

关节腔内注射用氟比洛芬明胶微球

钟延强*, 任常顺, 王春燕, 高 申, 李国栋, 居红卫

(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 制备关节腔注射用氟比洛芬明胶微球。方法: 按均匀设计法筛选乳化冻凝法制备氟比洛芬明胶微球(FP-GMS)的最佳制备工艺。结果: 微球粒径范围为 2.5~12.3 μm , 平均粒径为 7.53 μm , 氟比洛芬含量为 5.02% (w/w)。其体外释药符合 Higuchi 方程, 稳定性实验表明, FP-GMS 的稳定性良好, 兔关节腔内注射后, 与溶液剂对照组相比氟比洛芬体内平均滞留时间(MRT)显著延长($P < 0.01$), 峰时比对照组延长 2.03 倍, 峰浓度比对照组减小 5.57 倍。体内相关性研究表明, FP-GMS 体外累积溶出百分率与兔体内药物吸收分数呈显著相关($P < 0.01$)。结论: 本法制备的氟比洛芬明胶微球粒径分布集中, 粒径大小符合设计要求, 体内释药结果表明氟比洛芬明胶微球具有明显的缓释作用。

关键词 氟比洛芬明胶微球; 关节腔注射; 稳定性; 药代动力学

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^[1], 有人将甾体药物包封在脂质体中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 3~4 d^[2], 为提高腔内药物浓度, 延长作用时间, 本文选药用 A 型明胶为材料, 氟比洛芬(flurbiprofen)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, 探求明胶微球腔内给药的可行性, 并对微球的粒径分布、药物包封率、体外释药特性和腔内注射后的体内外周血液药物动力学进行了研究。

实 验 部 分

1 仪器、药品与动物

Waters 高效液相色谱系统(日本 Waters 公司); 库尔特 TX-II 型计数器(美国库尔特仪器公司); Shimadzu UV-256 紫外分光光度计(岛津公司); XW-80 型旋涡混合器(上海第一医学院仪器厂); 800 型离心沉淀器(上海手术器械厂); 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); 氟比洛芬(flurbiprofen, FP 德国 Knoll 制药公司); 酮基布洛

芬(重庆合成制药厂); 药用明胶(A 型)(上海延安制药厂); 异丙醇、氢氧化钠、磷酸二氢钾、无水乙醇均为分析纯。家兔(第二军医大学实验动物中心)。

2 氟比洛芬明胶微球的制备及理化性能测试

2.1 空白明胶微球的制备 运用乳化冻凝法^[3]选取影响粒径大小的 3 个因素明胶浓度、搅拌速度和乳化剂用量, 用均匀设计拟水平处理成 7 个水平, 将明胶适量于 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠液 4 mL 中 70℃ 水浴溶胀, 增力搅拌下加至盛有 30 mL 液状石蜡和 Span-80 的 100 mL 烧杯中, 乳化分散约 5 min, 冰浴迅速冷却至 5℃ 以下, 加入异丙醇 40 mL 脱水 5 min, 抽滤, 加异丙醇适量淋洗, 取微球用含甲醛 2.5% 的异丙醇溶液 10 mL 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 7 批, 用库尔特计数器分别测定其粒径分布, 通过粒径分布的集中性, 微球的圆整性确定最佳实验处方。

2.2 氟比洛芬明胶微球的制备 分别称取氟比洛芬 100, 150, 200, 250 和 300 mg 溶于 0.2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠液 4 mL 中, 加入明胶 0.8 g, 70℃ 水浴使溶胀, 待完全溶胀后, 加入盛液状石蜡 30 mL 和 Span-80 0.3 mL 的 100 mL 烧杯中, 搅拌速度为 910 r·min⁻¹, 乳化分散 5 min, 其余步骤同空白微球的制备, 得 5 处方氟比洛芬明胶微球, 封入安瓿, 暗处低温保存。经均匀设计筛选氟比洛芬明胶微球的最佳制备工艺制得微球的粒径集中在 2.5~12.3 μm 之间(图 1), 平均粒径为 7.53 μm , 氟比洛芬包封率为 5.02%。

收稿日期: 1998-08-21

* Tel: (021)25070342, E-mail: yqzhong@guomai.sh.cn

钟延强 男, 34 岁, 讲师, 硕士

高 申 男, 42 岁, 教授, 博士生导师

3 氟比洛芬明胶微球的含量测定及体外释药特性

用研磨超声提取^[4]后的紫外分光光度法测定微球中 FP 的含量,精密称取 5 处方含药微球 20 mg,分别于研钵中研磨,加无水乙醇并调节 pH 5 左右,超声离心提取 3 次并定容于 50 mL 量瓶中,紫外分光光度法^[5]测定氟比洛芬的含量。体外释药试验用转篮法,分别精密称取 FP-GMS 约 200 mg 6 份,装入 Visking 透析膜后放入 6 只转篮中,溶出介质为 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 500 mL,水浴温度 37 ± 1°C,转篮转速 100 r·min⁻¹,紫外分光光度法测定 FP-GMS 的体外释放数据(图 2)。

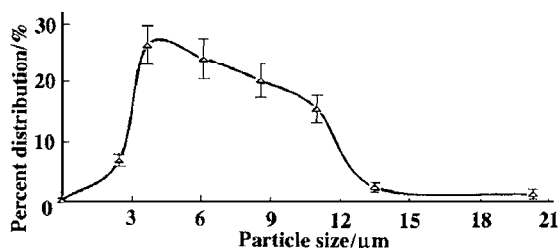


Fig 1 The particle size distribution of flurbiprofen microspheres.

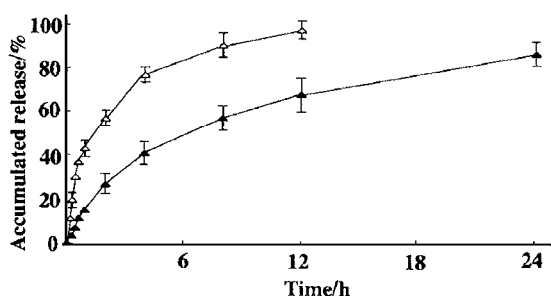


Fig 2 The *in vitro* dissolution profile of flurbiprofen gelatin microspheres (FP-GMS) in pH 7.4 phosphate buffer (37°C). —▲— FP-GMS; —△— Flurbiprofen powder.

释放前段(8 h 前)用 Higuchi 方程模拟得回归方程为:

$$Q = 24.29t^{1/2} - 8.92 \quad \gamma = 0.9974 \quad t_{50} = 5.58 \text{ h}$$

同法测得氟比洛芬原料药的 $t_{50} = 1.8 \text{ h}$,微球和原料药之间 t_{50} 有显著性差异 ($P < 0.01$),说明 FP-GMS 有明显的缓释作用。

4 FP-GMS 的稳定性实验

4.1 光照稳定性实验 取 FP-GMS 适量封入安瓿置不变(2 500 lx)下分别照射 5 d 和 10 d 后连同原始样品一起作 FP 的定量检查。

4.2 热稳定性实验 取 FP-GMS 3 批封入安瓿避光置 37°C 恒温培养箱中定期取样品测定 FP 含量,求算样品中 FP 剩余含量和标准差。FP-GMS 中的

药物稳定性试验结果表明 FP-GMS 放置前后其形态和释药特性无明显变化,氟比洛芬明胶微球封入安瓿后经 2 500 lx 不变光照射 10 d 仍有 95.8% 的药物未分解,其热稳定性结果见表 1。

Tab 1 Test of stability of flurbiprofen microspheres at the temperature of 37°C ($n = 3$)

Storage time/month	Lot No.	Flurbiprofen remained/%
0	980407	100.00
	980408	100.00
	980409	100.00
1	980407	98.01
	980408	98.59
	980409	97.82
3	980407	96.42
	980408	96.59
	980409	96.44

氟比洛芬明胶微球封入安瓿后 37°C 避光保存 3 个月,药物含量为 96.5%,说明 FP-GMS 对该条件是稳定的。

5 药代动力学实验

取家兔 12 只,♀♂ 各半,体重(2.13 ± 0.18) kg,随机分为 2 组,A 组为注射剂对照组,B 组为 FP-GMS 混悬剂实验组,A,B 两组分别在兔后腿关节腔内注射相同剂量(2.5 mg·kg⁻¹)的 FP 溶液剂和 FP-GMS 混悬剂,给药后不同时间取耳缘静脉血 1.0 mL 肝素抗凝,离心取血浆 0.2 mL,加入内标 20 μL(20 μg),加入 0.2 mL 0.1 mol·L⁻¹ HCl,旋涡混合 1.0 min,加环己烷 5 mL 提取,旋涡混合 5 min,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,分离有机层,30°C 水浴中 N₂ 吹干,流动相 200 μL 溶解,离心,进样 10 μL 测定,结果用 3P87 药动学程序处理(图 3)。

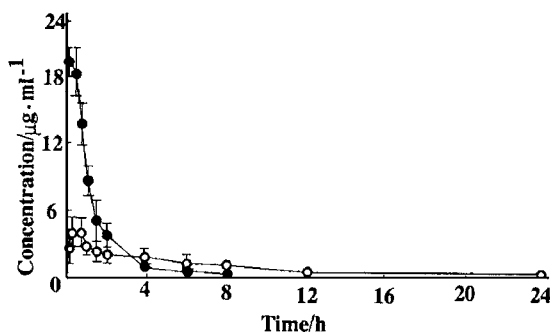


Fig 3 Flurbiprofen concentration in blood of rabbits given flurbiprofen GMS suspension (—○—) and flurbiprofen solution (—●—) ($n = 6$) (2.5 mg·kg⁻¹) through intra-articular cavity.

6 体内外相关性研究

将体外累积溶出百分率与体内药物吸收百分数用最小二乘法线性回归, 得氟比洛芬明胶微球的体内外相关性。

将两组数据用 3P87 药动学程序按血管外给药自动拟合处理, 其体内过程符合开放二室模型, 其药动学参数见表 2。

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of flurbiprofen (FP) for flurbiprofen solution and flurbiprofen gelatine microspheres (FP-GMS) suspension (mean of 6 rabbits) given by intra-articular cavity administration

Parameter	FP-Solution	FP-GMS
K_a / h^{-1}	21.88	9.77
AUC / $\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h$	25.85	21.66
MRT / h	1.17	11.70
T_{max} / h	0.148	0.300
$C_{max} / \mu g \cdot mL^{-1}$	21.66	3.89

两组数据的 MRT 及 C_m 相差显著 ($P < 0.01$), 可以看出微球组在体内有明显的缓释作用, 说明氟比洛芬明胶微球能明显延长药物在体内的驻留时间。体内外相关性研究表明, 兔体内药物吸收分数与体外溶出百分率呈显著相关 ($P < 0.01$)。

讨 论

文献报道^[3]制备缓释微球关节腔内注射, 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 $0.0025 \sim 10 \mu m$ 范围内较易被吞噬细胞所摄取^[6], 本方法制备的 FP-GMS 其粒径分布集中在

$2.5 \sim 12.3 \mu m$ 之间, 平均粒径为 $7.53 \mu m$, 符合设计要求。

用微球关节腔给药的目的是如何提高腔内药物浓度并维持较长时间, 从外周血的药物浓度-时间曲线及药动学参数仅能说明微球在腔内的缓释作用和药物进入血液的代谢状况, 应结合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的优越性。

明胶骨架作成微粒制剂用于静脉、肌肉、皮下及动脉栓塞给药已有不少文献报道, 根据固化程度、粒径大小及给药途径不同, 其体内降解时间也不尽相同; 微粒对腔内组织的刺激性受粒径大小、交联剂残留量等因素的影响。因此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重要课题, 有待进一步的研究。

References

- Hollander JL, Brown EM, Jessar RA, *et al.* Hydrocortisone and cortisone into arthritic joints. *J Am Med Assoc*, 1951, **147**:1629
- Shaw IH, Knight CG, Page TDP, *et al.* Liposome-incorporated corticosteroids: I. The interaction of liposomal cortisol palmitate with inflammatory synovial membrane. *Br J Exp Pathol*, 1979, **60**:142
- 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
- Zhong YQ (钟延强), Jiang XT (蒋雪涛), Sun QR (孙其荣), *et al.* Study on CDDP-albumin microspheres for hepatic arterial chemoembolization. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1995, **30**:543
- Zhong YQ (钟延强), Wang CY (王春燕), Ju HW (居红卫). Preparation and release *in vitro* of flurbiprofen gelatin microspheres for intra-articular administration. *J Pharm Pract* (药学实践杂志), 1998, **16**:341
- Ratcliffe JH, Hunneyball IM, Wilson CG, *et al.* Albumin microspheres for intra-articular drug delivery: investigation of their retention in normal and arthritic knee joints of rabbits. *J Pharm Pharmacol*, 1987, **39**:290

FLURBIPROFEN-GELATIN MICROSPHERES FOR INTRA-ARTICULAR ADMINISTRATION

Zhong Yanqiang (Zhong YQ), Ren Changshun (Ren CS), Wang Chunyan (Wang CY),
Gao Shen (Gao S), Li Guodong (Li GD) and Ju Hongwei (Ju HW)

(Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT **AIM:** To prepare flurbiprofen gelatin microspheres for intra-articular administration. **METHODS:** An optimum procedure was established by uniform test for preparing flurbiprofen gelatin microspheres (FP-GMS) with emulsion-congealing method. **RESULTS:** The particle size focused on 2.5~12.3 μm , the mean size was 7.53 μm , drug content was 5.02% (w/w). The dissolution profiles of the FP-GMS followed Higuchi kinetics. The stability of FP-GMS was excellent. In rabbits the mean retention time (MRT) of FP-GMS was prolonged *vs* that of the injection group ($P < 0.01$), after intra-articular cavity administration with FP-GMS. The T_{max} was prolonged 2.03 times and the C_{max} was decreased 5.57 times *vs* that of the injection group. Significant linear correlation exists between the dissolution *in vitro* and absorption *in vivo* ($P < 0.01$). **CONCLUSION:** The size distribution of FP-GMS was focalized, and the FP-GMS showed obvious sustained effect both *in vitro* and *in vivo*.

KEY WORDS flurbiprofen gelatin microspheres; intra-articular administration; stability; pharmacokinetics