

本品在 2, 4, 6, 8, 12 h 的释放度应分别为 20%~40%, 40%~65%, 60%~85%和 75%以上, 溶出结果均符合规定。

4 讨论

盐酸普萘洛尔是非选择性 β -肾上腺素能受体阻滞剂, 在水或乙醇中溶解, 其口服疗效好, 作用温和, 不良反应少, 无耐药性, 但普通片($10 \text{ mg}\cdot\text{片}^{-1}$)一日需服用多次, 故多制成缓释剂型。微囊是近年发展较快的新型技术, 通过微囊化所得剂型较传统剂型具有明显优点。我国医药行业已有一些微囊产品, 但为数不多。食品行业也有少量产品, 但还处于起步阶段。多数微囊技术还停留在实验室研究和专利文献上, 没有转化为商品。

本研究采用星点设计-效应面分析法来优化普萘洛尔微囊的制备工艺, 得到运用流化床最佳工艺参数是: 囊材液流速为 $1.00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 喷雾压力为 0.65 bar , 在最优工艺条件下微囊的粒径, 载

药量, 包封率均能达到较理想结果, 同时能保证样品在 12 h 内定时、定量、有效的释放药物。本实验所涉及到的流化床制备微囊方法简单, 重复性好, 利用率大, 生产量高, 有利于工业化大生产。

REFERENCES

- [1] WU W, CUI G H. Application of central composite design-response surface methodology in pharmacy [J]. Foreign Med Sci(Pharm)(国外医学 药学分册), 2000, 27(5): 292-298.
- [2] WU X T, LIU L, HUO L R, et al. Optimized preparation of butoconazole nitrate sustained-release cream by central composite design and response surface method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(13): 1337-1340.
- [3] SHI N, CUI G H. The development and application of preparation of microencapsulated technology in fluidized bed coating [J]. Foreign Med Sci(Pharm)(国外医学 药学分册), 2002, 29(6): 336-340.
- [4] WANG X X, WANG C X. Preparation of glycyrrhiza ultrafine powder by planetary ball mill and antibacterial activity [J]. China Powder Sci Technol(中国粉体技术), 2010, 16(6): 36-38.

收稿日期: 2011-11-29

羟丙基- β -环糊精对西罗莫司的增溶作用研究

章莹, 鲁一, 刘静宇, 王娟, 师俊萍* (开封市第一人民医院, 河南 开封 475000)

摘要: 目的 研究羟丙基- β -环糊精包合对难溶于水的西罗莫司溶解度的增强作用。方法 采取超声法制备西罗莫司-羟丙基- β -环糊精包合物, 用相溶度法考察羟丙基- β -环糊精的增溶能力, 以 X 射线衍射法、傅立叶红外光谱法、差示扫描量热法验证包合物的形成。结果 西罗莫司与羟丙基- β -环糊精形成了包合物, 在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下, 随着羟丙基- β -环糊精浓度的增加, 西罗莫司的溶解度由 $1.18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 $118.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 提高了约 100 倍。结论 羟丙基- β -环糊精的包合技术能显著提高西罗莫司的溶解度。

关键词: 西罗莫司; 羟丙基- β -环糊精; 包合

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)12-1116-05

Solubilization Effect of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin on Sirolimus

ZHANG Ying, LU Yi, LIU Jingyu, WANG Juan, SHI Junping* (*The First People's Hospital of Kaifeng, Kaifeng 475000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the enhancement of dissolution of sirolimus by its complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **METHODS** The inclusion complexes of sirolimus were prepared by ultrasonic method. The solubilizing power of hydroxypropyl- β -cyclodextrin were determined by phase solubility technique. X-ray diffraction(XRD), Fourier transform infrared spectroscopy(FT-IR) and differential scanning calorimetry(DSC) were used to verify the formation of inclusion complexes. **RESULTS** Sirolimus and hydroxypropyl- β -cyclodextrin formed inclusion complexes. At $25 \text{ }^\circ\text{C}$, with hydroxypropyl- β -cyclodextrin concentration increased, the solubility of sirolimus rised from $1.18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ up to $118.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, increased 100 times approximately. **CONCLUSION** Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion technology can rise the

作者简介: 章莹, 女, 主管药师 Tel: (0378)5672723 E-mail: kfzhying@sina.com

E-mail: hnzkluyi@tom.com

*通信作者: 师俊萍, 女, 主任药师 Tel:

solubility of sirolimus significantly.

KEY WORDS: sirolimus; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion

西罗莫司(sirolimus)又称雷帕霉素(rapamycin),是一种大环内脂抗生素类免疫抑制剂。1999年,FDA允许西罗莫司作为一种安全高效的药物用于临床防治肾移植排斥反应^[1]。近年来,西罗莫司被发现可用于介入治疗冠心病以及诱导肿瘤细胞凋亡^[2]。但是,西罗莫司水溶性差,生物利用度低^[3],应用空间受到了限制。因此,本研究以羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合来提高其溶解度,并以X射线衍射法(XRD)、傅立叶红外光谱法(FT-IR)、差示扫描量热法(DSC)验证包合物的形成。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SPD-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司);KQ-500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Heto PowerDry LL 1500型冷冻干燥机(美国Thermo公司);DX-2500型X-射线衍射仪(丹东浩元仪器有限公司);Nicolet AVATAR 360型傅立叶红外光谱仪(美国尼高力仪器公司)、DSC 851e型差示扫描量热仪(瑞士METTLER TOLEDO公司);SHA-C型水浴恒温振荡器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

1.2 试剂

西罗莫司原料药(杭州中美华东制药有限公司,批号:100901LP,纯度:95.7%);西罗莫司对照品(河北省药品检验所,批号:HBHX200917,纯度:96.8%);

HP- β -CD(安徽山河药用辅料股份有限公司,批号:110801);甲醇为色谱纯,丙酮为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 西罗莫司-HP- β -CD包合物的制备

精密称取HP- β -CD适量置于烧杯中加水使溶解,将西罗莫司溶于少量丙酮,西罗莫司与HP- β -CD摩尔比为1:6,缓慢逐滴加入到HP- β -CD水溶液中,25℃下超声2h,置冰箱4℃下冷藏12h后,用0.45 μ m微孔滤膜过滤,滤液经冷冻干燥后用丙酮洗脱游离的西罗莫司,即得包合物。过80目筛,减压干燥,备用。

2.2 西罗莫司-HP- β -CD包合物的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS2 C₁₈(4.6

mm \times 200 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(75:25); 检测波长: 276 nm; 柱温: 40℃; 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 进样体积: 10 μ L。色谱条件下,分别取HP- β -CD、西罗莫司对照品的流动相溶液进样测定,超声条件下用丙酮提取包合物中的西罗莫司,挥干以流动相溶解进样测定。结果表明HP- β -CD在波长276 nm下无吸收,不影响西罗莫司的测定,方法专属性好。结果见图1。

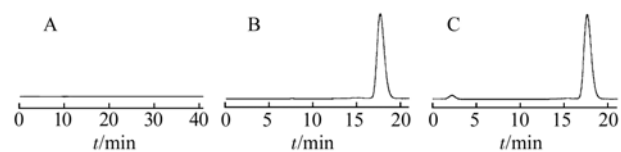


图1 高效液相色谱图

A-HP- β -CD; B-西罗莫司对照品; C-西罗莫司

Fig 1 HPLC chromatograms

A-HP- β -CD; B-sirolimus reference; C-sirolimus

2.2.2 线性关系的考察 精密称取西罗莫司对照品25.26 mg,置于50 mL量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,作为对照品贮备液。分别取适量贮备液稀释成浓度为0.51, 1.01, 2.53, 7.58, 12.63, 25.26 μ g \cdot mL⁻¹的对照品溶液,采用高效液相色谱法在276 nm处测定峰面积A。将浓度C对峰面积A回归,得到线性方程A=21 091C-12 114 ($r=0.999 2$),结果表明西罗莫司在0.51~25.26 μ g \cdot mL⁻¹内线性关系良好。

2.2.3 仪器精密度实验 精密吸取西罗莫司对照品贮备液2 mL至100 mL量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度。连续进样6次测定峰面积,结果RSD为1.03%,表明仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性实验 取包合物适量,分别放置0, 2, 6, 12, 24, 48 h后测定峰面积,结果RSD为1.92%,表明本品在48 h内稳定。

2.2.5 加样回收率实验 精密称取包合物9份,每份约0.034 1 g,分别加入0.6, 0.8, 1.0 mg的西罗莫司对照品,按“2.1”项下制备包合物,以丙酮洗脱游离的西罗莫司,超声提取包合物中的西罗莫司,洗脱液合并提取液挥干用流动相溶解,0.45 μ m微孔滤膜过滤后进样测定,结果平均加样回收率为98.4%,RSD为1.75%。结果见表1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 Results of recovery test

原有量/ mg	加入量/ mg	测定量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.836 5	0.665	1.480 2	96.8		
0.836 5	0.678	1.515 9	100.2		
0.836 5	0.654	1.475 6	97.7		
0.836 5	0.847	1.647 9	95.8		
0.836 5	0.834	1.665 5	99.4	98.4	1.75
0.836 5	0.851	1.688 4	100.1		
0.836 5	1.005	1.844 5	100.3		
0.836 5	1.016	1.815 9	96.4		
0.836 5	1.012	1.834 3	98.6		

2.3 西罗莫司-HP-β-CD 包合物的相溶解度研究

配制浓度为 0, 0.035, 0.070, 0.140, 0.240, 0.280, 0.350 mmol·mL⁻¹ 的 HP-β-CD 水溶液各 10 mL, 均置于烧杯中, 将过量西罗莫司粉末加入各溶液, 分别于 25, 37, 45 °C 下在恒温水浴振荡器中包合 24 h, 立即用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液以流动相稀释至一定浓度进样, 计算药物浓度。

以 HP-β-CD 的浓度为横坐标, 西罗莫司的溶解度为纵坐标, 绘制相溶解度曲线。可以看出, 西罗莫司的溶解度随着 HP-β-CD 浓度的增加而增加, 随着温度的升高而增加。根据 Higuchi 等^[4]的分类, 该图属于 A_p 型。结果见图 2。

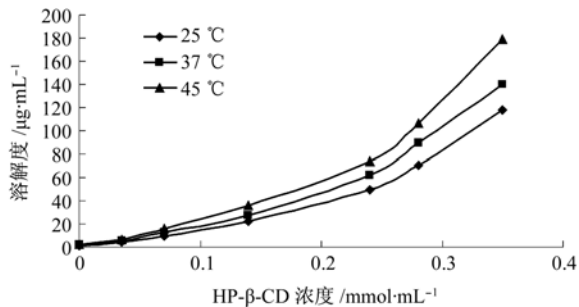


图 2 西罗莫司的相溶解度

Fig 2 The sirolimus phase solubility

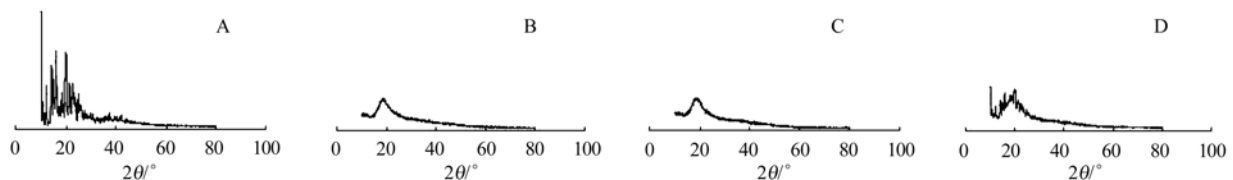


图 3 XRD 图

A-西罗莫司原料药; B-HP-β-CD; C-西罗莫司-HP-β-CD 包合物; D-西罗莫司-HP-β-CD 物理混合物

Fig 3 XRD diagrams

A-sirolimus raw material; B-HP-β-CD; C-inclusion compound of sirolimus and HP-β-CD; D-physical mixture of sirolimus and HP-β-CD

2.4 包合过程的热力学参数研究

该体系属于 A_p 型, 对曲线开始的直线部分进行线性回归, 根据各温度下的回归方程计算表观稳定常数 K_C , 并分析包合过程的吉布斯自由能变化 $\Delta G = -RT \ln K_C$ 。结果见表 2。

表 2 西罗莫司与 HP-β-CD 包合过程中的热力学参数

Tab 2 Thermodynamic parameters in the sirolimus and HP-β-CD inclusion process

$K_C/L \cdot mol^{-1}$			$\Delta G/kJ \cdot mol^{-1}$		
25 °C	37 °C	45 °C	25 °C	37 °C	45 °C
154.98	133.82	123.02	-12.50	-12.63	-12.73

由相溶解度图及表 2 可见, 虽然溶解度随着温度的增加而增加, 但过高的温度反而使 K_C 下降, 说明包合物对温度具有一定敏感性。 ΔG 均为负值, 说明该条件下的反应是自发进行, 在 45 °C 下, ΔG 最小, 但与 25, 37 °C 下无明显差距, 说明温度变化对包合进行的程度无明显影响。药物与环糊精的包合常数 K_C (即表观稳定常数) 一般在 100~20 000 L·mol⁻¹ 之间, 由此可见该包合物的 K_C 不高, 表明包合物的稳定性不是很理想, 应避免长时间放置后检测含量。

2.5 西罗莫司与 HP-β-CD 包合物的物相鉴别

2.5.1 XRD 分析 分析条件: Cu 靶作辐射源, 扫描速度以 2θ 角 3°·min⁻¹, 扫描范围 10°~80°, 管电压 35 kV, 管电流 25 mA。分别取西罗莫司原料药、HP-β-CD、西罗莫司-HP-β-CD 包合物、西罗莫司-HP-β-CD 物理混合物进行测试, 结果见图 3。

由图 3 可见, 西罗莫司呈现强烈的晶体衍射峰, HP-β-CD 只有很宽的峰, 无晶体衍射峰, 证明了其无定型状态, 物理混合物中同时显示出西罗莫司的晶体衍射峰和 HP-β-CD 的宽峰, 而包合物的峰形几乎和 HP-β-CD 完全一致, 说明西罗莫司分子已经被完全包合在 HP-β-CD 的分子腔内。

2.5.2 FT-IR 分析 分别取西罗莫司原料药、HP- β -CD、西罗莫司-HP- β -CD 包合物、西罗莫司-HP- β -CD 物理混合物约 5 mg，各加入 KBr 300 mg，研磨均匀，压片测试红外光谱，扫描范围为 400~4 000 cm^{-1} ，结果见图 4。

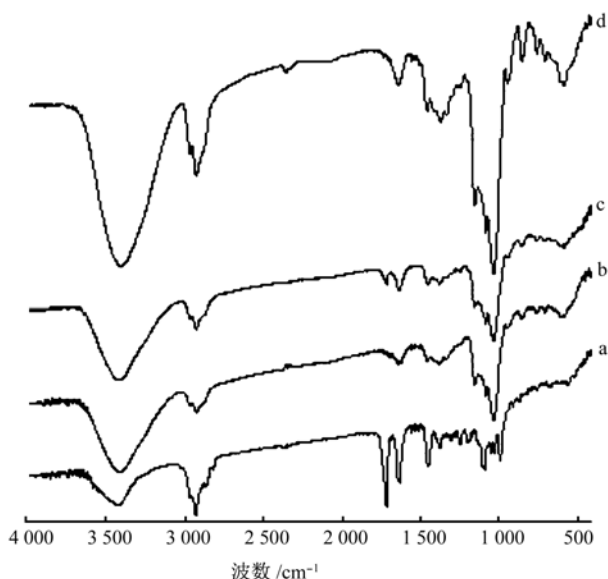


图 4 傅立叶红外光谱

a-西罗莫司原料药; b-HP- β -CD; c-西罗莫司-HP- β -CD 物理混合物; d-西罗莫司-HP- β -CD 包合物

Fig 4 Fourier transform infrared spectroscopy

a-sirolimus raw material; b-HP- β -CD; c-physical mixture of sirolimus and HP- β -CD; d-inclusion compound of sirolimus and HP- β -CD

由图 4 可知，西罗莫司在 1 718 cm^{-1} 附近的特征峰为羰基的特征吸收峰，这一结构在混合物中也有所体现，只是峰强度发生变化，而在包合物中完全消失，证明了药物完全进入了 HP- β -CD 的分子腔内被包合。HP- β -CD 在 3 423 cm^{-1} 附近的特征峰为分子内缔合羟基的特征吸收峰，与物理混合物的峰强度几乎一致，而在包合物中明显增强，说明西罗莫司的进入改变了 HP- β -CD 分子结构中羟基的状态，仅仅物理混合不会引起变化。

2.5.3 DSC 分析 测试条件：以空铝坩锅为参比池，另一空铝坩锅为样品池放入约 5 mg 样品，扫描速度为 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ，扫描范围 20~350 $^{\circ}\text{C}$ ， N_2 气氛，流速 20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。分别取西罗莫司原料药、HP- β -CD、西罗莫司-HP- β -CD 包合物、西罗莫司-HP- β -CD 物理混合物约 5 mg 测试，结果见图 5。

由图 5 可知，西罗莫司在 170 $^{\circ}\text{C}$ 有很强的吸热峰，为其熔融峰，HP- β -CD 在 57~115 $^{\circ}\text{C}$ 有一个宽的吸热脱水峰，西罗莫司-HP- β -CD 物理混合物中同时存在二者的吸热峰。西罗莫司-HP- β -CD 包

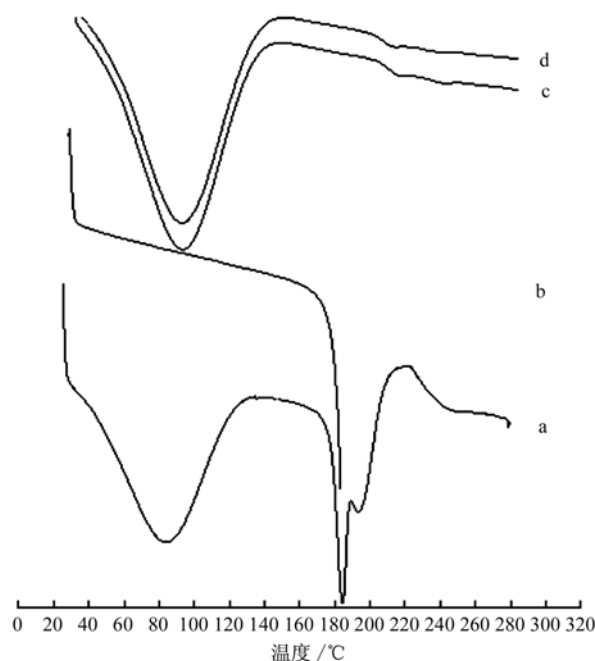


图 5 DSC 图

a-西罗莫司-HP- β -CD 物理混合物; b-西罗莫司原料药; c-HP- β -CD; d-西罗莫司-HP- β -CD 包合物

Fig 5 DSC diagrams

a-physical mixture of sirolimus and HP- β -CD; b-sirolimus raw material; c-HP- β -CD; d-inclusion compound of sirolimus and HP- β -CD

合物仅显示几乎和 HP- β -CD 一致的吸热峰，而西罗莫司的吸热峰完全消失，以此证明西罗莫司和 HP- β -CD 形成了新的物相，西罗莫司被完全包封在 HP- β -CD 的分子腔内。

3 讨论

西罗莫司作为一种难溶性药物，目前只有片剂和口服液 2 种剂型^[5]，HP- β -CD 被广泛应用于包合难溶性药物^[6-7]，而且可以作为注射用辅料^[8]，因此，本实验尝试以 HP- β -CD 包合西罗莫司以拓展制剂范围。

根据相溶解度研究可以看出西罗莫司的溶解度随着 HP- β -CD 浓度的增加而显著增加，25 $^{\circ}\text{C}$ 下溶解度由 1.18 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 118.15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，提高了约 100 倍，说明 HP- β -CD 对西罗莫司的包合大大改善了水溶性。虽然随着温度的提高，增溶效果越明显，但热力学参数表明，温度增加， ΔG 越负，不过变化甚微，而 K_c 降低，表明包合物对温度具有一定敏感性，而包合反应自发性良好，应避免过高温度下进行包合。

XRD 分析可见西罗莫司具有明显的晶型，HP- β -CD 呈现无定型，包合物也呈现无定型，表明西罗莫司的晶型结构被掩盖，分子被包合。FT-IR

分析显示 HP-β-CD 的红外光谱图中不显示西罗莫司在 1 718 cm⁻¹ 附近羰基的特征吸收峰,表明西罗莫司已嵌入 HP-β-CD 的分子腔内,说明包合物形成。DSC 分析表明包合物中西罗莫司在 170 °C 的吸热峰完全被 HP-β-CD 的吸热峰取代,二者已形成新的物相,同样证实了包合完全。

REFERENCES

[1] VIGNOT S, FAIVRE S, AGUIRRE D, et al. mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(4): 525-537.
 [2] CHEN H S, ZHANG J S, LI Q. Antitumor principle of sirolimus [J]. *J Int Oncol*(国际肿瘤学杂志), 2009, 36(5): 366-369.
 [3] YAO J L, WANG H J, XU Y, et al. Determination of rapamycin oral solution and its stability [J]. *Chin J Pharm*(中国

医药工业杂志), 2006, 37(11): 765-767.
 [4] HIGUCHI T, CONNORS K A. Phase solubility techniques [J]. *Adv Anal Chem Instrum*, 1965(4): 117-212.
 [5] CHEN X Q, JIN Y Y, TANG G. *New Pharmacological*(新编药理学) [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2007: 766-777.
 [6] WANG N, TAN Q Y, LIU J, et al. Preparation and evaluation of rifampicin hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion compound [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2010, 27(2): 128-132.
 [7] ZHANG J F, LIN Y F, JIN S X, et al. Preparation, identification and thermodynamic stability study of *Murraya exotica* L. leaves flavonoids hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2010, 27(9): 821-825.
 [8] CAI S S, HUANG H, CHEN L. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin application development [J]. *China Pharm*(中国药业), 2008, 17(10): 78-79.

收稿日期: 2012-03-13

本刊 2012 年度特邀审稿专家名单

本刊 2012 年特邀请以下医药专家 84 人(以姓氏拼音为序)审定稿件。各位审稿专家以严谨的科学作风,高超的学术造诣,对作者负责的高尚精神认真审稿,并提出修改意见,保证和提高了杂志的质量。编辑部全体同仁并代表广大作者、读者,在此表示衷心的感谢!

陈碧莲 陈红梅 陈金亮 陈丽珍 陈枢青 陈悦 陈志龙 陈志卫 邓卫平
 方红梅 高建青 郭青龙 郭增喜 何俏军 洪利娅 胡富强 胡巧红 胡士高
 胡永洲 黄红兵 黄真 李功华 李水福 李渊 梁文权 刘滔 楼宜嘉
 陆进 陆森泉 吕圭源 吕良忠 马珂 马忠俊 倪韶青 倪维芳 邱利焱
 瞿海斌 茹仁萍 申屠建中 沈水杰 盛炳义 盛荣 孙德清 孙晓译 陶巧凤
 王建 王金朝 王珏 王梦 王溶溶 王如伟 王胜浩 王玮琴 王向军
 王以 王泽民 王知坚 王志安 王志强 温清 吴耀东 吴永江 徐云根
 许东航 杨波 杨劲 杨明华 杨伟峰 姚彤炜 叶益萍 余露山 俞辉
 俞佳 俞旭平 曾苏 詹金彪 张如松 赵瑞芝 郑彩虹 郑高利 周萍
 周权 周长新 朱全红