

溴化铵和 γ -环糊精单体的摩尔数之比为 2 : 2 : 1 的时候, 反应 2 h 后, γ -环糊精转化完全。DCD 是一种非常高效的卤化试剂, 可以大量制备, 生产成本低廉, 且在干燥器中可以长期储存。此外, 采用该方法制备 6-溴-6-脱氧- γ -环糊精, 在中性环境和室温条件下, 反应条件温和, 防止了糖苷键的分解, 收率较好。该步反应对无水要求非常严格, 如选用未经无水处理的 DMF, 反应不能发生, 得不到期望的溴化物。目标化合物的合成, 文献[5]报道的方法使用了氢化钠, 需无水操作, 不便于在工业生产上采用。本研究参考文献[12]运用相转移催化剂正四丁基碘化铵, 在氢氧化钠存在的条件下, 室温反应 12 h, 获得了 57% 的收率。

该合成方法与文献方法比较, 避免毒性大、操作不方便试剂的使用, 反应条件温和、操作简单、收率高, 有良好的工业化生产前景。

REFERENCES

- [1] NICHOLSON W T, SPRUNG J, JANKOWSKI C J. Sugammadex: a novel agent for the reversal of neuromuscular blockade [J]. *Pharmacotherapy*, 2007, 27(8): 1181-1188.
- [2] MOERDYK J P, BIELAWSKI C W. Dihaloimidazolidinediones as versatile halodehydrating agents [J]. *Chem Eur J*, 2014, 20(42): 13487-13490.
- [3] TAKEO K, MITOH H, UEMURA K. Selective chemical modification of cyclomalto-oligosaccharides via tert-butyldimethylsilylation [J]. *Carbohydr Res*, 1989, 187(2): 203-221.
- [4] DE BOER H D, VAN EGMOND J, VAN DE POL F, et al. Sugammadex, a new reversal agent for neuromuscular block induced by rocuronium in the anaesthetized Rhesus monkey [J]. *Br J Anaesth*, 2006, 96(4): 473-479.
- [5] ADAM J M, BENNETT D J, BOM A, et al. Cyclodextrin-derived host molecules as reversal agents for the neuromuscular blocker rocuronium bromide: synthesis and structure-activity relationships [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(9): 1806-1816.
- [6] CHMURSKI K, COLEMAN A W, JURCZAK J. Direct synthesis of amphiphilic α -, β -, and γ -cyclodextrins [J]. *J Carbohydr Chem*, 1996, 15(7): 787-796.
- [7] CHMURSKI K, DEFAYE J. An improved synthesis of 6-deoxyhalo cyclodextrins via halomethylenemorpholinium halides Vilsmeier-Haack type reagents [J]. *Tetrahedron Lett*, 1997, 38(42): 7365-7368.
- [8] CHMURSKI K, DEFAYE J. An improved synthesis of per (6-deoxyhalo)cyclodextrins using *N*-halosuccinimides-triphenyl-phosphine in dimethylformamide [J]. *Supramol Chem*, 2000, 12(2): 221-224.
- [9] TAKEO K, SUMIMOTO T, KUGE T. An improved synthesis of 6-deoxy-analogues of cyclodextrins and amylose. Further interpretations of the proton magnetic resonance spectra of the peracetates of cyclodextrins and amylose [J]. *Starch-Starke*, 1974, 26(4): 111-118.
- [10] XUE W H, ZHANG L F. An improved and alternative method for the preparation of per(6-bromo-6-deoxy)cyclodextrins [J]. *Synthesis*, 2011, 43(22): 3612-3614.
- [11] LIU X, CHENG S, WANG X, et al. A convenient procedure for the formation of per (6-deoxy-6-halo)cyclodextrins using the combination of tetraethylammonium halide with $[Et_4NSF_2]BF_4$ [J]. *Synthesis*, 2013, 45(22): 3103-3105.
- [12] SALVATORE R N, SMITH R A, NISCHWITZA A K, et al. A mild and highly convenient chemoselective alkylation of thiols using CS_2CO_3 -TBAI [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46(51): 8931-8935.

收稿日期: 2015-10-23

苯扎贝特纳米脂质载体的包封率测定

张洁红, 金银秀*, 王玉新, 施秋婷, 沈佩佩, 夏念友, 黄雅静, 赵均炼(台州职业技术学院化学制药研究所, 浙江 台州 318000)

摘要: 目的 建立苯扎贝特纳米脂质载体包封率的测定方法。方法 采用葡聚糖凝胶柱层析法分离苯扎贝特纳米脂质载体中的游离药物, 高效液相色谱法测定其含量, 计算包封率。色谱条件: 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH 3.0)-甲醇(30 : 70), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 230 nm, 进样量: 20 μ L。结果 苯扎贝特峰与杂质峰的分度良好, 苯扎贝特浓度在 4.44~177.6 μ g·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$), 平均回收率为 99.23%(RSD=0.68%)。3 批苯扎贝特纳米脂质载体的包封率均>75%。结论 本方法简便、准确, 灵敏度高, 可用于苯扎贝特纳米脂质载体的质量控制。

关键词: 苯扎贝特; 纳米脂质载体; 包封率; 葡聚糖凝胶柱层析法; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)04-0433-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.012

基金项目: 台州市大学生科技创新项目; 台州市科技计划项目(1402ky18); 浙江省教育厅一般科研项目(Y201432771、Y201533944); 台州市创新团队和重点实验室自主设计科技计划项目(1403ky12)

作者简介: 张洁红, 女 Tel: 15867618929 E-mail: 1040673144@qq.com *通信作者: 金银秀, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0576)88663356 E-mail: yinxijun@163.com

Determination of Entrapment Efficiency of Bezafibrate Nanostructured Lipid Carriers

ZHANG Jiehong, JIN Yinxu*, WANG Yuxin, SHI Qiuting, SHEN Peipei, XIA Nianyou, HUANG Yajing, ZHAO Junlian(Chemical Pharmaceutical Research Institute, Taizhou Vocational Technical College, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of entrapment efficiency of bezafibrate nanostructured lipid carriers. **METHODS** Free bezafibrate was separated from the nanostructured lipid carriers by Sephadex gel, with HPLC on analysis for determination of entrapment efficiency of bezafibrate nanostructured lipid carriers. An Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used, and 0.01 mol·L⁻¹ phosphate buffer (pH 3.0)-methanol(30 : 70) was used as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 230 nm. The sample volume was 20 μL. **RESULTS** The peak of bezafibrate and impurity could be separated well. The linear range of bezafibrate was 4.44–177.6 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$). The recovery of bezafibrate was 99.23%(RSD=0.68%). The entrapment efficiency of 3 batches of bezafibrate nanostructured lipid carriers were all >75%. **CONCLUSION** The proposed method is simple, applicable and accurate for determination of entrapment efficiency of bezafibrate nanostructured lipid carriers.

KEY WORDS: bezafibrate; nanostructured lipid carriers; entrapment efficiency; Sephadex gel column chromatography; HPLC

苯扎贝特(bezafibrate, BZF)属于第2代贝特类血脂调节药,能明显降低甘油三酯、升高HDL-C浓度,延缓冠状动脉粥样硬化病变的进展,降低冠心病事件发生的危险性。近期对BZF的深入研究显示,BZF不仅可以改善脂代谢,更重要的是对糖代谢也有改善作用,这一点明显优于其他的第2代贝特类药物^[1]。目前,国内上市的BZF制剂有普通片剂、胶囊和缓释片等固体制剂。固体制剂在体内需要经历崩解、溶出、吸收的过程,由于BZF属于水难溶性药物,在消化液中溶出有限,极大地影响了患者对BZF有效成分的吸收,最终导致疗效下降。近年来,出现了一些新型的药物传递系统,其中纳米脂质载体受到了越来越多的关注^[2-5]。纳米脂质载体具有脂质药物载体的固有优势,易于加工成传统剂型,如片剂、胶囊、乳膏、凝胶等^[2]。本研究制备了BZF纳米脂质载体,可以将其进一步制成冻干粉以供临床使用。为了更好地控制BZF纳米脂质载体的质量,本实验建立了测定纳米脂质载体中BZF包封率的方法。

1 仪器和试剂

Agilent 1220型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);DF-101S型集热式磁力加热搅拌仪(金坛市精达仪器制造厂);Scientz-IIID型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司)。

BZF对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100732-200501,供含量测定用);BZF(浙江九洲药业股份有限公司,批号:14081701,含量:100.2%);

卵磷脂[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:J1422068,纯度>70%];大豆油(上海嘉里食品工业有限公司);聚山梨酯80(Tween-80,上海强顺化学试剂有限公司);葡聚糖凝胶(Sephadex G50,台州市路桥四甲生化塑料厂);甲醇为色谱纯;水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 BZF纳米脂质载体制备

2.1.1 BZF纳米脂质载体制备 精密称取10 mg BZF,0.1 g卵磷脂,0.1 g大豆油,溶解于10 mL乙酸乙酯中,超声至完全溶解,构成有机相。将0.3 g Tween-80溶于20 mL水中,构成水相。将有机相倒入水相中,充分搅拌,超声2 min,得乳浊液;将得到的乳浊液进行旋转蒸发,除去有机溶剂,得到澄清均一的溶液即为BZF纳米脂质载体。

2.1.2 空白纳米脂质载体的制备 取除主药BZF外的其他成分按“2.1.1”项下方法制备,即得空白纳米脂质载体。

2.2 BZF含量测定

2.2.1 色谱条件^[6-7] 色谱柱:Agilent ZORBAX C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:0.01 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.0)-甲醇(30 : 70);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:230 nm;进样量:20 μL。

2.2.2 专属性 取BZF纳米脂质载体及空白纳米脂质载体各1 mL,加流动相定容至10 mL,超声5 min,破坏其脂质结构,作为供试品溶液和空白样品溶液。另取对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,见图1。结果表明处方中其他成分不干扰BZF的定量分析。

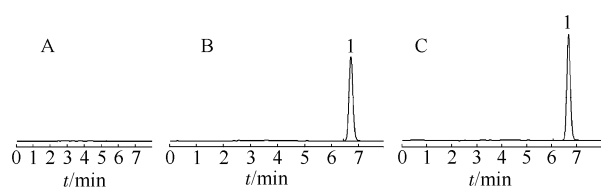


图1 高效液相色谱图

A-空白样品溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-BZF。

Fig. 1 HPLC chromatogram

A-blank; B-standard solution; C-sample solution; 1-BZF.

2.2.3 线性关系考察 精密称取 BZF 0.010 4 g, 用流动相定容至 250 mL 作为贮备液, 分别稀释到浓度为 4.44, 17.76, 35.52, 44.4, 53.28, 66.6, 88.8, 133.2, 177.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以 BZF 浓度(C)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $A=58.128C-18.085$, $r=0.999\ 9(n=9)$ 。结果表明, BZF 浓度在 4.44~177.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积线性关系良好。

2.2.4 仪器精密度试验 精密量取 53.28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液重复进样测定 6 次。结果对照品峰面积的 RSD 为 1.13%($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取同一批样品, 平行 6 份, 按“2.2.2”项下方法处理, 进样测定。结果 BZF 平均含量为 47.76 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD 为 1.37%($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.2.6 回收率试验 分别精密量取贮备液 1.5, 2.0, 3.0 mL 各 3 份, 置 10 mL 量瓶中, 加入空白纳米脂质载体溶液 1 mL, 流动相定容并超声, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算加样回收率。低、中、高 3 种浓度的加样回收率为 99.23%, RSD 为 0.68%, 结果表明该方法准确度良好。

2.3 BZF 纳米脂质载体包封率的测定

2.3.1 洗脱曲线的建立 采用葡聚糖凝胶柱层析法分离载药纳米脂质载体, HPLC 测定游离药物的含量。称取葡聚糖凝胶(G50)2.5 g, 加纯化水水浴加热煮沸溶胀 2 h, 静置溶胀 12 h。装柱平衡, 精密吸取 BZF 纳米脂质载体溶液 1 mL 上样, 用纯化水洗脱, 流速 1.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 每管 1 mL, 收集洗脱液 40 管后, 改用 50%的甲醇洗脱, 收集洗脱液 60 管^[8]。将收集的溶液用流动相稀释定容至 5 mL, 超声 5 min 后, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 结果在前 40 mL 无游离药物被洗脱出来。结果表明, 游离药物与包封药物能有效分离。

2.3.2 回收率试验 精密吸取 BZF 纳米脂质载体溶液 1 mL, 按上述方法过柱分离, 取全部 100 mL 洗脱液, 旋转蒸发浓缩至干, 流动相清洗旋蒸瓶并定容至 10 mL, 超声 5 min 后, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。另取 BZF 纳米脂质载体溶液 1 mL, 流动相定容至 10 mL, 超声 5 min 后, 同法测定, 计算柱回收率。结果 BZF 平均柱回收率为 98.52%($n=3$)。

2.3.3 包封率的测定 取 BZF 纳米脂质载体溶液 1 mL, 流动相定容至 10 mL, 超声 5 min 后, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算含量, 得到 BZF 纳米脂质载体溶液中药物总量 $C_{\text{总}}$ 。按上述方法, 用纯化水洗脱, 收集洗脱液前 40 mL, 旋转蒸发浓缩至干, 流动相清洗旋蒸瓶并定容至 10 mL, 超声 5 min 后, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算含量, 得到 BZF 纳米脂质载体包封药物的浓度 $C_{\text{包}}$ 。BZF 纳米脂质载体包封率= $C_{\text{包}}/C_{\text{总}}\times 100\%$ 。结果 3 批产品包封率分别为 76.98%, 75.80%, 78.19%。

3 讨论

包封率是纳米脂质载体质量控制中非常重要的一项指标。目前文献[9-12]报道的方法有葡聚糖凝胶柱过滤法、透析法、反透析法、微柱离心法、超滤法等。透析法耗时较长且透析袋外液体体积是内液体积 20~50 倍, 使游离药物浓度稀释较大倍数, 测定误差较大。反透析法虽然对游离药物几乎没有稀释, 但透析袋内取样较麻烦, 且透析时间较长。微柱离心法虽然省时, 但操作比较繁琐, 离心后凝胶或树脂容易与其容器壁分开, 方法重现性较差。笔者曾尝试超滤法, 但滤膜对药物有较大的吸附作用, 回收率较低, 故选用葡聚糖凝胶柱层析法。本试验建立的方法能较好地分离纳米脂质载体与游离药物, 且简单易行, 重复性好, 可用于 BZF 纳米脂质载体包封率的测定。

REFERENCES

- [1] LUO L M, ZHU Q W, ZHU B, et al. The effects of homemade bezafibrate on abnormal metabolism of glucose and lipid in patients with high serum triglycerides level [J]. Chin J Pract Intern Med (中国实用内科杂志), 2009, 29(4): 350-353.
- [2] LI Y Z, QI R, KE X. Research progress of nanostructured lipid carriers for oral administration [J]. Pharm Clin Res(药学与临床研究), 2013, 21(4): 355-359.
- [3] XU Y Y, YANG J Y, HU J R, et al. Study on preparation of flexible nano liposome and drug delivery efficiency of brain

- [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1082-1086.
- [4] YANG X L, YANG B, LI C L, et al. Preparation and in vitro transdermal diffusion characteristics of paclitaxel nano-liposomes gels [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(2): 156-161.
- [5] LI J, GUO W Y. Preparation and formula optimization of stearyl alcohol galactoside modified gemcitabine hydrochloride nano liposome [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(4): 449-455.
- [6] DAI F, LIN S L, SU D Y, et al. Determination of bezafibrate tablets by HPLC [J]. China Mod Med (中国当代医药), 2011, 18(12): 52-54.
- [7] JIANG Z L, LUO Y, DU Y G. Study on the conditions of dissolution determination for bezafibrate dispersible tablets [J]. China Pharm(中国药师), 2013, 16(1): 68-70.
- [8] WU X Y, SHI L, ZHOU T T, et al. Research on determination method for encapsulation efficiency of ciclesonide nanoparticles [J]. China Pharm(中国药业), 2013, 22(12): 100-102.
- [9] DAI W T, ZHANG D R, GUO C Y, et al. HPLC determination of content and entrapment efficiency of oridonin nanostructured lipid carriers [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 29(4): 587-590.
- [10] XIONG F, ZHU J B, WANG W, et al. Determination of entrapment efficiency of breviscapine nanoliposomes [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2004, 39(9): 755-757.
- [11] LI J, GUO W Y. Entrapment efficiency determination of stearyl alcohol galactosidase modified nanoliposome loaded with gemcitabine hydrochloride [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2014, 45(9): 867-870.
- [12] WANG K, YANG L, WANG Y, et al. Determination of entrapment efficiency of ozagrel-loaded nanostructured lipid carriers [J]. Chin J New Drug(中国新药杂志), 2012, 21(22): 2693-2696.

收稿日期: 2015-07-07

影响盐酸吡格列酮载药包衣含量均匀度的关键工艺研究

胡李斌^{1,2}, 朱慧君², 陈浩², 袁弘^{1*} (1.浙江大学, 杭州 310058; 2.浙江华海药业股份有限公司, 浙江 临海 317024)

摘要: 目的 采用响应面法考察载药包衣关键工艺参数对包衣含量均匀度的影响, 并优化载药包衣的工艺条件。方法 以盐酸吡格列酮为模型药物, 自制的盐酸二甲双胍渗透泵缓释片芯为基础, 用高效包衣机进行载药包衣实验。结果 在实验范围内, 各因素对载药包衣含量均匀度影响的大小依次是包衣锅转速、喷液速率、雾化压力, 控制包衣锅转速 $12\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 喷液速率 $12\sim14\text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化压力 $65\sim75\text{ kPa}$, 包衣片含量均匀度符合中国药典 2015 年版的要求。结论 模型优化的工艺条件适用于本品的载药包衣, 包衣片含量均匀度符合中国药典的要求。

关键词: 片剂; 载药包衣; 响应面法; 盐酸吡格列酮

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)04-0436-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.013

Evaluation of Critical Process Parameters for Intra-tablet Coating Uniformity of Pioglitazone Hydrochloride

HU Libin^{1,2}, ZHU Huijun², CHEN Hao², YUAN Hong^{1*} (1. Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd., Linhai 317024, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the intra-tablet coating uniformity and the critical process parameters in an active coating process using response surface method, optimizing the process parameters of the active coating. **METHODS** Using pioglitazone hydrochloride as a model active substance, active coating on home-made metformin hydrochloride osmotic pump tablets using high efficiency coating machine. **RESULTS** In the range studied, the effect of pan speed, spray rate, and atomizing pressure on content uniformity decreased in turn. Coating with pan speed at $12\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, spray rate at $12\sim14\text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, atomizing pressure at $65\sim75\text{ kPa}$, the content uniformity of final product met the requirement of chinese pharmacopoeia. **CONCLUSION** Parameters optimized by the model is suitable for this product, the content uniformity meets the requirement of Chinese Pharmacopoeia 2015 edition.

KEY WORDS: tablet; active coating; response surface method; pioglitazone hydrochloride

作者简介: 胡李斌, 男, 工程师 Tel: (0576)85016726 E-mail: hulibin@huahaipharm.com

*通信作者: 袁弘, 男, 博士, 教授 Tel:

(0571)88208439 E-mail: yuanhong70@zju.edu.cn