

酮咯酸异丙酯静脉注射脂肪乳剂的处方前研究

钮碧晰^{1,2}, 尹宗宁², 王文博¹, 顾尹慧¹, 刘佳敏¹, 王春燕¹, 陈勇^{1,3*} (1.南通大学药学院, 江苏 南通 226001; 2.四川大学华西药学院靶向药物与释药系统教育部重点实验室, 成都 610041; 3.苏州康纯医药科技有限公司, 江苏 苏州 215421)

摘要: 目的 对酮咯酸前体药物酮咯酸异丙酯进行处方前研究。方法 合成酮咯酸异丙酯, 建立 HPLC-UV 方法并进行方法学验证。对酮咯酸异丙酯溶解度、油水分配系数和降解规律等理化性质进行研究, 考察加速降解实验中的原料稳定性和原辅料相容性。结果 酮咯酸异丙酯在水中难溶(溶解度 $52.66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 但可以和油相混溶, 其 $\text{Log}P$ 值为 3.95 ± 0.03 。酮咯酸异丙酯的分析方法线性关系良好, 仪器精密度良好($\text{RSD}<2\%$), 回收率较高($>99.5\%$)。在给定条件下, 酮咯酸异丙酯的溶液稳定性随 pH 和温度升高而降低。酮咯酸异丙酯可在大鼠血浆和肝匀浆溶液中迅速降解, 例如, 在 50% 大鼠血浆溶液或 20% 肝匀浆溶液中, 酮咯酸异丙酯的降解速率常数(k_{obs})分别为 0.51 min^{-1} 和 0.15 min^{-1} 。酮咯酸异丙酯在高温、高湿环境下较稳定, 但对光照敏感; 原辅料相容性同样证实了这一点。结论 酮咯酸异丙酯在溶解度、分配系数、降解规律、原料稳定性和原辅料相容性方面, 具备了制成静脉注射乳剂的适宜条件, 为开发新型酮咯酸注射剂提供了实验依据。**关键词:** 酮咯酸; 酮咯酸异丙酯; 前体药物; 脂肪乳剂; 处方前研究

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)21-2587-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.21.005

引用本文: 钮碧晰, 尹宗宁, 王文博, 等. 酮咯酸异丙酯静脉注射脂肪乳剂的处方前研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(21): 2587-2593.

Preformulation Study on the Intravenous Lipid Emulsion of Ketorolac Isopropyl Ester

NIU Bixi^{1,2}, YIN Zongning², WANG Wenbo¹, GU Yinhui¹, LIU Jiamin¹, WANG Chunyan¹, CHEN Yong^{1,3*} (1.School of Pharmacy, Nantong University, Nantong 226001, China; 2.Key Laboratory of Drug Targeting and Novel Drug Delivery Systems of Ministry of Education, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3.Suzhou Salupurus Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Suzhou 215421, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To conduct preformulation study of ketorolac isopropyl ester which is prodrug of ketorolac. **METHODS** Ketorolac isopropyl ester was synthesized. Quantification method using HPLC-UV was established and validated. Physicochemical properties including solubility, oil/water partition coefficient and degradation kinetics were investigated, followed by revealing drug stability and drug-excipients compatibility under forced degradation experiments. **RESULTS** Ketorolac isopropyl ester was sparingly soluble in water($52.66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) but miscible with oil phase. The $\text{Log}P$ value of the prodrug was 3.95 ± 0.03 . Analytical method of ketorolac isopropyl ester was established with good linearity, high accuracy($\text{RSD}<2\%$) and high recovery yield($>99.5\%$). The aqueous stability of ketorolac isopropyl ester was impaired with the increase of pH value and temperature under specific conditions. Fast degradation was found when placing ketorolac isopropyl ester into the medium of rat plasma or liver homogenate solution. For example, the degradation rate constant(k_{obs}) of the prodrug in 50% rat plasma solution or 20% liver homogenate solution was 0.51 min^{-1} and 0.15 min^{-1} , respectively. Ketorolac isopropyl ester was comparatively stable when presented in the environment with high temperature or high humidity, but it was unstable under the strong light, which was further proved by the drug-excipients stability studies. **CONCLUSION** The appropriate properties of ketorolac isopropyl ester on solubility, partition coefficient, degradation kinetics, chemical stability and drug-excipients compatibility enabled feasibility on preparation of intravenous lipid emulsion which provide experimental fundament to develop novel ketorolac injectables.

KEYWORDS: ketorolac; ketorolac isopropyl ester; prodrug; lipid emulsion; preformulation studies

酮咯酸氨丁三醇(ketorolac tromethamine, KTL-T)是一种强效的非甾体抗炎药, 通过抑制前列腺素的合成发挥镇痛作用, 临床上可用于治疗癌痛、术后痛等中度至重度疼痛, 结构式见图

1^[1-2]。KTL-T 的主要镇痛活性源自其 S-构型, 该构型在人体内的半衰期约 2.5 h ^[3], 患者需每 6 h 接受一次 KTL-T 注射剂的静注/肌注 ($15\sim 30 \text{ mg}$), 持续 $\leq 5 \text{ d}$ ^[4]。

基金项目: 太仓市重点研发计划社会发展项目(TC2017SF02); 中国博士后科学基金(2017M611886)

作者简介: 钮碧晰, 女, 硕士生 Tel: 18860972285 E-mail: nbx2017@163.com *通信作者: 陈勇, 男, 博士, 教授 Tel: 18911617152 E-mail: scuachen2003@163.com

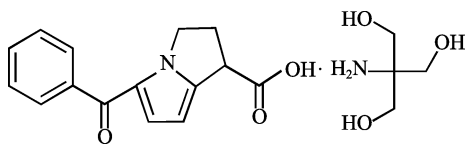


图1 KTL-T 的结构式

Fig. 1 Chemical structure of KTL-T

载药脂肪乳剂是一种以天然或合成脂类物质为不连续的油相基质,脂溶性药物包封于基质中,通过磷脂等表面活性剂的乳化作用,各向同性地分散于连续水相中,经灭菌而制成的注射剂^[5]。载药脂肪乳具有一定的缓释特性,可延长药物在体内的半衰期^[6],也可选择性地聚集于炎症和伤口部位^[7],提高药物在局部组织中的浓度,并可避免药物与体液直接接触,降低注射部位的刺激性^[8]。将静脉注射乳剂作为药物载体,利用其对亲脂性药物的良好溶解度以及有一定的缓释性和靶向性,已成功开发了氟比洛芬酯、丁酸氯维地平、丙泊酚和地西泮等数个静脉注射乳剂品种^[9]。

KTL-T 的镇痛效果强,在某些方面甚至不逊于吗啡^[10],如能将其镇痛优势与静脉注射脂肪乳剂在药动学和靶向性方面的优势结合起来,可能能为临床提供更优越的镇痛制剂。因此,本研究通过研究高亲脂性的酮咯酸前体药物酮咯酸异丙酯(ketorolac isopropyl ester, KTL-IS),以探索将其制成静脉注射乳剂的可行性:①从原料 KTL-T 出发,合成并确证其脂溶性前体药物 KTL-IS;②利用 HPLC-UV 开发并确证 KTL-IS 的定量分析方法;③研究 KTL-IS 的平衡溶解度、脂水分配系数和水解、酶解规律;④研究 KTL-IS 在高温、高湿和光照等条件下的原料稳定性及原辅料相容性。

1 仪器与试剂

RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司);色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 键合硅胶柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);HZS-H 恒温水浴振荡器(东联电子技术开发有限公司);电热恒温水浴锅(恒昌仪器厂);SFS-160Y 药品稳定性试验箱(上海三发科学仪器有限公司);Bio-Gen PRO200 实验室均质器(美国 Pro Scientific 公司);UV1800PC 紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);Nicolet iS50 傅立叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Scientific 公司);AVANCE III HD 400M 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);API QSTAR® Pulsar 高分辨质谱(美

国 Applied Biosystems 公司)。

KTL-T(上海仁实医药科技有限公司,批号:0321701;含量≥99%);注射用大豆油[新兴(铁岭)药业股份有限公司,批号:18080104-2-01];中链甘油三酯(批号:20181102)、橄榄油(批号:WH-181117)均购自威海药用油厂;PL-100M 蛋黄磷脂(上海艾伟拓医药科技有限公司,批号:EK17034);注射用甘油(浙江遂昌惠康药业有限公司,批号:20181102);油酸钠(西安力邦制药有限公司,批号:170601);1-辛醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司);水为超纯水;硝酸钾(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);碳酸氢钠(上海中试化工总公司,分析纯);乙酸乙酯、硫酸氢钾、无水硫酸钠、异丙醇、石油醚、氯化亚砷均购自上海润捷化学试剂有限公司,均为分析纯。

Sprague Dawley 大鼠,♂,体质量 200~250 g,南通大学实验动物中心提供(批号:B190117142),实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2019-00010。

2 方法与结果

2.1 KTL-IS 的合成

称取 KTL-T(2.66 mmol, 1.0 g)于锥形瓶中,加入适量乙酸乙酯及硫酸氢钾溶液(1 mol·L⁻¹),室温下搅拌 10 min。萃取收集乙酸乙酯,旋蒸除去溶剂后,得到白色固体酮咯酸(ketorolac, KTL)。在烧瓶中加入 KTL(1.96 mmol, 0.5 g)及异丙醇(10 mL),室温下磁力搅拌至 KTL 溶解。转移至冰水浴中,使用恒压漏斗缓慢滴加氯化亚砷(5 mL),自然升温至室温后搅拌过夜,减压蒸馏除去异丙醇和氯化亚砷,得到 KTL-IS 粗品。柱层析(展开剂比例为石油醚:乙酸乙酯=15:1)分离纯化后,得终产物 KTL-IS(HPLC 检测,纯度>99%),总收率约为 76%。合成路线见图 2。

KTL: ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.82~7.43(m, 5H, Ar-H), 6.84(d, 1H, H-6), 6.15(d, 1H, H-7), 4.60~4.44(m, 2H, NCH₂); 4.15~4.10(m, 1H, CH), 2.97~2.79(m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃), δ: 185.23, 176.81, 141.77, 139.06, 131.54, 128.95, 128.20, 127.31, 125.21, 103.47, 47.55, 42.38, 30.99; IR(KBr): 2 800~3 500, 1 720.67, 1 613.61, 1 572.62, 1 446.59, 1 418.37, 1 273.77, 1 217.03, 1 045.24, 921.00, 894.05, 719.66, 697.49; HR-MS(*m/z*): 256.099 1[M+H]⁺。

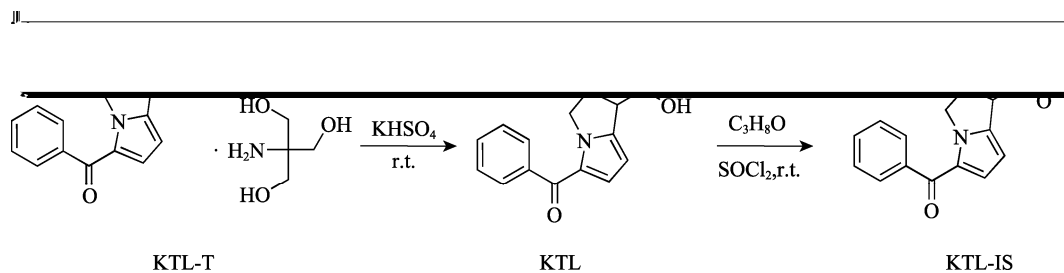


图2 KTL-IS的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of KTL-IS

KTL-IS: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.82~7.42(m, 5H, Ar-H), 6.81(d, 1H, H-6), 6.10(d, 1H, H-7), 5.12~5.02(m, 1H, OCH), 4.61~4.39(m, 2H, NCH_2), 4.04~4.00(m, 1H, CH), 2.97~2.72(m, 2H, CH_2), 1.29~1.26[m, 6H, $(\text{CH}_3)_2$]; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CDCl_3) δ : 184.98, 170.69, 142.76, 139.29, 131.37, 128.91, 128.32, 127.14, 125.01, 102.99, 60.42, 47.62, 42.85, 30.69, 21.80, 21.75; IR(KBr): 2980.67, 1732.69, 1623.04, 1574.45, 1464.96, 1431.66, 1268.71, 1106.13, 1045.77, 892.18, 722.16, 698.26; HR-MS(m/z): 298.1479 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.2 HPLC含量测定方法的建立

2.2.1 检测波长的确定 称取适量 KTL-IS, 用甲醇溶解并制备成适宜浓度, 以甲醇为空白对照, 于 200~400 nm 使用紫外分光光度计进行全波长扫描, 记录扫描图谱。结果显示 KTL-IS 在 313 nm 处有最大吸收, 因此选择 313 nm 作为检测波长。

2.2.2 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C_{18} 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); EasyGuard C_{18} 保护柱 (10 mm×4.0 mm, 5 μm); 流动相为甲醇: H_3PO_4 缓冲液 (20 mmol·L $^{-1}$, NaOH 调 pH 至 3)=80:20; 流速: 1.0 mL·min $^{-1}$; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 313 nm; 进样体积: 20 μL 。

2.2.3 标准曲线的建立 精密量取 21.6 mg KTL-IS 于 50 mL 量瓶中, 用流动相配制成 432.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 储备液, 并用流动相稀释至浓度为 2.16, 5.40, 10.80, 21.60, 54.00, 108.00 和 216.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液。取上述标准溶液注入 HPLC 进行分析, 记录色谱图, 以浓度(X)对峰面积(Y)作图, 并进行线性回归, 得回归方程 $Y=58\,764X+13\,830$ ($r=0.999\,6$), 结果表明 KTL-IS 在 2.16~216.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性良好。

2.2.4 专属性考察 分别精密量取 KTL 溶液 (216.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、KTL-IS 溶液 (216.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和空白乳剂各 0.5 mL 分别置于 50 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 按“2.2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果表明空白乳剂中的成分在该色谱条件下无色谱峰, 不会干扰 KTL 及 KTL-IS 的测定, 见图 3。

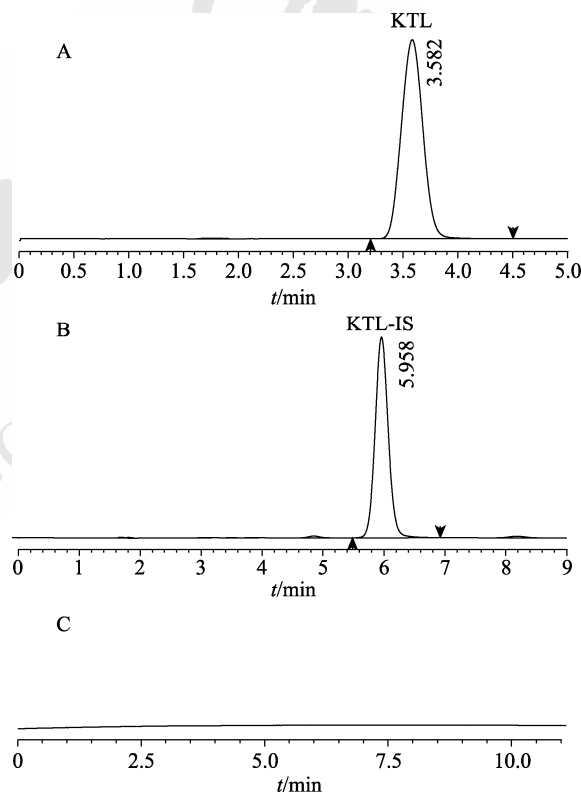


图3 KTL和KTL-IS的高效液相色谱图

A-KTL溶液; B-KTL-IS溶液; C-空白乳剂。

Fig. 3 HPLC chromatograms of KTL and KTL-IS

A-KTL solution; B-KTL-IS solution; C-blank emulsion.

2.2.5 仪器精密度考察 取高、中、低 3 个浓度的 KTL-IS 对照品溶液分别在日内和日间重复进样 3 次, 按“2.2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果显示该分析方法仪器精密度良好, 日内和日间精密度 RSD 均 <2%。结果见表 1。

表 1 HPLC 测定 KTL-IS 对照品溶液的仪器精密性($n=3$)
Tab. 1 Instrument precision of HPLC method of KTL-IS standard solution($n=3$)

浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密性		日间精密性	
	均值	RSD/%	均值	RSD/%
2.16	2.13±0.04	1.87	2.04±0.03	1.70
21.60	21.30±0.14	0.65	22.00±0.07	0.31
216.00	215.75±2.31	1.07	214.87±2.36	1.10

2.2.6 检测限和定量限 取 KTL-IS 对照品溶液逐级稀释,按“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将信噪比 $S/N\approx 3$ 时的溶液浓度作为检测限,信噪比 $S/N\approx 10$ 时的溶液浓度作为定量限。经测定,检测限和定量限分别为 $0.05\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.7 回收率试验 量取 $0.1\ \text{mL}$ 空白乳剂(本实验室自制)于 $10\ \text{mL}$ 量瓶中,加入适量 KTL-IS 甲醇溶液并用流动相稀释至 2.16 , 21.60 和 $216.00\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,按“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以理论值和实测值计算回收率。结果表明,样品回收率均 $>99.5\%$,结果见表 2。

表 2 KTL-IS 在空白乳剂中的加样回收率($n=3$)
Tab. 2 Recovery rate of KTL-IS in blank emulsion($n=3$)

理论值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
2.16	2.15±0.03	99.54	1.39
21.60	21.52±0.46	99.63	2.14
216.00	215.42±1.86	99.73	0.86

2.3 溶解度测定

量取 $1\ \text{mL}$ 的 PBS 缓冲液(pH 5.8、pH 6.8 和 pH 7.4)、水、大豆油、中链甘油三酯和橄榄油,加入过量 KTL-IS,置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温水浴振荡器中振荡 $24\ \text{h}$,达到平衡后离心并取上清液,经适当稀释,按“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。KTL-IS 的溶解度试验结果见表 3。

表 3 KTL 及 KTL-IS 在不同介质中的溶解度($n=3$)
Tab. 3 Solubility of KTL and KTL-IS in different media ($n=3$)

介质试剂	溶解度	
	KTL/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	KTL-IS/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
水	0.52±0.03	52.66±2.48
PBS 缓冲液(pH 5.8)	11.11±0.37	36.48±3.17
PBS 缓冲液(pH 6.8)	71.60±1.01	33.66±0.69
PBS 缓冲液(pH 7.4)	123.61±1.18	29.83±1.17
大豆油	6.01±0.12	互溶
中链甘油三酯	16.04±0.27	互溶
橄榄油	7.74±0.37	互溶

结果表明,由于 KTL-IS 为酯类药物,其溶解度受 pH 影响较小,在 pH 5.8, 6.8 及 7.4 中的溶解度相近,且 KTL-IS 为高亲脂性油状物,能与常用的注射用油互溶。

2.4 油水分分配系数测定

采用摇瓶法测定 KTL 以及 KTL-IS 的油水分分配系数。量取 $20\ \text{mL}$ 蒸馏水和 $20\ \text{mL}$ 正辛醇,在 $37\ ^\circ\text{C}$ 下振荡 $24\ \text{h}$,使两相充分饱和。称取适量 KTL 或 KTL-IS 于离心管中,加入 $2\ \text{mL}$ 水饱和正辛醇溶液溶解后,再加入 $2\ \text{mL}$ 正丁醇饱和的水。于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温振荡器中震荡 $24\ \text{h}$ 后,分别取适量水相和油相并用流动相稀释到适宜浓度后用 HPLC 测定含量,油相与水相中 KTL-IS 浓度的比值即为油水分分配系数 $P=C_{\text{油相}}/C_{\text{水相}}$ 。经测定,KTL 和 KTL-IS 的 $\text{Log}P$ 值分别为 1.84 ± 0.03 和 3.95 ± 0.03 。由此可见,将 KTL 制成 KTL-IS 后,其脂溶性显著增强,该结果也与溶解度结果吻合。

2.5 水解动力学

将磷酸氢二钠溶液($0.2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)与柠檬酸溶液($0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)按不同体积比混合,配制成 pH 4.8, 5.2, 5.8, 6.2, 6.8, 7.4 和 8.0 缓冲液。精密量取 $1\ \text{mL}$ KTL-IS 甲醇液($1.33\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),加入 $10\ \text{mL}$ 在 $37\ ^\circ\text{C}$ 预热的上述不同 pH 的缓冲溶液中,密闭,充分混合后置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温水浴锅中,在 $7\ \text{d}$ 内,分别于不同时间点取样后,注入 HPLC 测定不同时间点剩余的 KTL-IS 浓度。以剩余 KTL-IS 浓度的自然对数对时间作图,结果见图 4。结果表明,KTL-IS 的水解过程符合一级动力学。利用作图所得直线求得斜率并计算水解速率常数 k 和半衰期 $T_{1/2}(0.693/k)$ 。图 4a 表明,KTL-IS 在偏酸性的条件下较为稳定,综合考虑其水解稳定性以及脂肪乳剂的最终 pH 值,选择在 pH 6.2 的缓冲液中测定 KTL-IS 在不同温度(37 , 50 , 60 , 70 和 $80\ ^\circ\text{C}$)下的水解速率常数和半衰期,取样点同 pH 稳定性研究。图 4b 表明 KTL-IS 的稳定性随温度的升高而降低。

2.6 酶解动力学

2.6.1 血浆酶解动力学 将 Sprague Dawley 大鼠眼眶取血,并将血样离心取上清得到大鼠血浆,加入适量生理盐水配制成 20% , 50% 和 80% 空白血浆溶液。精密量取 $100\ \mu\text{L}$ 的 KTL-IS 甲醇溶液($10\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),加入到 $37\ ^\circ\text{C}$ 下预热的空白血浆溶液中($2\ \text{mL}$),密封,混匀后置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温水浴箱中,在预定时间分别取样 $200\ \mu\text{L}$ 。样品立即加入

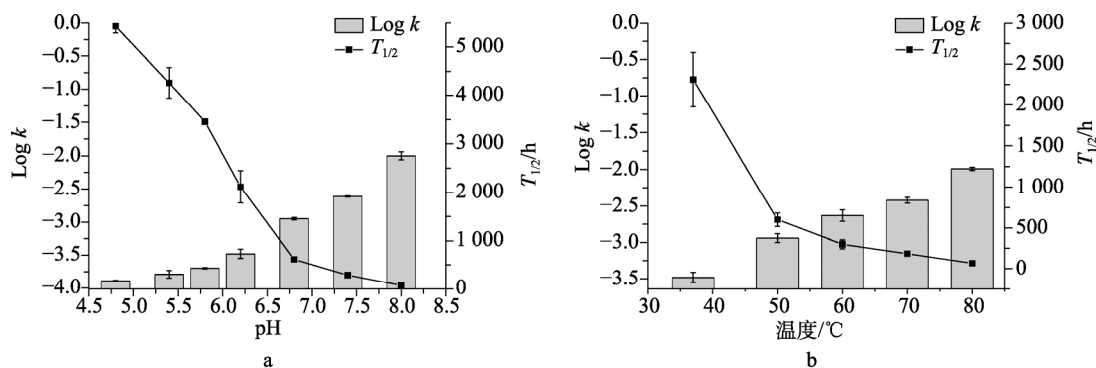


图4 KTL-IS在不同pH值下(a)和不同温度下(b)的Log k和T_{1/2}的变化(n=3)

Fig. 4 Changes of Log k and T_{1/2} of KTL-IS at different pH values(a) and different temperatures(b)(n=3)

800 μL 乙腈, 涡旋, 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液, 注入 HPLC 测定 KTL-IS 及 KTL 的浓度。同时设置对照组, 对照组为不含大鼠血浆的生理盐水。以剩余 KTL-IS 浓度及其自然对数对时间作图, 由斜率计算得 KTL-IS 在不同浓度的大鼠血浆中的水解速率常数, 并计算半衰期, 结果见图 5a 及表 4。

2.6.2 肝匀浆酶解动力学 使用断脊椎脱臼法将 Sprague Dawley 大鼠处死后立即取新鲜肝组织, 剪碎并称重。加入适量生理盐水用匀浆机打碎制成 10%, 20% 和 40% 肝匀浆液。精密量取 100 μL 的 KTL-IS 甲醇溶液(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 加入 37 $^{\circ}\text{C}$ 下预热的肝匀浆液中(2 mL), 密封, 混匀后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱中, 在预定时间分别取样 200 μL 。样品立即加入 800 μL 乙腈涡旋, 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,

取上清液并用 HPLC 测定剩余 KTL-IS 及 KTL 浓度。同时设置对照组, 对照组为不含肝匀浆的生理盐水。以剩余 KTL-IS 浓度的自然对数对时间作图, 由斜率计算得 KTL-IS 在不同浓度肝匀浆中的水解速率常数并计算半衰期, 结果见图 5b 及表 4。

由图 5 可知, KTL-IS 在大鼠血浆和肝匀浆中迅速降解, 5 min 内大部分前药降解为母体药物, 从而快速发挥镇痛作用。

2.7 原料稳定性试验

2.7.1 高温试验 称取约 20 mg KTL-IS 于小烧杯中, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 稳定性试验箱中放置 10 d, 于第 5, 10 天观察样品外观, 精密取样约 1 mg 样品, 用 1 mL 甲醇溶解并稀释至适宜浓度后注入 HPLC 测定 KTL-IS 含量, 并与 0 d 的样品相比较。测定结果见表 5, 试验表明 KTL-IS 在高温条件下含量较稳定。

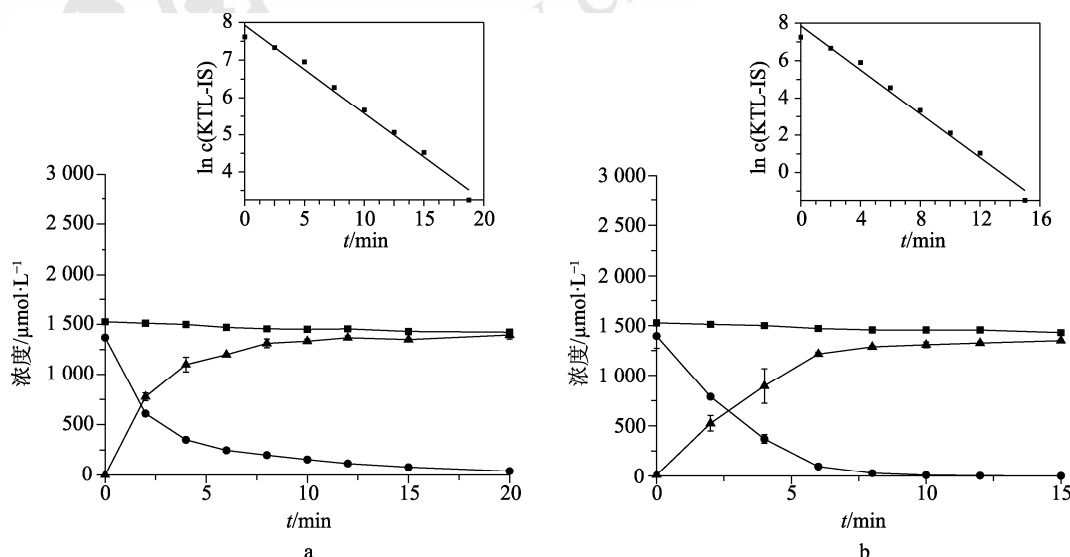


图5 KTL-IS在50%大鼠空白血浆溶液(a)和20%肝匀浆溶液(b)中的酶解动力学(n=3)

空白对照组中 KTL-IS 的浓度(■); 实验组中 KTL 的浓度(▲); 实验组中 KTL-IS 的浓度(●)。

Fig. 5 Enzymatic kinetics of KTL-IS in 50% rat blank plasma solution(a) and 20% liver homogenate solution(b)(n=3)

Concentration of KTL-IS in blank control group (■); the concentration of KTL in experimental group (▲); the concentration of KTL-IS in experimental group (●).

表 4 KTL-IS 在不同浓度大鼠血浆和肝匀浆中的一级反应速率常数及半衰期($n=3$)
Tab. 4 First-order enzymatic rate constants and half lives of KTL-IS in rat plasma and rat liver homogenate($n=3$)

介质	$k_{\text{obs}}/\text{min}^{-1}$	$T_{1/2}/\text{min}$
20%大鼠血浆	0.28±0.04	2.45±0.37
50%大鼠血浆	0.51±0.09	1.40±0.29
80%大鼠血浆	0.63±0.12	1.10±0.23
10%大鼠肝匀浆	0.12±0.02	5.82±0.10
20%大鼠肝匀浆	0.15±0.01	4.77±0.13
40%大鼠肝匀浆	0.17±0.08	4.08±0.23

2.7.2 高湿试验 称取约 20 mg KTL-IS 于小烧杯中，室温下于盛有饱和 KNO₃ 溶液(相对湿度 92.5%)的密闭干燥器中避光放置 10 d，于第 5，10 天精密测定吸湿前后的质量差异，精密取样约 1 mg，样品用 1 mL 甲醇溶解并稀释至适宜浓度后注入 HPLC 测定 KTL-IS 含量，并与 0 d 的样品相比较。测定结果见表 5，试验结果表明 KTL-IS 在高湿条件下含量稳定，且无明显增重。

2.7.3 光照试验 称取约 20 mg KTL-IS 于小烧杯中，在照度(4 500±500)lx 下放置 10 d，于第 5，10 天观察样品外观，精密取样约 1 mg，样品用 1 mL 甲醇溶解并稀释至适宜浓度后注入 HPLC 测定 KTL-IS 含量，并与 0 d 的样品相比较。测定结果见表 5，试验结果表明 KTL-IS 在强光条件下含量明显下降。

表 5 KTL-IS 的原料稳定性($n=3$)
Tab. 5 Stability test of KTL-IS($n=3$)

因素	天数/d	外观	含量/%
高温	5	淡黄色油状液体	99.30±0.89
	10	淡黄色油状液体	98.94±1.88
高湿	5	淡黄色油状液体	99.61±0.04
	10	淡黄色油状液体	99.62±0.88
强光	5	黄色油状液体	83.97±2.12
	10	黄色油状液体	79.47±1.82

表 7 原辅料相容性试验中的剩余主药含量变化($n=3$)
Tab. 7 Remained contents of prodrug in drug-exipients compatibility test($n=3$)

序号	剩余主药含量/%					
	60 ℃		湿度(92.5±5)%		光照(4 500±500)lx	
	5 d	10 d	5 d	10 d	5 d	10 d
P1	99.30±0.89	98.94±1.88	99.61±0.04	99.62±0.88	83.97±2.12	79.47±1.82
P2	99.38±0.59	98.10±1.72	99.05±1.08	101.98±0.94	47.18±1.31	31.21±2.61
P3	98.73±0.54	97.84±1.34	99.14±1.78	98.51±2.43	45.20±3.28	30.19±1.67
P4	98.89±1.35	97.40±2.30	102.47±2.15	101.22±2.68	42.47±1.89	31.61±2.34
P5	98.37±2.07	98.23±1.14	100.17±1.02	99.63±2.00	42.27±1.15	31.34±3.07

结果表明，KTL-IS 在高温及高湿条件下稳定，而在强光照射下其稳定性降低。

2.8 原辅料相容性试验

对于用量较大的辅料，主药与辅料的比列选用 1：5，对于用量较小的辅料，主药与辅料的比列为 20：1。按表 6 精密称量 KTL-IS 及一定量的辅料并均匀混合，分别于高温(60 ℃)、高湿[RH (92.5±5)%]、强光(4 500±500)lx 条件下放样，于第 5，10 天后取样并用流动相稀释至适宜浓度，用 HPLC 测定 KTL-IS 的含量，与 0 d 样品相比较，计算剩余主药的含量变化。

表 6 KTL-IS 原辅料相容性试验配比表
Tab. 6 Ratio of KTL-IS and excipients in compatibility test

序号	处方组成	KTL-IS/mg	辅料/mg
P1	KTL-IS	5	0
P2	KTL-IS+大豆油	5	25
P3	KTL-IS+大豆油+磷脂	5	25，0.25
P4	KTL-IS+大豆油+磷脂+注射用甘油	5	25，0.25，0.25
P5	KTL-IS+大豆油+磷脂+注射用甘油+油酸钠	5	25，0.25，0.25，0.25

高温及高湿条件下各辅料与 KTL-IS 相容性良好，有关杂质含量无显著变化。而在强光条件下，KTL-IS 的含量显著降低，且辅料会极大加速 KTL-IS 的降解速度，与各辅料共同放置 10 d 后，KTL-IS 含量降低约为初始量的 30%，结果见表 7。

3 讨论

癌痛和术后痛等中度、重度急性疼痛给患者造成严重的生理和心理负担。KTL-T 作为一种缓解急性疼痛的有效药物，在临床使用中存在着需要频繁注射等顺应性问题^[11]，因此将其开发成长效镇痛剂型有较高的实用价值。部分化合物限于其脂溶性，在乳剂的油相中分配不理想，或者由于暴露的官能团容易对其他辅料稳定性造成影响，因而首先将其制成酯类前体药物以提高脂溶

性并覆盖原药的目标官能团, 再进行静脉乳剂的制剂化。例如将镇痛药物氟比洛芬制成氟比洛芬酯后, 再制备静脉注射乳剂(商品名: 凯纷®)。

为提高 KTL(Log P 1.84±0.03)的脂溶性, 增加其在油相中的溶解度, 降低 KTL 裸露羧基对脂肪乳成分稳定性可能造成的不利影响, 本实验首先将 KTL 制备成脂溶性更高的 KTL-IS 前体药物(Log P 3.95±0.03)。较大的 Log P 值使得 KTL-IS 能够与大豆油、中链甘油三酯以及橄榄油互溶, 也意味着该前药在水中的分配与原药相比更低, 理论上能使 KTL-IS 在静脉注射乳剂中获得更高的包封率^[12]。KTL-IS 可水解、酶解成其原药 KTL, 且降解反应符合一级反应动力学方程。水解动力学研究表明, KTL-IS 易被碱催化水解, 但在弱酸性条件下更稳定。然而, 较强的酸性影响油相及磷脂的化学稳定性, 也会削弱乳滴表面电荷, 导致乳剂物理稳定性降低^[13]。因此综合考虑 KTL-IS 性质及处方因素, 选择在 pH 6.2 缓冲液中进一步研究不同温度下 KTL-IS 的水解速率常数, 发现升温会降低 KTL-IS 的稳定性, 显示制备 KTL-IS 乳剂时须严格控制加热时间和温度, 并考虑使用冷却装置。KTL-IS 在大鼠空白血浆溶液和肝匀浆溶液中都表现出快速降解释放 KTL 特性, 表明其对大鼠血浆和肝脏水解酶敏感, 理论上在体内可以生物转化为其原药 KTL。原料稳定性试验结果表明, KTL-IS 在高温和高湿条件下较稳定, 在强光照射下稳定性降低, 表明 KTL-IS 制剂的保存应使用遮光材料。原辅料相容性研究表明, KTL-IS 在高温、高湿条件下, 与大豆油等乳剂成分的相容性良好, 但在光照条件下同样出现明显降解, 其规律与原料稳定性试验相同。

综上所述, KTL-IS 在溶解度、分配系数、降解规律、原料稳定性和原辅料相容性方面, 具备了将其制成静脉注射乳剂的初步条件, 为 KTL-IS 静脉注射乳剂的处方和工艺设计提供了理论依据。

REFERENCES

- [1] ROWE E, COOPER T E, MCNICOL E D. Ketorolac for postoperative pain in children [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 7(7). Doi:10.1002/14651858.cd012294.
- [2] YEE J P, KOSHIVER J E, ALLBON C, et al. Comparison of intramuscular ketorolac tromethamine and morphine sulfate for analgesia of pain after major surgery [J]. *Pharmacother: J Hum Pharmacol Drug Ther*, 1986, 6(5): 253-261.
- [3] U. S. Food and Drug Administration (FDA). TORADOL® ketorolac tromethamine tablets label [K/OL]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/019645s0191bl.pdf.
- [4] VACHA M E, HUANG W N, MANDO-VANDRICK J. The role of subcutaneous ketorolac for pain management [J]. *Hosp Pharm*, 2015, 50(2): 108-112.
- [5] XAVIER-JUNIOR F H, VAUTHIER C, MORAIS A R V, et al. Microemulsion systems containing bioactive natural oils: An overview on the state of the art [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2017, 43(5): 700-714.
- [6] WEI L J, MARASINI N, LI G, et al. Development of ligustrazine-loaded lipid emulsion: Formulation optimization, characterization and biodistribution [J]. *Int J Pharm*, 2012, 437(1-2): 203-212.
- [7] WANG K, LUO J, ZHENG L M, et al. Preoperative flurbiprofen axetil administration for acute postoperative pain: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Anesth*, 2017, 31(6): 852-860.
- [8] HÖRMANN K, ZIMMER A. Drug delivery and drug targeting with parenteral lipid nanoemulsions - A review [J]. *J Control Release*, 2016(223): 85-98.
- [9] SHIVENDU R, SHYAM M, RAGHVENDRA K M, et al. Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery [M]. Elsevier, 2018.
- [10] ZHEN B, LI G H, ZHEN L L, et al. Meta-analysis of single dose ketorolac on preemptive analgesia in perioperative period [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2019, 36(9): 1107-1114.
- [11] VADIVELU N, GOWDA A M, URMAN R D, et al. Ketorolac tromethamine-routes and clinical implications [J]. *Pain Pract*, 2015, 15(2): 175-193.
- [12] SUN B J, LUO C, CUI W P, et al. Chemotherapy agent-unsaturated fatty acid prodrugs and prodrug-nanoplatforams for cancer chemotherapy [J]. *J Control Release*, 2017(264): 145-159.
- [13] ASHRAFI B, TOOTOONCHI M H, BARDSLEY R, et al. Stable perfluorocarbon emulsions for the delivery of halogenated ether anesthetics [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018(172): 797-805.

收稿日期: 2019-09-25

(本文责编: 曹粤锋)