

氟苯尼考- β -环糊精包合物的研制

魏海涛, 宋敏, 李亮华, 骆飏, 曾振灵, 黄显会

(华南农业大学兽医学院, 广东广州 510642)

摘要:选择饱和水溶液法制备氟苯尼考- β -环糊精包合物;通过高效液相色谱法(HPLC)测定氟苯尼考- β -环糊精包合物的溶解度和溶出度;采用差热分析法对氟苯尼考- β -环糊精包合物进行物相鉴定.结果表明,氟苯尼考- β -环糊精包合物中氟苯尼考溶解度和溶出度明显增大,氟苯尼考- β -环糊精包合物能显著提高氟苯尼考的水溶性.

关键词:氟苯尼考; β -环糊精; 包合物; 溶解度; 溶出度

中图分类号: S859.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2009)04-0094-04

Preparation of Inclusion Complex of Florfenicol- β -Cyclodextrin

WEI Hai-tao, SONG Min, LI Liang-hua, LUO Biao, ZENG Zhen-ling, HUANG Xian-hui

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Florfenicol- β -cyclodextrin was prepared by saturated water solution method; HPLC method was used to determine the solubility and dissolution rate of florfenicol- β -cyclodextrin; The differential thermal analysis (DTA) method was used to describe the status of Florfenicol in inclusion complex. The results showed that the solubility and dissolution rate of florfenicol- β -cyclodextrin were significantly raised compared with Florfenicol itself, florfenicol- β -cyclodextrin can significantly increase its water-solubility.

Key words: florfenicol; β -cyclodextrin; inclusion complex; solubility; dissolution rate

氟苯尼考(Florfenicol)是一种优良的动物专用广谱抗生素,兽医临床上广泛应用于敏感菌所致的畜禽细菌性疾病的治疗,且效果显著.但因本品水溶性极差,造成药物在动物体内的吸收及生物利用度很低^[1],用药成本较高,且容易造成药物残留,并诱发耐药菌株的产生.故提高该药的水溶性对于提高生物利用度具有重要意义.目前,提高氟苯尼考水溶性的方法主要可分为2大类:一是物理方法,包括加助溶剂微粉化、 β -环糊精包合^[2]、羟丙基- β -环糊精包合^[3]、固体分散体^[1,4]等;另一是化学方法,即将氟苯尼考制成无活性的前药^[5-7],进入动物体后代谢为氟苯尼考发挥作用,其特征是水溶性远大于物理方法,但制备成本较高. β -环糊精(β -Cyclodextrin, β -CD)分子可以改变客体分子的状态和稳定性^[8],环

糊精包合技术能够改善难溶性药物溶解度、提高生物利用度、增强药物稳定性、减少药物副作用,越来越受到人们的关注^[9].本试验选用包合物技术展开对难溶性药物氟苯尼考的研究,研制氟苯尼考- β -环糊精包合物,以提高氟苯尼考水溶性,为氟苯尼考新药开发和临床应用研究提供试验依据.

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

氟苯尼考:98.0%,批号 170062108,湖北中牧安达药业有限公司. β -环糊精:批号 20040402,上海伯奥生物科技有限公司.溶出试验仪:RCY-808,天津科益达科技有限公司.高效液相色谱仪:LC-20AT, SPD-20A, SHIMADZU.差热热重联用仪:DTG-60,

收稿日期:2008-10-30

作者简介:魏海涛(1984—),男,硕士研究生,现在广东省动物保健品协会工作;通讯作者:黄显会(1969—),男,高级兽医师, E-mail: xhhuang@scau.edu.cn

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD31B06);上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2006)第10-3号)

SHIMADZU.

1.2 试验方法

1.2.1 氟苯尼考的含量测定 采用 HPLC 法. 色谱柱: Hypersil BDS C18 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相: V(乙腈): V(水) = 4:6; 检测波长: 223 nm; 柱温: 室温; 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 进样量: 10 μ L.

1.2.2 氟苯尼考- β -环糊精包合物(Florfenicol- β -Cyclodextrin)的制备 氟苯尼考用少量乙醇溶解制成饱和溶液 A, 一定量的 β -环糊精用蒸馏水在一定温度下制成饱和溶液 B, 恒温搅拌下, 缓慢将溶液 A 滴入溶液 B 中, 滴毕, 继续搅拌一段时间, 停止加热, 再冷却至室温, 敞口搅拌 4 h, 置冰箱中冷藏 12 h, 析晶, 抽滤, 用少量乙醇快速洗涤, 于 60 $^{\circ}$ C 真空干燥, 过 100 目筛, 即得.

以氟苯尼考- β -环糊精包合物的收得率和包合率为考察指标, 按 $L_9(3^4)$ 正交设计(表 1) 进行试验, 对其进行综合评分[综合评分 = (收得率 + 包合率)/2], 使用最大极差法处理数据分高者优(表 2).

$$\text{收得率} = \frac{m(\text{氟苯尼考}-\beta\text{-环糊精包合物})}{m(\text{氟苯尼考}) + m(\beta\text{-环糊精})} \times 100\%$$

$$\text{包合率} = \frac{m(\text{氟苯尼考}-\beta\text{-环糊精包合物中的氟苯尼考})}{m(\text{氟苯尼考})} \times 100\%$$

表 1 正交设计试验的因素和水平

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	因素			
	n (氟苯尼考): n (β -环糊精) (A)	$\theta/^{\circ}\text{C}$ (B)	t/h (C)	搅拌速度/ ($\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$) (D)
1	1:1	60	0.5	400
2	1:2	70	1.0	600
3	1:3	80	1.5	800

1.2.3 物理混合物(Physical mixture)的制备 按处方精密称取过 100 目筛的载体和氟苯尼考, 以等量递加法于乳钵中混匀, 混合过筛, 置于干燥器中保存备用.

1.2.4 制备工艺重现性研究 按照正交试验确定的优选制备工艺制备包合物 4 批, 测定其收得率和包合率, 评价其重现性.

1.2.5 平衡溶解度试验 分别取过量氟苯尼考、包合物以及物理混合物于去离子水中, 常温下于磁力搅拌 4 h, 使之形成饱和溶液, 取 10 mL 离心(4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$) 30 min, 吸取上清液, 适度稀释后 HPLC 测定氟苯尼考的浓度. 重复测定 4 次, 比较氟苯尼考、包合物以及混合物在水中的溶解度变化.

1.2.6 体外溶出度试验 取氟苯尼考原药、包合物以及物理混合物适量(相当于氟苯尼考原药 100 mg), 按照中华人民共和国兽药典 2005 年版 1 部附录 97 第二法(浆法)考察药物溶出速率. 溶出介质为经脱气处理的去离子水 900 mL, 温度 37 $^{\circ}$ C, 转速 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 分别与 2、5、10、20、30、45、60 min 定量取样 5 mL, 同时补充等量同温介质 5 mL, 经 0.2 μ m 微孔滤膜过滤, HPLC 测定药物浓度, 计算累积溶出百分率. 同批样品测定 3 份, 结果取平均值.

1.2.7 差热分析试验(Differential thermal analysis, DTA) 升温范围: 30 ~ 400 $^{\circ}$ C; 升温速率: 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$; 参比物: Al_2O_3 ; 气氛: N_2 ; 分别对氟苯尼考、 β -环糊精、物理混合物、氟苯尼考- β -环糊精包合物进行 DTA 分析.

2 结果与分析

2.1 氟苯尼考的含量测定

由图 1 可见, 氟苯尼考的 HPLC 保留时间为 4.6 min, 峰形好, 基本无拖尾. 以峰面积为横坐标, 质量浓度为纵坐标进行线性回归, 得到回归方程: $y = 4.4867e^{-5}x - 3.4590$ ($r = 0.9997$), 样品质量浓度在 10 ~ 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系. 说明可以通过 HPLC 法测定氟苯尼考- β -环糊精包合物的溶解度和溶出度.

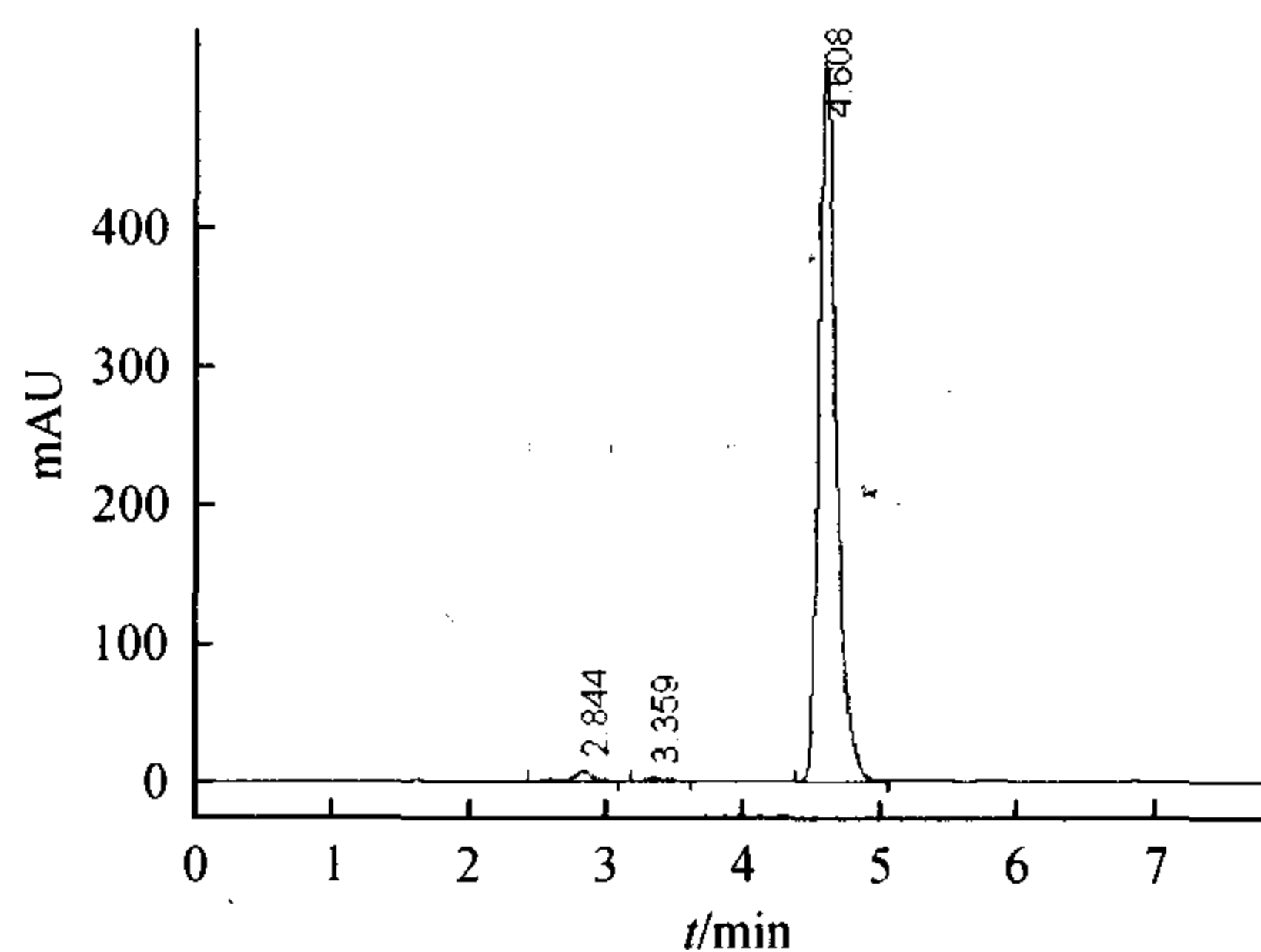


图 1 氟苯尼考标准液的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of Florfenicol standard solution

2.2 氟苯尼考- β -环糊精包合物和物理混合物的制备

2.2.1 氟苯尼考- β -环糊精包合物的制备 由表 2 可见, 优选制备工艺为 $A_1B_3C_2D_1$, 即 n (氟苯尼考): n (β -环糊精) = 1:1, 包合温度 80 $^{\circ}$ C, 饱和时间 1 h, 搅拌速度 400 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$.

2.2.2 制备工艺重现性研究 由表 3 可知, 按照正交试验确定的优选制备工艺($A_1B_3C_2D_1$) 制备 4 批氟苯尼考- β -环糊精包合物, 收得率为 $(81.74 \pm$

1.02)% ,包合率为(86.28 ± 1.75)% ,说明在优选工艺下制备氟苯尼考-β-环糊精包合物重现性良好.

表2 L₉(3⁴)正交试验结果

Tab.2 Results of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	收得率/%	包合率/%	综合评分
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	49.50	65.73	57.62
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	75.21	89.22	82.22
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	82.64	89.23	85.94
4	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	27.75	24.96	26.36
5	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁	55.22	47.68	51.45
6	A ₂	B ₃	C ₁	D ₂	69.67	59.02	64.35
7	A ₃	B ₁	C ₃	D ₂	29.85	4.19	17.02
8	A ₃	B ₂	C ₁	D ₃	45.42	4.93	25.18
9	A ₃	B ₃	C ₂	D ₁	68.57	46.15	57.36
K ₁	75.26	33.67	49.05	55.48			
K ₂	47.39	52.95	55.31	54.53			
K ₃	33.19	69.22	51.47	45.83			
R	42.07	35.55	6.26	9.65			

表3 工艺重现性试验结果

Tab.3 Results of reproducibility

试验号	收得率/%	包合率/%
1	79.11	83.27
2	83.91	89.38
3	81.31	83.22
4	82.64	89.23
$\bar{x} \pm SE$	81.74 ± 1.02	86.28 ± 1.75

2.3 平衡溶解度试验

由表4可见,氟苯尼考-β-环糊精包合物和物理混合物在水中的溶解度均较氟苯尼考有所增加,但氟苯尼考-β-环糊精包合物效果更加明显,其在水中的溶解度平均约为氟苯尼考原药的5.78倍,较大提高了氟苯尼考的水溶性.

表4 氟苯尼考、氟苯尼考-β-环糊精包合物以及物理混合物在水中的溶解度

Tab.4 Solubility of florfenicol, florfenicol-β-cyclodextrin and physical mixture

编号	溶解度/(mg · mL ⁻¹)			包合物溶解度: 氟苯尼考溶解度
	氟苯尼考原料	混合物	包合物	
1	1.470 1	6.134 6	8.558 6	5.82
2	1.507 3	6.167 9	8.712 2	5.78
3	1.502 9	6.145 3	8.913 8	5.93
4	1.481 4	6.149 5	8.311 8	5.61
\bar{x}	1.490 4	6.149 3	8.624 1	5.78

2.4 体外溶出度试验

由图2可知,制备的氟苯尼考-β-环糊精包合物溶出情况良好,在30 min时,包合物的累积溶出度达90%,为氟苯尼考的3倍多,可见包合物能明显增强难溶性药物氟苯尼考的溶出速率.但是30 min前,

氟苯尼考-β-环糊精包合物溶出速率要略低于物理混合物,这是由于物理混合物中难溶性药物分散在水溶性的β-环糊精中,增大了药物的可润湿性从而加快溶出,说明物理混合物也对难溶性药物的溶出有相当大的促进作用.

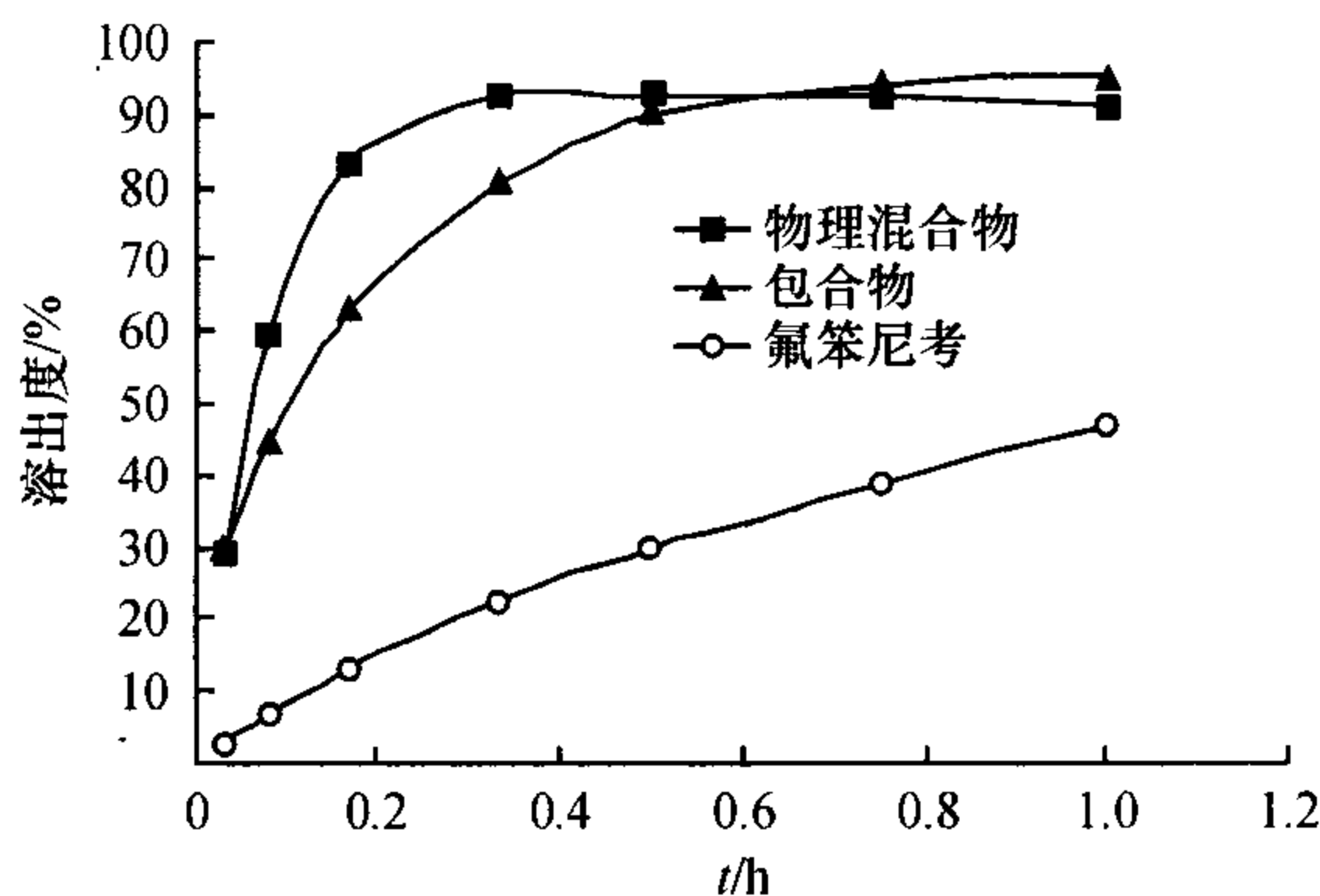
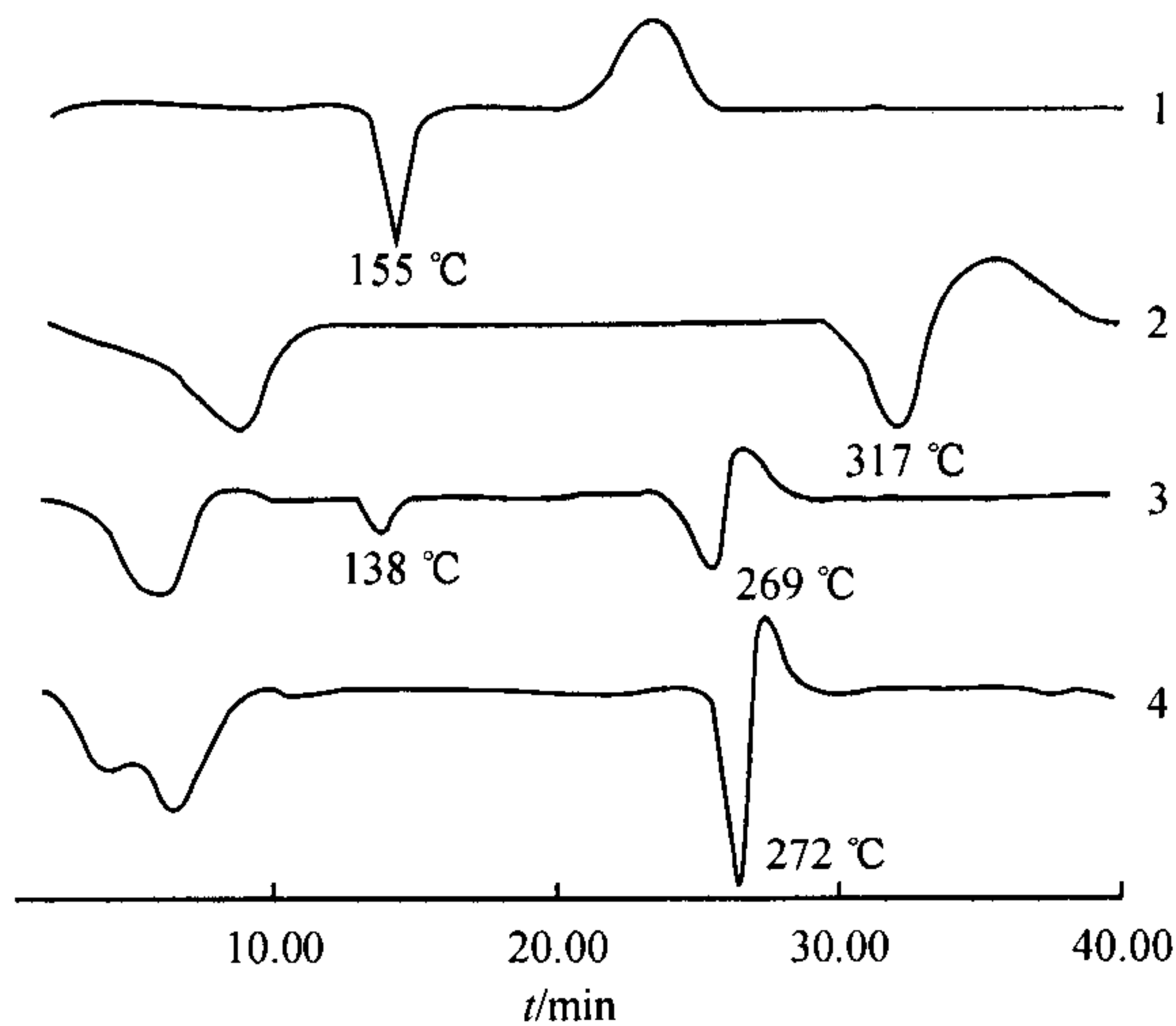


图2 体外溶出度试验结果

Fig.2 Results of dissolution rate test

2.5 差热分析试验

由图3可知,氟苯尼考在155℃有一吸收峰,β-环糊精在317℃有一吸收峰,物理混合物有2个吸收峰,为氟苯尼考和β-环糊精吸收峰的叠加.氟苯尼考-β-环糊精包合物的差热分析图只有一个吸收峰,氟苯尼考的特征吸收峰消失,表明氟苯尼考和β-环糊精形成包合物,形成一种新的物相.



1:氟苯尼考;2:β-环糊精;3:物理混合物;4:氟苯尼考-β-环糊精包合物

图3 差热分析试验结果

Fig.3 Results of DTA test

3 结论

采用饱和水溶液法成功制备了氟苯尼考-β-环糊精包合物,优选制备工艺为:n(氟苯尼考):n(β-环糊精)=1:1,包合温度80℃,饱和时间1h,搅

拌速度 $400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$. 在此条件下制备了4批氟苯尼考- β -环糊精包合物,收得率为 $(81.74 \pm 1.02)\%$,包合率为 $(86.28 \pm 1.75)\%$,制备工艺简单,重现性良好,具有推广应用价值.

氟苯尼考- β -环糊精包合物在水中的溶解度平均约为氟苯尼考原药的5.78倍,大大改善了难溶性药物氟苯尼考的溶解度和溶出度.差热分析试验表明,氟苯尼考- β -环糊精包合物形成一种新的物相.

本试验成功制备了氟苯尼考- β -环糊精包合物,极大提高了药物的溶解度和溶出度,并且制定了其HPLC检测方法,为进一步将氟苯尼考- β -环糊精包合物制成理想剂型打下良好基础.

参考文献:

- [1] 洪涛,欧阳五庆. PVPK 氟苯尼考固体分散体的制备及体外溶出速率的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2005,6: 65-67.
- [2] 魏小藏,刘卫,周小顺,等. 氟苯尼考- β -环糊精包合物的制备研究[J]. 中南药学,2006,4(6):406-409.
- [3] 邓利斌,欧阳五庆,景俊年,等. 氟苯尼考-2-羟丙基- β -环糊精包合物制备工艺[J]. 武汉工业学院学报,2005,24(1):10-13.
- [4] 王笃学. 氟苯尼考-PEG6000 固体分散体的研制及其药效学研究[D]. 吉林:吉林大学农学部畜牧兽医学院,2005.
- [5] SCOTT H J, SUNIL P V. Florfenicol prodrug having improved water solubility: US, 2005/0182031 [P], 2005-08-18.
- [6] 哈克 S J, 潘塞尔 S V. 具有改善水溶性的氟苯尼考前药: 中国, CN1897954 [P]. 2007-01-17.
- [7] YERRAMILI M, ROBERT H S. Compositions containing prodrugs of florfenicol and methods of use: US, 2005/0014828 [P], 2005-01-20.
- [8] BENDER M L, KOMIYAMA M. Cyclodextrin reactivity and structure concepts in organic chemistry [M]. Berlin: Springer, 1978: 6-96.
- [9] MASAKO O, HIROSHI S, MIEHIYA K, et al. β -Cyclodextrin as a suitable solubilizing agent for in situ absorption study of poorly water-soluble drugs [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 280: 95-102.

【责任编辑 柴 焰】

欢迎订阅 2010 年《华南农业大学学报》

《华南农业大学学报》是华南农业大学主办的综合性农业科学学术刊物。本刊主要报道农业各学科的科研学术论文、研究简报、综述等,设有农学·园艺·土壤肥料、植物保护、生物学、林业科学、动物科学与兽医学、农业工程与食品科学、信息科学、基础科学、综述、简报等栏目。本刊附英文目录和英文摘要。读者对象主要是农业院校师生、农业科研人员和有关部门的专业干部。

本刊为《中国科学引文数据库》、《中国科技论文统计源(中国科技核心期刊)》及《中国学术期刊综合评价数据库》等固定刊源,并排列在中国科学引文数据库被引频次最高的中国科技期刊500名以内。被《中文核心期刊要目总览》遴选为综合性农业科学核心期刊、植物保护类核心期刊。为美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《CABI》、英国《动物学记录》、《中国生物学文摘》及国内农业类文摘期刊等国内外多家著名文摘固定刊源。

国内外公开发行、季刊、A4幅面。每期124页,定价10.00元,全年40.00元、自办发行,参加全国非邮发报刊联合征订发行,非邮发代号:6573。

订阅办法:订阅款邮汇至:300385 天津市大寺泉集北里别墅17号,全国非邮发报刊联合征订服务部。

《华南农业大学学报》编辑部