

盐酸非索非那定磺丁基醚- β -环糊精包合物鼻用温敏凝胶的制备及黏附效果评价^Δ

谢佳蓉*,涂家生#,孙春萌(中国药科大学药学院药剂学教研室,南京 210009)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)28-3961-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.28.22

摘要 目的:制备盐酸非索非那定磺丁基醚- β -环糊精包合物及其鼻用温敏凝胶,并评价其黏附效果。方法:采用饱和水溶液法制备盐酸非索非那定磺丁基醚- β -环糊精包合物,冷配法制备包合物的鼻用温敏凝胶,以胶凝温度筛选凝胶基质和生物黏附剂;采用靛蓝胭脂红染色法评价所制制剂与盐酸非索非那定混悬液在大鼠鼻腔内的滞留时间。结果:所制包合物易溶于水,包合率为 $(86.0 \pm 2.7)\%$ ($n=3$);凝胶基质为16%的泊洛沙姆407,生物黏附剂为0.5%的透明质酸钠;所制包合物鼻用温敏凝胶在大鼠鼻腔内的滞留时间约为混悬液的2.8倍。结论:成功制得盐酸非索非那定磺丁基醚- β -环糊精包合物鼻用温敏凝胶,且其鼻腔内黏附效果较好。

关键词 盐酸非索非那定;磺丁基醚- β -环糊精;温敏凝胶;鼻腔;黏附

Preparation and Mucoadhesion Evaluation of Fexofenadine Hydrochloride Sulfobutylether- β -Cyclodextrin Clathrate Compound Nasal Thermosensitive Hydrogels

XIE Jiarong, TU Jiasheng, SUN Chunmeng (Pharmacy Teaching and Research Section, College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare fexofenadine hydrochloride sulfobutylether- β -cyclodextrin clathrate compound and its nasal thermosensitive hydrogels, and to evaluate its mucoadhesion. METHODS: Fexofenadine hydrochloride sulfobutylether- β -cyclodextrin clathrate compound was prepared by saturated aqueous system, and nasal thermosensitive hydrogels were prepared by cold method. Gel matrix and biological adhesive were screened by gelatinization temperature. Indigo carmine staining method was used to evaluate the retention time of prepared preparation and fexofenadine hydrochloride suspension in nasal cavity of rats. RESULTS: The clathrate was freely soluble in water. Inclusion rate of the clathrate was $(86.0 \pm 2.7)\%$ ($n=3$). Gel matrix was 16% poloxamer 407, biological adhesive was 0.5% sodium hyaluronate. the retention time of prepared nasal thermosensitive hydrogels was 2.8 time as that of fexofenadine hydrochloride suspension. CONCLUSIONS: Fexofenadine hydrochloride sulfobutylether- β -cyclodextrin clathrate compound nasal thermosensitive hydrogels are prepared successfully and show good mucoadhesion.

KEYWORDS Fexofenadine hydrochloride; Sulfobutylether- β -cyclodextrin; Thermosensitive hydrogels; Nasal cavity; Mucoadhesion

变应性鼻炎(Allergic rhinitis)是接触过敏原后在鼻腔内由免疫球蛋白E(IgE)介导的上呼吸道炎性病症,主要有流鼻涕、打喷嚏、鼻塞、鼻痒四大临床症状^[1-3]。盐酸非索非那定是第二代组胺H₁受体拮抗药特非那定的活性代谢产物,治疗季节性过敏性鼻炎比特非那定安全性高^[4]。目前盐酸非索非那定上市药品中大部分为片剂与胶囊剂。鼻腔给药系统是一种有效的给药途径,鼻用温敏凝胶制剂可以避免首关效应,还可以增加药物在鼻腔内的滞留时间,具有生物利用度高、依从性好等优点,近些年已引起了广泛的关注^[5-6]。低吸收的药物可以通过添加促渗剂或增加药物鼻腔滞留时间来改善吸收^[3]。磺丁基醚- β -环糊精的溶解度是 β -环糊精的37倍,肾毒性和溶血性小,其包合物更有利于提高药物生物利用度^[7]。笔者将盐酸非索非那定制备为磺丁基醚- β -环糊精包合物,再将其制备成鼻用温敏凝胶,并评价其黏附效果。

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81501579);江苏省自然科学基金青年基金资助项目(No.BK20150702)

* 硕士研究生。研究方向:药剂学。E-mail: xjr_0318@hotmail.com

通信作者:教授,博士。研究方向:药物剂型与新技术。电话:025-83271305。E-mail: jiashengtu@aliyun.com

1 材料

1.1 仪器

752紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);ML-104电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];BT25S电子天平(德国Sartorius公司);85-1磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);KQ-250超声仪(昆山市超声仪器有限公司);FD-2A冷冻干燥器(北京博医康实验仪器有限公司);RE-52AA旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);DSC 204差示扫描量热分析仪(德国Netzsch公司);UPH-11-10T优普系列超纯水器(成都超纯科技有限公司)

1.2 药品与试剂

盐酸非索非那定原料药(强生公司赠予,批号:20130921;纯度:99%);磺丁基醚- β -环糊精(中国药科大学药学院药剂学教研室自制,批号:20130523,取代度:7);泊洛沙姆407(P407)、P188(德国BSAF公司,批号:WPMI605C、WPYG580B);靛蓝胭脂红(国药集团化学试剂有限公司,批号:20141104);低分子透明质酸钠(山东福瑞达生物化工有限公司,批号:0904162,分子质量:11 000 Da);聚赖氨酸(郑州拜纳佛生物工程股份有限公司);无水乙醇(无锡市亚盛化工有限公司,批号:20150316);水为纯化水。

1.3 动物

清洁级SD大鼠, ♂, 体质量250~300 g, 由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供, 许可证号为SCXK(宁)2014-0001。

2 方法与结果

2.1 包合物的制备

主客分子以摩尔比1:1进行包合。根据主分子磺丁基醚-β-环糊精和客分子盐酸非索非那定的相对分子质量分别为2 179和538.12^[7], 得出原料药与磺丁基醚-β-环糊精质量比至少为1:4(m/m), 本试验设为1:5(m/m)。采用饱和水溶液法^[8], 用注射器吸取盐酸非索非那定的无水乙醇溶液, 缓慢滴入搅拌的磺丁基醚-β-环糊精饱和溶液中, 滴加完成后继续搅拌2 h, 静置12 h。将样品在38 ℃旋转蒸发除去乙醇, 用一定量的水溶解黏稠物, 经0.45 μm滤器过滤, 将过滤后的样品冷冻干燥, 得到白色固体产物。全过程避光操作。

2.2 包合物结构确证^[5,9]

分别取适量的盐酸非索非那定、磺丁基醚-β-环糊精及二者按1:5混匀后的物理混合物和已制备的包合物, 用差式扫描量热分析法(DSC)检测, 检测温度为50~300 ℃, 升温速度为10 ℃/min。差式扫描热分析曲线见图1。

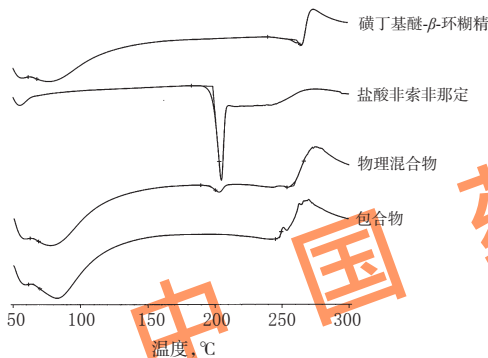


图1 差式扫描热分析曲线
Fig 1 DSC analysis curves

由图1所示, 磺丁基醚-β-环糊精在260 ℃左右有吸热峰; 盐酸非索非那定在199 ℃左右有吸热峰; 物理混合物中仍存在盐酸非索非那定吸热峰; 而包合物中该峰消失, 说明已形成包合物。将冻干后的包合物样品用水复溶后溶液澄清透明, 证明包合物具有良好的溶解度。

2.3 盐酸非索非那定的含量测定

2.3.1 检测波长的选择 将盐酸非索非那定原料药和磺丁基醚-β-环糊精分别溶于50%乙醇溶液中, 用紫外分光光度计于200~900 nm进行全波长扫描。结果显示, 盐酸非索非那定原料药在220 nm有最大吸收波长, 磺丁基醚-β-环糊精几乎没有吸光度。同时参考美国药典USP36-NF31^[10], 确定盐酸非索非那定的紫外检测波长为220 nm。紫外吸收光谱图见图2。

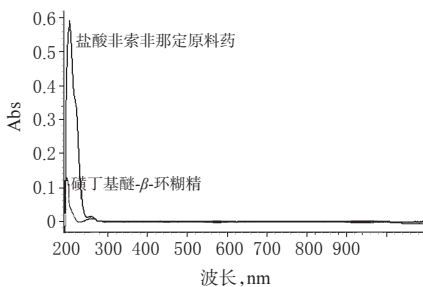


图2 紫外吸收光谱图

Fig 2 UV absorption spectrum

2.3.2 专属性试验 用50%乙醇制备磺丁基醚-β-环糊精空白辅料溶液, 在220 nm波长处测定紫外吸收。结果, 磺丁基醚-β-环糊精空白辅料溶液在波长220 nm下无紫外吸收, 对药物含量测定无干扰, 方法专属性良好。

2.3.3 标准曲线的建立 取干燥后的盐酸非索非那定原料药, 用50%乙醇制备成9.6、12.8、16.0、19.2、24.0 μg/ml系列质量浓度的供试品溶液, 在220 nm波长处测定吸光度。以吸光度(y)对质量浓度(x)进行最小二乘法线性回归, 得回归方程为y=25.868x+0.072 2(r²=0.999 2), 表明盐酸非索非那定在质量浓度9.6~24.0 μg/ml范围内线性关系良好。

2.3.4 回收率试验 在空白辅料中加入适量已干燥的盐酸非索非那定, 用50%乙醇制备成供试品溶液, 取相当于供试品溶液80%、100%、120%的浓度, 平行3份, 测定吸光度并计算回收率, 结果见表1。

表1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
12.80	12.94	101.09		
12.80	12.79	99.92		
12.80	12.91	100.86		
16.00	16.08	100.50		
16.00	15.95	99.69	100.62	0.83
16.00	15.89	99.31		
19.20	19.40	101.04		
19.20	19.55	101.82		
19.20	19.46	101.35		

2.3.5 精密度试验 按“2.3.3”项下方法制备19.2、16.0、12.8 μg/ml 3个质量浓度的供试品溶液, 每个浓度制备3份, 连续测定5 d, 考察日内与日间精密度。结果, 日内(n=3)和日间(n=5)RSD均小于2%, 表明精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 按“2.3.3”项下方法制备质量浓度为16.0 μg/ml的供试品溶液, 分别于0、1、2、4、8、12、24 h测定吸光度。结果, 吸光度的RSD=0.74% (n=6), 表明盐酸非索非那定溶液在24 h内稳定。

2.4 包合率的测定^[11]

精密称量4 mg的包合物, 溶于10 ml水中, 过0.22 μm滤膜, 转移至25 ml量瓶中, 加10 ml乙醇, 超声破包后, 用50%乙醇稀释至刻度。精密移取4 ml于25 ml量瓶, 用50%乙醇稀释定容。在220 nm波长处测定吸光度, 根据回归方程计算含量, 按公式计算包合率=X₁/X₀×100%, 式中, X₁为包合物中原料药的量, X₀为原料药的总投药量。结果, 包合率为(86.0±2.7)% (n=3)。

2.5 鼻用温敏凝胶的制备及处方筛选

采用冷配法^[12]制备盐酸非索非那定磺丁基醚-β-环糊精包合物鼻用温敏凝胶。称取总量0.5% (m/m)的生物黏附剂, 加入纯化水中, 搅拌下溶解; 精密称取5%的包合物, 加入上述溶液中使其溶解。称取处方量的P407及P188, 于冰水浴中搅拌加入上述已冷却的溶液中, 充分搅拌溶解后, 置于4 ℃冷藏12~24 h, 使其充分溶胀。最终得到澄清无气泡的温敏凝胶水溶液。采用小瓶翻转法测定胶凝温度^[13], 即取4 ml温敏凝胶于西林瓶中, 置于20 ℃恒温水浴, 以1 ℃/min速度升温, 翻转西林瓶90°观察样品流动状态, 达到凝胶表面无滑动时的温度即为胶凝温度。平行测定3次, 根据胶凝温度筛选处方。

分别选用聚赖氨酸和透明质酸钠作为生物黏附剂, 以相变温度为指标, 筛选P407和P188的用量。由于人体鼻腔温度

为32~35℃^[13],因此选择胶凝温度约为32~35℃的处方为最优处方,处方组成和结果见表2。

表2 不同凝胶基质和生物黏附剂对胶凝温度的影响
Tab 2 Effects of different gel matrix and biological adhesive on gelatinization temperature

处方	包合物	生物黏附剂	P407	P188	胶凝温度,℃
1	5%	0.5%聚赖氨酸	17%	1%	26.6±0.1
2	5%	0.5%聚赖氨酸	16%	0	25.9±0.2
3	5%	0.5%聚赖氨酸	15%	0	33.7±0.1
4	5%	0.5%透明质酸钠	17%	1%	30.4±0.0
5	5%	0.5%透明质酸钠	16%	0	32.3±0.5
6	5%	0.5%透明质酸钠	15%	0	>40

由表2可知,处方3和处方5的胶凝温度均符合鼻用温敏凝胶的要求。综合考虑,本研究以处方5为最优处方。

2.6 温敏凝胶黏附效果的评价^[14]

按“2.5”项下处方5制备含2.5 mg/ml靛蓝胭脂红的盐酸非索非那定磺丁基醚-β-环糊精包合物鼻用温敏凝胶,另制备含2.5 mg/ml靛蓝胭脂红的盐酸非索非那定混悬液作为对照。取大鼠6只分为混悬液组和凝胶组,每组3只。根据体质量ip 13%乌拉坦麻醉,仰卧固定在手术台,分别用移液枪吸取5 μl相应制剂,伸入大鼠右侧鼻孔0.5 cm处给药。给药后用生理盐水润湿的棉签擦拭大鼠咽喉,观察每次棉签上是否有蓝色。给药后前30 min内每1 min擦拭1次,超过30 min后每5 min擦拭1次,记录鼻腔内药物的滞留时间。结果,凝胶组(50 min)大鼠鼻腔内的药物的滞留时间明显高于混悬液组(18 min)(P<0.01),是混悬液的2.8倍左右。

3 讨论

盐酸非索非那定是第二代抗组胺药物,具有低渗透性,且不能透过血脑屏障,不良反应少。有研究表明,盐酸非索非那定的鼻用制剂可以提高药物的生物利用度^[15]。环糊精具有独特的圆筒状立体结构,其独特的疏水性空腔可以和某些物质形成非共价化合物,从而显著改善药物的理化性质,是制备包合物常用的材料。本文选用水溶性好的磺丁基醚-β-环糊精,使用饱和溶液法制备包合物。泊洛沙姆作为非离子表面活性剂,无刺激性、毒性小,具有良好的生物相容性;其水溶液受热反向胶凝的性质^[16],冷藏温度下则为流动性较好的液体。泊洛沙姆是聚氧乙烯和聚氧丙烯的嵌段共聚物,P407和P188的区别在于,P188含有更多的聚氧乙烯亲水片段。预试验证明胶凝温度会随P407浓度的增加而降低,且该材料浓度达到15%以上时可以形成温敏凝胶,P188作用与之相反。因此利用泊洛沙姆的特点,采用冷配法制备鼻用温敏凝胶,使其在体表温度下产生相变,可以弥补鼻用制剂药物停留时间短的缺点。目前盐酸非索非那定市售制剂大部分为口服制剂,而包合物鼻用温敏凝胶可以避免首关效应,并能够延长药物在鼻腔内的滞留时间,有效减少使用频次,具有良好的开发前景。

本试验制备了盐酸非索非那定磺丁基醚-β-环糊精包合物,有效地增加了盐酸非索非那定在水中的溶解度。添加泊洛沙姆后制备为鼻用温敏凝胶,在鼻腔温度下可形成凝胶,黏附于鼻腔内,能够延长药物作用时间。

参考文献

[1] Varshney J, Varshney H. Allergic rhinitis: an overview[J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 67(2): 143.

[2] Stanaland BE. Once-daily budesonide aqueous nasal spray for allergic rhinitis: a review[J]. *Clin Ther*, 2004, 26(4): 473.

[3] Piao HM, Balakrishnan P, Cho HJ, et al. Preparation and evaluation of fexofenadine microemulsions for intranasal delivery[J]. *Int J Pharm*, 2010, 395(1/2): 309.

[4] Gundogdu E, Mangas-Sanjuan V, Gonzalez-Alvarez L, et al. In vitro-in situ permeability and dissolution of fexofenadine with kinetic modeling in the presence of sodium dodecyl sulfate[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2012, 37(1): 65.

[5] Karavasili C, Fatouros DG. Smart materials: in situ gel-forming systems for nasal delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(1): 157.

[6] 李玲, 马海忠, 廖明琪, 等. 鼻腔给药系统类型及临床应用进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(17): 1 615.

[7] 归银兰, 归小龙. 酮洛芬磺丁基醚-β-环糊精包合物的制备[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(20): 1 622.

[8] 赵珊, 王慧娟, 林冰, 等. 左羟丙哌嗪-β-环糊精包合物的处方工艺优化及鉴定[J]. *中国药房*, 2014, 25(37): 3 496.

[9] 赵孝先, 李新, 王菊月, 等. 磺丁基醚-β-环糊精对兰索拉唑的包合作用[J]. *中国医药工业杂志*, 2015, 46(2): 167.

[10] United States Pharmacopeial Convention. *The United States pharmacopeia 36-the national formulary* 31[S]. The United States by United Book Press, Inc, 2013.

[11] 张冕. 紫外分光光度法测定丹皮酚-羟丙基-β-环糊精的包合率[J]. *荆楚理工学院学报*, 2013, 28(2): 10.

[12] Singh RM, Kumar A, Pathak K. Thermally triggered mucoadhesive in situ gel of loratadine: β-cyclodextrin complex for nasal delivery[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2013, 14(1): 412.

[13] Xu X, Shen Y, Wang W, et al. Preparation and in vitro characterization of thermosensitive and mucoadhesive hydrogels for nasal delivery of phenylephrine hydrochloride [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2014, 88(3): 998.

[14] Qian S, Wong YC, Zuo Z. Development, characterization and application of in situ gel systems for intranasal delivery of tacrine[J]. *Int J Pharm*, 2014, 468(1/2): 272.

[15] 杨云, 颜耀东, 刘茵, 等. 抗组胺药非索非那定的研究进展[J]. *中国药物应用与监测*, 2012, 9(1): 47.

[16] 项佳音, 杨洪军, 熊欣, 等. 常见温度敏感型原位凝胶载体的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2): 253.

(收稿日期: 2016-01-14 修回日期: 2016-04-03)
(编辑: 邹丽娟)