氟沙星、毛角芸香碱温度敏感型原位凝胶滴眼液用于治疗眼部感染或青光眼[6]。本研究主要对地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶的体外溶释和释药特性进行观察。

1 材料与方法

1.1 仪器和材料

SHZ台式水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂),LC-

作者简介:吴 青,女,浙江省瑞安县人,硕士研究生,主要从事药物制剂方面的研究。电话:(023)66981133,E-mail:wuqing1133@126.com

通信作者:朱照静,E-mail: zhuzhaojing 1962@163.com

收稿日期:2008-07-07;修回日期:2008-07-18

2010 高效液相色谱仪(Shimadzu),LC-2010 自动进样器,Diamonsil™ C_{18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm),旋转流变仪(Physica MCR301)。

泊洛沙姆 407(Pluronic®F127,P 407,德国 BASF 公司),地塞米松磷酸钠(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 061205),地塞米松磷酸钠对照品由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、乙腈均为色谱纯,水为重蒸水。

1.2　方法

1.2.1　地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶的制备　　称取泊洛沙姆 407(P 407)3 g,加入 12 ml 4 ℃、pH 7.2 的 PBS 溶液中,4 ℃冰箱中放置。待泊洛沙姆形成澄清透明的溶液,搅拌下加入地塞米松磷酸钠 15 mg 至完全溶解,制得含地塞米松磷酸钠(dexamethasone sodium phosphate, DSP)1.25 mg/ml 的 25% 泊洛沙姆溶液。37 ℃水浴放置 5 min,制成原位凝胶。

1.2.2　黏度随温度变化测定　　取 1.2.1 项下制得的泊洛沙姆溶液 1 ml 加入旋转流变仪测试盘,频率 1 Hz,应变 0.05%,升温范围:10 ~ 60 ℃,升温速率 1 ℃/min。使用 Solvent Trap 以防止样品挥发。测定 15、20、25、30 ℃泊洛沙姆溶液的黏度,每个数量级采取 16 个点,确保充分的剪切和稳定流层测试。

1.2.3　方法学建立

1.2.3.1　色谱条件　　流动相:三乙胺水溶液(取 7.5 ml 三乙胺,水稀释至 1 000 ml,磷酸调 pH 3.0)-甲醇-乙腈(38∶28∶34);色谱柱 Diamonsil™ C_{18} (250 mm × 4.6 mm,5 μm);检测波长 242 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl。

1.2.3.2　专属性试验　　取 1.2.1 项下制得的凝胶溶液 2 ml 放入 10 ml 容量瓶中,流动相稀释至刻度。精密称取地塞米松磷酸钠对照品,用流动相配制成约 60 μg/ml 的对照品溶液。取处方量空白凝胶溶液 2 ml 放入 10 ml 容量瓶中,流动相稀释至刻度。按高效液相色谱条件进行检测,记录色谱图。

1.2.3.3　线性标准溶液的配置　　精密称取地塞米松磷酸钠对照品,用流动相配制成约 100 μg/ml 的储备液。分别取储备液 0.1、1、2、4、6、8、10 ml 到 10 ml 容量瓶,加流动相稀释至刻度,配制成浓度约为 1、10、20、40、60、80、100 μg/ml 的 7 个不同浓度的标准溶液。

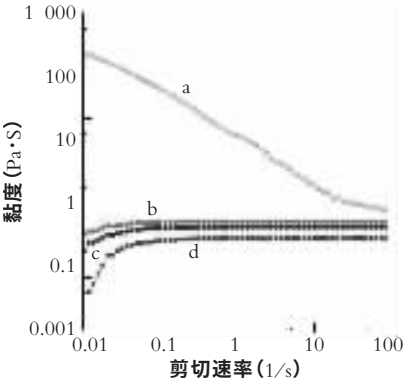
1.2.3.4　回收率试验　　精密称取约处方量 80%、100%、120% 的地塞米松磷酸钠标准品,加入辅料配制成溶液,测定,按外标法以峰面积计算。

1.2.4　体外药物释放行为试验　　取凝胶溶液 2 ml 加入试管(10 mm × 75 mm),37 ℃恒温水浴中放置 5 min。加入 2 ml 37 ℃的 pH 7.2 的磷酸盐缓冲溶液,37 ℃恒温振荡(50 r/min),每 12 小时取出全部释放介质,补加 2 ml 释放介质,重复此操作,直到凝胶完全溶解。每次取出的释放介质用 PBS 稀释成 10 ml,用于凝胶溶蚀和药物释放测定。

2　结果

2.1　P407 溶液的黏度随温度和剪切速率变化曲线

剪切速率按 log 对数分布。环境温度为 15、20、25 ℃,低于相转变温度(35 ℃),此时黏度较小,且不随剪切速率改变,几乎成 1 条水平直线,体系呈现出典型的牛顿流体特征。随着温度增加,黏度增大,当温度升高为 30 ℃,由于接近相转变温度,黏度陡然增大,且随着剪切速率的增大反而迅速减小,呈现出假塑性流体特有的剪切变稀现象(图 1)。



a: 30 ℃; b:25 ℃; c: 20 ℃; d: 15 ℃

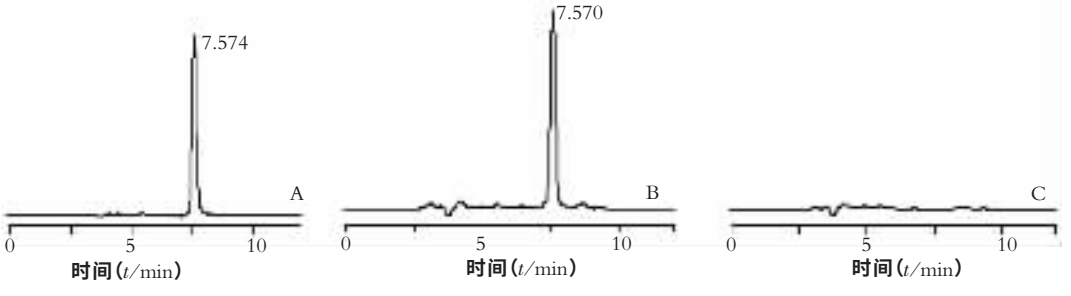
图 1　黏度随剪切力及温度变化的曲线

2.2　方法学观察结果

2.2.1　专属性试验　　地塞米松磷酸钠溶液在上述色谱条件中有其特征吸收峰。地塞米松磷酸钠溶液的出峰时间和地塞米松磷酸钠凝胶溶液中主峰的出峰时间一致,且空白凝胶溶液没有检测出地塞米松磷酸钠的特征吸收峰。说明色谱条件符合分离检测的要求(图 2)。

2.2.2　线性关系　　分别取 1.2.3.3 中的 7 个标准溶液 20 μl 注入色谱仪,记录色谱图。根据峰面积对浓度进行线性回归,求得回归方程:$C = 2.2 \times 10^{-5} A + 0.060\ 6$ ($r = 0.999\ 9$),DSP 在 1 ~ 100 μg/ml 浓度范围内线性关系良好。

2.2.3　定量限和检出限　　根据低浓度对照品的信噪比计算,当信噪比为 3 时,DSP 的检出限为 0.51 ng,信噪比为 10 时定量限为 1.54 ng。



A:地塞米松磷酸钠溶液对照品; B:凝胶溶液; C:空白凝胶溶液

图 2　不同溶液的 HPLC 色谱图

2.2.4 重复性试验 配制样品溶液6份,注入色谱仪,记录色谱图,峰面积RSD为0.64%。

2.2.5 稳定性试验 取样品溶液分别于0、2、4、6、8 d进行测定,RSD为0.82%,表明样品溶液在8 d内稳定,能满足测定要求。

2.2.6 回收率试验 取1.2.3.4中配置溶液测定,按外标法以峰面积计算。其高、中、低3个浓度的回收率($n=3$)分别为99.2%、99.7%、99.9%,平均值为99.6%。RSD分别为0.92%、1.3%、0.45%。

2.3 体外药物释放行为

2.3.1 凝胶溶蚀的测定 取1.2.4中的释放介质5 ml放入已知质量的烧杯中,80 ℃下烘干,称量。凝胶溶蚀量=($W_t - W_0 - W_P$)×稀释介质总体积/测定介质体积。W_t为80 ℃烘干后样品和烧杯的质量,W_0为烧杯的起始质量,W_P为PBS中磷酸盐的质量。计算凝胶每日溶蚀量(%)和累积溶蚀量(%),绘制曲线图。

以时间为横坐标,凝胶的累积百分溶蚀量(Q_1)为纵坐标做回归方程,$Q_1 = 0.823\ 8\ t$, $r = 0.999$($P < 0.01$)。泊洛沙姆温度敏感原位凝胶的累积溶蚀量与时间呈良好的线性关系,其溶蚀行为符合零级方程。在体外试验中凝胶的溶蚀时间达到120 h,并随时间匀速溶解(图3)。

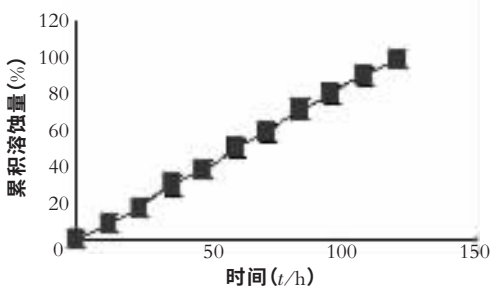


图3 温度敏感原位凝胶的累积溶蚀曲线 ($n=6$)

2.3.2 药物释放测定 将释放溶液按1.2.3.1中所述方法进行检测,HPLC外标法测定释放介质中DSP的含量。计算日释放量(%)以及累积释放量(%),绘制呈曲线图(图4)。

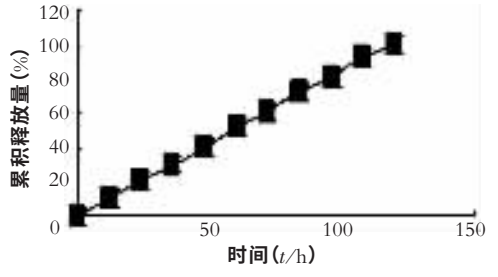


图4 地塞米松磷酸钠累积释放曲线 ($n=6$)

药物的累积释放百分量(Q_2)回归方程:$Q_2 = 0.843\ 1\ t$, $r = 0.999$($P < 0.01$)。DSP在温度敏感原位凝胶中呈匀速释放,释放时间达120 h以上,累积释放量与时间呈良好的线性关系,符合零级动力学方程。

凝胶累积溶蚀量与药物的累积释放量的线性回归方程:$Q_2 = 1.023\ 2\ Q_1$, $r = 0.998$($P < 0.01$)。泊洛沙姆温度敏感原位凝胶中药物的累积释放量和凝胶的累积溶蚀量之间呈良好的线性关系(图5)。药物释放量随凝胶溶蚀量的增加而相应增大,凝胶完全溶蚀后药物全部释放。

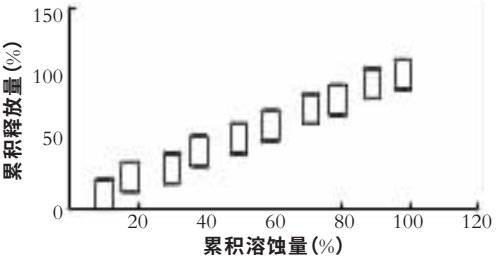


图5 药物累积释放量和凝胶累积溶蚀量的线性关系

3 讨论

非离子表面活性剂泊洛沙姆是由聚氧化乙烯与聚氧化丙烯组成的嵌段共聚物(PEO-PPO-PEO),其水溶液具有温度敏感型原位凝胶的性质。地塞米松磷酸钠为肾上腺皮质激素类药,具有较强的抗炎作用,其性质稳定、刺激性小、水溶性好,具有抗黏连作用[6],适合制备温度敏感原位凝胶。其凝胶表面光滑柔软,在注射部位没有明显的异物感、无毒无刺激、生物相容性好。DSP温度敏感原位凝胶具有可注射、创伤小、给药方便、延缓药物释放、与组织接触紧密等优点,适用于体内局部或植入给药,特别适用于关节腔或肌腱内注射治疗关节炎,鼓室注射治疗耳聋等[7]。

为与用药部位体液的pH、日间分泌量及更新速率相似,确定磷酸盐缓冲溶液的pH为7.2,体积为2 ml,取样间隔时间为12 h。需考察介质体积是否能维持"漏槽"状态,即释放介质中药物的浓度必须小于其饱和浓度的20%,此条件下药物的释放不受介质中药物浓度的影响。用紫外分光光度法测得地塞米松磷酸钠在37 ℃磷酸盐缓冲溶液中溶解度在10 mg/ml以上,而本试验中药物在释放介质中浓度总是小于0.1 mg/ml,且辅料对药物测定无干扰,符合"漏槽"条件。

对于植入剂而言,药物的释放速率主要由载体的降解和药物在载体中的扩散决定。如降解速率大于扩散速率,则释药速率主要由降解速率决定;反之由药物的扩散速率决定。泊洛沙姆温度敏感原位凝胶易溶于水,通过表面的溶蚀而降解,其溶蚀速率对药物的释放影响占主导地位。由溶蚀控制释药速率不仅可以减少载药量,而且不会产生突释效应。

在有的研究报道中药物在泊洛沙姆温度敏感原位凝胶中的释放由其在载体中的扩散决定并遵循Higuchi方程[8,9],本试验结果的差异可能是因为试验方法不同造成的。这些试验在进行药物释放度测定时,用不含药的空白凝胶作为接受相[10],或者将凝胶与释放介质用纤维素膜隔开[11]。这些情况下凝胶的溶蚀很少,药物主要通过扩散而释放。本试验方法使凝胶直接与释放介质接触,溶蚀速率加快,因此药物释放由凝

胶的溶蚀控制。在实际应用中,凝胶局部注射后与体液直接接触,并在体液溶解下而降解,因此本研究得出的结果更能说明原位凝胶体的体外释药规律。

参考文献:

[1] Nalbandian R M, Henry R L, Balko K W, *et al*. Pluronic F-127 gel preparation as an artificial skin in the treatment of third-degree burns in pigs[J]. J Biomed Mater Res, 1987, 21(9): 1135-1148.
[2] Paavola A, Yliruusi J, Kajimoto Y, *et al*. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block[J]. Pharm Res, 1995, 12(12): 1997-2002.
[3] Amiji M M, Lai P K, Shenoy D B, *et al*. Intratumoral administration of paclitaxel in an in situ gelling poloxamer 407 formulation[J]. Pharm Dev Technol, 2002, 7(2): 195-202.
[4] Johnston T P, Punjabi M A, Froelich C J. Sustained delivery of interleukin-2 from a poloxamer 407 gel matrix following intraperitoneal injection in mice[J]. Pharm Res, 1992, 9(3): 425-434.
[5] Wenzel J G, Balaji K S, Koushik K, *et al*. Pluronic F127 gel formulations of deslorelin and GnRH reduce drug degradation and sustain drug release and effect in cattle[J]. J Control Release, 2002, 85(1-3): 51-59.
[6] Mortensen K, Pedersen J S. Structural study on the micelle formation of poly(ethyleneoxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymer in aqueous solution[J]. Macromolecules, 1993, 26: 805-812.
[7] Alexandridis P, Holzwarth J F, Hatton T A. Micellization of poly(ethyleneoxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solutions: thermodynamics of copolymer association[J]. Macromolecules, 1994, 27: 2414-2425.
[8] Veyries M L, Couarraze G, Geiger S, *et al*. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels[J]. Int J Pharm, 1999, 192(2): 183-193.
[9] Pandit N K, Wang D. Salt effects on the diffusion and release rate of propranolol from poloxamer 407 gels[J]. Int J Pharm, 1998, 167(1-2): 183-189.
[10] Veyries M L, Couarraze G, Geiger S, *et al*. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels[J]. Int J Pharm, 1999, 192(2): 183-193.
[11] Ricci E J, Lunardi L O, Nanclares D M, *et al*. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels[J]. Int J Pharm, 2005, 288(2): 235-244.

(编辑 王小寒)

文章编号:1000-5404(2008)22-2145-01

个案与短篇

镍钛记忆合金肋骨环抱器治疗连枷胸18例

李 刚,肖 凌,谭光忠 (重庆市重钢总医院胸外科,重庆 400081)

我科自2005年3月至2007年8月对18例连枷胸患者进行了积极的手术内固定治疗,术后患者呼吸痛消失,胸廓畸形恢复,无ARDS发生,临床取得较满意疗效。

1 资料与方法

本组18例,男性15例,女性3例;年龄20~68岁,平均45岁;单纯右侧9例,左侧7例,双侧2例。肋骨骨折最少4根,最多14根,均为多根多处骨折形成连枷胸。肋骨骨折部位从第3~10肋骨,以4~7肋骨骨折多见。致伤原因:交通事故伤8例,高空坠落伤8例,压砸伤2例。合并损伤:肺挫裂伤16例,血胸12例,血气胸8例,ARDS 2例。复合其他伤:创伤性休克1例,肩胛骨骨折2例,胸骨骨折1例,椎体骨折1例,骨盆骨折1例,颅内损伤1例。

入院后积极抢救及复查颅内损伤情况,同时处理复合伤,待较稳定后手术,本组2例ARDS患者由于连枷胸引起,同期气管插管手术,伤后30 min至48 h手术,平均24 h。采取全麻,有血气胸者术前常规行胸腔闭式引流术,同时以X线片明确骨折数量的多少,选择拟做内固定的中心肋骨的骨折端为中心沿肋骨做斜切口,长度依具体情况定,平均12 cm。向两侧游离皮瓣,并清除肋间血肿,暴露骨折端,适当剥离断端肋骨处骨膜约3 cm,注意勿损伤肋间神经及血管。复位后,选择与肋骨直径相仿的环抱器,置于0~5 ℃消毒冰水中,用撑开钳将环抱臂打开至大于肋骨宽度位置,且使弓背梁基本垂直,迅速置于骨折端上方,检查环抱器位置正确后,热盐水湿敷,使环抱器紧紧抱于骨折端。其余肋骨骨折处环抱器安置方法同前,对后肋的固定,最高达第3肋骨。术毕彻底止血,肋骨外安置引流管接负压,进胸者需安置胸腔闭式引流,逐层缝合各层组织,伤口加压包扎72 h,72 h内根据引流量拔除伤口引流管,结合胸片拔除胸腔闭式引流管。术后常规使用抗生素1周,并加强呼吸道管理。

2 结果

18例患者术后呼吸痛消失,胸廓畸形恢复,合并ARDS 2例患者分别于术后24~48 h脱机,呼吸功能得到改善,于1例行气管切开,仅残留切口痛,伤口I期愈合。均获随访6~12个月,平均9个月。术后2~3个月X线片示骨折临床愈合;无感染、排斥反应和骨折不愈合及内固定松动、滑脱等并发症发生;

(下转2149页)

作者简介:李 刚,男,四川省简阳市人,主治医师,主要从事胸外科临床方面的研究。E-mail:9157985@qq.com
收稿日期:2008-04-02;修回日期:2008-07-16