DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.18.017
第26卷第18期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 18
2004年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2004

文章编号:1000-5404(2004)18-1655-03

论著

右旋酮洛芬-β-环糊精微球的制备和体外释药研究

何凤慈,陈 亮,孟德胜 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所,重庆 400042)

提 要:目的 制备右旋酮洛芬-β-环糊精微球,以延长药物的体外释药时间。方法 以明胶、阿拉伯胶为材料,用复凝聚法制备了右旋酮洛芬-β-环糊精微球,测定其包封率、载药量、药物含量,并且与右旋酮洛芬在人工胃液及人工肠液中进行溶出度比较。结果 右旋酮洛芬-β-环糊精微球较右旋酮洛芬溶出缓慢。结论 该制备工艺能满足缓释制剂设计要求,药物微球具备缓释特征。

关键词:右旋酮洛芬;微球;溶出度
中图法分类号:R944.9;R971.1 文献标识码:A

Preparation of slowly released microspheres of dextro-ketoprofen-β-cyclodextrin inclusion

HE Feng-ci, CHEN Liang, MENG De-sheng (Department of Pharmacy, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To prepare microspheres of dextro-ketoprofen-β-cyclodextrin (S-KP-β-CD) for prolonging the drug releasing time *in vitro*. **Methods** Microspheres containing S-KP-β-CD were prepared by complex coacervation method with gelatin and acacia. Trap efficiency, drug loading, and drug content were determined. The dissolubility of S-KP in the intestinal liquid was compared with that in the gastric liquid. **Results** In comparison with S-KP, microspheres of S-KP-β-CD possessed slow-releasing property. **Conclusion** Drug microspheres prepared by this simple, easy, and accurate method are of slow-releasing property.

Key words: dextro-ketoprofen; microsphere; dissolubility

右旋酮洛芬(S-ketoprofen, S-KP)是酮洛芬的活性光学异构体,药效优于酮洛芬[1]。据文献[2]报道,非甾体抗炎药制备成缓释制剂后,可明显降低药物引起的胃肠道不良反应,现采用复凝聚法制备了右旋酮洛芬-β-环糊精(S-Ketoprofen-β-cyclotrin)微球,并在不同溶出介质中进行了溶出度比较。

1 材料与仪器

右旋酮洛芬原药(西南合成制药厂,批号010601);右旋酮洛芬对照品(西南合成制药厂药物研究所);右旋酮洛芬-β-环糊精包合物(自制,批号030109,含量11.87%);DU-650紫外分光光度仪(美国贝克曼);D-800LS智能药物溶出仪(天津大学无线电厂)。

2 实验方法和结果

2.1 右旋酮洛芬-β-环糊精微球的制备

精密称取明胶,阿拉伯胶适量分别置于100 ml蒸馏水中,充分溶胀后,加热使之溶解。用稀碱液调明胶液pH值为8.00~8.05,加入吐温80搅拌均匀后备用。另精密称取S-KP-β-CD包合物于乳钵中,研磨约30 min后加入调好pH值的明胶液研成乳状,转入500 ml烧杯中,超声波振荡数分钟,使之充分分散,在水浴下加热并搅拌,当温度到达50~55 ℃,加入等温的阿拉伯胶液100 ml,并缓缓滴入5%HAC调pH值4.00~4.05,停止加酸,继续搅拌5 min,待液体温度降至8 ℃以下加入30 ml 25%戊二醛固化,固化完后,冰箱中放置24 h,抽滤,用蒸馏水洗至无醛味,45 ℃下真空干燥得黄白色粉末状颗粒。

2.2 右旋酮洛芬-β-环糊精微球成分分析方法的建立

2.2.1 绘制S-KP及空白微球紫外吸收光谱图 分别精密称取S-KP及空白微球0.010 g于50 ml容量瓶中,加蒸馏水适量,45 ℃以下超声使溶解,用蒸馏水定容,摇匀。以蒸馏水为空白,分别在200~800 nm波长范围内扫描,寻找S-KP的最大吸收峰及观察辅料有无干扰情况。紫外扫描结果表明:S-KP在260 nm波长处有最大吸收峰,而β-CD在此波长处无吸收(图1、2),不干扰S-KP的紫外测定,故选用260 nm为本实验的含量测定波长。

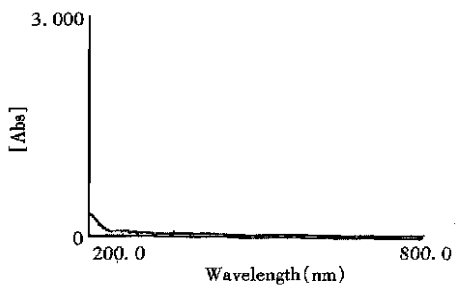


图1 空白微球紫外扫描图谱

Fig.1 Ultraviolet spectrogram of the blank microsphere

作者简介:何凤慈(1957—),男,安徽省贵池县人,硕士,教授,主要从事药物定位系统及临床药理方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023)68757213

收稿日期:2003-10-15;修回日期:2004-04-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

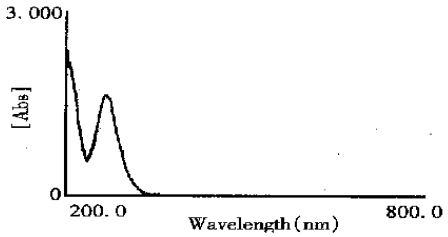


图2 S-KP紫外扫描图谱

Fig 2 Ultraviolet spectrogram of S-KP

2.2.2 S-KP标准曲线的建立

2.2.2.1 S-KP人工肠液标准曲线的建立 精密称取经硅胶干燥后的S-KP 0.010 5 g，置50 ml量瓶中，加人工肠液至刻度，摇匀作贮备液。精密量取贮备液0.5、1、1.5、2、3、4 ml于50 ml容量瓶中用人工肠液定容至刻度，摇匀后260 nm波长处测定吸光度(A)值，建立回归方程，回归方程C=－0.145 4+14.697 6A，r=0.999 9，P=0.043，表明人工肠液中S-KP浓度在2.1～16.8 μg/ml范围内与吸光度的线性关系良好，符合Lambere-Beer定律。

2.2.2.2 S-KP人工胃液标准曲线的建立 精密称取经硅胶干燥后的S-KP 0.010 9 g，置50 ml量瓶中，加人工胃液溶解(必要时超声)并稀释至刻度，摇匀作贮备液。精密量取贮备液0.5、1、1.5、2、3、4 ml于50 ml容量瓶中用人工胃液定容至刻度，摇匀后在260 nm波长处测定吸光度(A)值，建立回归方程。回归方程为C=－0.181 6+18.137 5A，r=0.999 6表明人工胃液中S-KP浓度在2.18～17.44 μg/ml范围内与吸收度的线性关系良好，符合Lambere-Beer定律。

2.2.3 回收率实验

2.2.3.1 S-KP在人工肠液中的回收率 精密量取S-KP人工肠液贮备液0.5、2、4 ml各5份，置50 ml容量瓶中，并加入处方比例的空白明胶微球，用人工肠液稀释，超声溶解定容至刻度，摇匀后测定吸收度，代入标准曲线方程，求得平均回收率，结果见表1。

表1 S-KP在人工肠液中的回收率(n=5)

Tab 1 Recovery rate of S-KP in the intestinal liquid (n=5)

Number	Add(μg)	Determination(μg)	Recovery[($\bar{x}\pm s$)%]	Average recovery(%)	RSD(%)
Low	105	107.90±0.02	102.80±0.24		
Middle	420	432.30±0.05	102.90±0.36	102.70	0.34
High	840	860.60±0.04	102.50±0.42		

2.2.3.2 S-KP在人工胃液中的回收率 精密量取S-KP人工胃液贮备液0.5、2、4 ml各5份，置50 ml容量瓶中，并加入处方比例的空白明胶微球，加人工胃液稀释，超声溶解定容至刻度，摇匀后测定吸收度，代入标准曲线方程，求得平均回收率，结果见表2。

2.2.4 S-KP-β-CD微球的含量测定 精密称取干燥微球适量，加入少许的磷酸盐缓冲液(pH 6.8)浸泡润湿后，研磨，显微观察无微球后，转移至容量瓶中，超声提取30 min，加缓冲液至刻度，摇匀后用微孔滤膜过滤，取续滤液，以缓冲液为空白测定吸收度。代入标准曲线计算包封率、载药量和药物含量，结果见表3。

表2 S-KP在人工胃液中的回收率(n=5)

Tab 2 Recovery rate of S-KP in the gastric liquid (n=5)

Number	Add(μg)	Determination(μg)	Recovery[($\bar{x}\pm s$)%]	Average recovery(%)	RSD(%)
Low	109	110.10±0.08	100.90±0.17		
Middle	436	443.50±0.06	101.70±0.29	101.70	0.28
High	872	894.50±0.04	102.60±0.37		

表3 微球的药物含量、载药量、包封率以及平均粒径

Tab 3 Drug content, drug loading, trap efficiency, and mean size in microspheres ($\bar{x}\pm s$)

Number	Drug content(%)	Loading(%)	Trap efficiency(%)	Mean size±s(μm)
Microsphere 1	28.68	46.80	93.59	48.06±22.69
Microsphere 2	28.20	47.62	95.59	58.71±20.83
Microsphere 3	29.19	47.75	95.50	46.72±17.50

2.3 溶出度测定

参照《中国药典》2000年版二部附录XC释放度测定第二法(浆法)进行，转速100 r/min，溶出介质分别为人工胃液或人工肠液900 ml，温度控制在(37±0.5) ℃。分别精密称取S-KP原药和S-KP-β-CD包合物微球适量置溶出杯中，药物于液面接触时计时。分别在人工胃液5、10、15、20、30、40、55、75、100、140 min及人工肠液2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、25、30、40 min时取样5 ml(同时立即补充相同温度的介质)，立即经0.8 μm微孔滤膜过滤，取续滤液测定吸收度，代入标准曲线，计算出平均累积溶出百分率。以函数计算法代替传统的威布尔(Weibull)概率纸作图法，直接求算出释放度实验中的溶出参数m、T_{50}、T_d，并对m、T_{50}、T_d进行方差分析检验。S-KP原药及三批S-KP-β-CD微球溶出参数见表4，表5。

表4 S-KP原药及三批微球在人工胃液中的溶出参数($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Parameters of S-KP and three groups of microspheres in the gastric liquid ($\bar{x}\pm s$)

Drugs	Dissolution pharameters		
	m	T_{50}(min)	T_d(min)
Original	1.46±0.22	30.17±4.56	38.86±4.87
Microsphere 1	1.08±0.07 **	85.67±4.36 **	120.43±10.00 **
Microsphere 2	1.09±0.02 **	72.99±6.46 **	102.25±8.69 **
Microsphere 3	1.19±0.20 **	95.39±10.64 **	119.12±18.19 **

**: P< 0.01, *vs* original

表5 S-KP原药及三批微球在人工肠液中的溶出参数($\bar{x}\pm s$)

Tab 5 Parameters of S-KP and three groups of microspheres in the intestinal liquid ($\bar{x}\pm s$)

Drugs	Dissolution pharameters		
	m	T_{50}(min)	T_d(min)
Original	0.59±0.04	1.87±0.07	3.56±0.14
Microsphere 1	0.77±0.05 *	10.44±1.52 *	17.77±2.21 *
Microsphere 2	0.85±0.14 *	13.16±1.76 *	20.52±4.04 *
Microsphere 3	0.89±0.09 *	11.48±1.59 *	17.32±2.05 *

*: P< 0.01, *vs* original

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

明胶微球常用制备方法是复凝聚法[3], 此法适用于水溶性药物微球的制备。复凝聚法制备明胶微球时, 影响微球大小、形状、包封率和载药量的主要因素有搅拌速度、明胶浓度、乳化剂种类与用量、固化方式和条件, 药物与明胶的比例等。吐温 80 因乳化效果好, 易于取样而入选。用甲醛固化, 介质需在 pH 8 ~ 9 时才能固化完全, 而 S-KP 呈弱酸性, 为提高微球内的含药量, 故改用戊二醛在中性介质中固化。

对微球粒径大小的测定, 最好用 Coulter 计数器[4], 由于我们无此条件, 只能采用光学显微目测法[5], 存在一定的误差, 有待提高精密度。本研究制备的 S-KP-β-CD 包合物微球, 粒径分布在 12.8 ~ 96.0 μm, 满足了微球粒径的要求, 光学显微镜下观察大小均匀性尚好。

明胶微球含量测定方法有研磨超声提取后的紫外分光光度法和水浴恒温振荡体外消解后的紫外分光光度法, 本实验采用了前一种方法, 方法结果准确, 简便易行。

S-KP-β-CD 微球与原药 S-KP 在人工肠液和人工胃液释药特性比较, 表现出明显的差异。由于 S-KP 是弱酸盐, 在人工肠液的碱性环境下, 它的溶出明显快于在人工胃液中的溶出。在 10 min 时, S-KP 在人工肠液和人工胃液中的累积溶出百分比分别为 85.11% 和 8.49%, 相差了 10 倍。此外, 3 批 S-KP-β-CD 微球与 S-KP 原药在人工肠液和人工胃液的溶出特性相比较可发现, 在人工肠液中, 3 批微球之间的释放速率没有明显的差距, 但与 S-KP 原药比较, 在 20 min 时, S-KP 原药已达到完全溶出, 而 3 批微球的累积溶出百分率分别为 71.76%, 62.64%, 66.75%, 远不如 S-KP 原药释放速度快, 具有一定的缓释效果。同样, 在人工胃液中, 3 批微球之间的释放速率也没有明显的差距, 但与 S-KP 原药比较, 在 40 min 时, S-KP 原药的累积溶出百分率为 74.28%, 而 3 批微球的累积溶出百分率分别为 33.06%, 33.06%, 25.03%, 接近 S-KP 原药的一半溶出, 可初步确定 S-KP-β-CD 微球的缓释作用, 具有临床应用的可能性。

参考文献:

[1] 金　涌, 张运芳, 李　俊, 等. 右旋酮洛芬的解热镇痛作用[J]. 安徽医科大学学报, 2000, 35(4): 251－253.

[2] 孙容波, 邓雁琪, 周宝珠, 等. 阿司匹林微囊化后溶出度的对比[J]. 中国药学杂志, 1991, 11(10): 461－462.

[3] 陆继锋, 金劲松. 复凝聚法制备农药微胶囊的研究[J]. 安徽农业科学, 1999, 27(3): 201.

[4] 吴道澄, 万明习, 吴　红, 等. 氟尿嘧啶大粒径明胶微球的制备与性质[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(5): 257－261.

[5] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 附录 9.

(编辑　张大春)

(上接 1654 页)

地置放了近万例支架, 颈内动脉支架置入术以其安全、简易而被广泛地应用, 颈内动脉支架置入术成为了颈动脉狭窄治疗金标准——颈内动脉内膜切除术的有效补充, 甚至有可能取代颈内动脉内膜切除术[3,5]。

我们观察的低血压的发生率较 Mendelsohn 等[4] 报道的低, 这可能与我们观察的病例较少有关。颈动脉支架置入导致低血压/心动过缓的主要原因是由于支架对颈动脉窦压力感受器的刺激所致, 此外还与个体的敏感性有关。因此, 严格的测量颈动脉的直径及狭窄部位的直径, 选择与之相匹配的支架, 尽量减少对颈动脉窦的刺激, 可以降低低血压/心动过缓的发生。我们选取支架直径的原则是支架的直径比正常血管直径大 1 mm。

尽管我们观察血压下降的发生率为 62%, 但有临床症状、需要治疗的只要 5 例。我们应用的是 Smart 支架, 支架从支架鞘置放出来以后迅速地按记忆的直径扩开, 刺激颈动脉窦的压力感受器导致血压下降/心动过缓。正如我们观察到患者血压的下降/心动过缓。出现低血压/心动过缓, 经积极的对症治疗, 患者没有发生任何严重的并发症, 如中风、心肌梗死。可能和我们及时的处理有关。在 Mendelsohn 报道的 1 组颈动脉支架置入的患者中(19 例), 有 1 例患者在低血压发生以后出现了中风和心肌梗死。我们在手术中持续的心电/血压监测, 一旦发现血压低, 立即给予处理。

按照 Brown 等[6] 的经验, 我们在支架置放前也应用了阿托品, 但是也未能完全阻止低血压/心动过缓的发生, 这可能与颈动脉支架持续的刺激颈动脉窦有关。机体的适应是血压/心率恢复正常的重要因素。

颈动脉支架的置入可以引起急性血流动力学的改变, 血流动力学的改变是一个良性的过程。

关键词: 颈动脉支架; 心动过缓; 低血压

中图法分类号: R741.05　文献标识码: B

参考文献:

[1] Roubin G S, Yadav S, Lyer S S, *et al*. Carotid stent-supported angioplasty: a neurovascular intervention to prevent stroke[J]. Am J Cardiol, 1996, 78(10): 8－12.

[2] DeBakey M E. Caroytid endarterectomy revisited[J]. J Endovas Surg, 1996, 3(1): 4－6.

[3] Yadav J S. Interventional advances in long-term stroke prevention[J]. J Stroke Cerebrovascular Disease, 2001, 10(2): 24－29.

[4] Mendelsohn F O, Weissman N J, Lederman R J, *et al*. Acute hemodynamic changes during carotid artery stenting[J]. Am J Cardiol, 1998, 82(9): 1007－1081.

[5] Hobson R Wznd. Carotid angioplasty-stent: clinical experience and role for clinical trials[J]. J Vasc Surg, 2001, 33(2Suppl 1): S117－123.

[6] Brown M M, Butler P, Gibbs J, *et al*. Feasibility of percutaneous transluminal angioplasty for carotid artery stenosis[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1990, 53(3): 238－243.

(编辑　刘洪娥)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net