

卡维地洛羟丙基- β -环糊精包合物的制备与评价

周洁, 蒋曙光*, 周建平(中国药科大学, 南京 210009)

摘要: 目的 制备卡维地洛羟丙基- β -环糊精包合物, 对包合物进行物性研究。方法 采用超声法制备包合物, 通过相溶解度研究包合类型, 以差示扫描热分析法(DSC)和 X-射线衍射法验证卡维地洛羟丙基- β -环糊精包合物的形成, 并测定包合物的溶解度和溶出度。结果 相溶解度曲线呈 A_L 型, 表明卡维地洛能够与羟丙基- β -环糊精形成 1:1 的包合物。DSC 和 X-射线衍射结果显示药物峰消失, 证明包合物的形成。包合物的溶解度比原药提高 5 倍, 溶出速度明显加快。结论 超声法制备的卡维地洛羟丙基- β -环糊精包合物能显著提高原药的溶解度和溶出速度。

关键词: 卡维地洛; 羟丙基- β -环糊精; 包合物

中图分类号: R943.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)06-0516-04

Preparation and Evaluation of Carvedilol Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex

ZHOU Jie, JIANG Shuguang*, ZHOU Jianping(*China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare carvedilol hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD) inclusion complex by ultrasonic method and to investigate its physical properties. **METHODS** The inclusion complex was prepared by ultrasonic method and analyzed by DSC, XRD, phase solubility and dissolution test. **RESULTS** The solubility of carvedilol increased with increasing HP- β -CD concentration, showing an A_L type phase solubility diagram which revealed that the molar ratio of drug to HP- β -CD was 1:1. The drug peak disappeared in the DSC and XRD which approved that the inclusion complex was prepared. **CONCLUSION** By forming inclusion complex with HP- β -CD, the solubility and dissolution rate of carvedilol was increased. **KEY WORDS:** carvedilol; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complex

基金项目: “重大新药创制” 科技重大专项(2009ZX09310-004)

作者简介: 周洁, 女, 硕士生 Tel: 15151853165 E-mail: zhoujie1986113@126.com
(025)83271299 E-mail: tjx24@163.com

*通信作者: 蒋曙光, 男, 博士, 硕导 Tel:

卡维地洛(carvedilol, Car)是一种新型具有多种药理作用的抗高血压药, 结构式见图 1。它是一种 α 、 β 受体阻断剂, 高浓度尚有钙拮抗作用^[1-3]。但该药物难溶于水, 半衰期较短, 且较大的首过效应, 生物利用度较低。 β -环糊精本身溶解度低, 增溶效果有限, 而其 2,3,6 位上的羟基随机羟丙基化得到的羟丙基- β -环糊精(hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD), 水中溶解度可达 750 g·L⁻¹。本实验通过超声法制备卡维地洛 HP- β -CD 包合物, 旨在通过包合技术增加其溶解度^[4-5], 为开发其缓释和脉冲等释药系统提供基础。

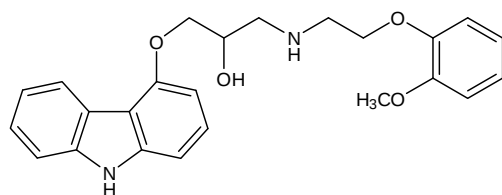


图 1 卡维地洛化学结构式
Fig 1 Structure of carvedilol

1 仪器与材料

RC-6 溶出度测试仪(天津市光学仪器厂); 752 紫外可见光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); pH S-25 pH 计(上海精科); DF-1 集热式恒温磁力搅拌器(金坛市中大仪器厂); 洁康超声波清洗机 PS-G60(东莞市洁康超声波设备有限公司); 旋转蒸发仪 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂); DZF-6050 型真空干燥箱(上海特成机械设备有限公司); 差式扫描量热仪(德国 NETZSCH 公司)。

卡维地洛(齐鲁制药有限公司, 批号: 905001KF); 无水乙醇(分析纯, 南京化学试剂有限公司); 氢氧化钠(南京化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾(南京化学试剂有限公司); HP- β -CD(西安德立生物化工有限公司)。

2 方法与结果

2.1 卡维地洛的紫外分光光度测定法

2.1.1 测定波长的确定 称取卡维地洛适量, 置于 100 mL 量瓶中, 加 10 mL 甲醇振摇溶解, pH 6.8 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 配制成约 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的卡维地洛贮备液。精密量取 5 mL 于 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 20 mL 振摇, pH 6.8 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 配制成约 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。在 200~400 nm 内扫描。结果表明, 卡维地洛在 285 nm 处有最大吸收, 且 HP- β -CD 在此处无吸收, 故选

285 nm 为测定波长。

2.1.2 标准曲线的绘制 精密量取约 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 卡维地洛贮备液 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 mL 于 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 5 mL, 摇匀, 以 pH 6.8 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 配制成卡维地洛含量 1~30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列溶液, 于 285 nm 波长处测量吸光度 A。将吸光度 A 与浓度 C 进行线性回归, 得到回归方程 $A=0.027C+0.0133$, $r=0.9999$, 线性范围为 1~30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2 HP- β -CD 对卡维地洛的增溶试验

2.2.1 相溶解度曲线的绘制 采用 Higuchi 等^[7]的方法, 称取 HP- β -CD 适量, 加水溶解, 制成为 1, 2, 4, 6, 8, 10 mmol·mL⁻¹ 的一系列不同浓度的溶液($n=3$)。分别取 10 mL 置离心管中, 加入过量的卡维地洛, 摇匀, 加塞密闭, 在 $(37\pm0.5)^\circ\text{C}$ 恒温振荡水浴中振摇 48 h 达到平衡。将混悬液 3500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 吸取上清液, 0.45 μm 滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液稀释至适当浓度, 在 285 nm 处测定吸光度。以药物浓度为纵坐标, 环糊精浓度为横坐标作相溶解度曲线, 结果见图 2。

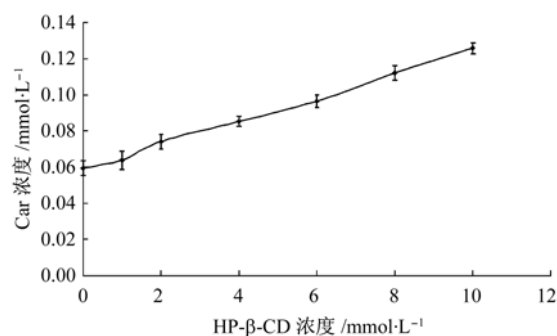


图 2 37 °C 下卡维地洛的相溶解度曲线

Fig 2 Phase solubility plot of carvedilol at 37 °C

根据药物包合后溶解度的改变可以将相溶解度曲线分为 A_L 、 A_P 、 A_N 、 B_S 和 B_L 五种^[8]。 A_L 型为客体分子总浓度与主体分子的浓度成线性关系, 随着主体分子浓度的增加, 药物在溶液中的溶解量也随之增加。只要主客体分子的摩尔比不发生变化, 直线的斜率就不发生改变, 即溶液中药物总浓度对主体分子浓度作图应为一直线^[7]。由图 2 可知, 卡维地洛溶解度随着 HP- β -CD 的浓度增大而增大。溶解度与 HP- β -CD 浓度呈线性回归, 线性方程为 $Y=0.0066X+0.0588$, $r=0.9983$, 相溶解度曲线为 A_L 型, 表明卡维地洛与 HP- β -CD 形成摩尔比为 1:1 的包合物。

2.2.2 表观稳定常数的测定 采用 Higuchi-Connors^[7]法计算卡维地洛与 HP- β -CD 包合物的表观稳定常数。Ka=斜率/截距(1-斜率)=113.0 L·mol⁻¹。表观稳定常数 Ka 是衡量包合物稳定性的重要参数,溶液中游离药物分子与被包药物分子间存在动态平衡,Ka 越大,说明 HP- β -CD 对药物稳定作用越强。

2.3 包合物制备方法的选择

2.3.1 包合物制备方法 超声法制备卡维地洛 HP- β -CD 包合物:分别称取 HP- β -CD 4.32 g 与卡维地洛 0.406 4 g(投料比 1:3),置于圆底烧瓶中,加适量 25%乙醇,30 °C 下超声 2 h。45 °C 下旋蒸除去大部分溶剂。将所得白色沉淀与剩余溶剂转移至烧杯中,60 °C 真空干燥 12 h。将所得固体研细,过 80 目筛,即得卡维地洛环糊精包合物。

研磨法制备卡维地洛 HP- β -CD 包合物:分别称取 HP- β -CD 4.32 g 与卡维地洛 0.406 4 g,置研钵中,加适量 25%乙醇,研磨 2 h。所得糊状物 60 °C 真空干燥 12 h。将所得固体研细,过 80 目筛,即得卡维地洛环糊精包合物。

溶液搅拌法制备卡维地洛 HP- β -CD 包合物:分别称取 HP- β -CD 4.32 g 与卡维地洛 0.406 4 g,置于烧杯中,加适量 25%乙醇。置恒温磁力搅拌器中恒温 30 °C 搅拌 2 h,转移至圆底烧瓶中,45 °C 下减压蒸发除去大部分溶剂,将所得白色沉淀与剩余溶剂转移至烧杯中,60 °C 真空干燥 12 h。将所得固体研细,过 80 目筛,即得卡维地洛环糊精包合物。

按中国药典 2010 版二部附录“溶出度测定法”中浆法操作,量取 pH 6.8 缓冲液 1 000 mL 作为溶出介质,保持(37±0.5)°C,转速 100 r·min⁻¹,以时间为横坐标,累积溶出百分率为纵坐标作图,得 3 种不同方法制备的卡维地洛 HP- β -CD 包合物的溶出曲线,结果见图 3。结果表明不同方法制备的包合物溶出速率较原料药都有显著提高,其中超声法制备的包合物溶出速率最快,30 min 即达到 78.36%。

2.3.2 包合物溶出度测定 按“2.3.1”项下溶出度测定条件,分别取卡维地洛 6.25 mg、卡维地洛 HP- β -CD 包合物和物理混合物(相当于 6.25 mg 卡维地洛),分别于 5, 10, 20, 30, 60, 90 min 取样 10 mL, 0.8 μ m 微孔滤膜过滤,同时补加同温度的溶出介质 10 mL。以 pH 6.8 缓冲液为空白,

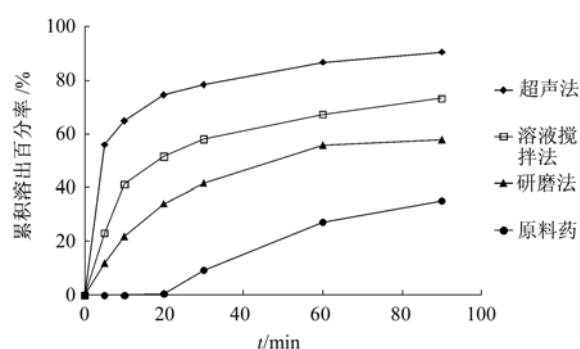


图3 不同制备方法得到的卡维地洛羟丙基- β -环糊精包合物在 pH6.8 介质中的溶出曲线

Fig 3 Dissolution curve of Car-HP- β -CD prepared with different methods in pH 6.8 medium

测定吸光度 A, 根据回归方程计算各时间的累积释放百分率 $F(t)$, 结果见图 4。结果表明卡维地洛 HP- β -CD 包合物与卡维地洛及物理混合物的溶出速率有显著差异。卡维地洛原料药 20 min 内没有释放, 30 min 溶出度为 9.31%, 物理混合物 5 min 溶出度为 6.34%, 30 min 溶出度为 30.25%, 而包合物在 5 min 释放即达 55%, 30 min 达到 78.36%, 溶出速率较原药及物理混合物有显著提高。

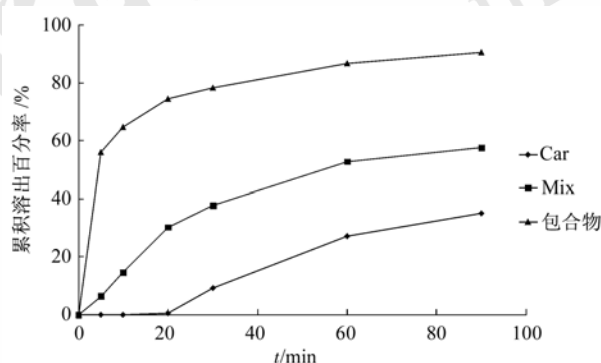


图4 卡维地洛, 物理混合物以及包合物的溶出曲线

Fig 4 Dissolution curve of carvedilol, physical mixture and inclusion complex

2.4 包合物样品分析

2.4.1 包合物中卡维地洛含量测定 精密称取卡维地洛 HP- β -CD 包合物适量于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解, 并定容至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL 至 25 mL 量瓶中, 经 pH 6.8 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 于 285 nm 处测量吸光度 A, 代入回归方程, 计算包合物中的药物含量, 按下式进行计算包合率。计算结果得卡维地洛 HP- β -CD 包合物的包合率为 95.84%。

$$\text{包合率}(\%) = \frac{\text{包合物中卡维地洛含量}}{\text{卡维地洛总投入量}} \times 100\%$$

2.4.2 包合物溶解度测定 称取过量卡维地洛、物理混合物、包合物于 25 mL 量瓶中,加水配成过饱和溶液,在 $(37\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡器平衡 48 h,使溶解达到平衡。振荡结束后将混悬液 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液, $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤。取滤液进行适当稀释,于测定波长 285 nm 处测吸光度,根据回归方程,计算卡维地洛原料药、包合物、物理混合物分别在水中的溶解度。

测得卡维地洛原料的溶解度为 $(8.22\pm 0.36)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}(n=3)$,形成物理混合物后的溶解度为 $(12.37\pm 0.45)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}(n=3)$,制成包合物后,卡维地洛的溶解度为 $(40.68\pm 0.75)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}(n=3)$,结果表明形成包合物后可以增加卡维地洛的溶解度。

2.5 包合物物相的表征

2.5.1 差示扫描热分析法 分别测定卡维地洛、HP- β -CD、卡维地洛与 HP- β -CD 物理混合物和包合物的 DSC 图谱。测定参数:铝坩埚,加热速度 $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,温度范围:常温~ 250°C 。测定结果见图 5。卡维地洛在 114.8°C 附近有尖锐的吸热峰,对应着卡维地洛的熔点。HP- β -CD 在小于 100°C 时有一较宽的峰,由于其失水引起的。卡维地洛与 HP- β -CD 物理混合物曲线上同时存在药物熔点峰与 HP- β -CD 的失水峰,是药物的图谱和环糊精的图谱的叠加,而包合物的图谱则与混合物完全不同,药物峰消失,表明药物被包裹,由此可见生成了新的物相。

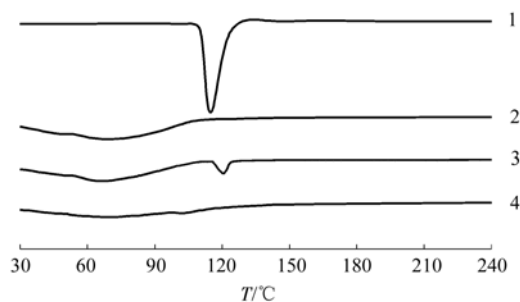


图 5 差示扫描量热谱图

1—卡维地洛; 2—HP- β -CD; 3—物理混合物; 4—包合物

Fig 5 The differential scanning calorimetry spectrum of Car-HP- β -CD systems:

1—carvedilol; 2—HP- β -CD; 3—physical mixture; 4—inclusion complex

2.5.2 X-射线衍射法 对卡维地洛、HP- β -CD、卡维地洛与 HP- β -CD 物理混合物和包合物进行 X-射线衍射测定。测定条件: Cu 靶; 扫描范围: $0^{\circ}\sim 70^{\circ}$; 扫描速度: $4^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$; 电压: 40 kV; 电流: 30 mA。扫描谱图结果见图 6。由图可见物理混合物谱图中仍存在卡维地洛衍射峰,而包合物谱图

中药物衍射峰消失,说明卡维地洛在包合物中以无定形态存在,证明了包合物的形成。

3 讨论

针对卡维地洛等难溶性药物提高溶解度的方法有很多,例如微粉化,制备固体分散体,环糊精包合,添加表面活性剂等。本实验通过环糊精包合技术提高卡维地洛的溶解度和溶出度。

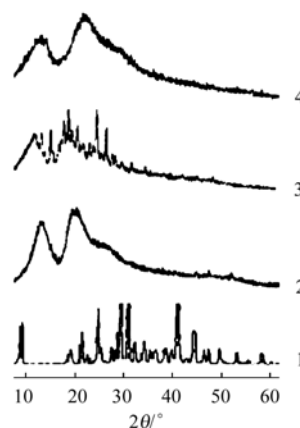


图 6 X-射线衍射谱图

1—卡维地洛; 2—HP- β -CD; 3—物理混合物; 4—包合物

Fig 6 X-Ray diffractograms of Car-HP- β -CD systems:

1—carvedilol; 2—HP- β -CD; 3—physical mixture; 4—inclusion complex

HP- β -CD 是一种新型包合材料,具有水溶性极好,毒性小等特点。由于其在水中溶解度很大,不能采用常规的饱和溶液法,采用超声法制备的包合物,溶解性能好,溶出速度比原料药有显著提高,为卡维地洛进一步制剂设计提供依据。

REFERENCES

- [1] RUFFOLO H R, BOYLE P, VENUIT R P, et al. Carvedilol(Kredex): a novel multiple action cardiovascular agent [J]. Drug Today, 1991, 27(3): 465-492.
- [2] BRIL A, SLIVJAK M, DIMARTINO M J, et al. Cardioprotective effects of carvedilol, a novel-adrenoceptor antagonist with vasodilating properties, in anesthetized minipigs: comparison with propranolol [J]. Cardiovasc Res, 1992, 26(6): 518.
- [3] HAMBURGER S A, BARONE F E, FEUERSTEIN G I, et al. Carvedilol (Kredex) reduces infarct size in a canine model of acute myocardial infarction [J]. Pharmacology, 1991, 43(3): 113-120.
- [4] WANG Z X, DENG Y J, SUN S Y, et al. Preparation of hydrophobic drugs cyclodextrin complex by lyophilization monophasic solution [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2006, 32(1): 73-83.
- [5] HIRLEKAR R, KADAM V. Preparation and characterization of inclusion complexes of carvedilol with methyl- β -cyclodextrin [J]. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 2009, 63: 219-224.
- [6] PING Q N. Modern Pharmaceutics(现代药剂学) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 1998: 86.
- [7] HIGUCHI T K, CONNORS K A. Phase solubility techniques [J]. Adv Anal Chem Instru, 1965, 4(2): 212-217.
- [8] HE Z G. Cyclodextrin technology(环糊精包合物技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 104.

收稿日期: 2011-09-07