

图4 罗红霉素原料药溶解速率曲线

Fig 4 The dissolution rate curve of roxithromycin

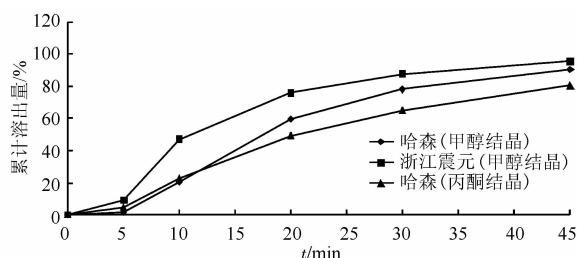


图5 罗红霉素胶囊溶出曲线

Fig 5 The dissolution curve of roxithromycin capsule

3 讨论

本实验用 X 射线粉末衍射法和红外光谱法, 分析并比较了罗红霉素的 3 种结晶, 图 1 和图 2 显示 3 个结晶的 X 射线粉末衍射图均不相同, 为 3 种不同的晶型。

从图 4~5 可知, 丙酮结晶的罗红霉素溶出慢, 溶出度较差; 甲醇结晶的二种晶型溶出快、溶出

度好, 溶出度均在 90%以上。提示不同晶型的罗红霉素溶出度有一定差异。

REFERENCES

- [1] HUANG S H, LONG X Y, YUAN F, et al. Correlativity between solubility O/W partition coefficients of berberine hydrochloride and intestinal absorption in rats in situ [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2012, 29(3): 233-238.
- [2] XIONG Y K, LIANG S, DU Y, et al. HPLC determination of equilibrium solubility and apparent oil/water partition coefficient of senkyunolide I [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(9): 1644-1647.
- [3] LI Z W. Methods for the analysis of drug crystal forms [J]. Chin J Vet Med(中国兽药杂志), 2006, 40(1): 45-48.
- [4] LOTTER A P, FLANAGANJR D R, PALEPU N R, et al. A simple reproducible method for determining dissolution rates of hydrophobic powders [J]. Pharm Technol, 1983(4): 56-66.
- [5] CHENG X F, ZHAO C J. HPLC for determination of dissolution of roxithromycin [J]. J Prac Med Pharm(实用医药杂志), 2004, 21(9): 818-819.
- [6] CHENG Y M, LIN L, CHENG Y P, et al. Study on the dissolubility of roxithromycin capsules and tables from different manufactures [J]. Fujian Med J(福建医药杂志), 2005, 27(3): 132-134.
- [7] WANG S M, ZHAO S F, WANG C P. Study on the dissolubility of roxithromycin capsules [J]. J Hebei Med Univ(河北医科大学学报), 2001, 22(1): 24-25.
- [8] WANG J, MONG Z. Development of the dissolution methods for roxithromycin granules and roxithromycin for suspension by HPLC [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2009, 34(8): 489-492.

收稿日期: 2013-03-01

羟丙基-β-环糊精包合双氯芬酸钠注射液的制备

庄婕, 呼海涛, 乔燕萍(上海医药集团股份有限公司, 上海 201203)

摘要: 目的 制备适合临床用药浓度和稳定性的双氯芬酸钠(DS)注射液。方法 采用羟丙基-β-环糊精对 DS 进行包合, 通过相溶解度图确定包合比例, 并对抗氧剂种类以及灭菌条件进行筛选。结果 当羟丙基-β-环糊精浓度>0.067 7 mol·L⁻¹时, 可以实现对 DS 的完全包合; 以硫代甘油作为抗氧剂, 注射液性质稳定; 终端灭菌不宜采用热压灭菌法。结论 羟丙基-β-环糊精可以增加 DS 在水中的溶解度, 使其达到有效治疗浓度。制备得到的注射液性质稳定, 满足临床用药要求。

关键词: 双氯芬酸钠; 羟丙基-β-环糊精; 抗氧剂; 稳定性

中图分类号: R944.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1097-05

Injectable Solution of Diclofenac Sodium Cyclodextrin Inclusion

ZHUANG Jie, HU Haitao, QIAO Yanping(Shanghai Pharmaceuticals Holding Co. Ltd., Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare diclofenac sodium injection with therapeutic concentration and high stability. **METHODS** Hydroxypropyl-β-cyclodextrin was used to form the inclusion complex with diclofenac sodium. The

作者简介: 庄婕, 女, 博士, 助理研究员

Tel: (021)61871700

Email: zhuangj@pharm-sh.com.cn

compounding rate was measured by phase solubility diagram. The optimal antioxidant and sterilization condition were selected. **RESULTS** The analysis showed the inclusion complex could be formed when the concentration of hydroxypropyl- β -cyclodextrin was more than $0.067\ 7\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Monothioglycerol was a suitable antioxidant to stabilize the injection. Filtration should be used for terminal sterilization. **CONCLUSION** Hydroxypropyl- β -cyclodextrin could increase the aqueous solubility of diclofenac sodium to reach the effective therapeutic concentration. The diclofenac sodium injection prepared was stable enough to satisfy the clinical requirement.

KEY WORDS: diclofenac sodium; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; antioxidant; stability

双氯芬酸钠(diclofenac sodium, DS)是一种衍生于苯乙酸类的非甾体消炎镇痛药(NSAIDS),其良好的解热镇痛效果带动了众多剂型的开发上市,目前除了注射剂之外,均为口服剂型和局部给药剂型^[1]。DS注射液主要为不能口服的住院患者解除疼痛和退热。然而,由于DS在水中溶解度较小($25\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $25\ ^\circ\text{C}$)^[2],达不到制剂浓度要求,而DS的分子结构中尚含有易氧化基团,如将其制成注射液后,可使药物的稳定性下降^[3],因此寻找合适的溶剂系统以及提高制剂稳定性成为研究的关键问题。本实验采用羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)对DS进行包合,并对包合比例、抗氧剂的种类以及灭菌条件分别进行考察,以制备具有较高溶解度和稳定性的DS注射液。

1 材料与仪器

1.1 材料

DS(河南东泰制药有限公司,批号:110401,纯度:99.8%);羟丙基- β -环糊精(西安德立生物化工有限公司,批号:120723);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

85-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);Agilent1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);UV9200型紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器厂);PB-10 pH计(Sartorius);G154DW高压灭菌锅(Zealway);DSC204/1/G动态热流式差示扫描仪(德国Phoenix公司)。

2 方法

2.1 包合物的制备

制备有效治疗浓度 $37.5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DS注射液。首先量取60%的注射用水,加入HP- β -CD $0.2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $60\ ^\circ\text{C}$ 水浴加热溶解,冷却至室温,加入一定量的抗氧剂,搅拌至溶解,用盐酸调节溶液的pH值至4.5。再加入DS使其达相应浓度,室温下继续搅拌1 h,补足余量水,得HP- β -CD包合DS注射液:DS-HP- β -CD。

用3‰的活性炭过滤后,用 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,

充氮,灌封,主客体分子的摩尔比为1:2。

2.2 包合物的鉴定

采用差示扫描量热分析法(DSC)对包合物的形成进行鉴定。各取5 mg的DS、HP- β -CD、DS和HP- β -CD的物理混合物(摩尔比1:2)及其包合物样品,填充于铝坩埚,压盖后打孔,将其放于高温炉。以空白坩埚作为参比,升温扫描。扫描范围为 $50\sim 400\ ^\circ\text{C}$,升温速度为 $10\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,气氛为氮气,流速为 $100\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.3 包合物含量测定

2.3.1 DS包合物的紫外吸收峰位确定 根据文献[4]报道,包合物形成与否对DS的紫外吸收没有影响,游离态药物的吸收光谱与包合态药物完全重叠,因此可采用紫外分光光度法直接测定DS溶液的吸收光谱来确定包合物中DS的吸收峰位。

分别称取DS与HP- β -CD适量置量瓶中(DS用微量甲醇溶解),用水稀释至合适浓度,进行紫外扫描。

2.3.2 标准曲线的绘制 精密称取干燥至恒重的DS对照品适量,加微量甲醇溶解后,用水稀释配制成不同浓度的溶液,浓度分别为2.5, 5, 12.5, 20, $25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,于276 nm波长处测定其吸光度(A),绘制标准曲线,得回归方程: $A=0.031\ 7C+0.011\ 2$, $r=1$ 。

2.4 包合比例的确定-相溶解度图的制备

量取20 mL水,分别加入0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.1, $0.2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的HP- β -CD,室温搅拌溶解,用HCl调节pH值至4.5,加入过量DS搅拌12 h后,取0.5 mL, $8\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,测定上清液中DS的量。

2.5 抗氧剂的筛选

将制备的DS-HP- β -CD注射液分成6组,分别加入不同的抗氧剂,配好后过滤、灌装、充氮、封口,于 $40\ ^\circ\text{C}$ 及光照条件下($4\ 500\pm 500$) lx放样10 d,观察注射液的变色情况,测定pH值的变化,并用HPLC测定注射液的有关物质及含量。

2.6 DS-HP- β -CD注射液中DS含量测定方法

2.6.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以 0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(磷酸调 pH 值为 2.5)-甲醇(32:68)为流动相;检测波长为 276 nm。理论板数按 DS 峰计算不低于 3 000。

2.6.2 测定方法 取 40 ℃ 及光照条件下(4 500±500)lx 放样 10 d 的样品适量,8 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液,用甲醇稀释至合适浓度,用 HPLC 测定 DS 的含量。

2.7 DS-HP-β-CD 注射液有关物质测定方法

2.7.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以 0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(磷酸调 pH 值为 2.5, B)与甲醇(A)按 1:1 混合均匀,混合后的溶液与甲醇按 80:20 作为初始比例进行梯度洗脱,梯度洗脱程序见表 1;检测波长为 240 nm,流速为 1 mL·min⁻¹,柱温为 25 ℃。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Program of gradient elution

时间/min	A/%	B/%
0	20	80
30	80	20
33	80	20
43	20	80
53	20	80

2.7.2 测定法 同“2.6.2”含量测定方法。

2.8 活性炭吸附对药液 pH 值及含量的影响

取所制备的 DS-HP-β-CD 注射液两份,一份加入 3%的活性炭,于室温搅拌 20 min 后过滤;一份不加活性炭,分别测定药液的 pH 值和含量。

2.9 时间对注射液的影响

取所制备的 DS-HP-β-CD 注射液两份,一组不加抗氧剂作为对照组,一组加入 0.5%的硫代甘油(MTG)作为抗氧剂,分别于 121 ℃ 灭菌 15 min 和 30 min,考察灭菌前后注射液的变色情况、pH 值、含量及有关物质的变化。

3 结果

3.1 包合物的鉴定

由 DS、HP-β-CD、二者的物理混合物(摩尔比 1:2)及其包合物的 DSC 图谱可知,DS 在 290 ℃ 表现出强烈的吸热峰,而 HP-β-CD 在约 350 ℃ 处有显著的吸热峰,物理混合物中也可观察到 DS 和 HP-β-CD 的吸热峰,但是包合物中仅在约 350 ℃ 处观察到 HP-β-CD 的吸热峰,DS 的吸热峰消失,这表明 DS 以分子形式包裹于环糊精中,无结晶型

存在,形成了包合物。DSC 图谱见图 1。

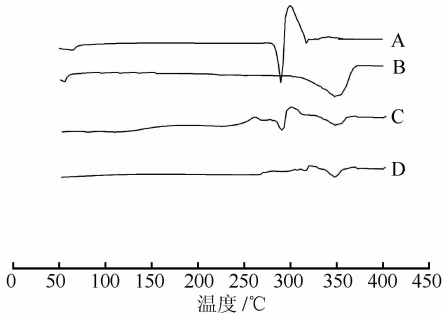


图 1 DSC 图谱

A-DS; B-HP-β-CD; C-物理混合物; D-包合物

Fig 1 DSC chromatograms

A-DS; B-HP-β-CD; C-physical mixture of DS and HP-β-CD; D-DS-HP-β-CD inclusion complex

3.2 DS 包合物紫外吸收峰位的确定

通过紫外扫描图谱可知,DS 在 276 nm 处有强吸收峰,而 HP-β-CD 在此处没有干扰。

3.3 包合物中主客体分子比例的确定

参照文献相溶解度图法^[5],以 DS 溶解度对 HP-β-CD 的浓度做图,并进行线性回归,当固定 DS 的浓度为 37.5 mg·mL⁻¹(0.118 mol·L⁻¹),所需 HP-β-CD 的浓度为 0.067 7 mol·L⁻¹。因此,当 HP-β-CD 的浓度大于 0.067 7 mol·L⁻¹ 时,可以实现对 DS 的完全包合,结果见图 2。

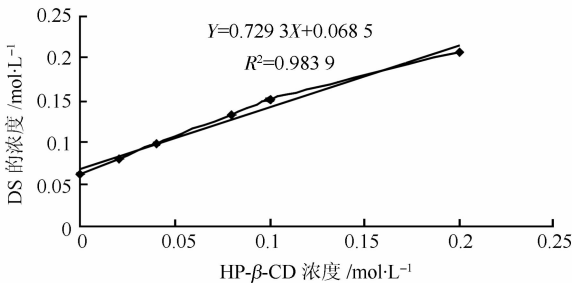


图 2 DS 在 HP-β-CD 中的相溶解度图(n=3)

Fig 2 Phase solubility diagram of DS in HP-β-CD(n=3)

3.4 抗氧剂的筛选

3.4.1 注射液的变色情况 分别于 40 ℃ 及光照条件下(4 500±500)lx 放样 10 d。结果显示在 40 ℃ 下放样 10 d,不加抗氧剂和加抗氧剂组溶液的外观均没有发生变化,依然澄清透明,说明高温对该注射液的影响较小;在光照条件下放样 10 d,除以亚硫酸钠、亚硫酸氢钠和硫代甘油作为抗氧剂组,其余各组颜色均发生不同程度的变黄,说明该注射液对于光照较为敏感,光照加速了原料药 DS 的氧化。结果见表 2。

表 2 40 ℃及光照条件下放样 10 d 注射液的变色情况
Tab 2 Color changes of DS-HP-β-CD injection at 40℃ and light condition for 10 days

抗氧剂	40 ℃	光照
不加抗氧剂	—	++
0.2%亚硫酸钠	—	—
0.2%亚硫酸氢钠	—	—
0.2%硫代硫酸钠	—	+
0.02%叔丁基-对羟基-茴香醚(BHA)	—	+
0.5%硫代甘油	—	—

注：+ - 变色程度依次增加，- - 未变色
Note: + - Color change degree increase gradually, - - color not change

3.4.2 注射液的 pH 值变化 分别于 40 ℃及光照条件下(4 500±500) lx 放样 10 d，测注射液的 pH 值变化。在 40 ℃及光照条件下放样 10 d，注射液的 pH 值均发生不同程度的下降，主要是由于原料药 DS 氧化后产生吡啶类的酸性降解产物^[6]；除不加抗氧剂组外，其余各组 pH 值仍在质量标准范围内(6.5~8.5)，结果见表 3。

表 3 40 ℃及光照条件下放样 10 d 注射液的 pH 值变化(n=3)
Tab 3 pH changes of DS-HP-β-CD injection at 40℃ and light condition for 10 days (n=3)

抗氧剂	0 d	10 d	
		40 ℃	光照
不加抗氧剂	7.53±0.14	7.11±0.08	6.30±0.13
0.2%亚硫酸钠	7.54±0.11	6.97±0.04	6.61±0.07
0.2%亚硫酸氢钠	7.44±0.07	7.24±0.12	7.09±0.08
0.2%硫代硫酸钠	7.39±0.13	7.13±0.04	7.03±0.04
0.02%BHA	7.30±0.17	7.17±0.10	7.00±0.12
0.5%硫代甘油	7.44±0.05	7.25±0.06	7.17±0.04

3.4.3 注射液的含量变化 分别于 40 ℃及光照条件下(4 500±500) lx 放样 10 d。在 40 ℃及光照条件下放样 10 d，各组注射液含量变化不明显，仍在质量标准范围内(93.0%~107.0%)，结果见表 4。

表 4 40 ℃及光照条件下放样 10 d 注射液的含量变化(n=3)
Tab 4 Assay changes of DS-HP-β-CD injection at 40 ℃ and light condition for 10 days (n=3)

抗氧剂	0 d/%	10 d/%	
		40 ℃	光照
不加抗氧剂	100	99.6±1.31	95.7±0.74
0.2%亚硫酸钠	100	99.3±0.89	98.8±0.65
0.2%亚硫酸氢钠	100	103.1±1.02	102.0±0.49
0.2%硫代硫酸钠	100	105.9±0.78	98.9±1.07
0.02%BHA	100	95.2±0.84	99.0±1.24
0.5%硫代甘油	100	96.1±0.96	96.5±0.97

3.4.4 注射液有关物质变化 分别于 40 ℃及光照条件下(4 500±500)lx 放样 10 d，注射液有关物质的单个杂质峰面积占主峰面积的百分比(A)见表 5。

表 5 40 ℃及光照条件下放样 10 d 注射液的有关物质变化
Tab 5 Related substances of DS-HP-β-CD injection at 40 ℃ and light condition for 10 days

抗氧剂	单个杂质峰面积占主峰面积的百分比/%		
	0 d	10 d	
		40 ℃	光照
不加抗氧剂	0	0.09	0.583 7.066
0.2%亚硫酸钠	0	0	0.379 2.158
0.2%亚硫酸氢钠	0	0.112	0.619 3.339
0.2%硫代硫酸钠	0	0	0.299 2.336
0.02%BHA	0.206	0.232	0.445 0.152 2.593
0.5%硫代甘油	0	0.089 0.086 0.129	0.571 2.688

于 40 ℃放样 10 d，各组有关物质基本没增加(<0.3%)，再次证明高温对该注射液影响较小；在光照条件下放样 10 d，不加抗氧剂组出现 7%的较大杂质峰，其余各组有关物质也略有增加，最大不超过 3.5%。

3.5 活性炭吸附对注射液 pH 值及含量的影响
活性炭吸附对注射液的 pH 值基本无影响，含量下降 2%，结果见表 6。

表 6 活性炭吸附前后注射液 pH 值及含量的变化(n=3)
Tab 6 pH and assay changes of DS-HP-β-CD injection before and after activated carbon adsorption (n=3)

	pH	含量/%
加活性炭	7.47±0.06	98±0.87
不加活性炭	7.49±0.08	100±0.99

3.6 时间对注射液外观的影响
3.6.1 不同灭菌条件下注射液的变色情况 分别于 121 ℃灭菌 15, 30 min，加 0.5%的硫代甘油组略变黄色，少量沉淀；不加抗氧剂组 121℃灭菌 15 min 后，颜色变黄，灭菌 30 min 后，变成红棕色，并出现絮状沉淀。产生的絮状沉淀为 DS 的热降解产物，成分复杂，有脱羧脱氢物以及多分

子聚合物等，而非单一成分。

3.6.2 不同灭菌条件下注射液 pH 值的变化 分别于 121 ℃热压灭菌 15, 30 min, 注射液的 pH 值升高, 可能是由于热压条件下, DS 生成碱性降解产物所致, 结果见表 7。

表 7 不同灭菌条件下注射液 pH 值的变化($n=3$)
Tab 7 pH changes of DS-HP- β -CD injection under different sterilization conditions ($n=3$)

	初始	灭菌 15 min	灭菌 30 min
0.5%硫代甘油	7.44±0.06	7.77±0.04	8.55±0.07
不加抗氧化剂	7.53±0.08	7.98±0.10	8.50±0.12

3.6.3 不同灭菌条件下注射液含量的变化 分别于 121 ℃热压灭菌 15, 30 min, 注射液的含量基本没有变化, 结果见表 8。

表 8 不同灭菌条件下注射液含量的变化($n=3$)
Tab 8 Assay changes of DS- HP- β -CD injection under different sterilization conditions ($n=3$)

	初始/%	灭菌 15 min/%	灭菌 30 min/%
0.5%硫代甘油	100	98.6±0.11	99.8±0.64
不加抗氧化剂	100	103.0±0.76	99.6±0.72

3.6.4 不同灭菌条件下注射液有关物质的变化 分别于 121 ℃热压灭菌 15, 30 min, 热压灭菌后, 注射液的有关物质略有增加, 最大不超过 3%, 结果见表 9。

表 9 不同灭菌条件下注射液有关物质的变化
Tab 9 Related substances changes of DS-HP- β -CD injection under different sterilization conditions

灭菌条件	*A/%
灭菌 15 min-不加抗氧化剂	1.39
灭菌 15 min-0.5%硫代甘油	1.527
灭菌 30 min-不加抗氧化剂	2.854
灭菌 30 min-0.5%硫代甘油	2.385

注: *A-最大单个杂质峰面积占主峰面积的百分比
Note: *A-The largest single impurity peak area ratio of the main peak area

4 讨论

DS 是一种离子型化合物, 为了提高包合效率, 首先将溶液的 pH 调至酸性, 使 DS 盐转化为双氯芬酸, 双氯芬酸的脂溶性较强, 与环糊精内腔的

疏水性结构亲和力强, 更容易被包合在 HP- β -CD 的空腔内, 从而提高包封效率。相溶解度图显示, 随着 HP- β -CD 浓度的增加, DS 的溶解度也随之增加, 但是由于 HP- β -CD 在体内具有一定的毒性, 所以笔者选择适合注射的浓度来制备 DS 包合物。

稳定性结果表明, 硫代甘油是 DS 注射液的最佳抗氧化剂, 这可能与硫代甘油中巯基的易氧化程度高有关, 巯基的存在能在很大程度上争夺溶液中所存在的氧气, 从而保护双氯芬酸不被氧化, 从而提高了样品的稳定性。

除热原的常用方法就是使用活性炭或超滤的方法, 而超滤本身的成本很高, 操作复杂, 批量小, 所以在工业生产中活性炭除热原得到了广泛的应用。但是活性炭对药物略有吸附, 通过活性炭吸附热原后, 含量下降约 2%, 但仍在质量标准范围内(93.0%~107.0%); 但对药液的 pH 值基本无影响。因此, 在产业放大过程中, 我们仍然可以考虑采用活性炭对药液进行除热原。

随着热压灭菌时间的延长, 有关物质增加, 且 pH 也随之升高, 颜色加深, 所以 DS 在热压灭菌时仍然存在降解的可能, 目前在研究过程中采用过滤除菌法, 在以后的研究和生产中, 需要进一步选择合适的灭菌条件, 完善整个注射剂的生产工艺。

REFERENCES

[1] QIAO M Y. Summary of development of diclofenac sodium preparation in our country [J]. Pract Pharm Clin Remed(实用药物与临床), 2010, 13(5): 379-380.
[2] MCCORMARK P L, SCOTT L J. Diclofenac sodium injection(Dyloject): in postoperative pain [J]. Drugs, 2008, 68(1): 123-130.
[3] PENKLER L J. Stable injectable diclofenac compositions: USA, 20050238674A1 [P]. 2005-10-6.
[4] ZHANG M J, WANG Z Q, WU J Y. Preparation of inclusion compound of diclofenac sodium- β -cyclodextrin [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2008, 20(10): 28-30.
[5] LU B. New Dosage Form and Technology of Drugs (药物新剂型与新技术) [M]. 2nd ed. People's Medical Press, 2005: 41.
[6] KORODI T, BUKOWSKI K, LACHMANN B. Evaluation of a short stability-indicating HPLC Method for diclofenac sodium gels [J]. Pharmazie, 2012, 67(12): 980-983.

收稿日期: 2013-02-01