

双氯芬酸钠温敏凝胶剂的制备及其体外释放研究

施璐, 柳晓凤, 王宏, 何星品, 韦燕凤, 曹晓琴, 方振峰*

(江汉大学 医学院药理学系, 湖北 武汉 430056)

摘要: 制备双氯芬酸钠温敏凝胶剂并考察其体外释放特征。以双氯芬酸钠为主药, 泊洛沙姆407和泊洛沙姆188为凝胶材料, 聚乙二醇2000, 聚乙二醇4000和聚乙二醇6000为渗透促进剂, 冷溶法制备双氯芬酸钠温敏凝胶; 考察不同型号聚乙二醇、凝胶材料比例对胶凝温度的影响; 采用Franz扩散池透皮实验并利用UV法考察其体外释放规律。体外释放结果显示在胶凝温度分别为32、34、36℃环境下, 将双氯芬酸钠制备成添加聚乙二醇的温敏凝胶, 可显著增加药物溶出速率。

关键词: 双氯芬酸钠; 温敏凝胶; 聚乙二醇; 体外释放; 胶凝温度

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1673-0143(2018)06-0538-05

DOI: 10.16389/j.cnki.cn42-1737/n.2018.06.009

Preparation and *in vitro* Release of Diclofenac Sodium Thermosensitive Gel

SHI Lu, LIU Xiaofeng, WANG Hong, HE Xingpin, WEI Yanfeng,
CAO Xiaoqin, FANG Zhenfeng*

(Department of Pharmacy, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei, China)

Abstract: To prepare diclofenac sodium thermosensitive gel and investigate its release characteristics *in vitro*. The medicines were given with diclofenac sodium as main medicine, poloxamer 407 and poloxamer 188 as gel materials, polyethylene glycol 2000, polyethylene glycol 4000 and polyethylene glycol 6000 as osmosis promoter, the diclofenac sodium gel was prepared with cold cut method; the effects of different types of polyethylene glycol and proportion of gel materials on gelation temperature were investigated. In this paper, the percutaneous experiment of Franz diffusion pool and the UV method were used to investigate the releasing rule *in vitro*. The *in vitro* releasing results showed that with the gelation temperature at 32, 34, 36℃ environment, on preparation of diclofenac sodium into thermosensitive gel with addition of polyethylene glycol, the process could significantly increase the drug dissolution rate.

Key words: diclofenac sodium; thermosensitive gel; polyethylene glycol; *in vitro* release; gelation temperature

双氯芬酸钠(diclofenac sodium, DCF)为解热镇痛抗炎药物,是一种新型非甾体类药,主要用于镇痛、消炎、解热与抗风湿等病症^[1-2]。该药物口服吸收快,血浆半衰期短,达峰时间快,效果十分明显,但水溶性较差,对胃肠道有很强的刺激性,患者耐受性差,致使药物疗效降低,限制了该药在治疗骨关节肿痛方面的广泛使用^[3-4]。本研究将该药制成温敏凝胶剂进行局部外用给药,可减少胃肠道不良反应,避免首关消除,促进吸收,提高生物利用度^[5-6]。

收稿日期: 2018-05-24

基金项目: 湖北省教育厅指导性项目(B2017276)

作者简介: 施璐(1985—),女,讲师,博士,研究方向:新剂型与制备工艺。

*通讯作者: 方振峰(1980—),男,讲师,博士,研究方向:天然药物活性成分。E-mail: zhenfengfang@163.com

1 材料

1.1 仪器

ME104E 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(河南省予华仪器有限公司),UV-1780 紫外可见分光光度计(岛津(上海)仪器有限公司),RYJ-6B 药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

1.2 药品与材料

泊洛沙姆 188(Poloxamer188,批号:WPYG580B,德国 BASF 公司),泊洛沙姆 407(Poloxamer407,批号:11613027,阿拉丁试剂有限公司);氯化钠(批号:20150615,国药集团化学试剂有限公司);聚乙二醇 2000(批号:20140423),聚乙二醇 4000(批号:20150311),聚乙二醇 6000(批号:20161130),均为国药集团化学试剂有限公司产品;双氯芬酸钠(批号:C10029723,上海麦克林生化科技有限公司)。

2 方法

2.1 温敏凝胶的制备

采用冷溶法^[7],称取处方量 P407 加入适量蒸馏水,搅拌放入 4℃ 冰箱冷藏直至完全溶胀,加入处方量 P188、PEG 及双氯芬酸钠,补水至全量,搅拌混匀。

2.2 胶凝温度的测定

采用倒置法^[8],称取凝胶溶液适量置试管中,再将试管置于恒温加热磁力搅拌器中,缓慢升温,升温速率为 1℃/min,不时小幅度倾斜试管,当液体不流动时,温度即胶凝温度。

2.3 影响温敏凝胶胶凝温度的探究

2.3.1 不同 PEG 型号对胶凝温度的影响 按照表 1 的处方制备温敏凝胶,采用 2.2 项的方法测定胶凝温度。

2.3.2 温敏凝胶组成比例对胶凝温度的影响 按照表 2 的处方比例制备温敏凝胶,采用 2.2 项的方法测定胶凝温度。

2.4 温敏凝胶剂中双氯芬酸钠含量的测定^[9]

2.4.1 检测波长的选择 取双氯芬酸钠对照品溶液,双氯芬酸钠温敏凝胶及空白温敏凝胶适量,于 200~600 nm 波长范围内扫描。结果对照品和双氯芬酸钠温敏凝胶在 276 nm 波长处有最大吸收,空白温敏凝胶对双氯芬酸钠测定无干扰。因此确定 276 nm 波长为最适检测波长。

2.4.2 标准曲线的制备 精密称取双氯芬酸钠对照品 25 mg,置 100 mL 容量瓶中,加入生理盐水溶液,定容,摇匀,量取本溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置 50 mL 容量瓶中,加上述生理盐水溶液至刻度,摇匀,测量出各个浓度溶液的吸光度 A ,将 A 测定与浓度 C 进行回归,能够得到以下标准曲线: $y = 33.6990x + 0.0047$ ($R = 0.9998, n = 6$)。结果表明,双氯芬酸钠检测质量浓度线性范围为:0.0025~0.030 mg/mL。

2.4.3 精密度试验 取 2.4.1 项下双氯芬酸钠对照品溶液适量,连续进样测定 6 次,记录吸光度。结果双氯芬酸钠吸光度的 $RSD = 1.78%$ ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取 2.4.1 项下双氯芬酸钠对照品溶液适量,分别在 2、4、6、8、10、12 h 进样测定,记录吸光度,数据显示双氯芬酸钠的 $RSD = 2.04%$,表明对照品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 按对照品溶液制备方法,平行制备 5 份对照品溶液,分别进样测定双氯芬酸钠的量,其 $RSD = 1.89%$,结果表明本方法重复性良好。

2.4.6 回收率试验 精密量取双氯芬酸钠对照品溶液适量,配置成质量浓度分别为 5、10、20 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,每个质量浓度 3 份,测定 A 值,计算双氯芬酸钠的量,与加入量进行比较,计算回收率得 3 个质量浓度的平均回收率分别为 96.66%、98.57%、99.87%, $RSD = 1.61%$ 。

2.5 体外透皮实验

2.5.1 离体猪皮的制备 取猪皮,祛除猪毛,刮去皮下脂肪组织,使全部猪皮厚度均一。放置冰箱保存备用。

2.5.2 透皮实验方法^[9-10] 采用Franz扩散池进行透皮试验。分组实验,均固定猪皮在透皮扩散仪的扩散室与接受室之间,猪皮内侧朝向接受室,皮肤角质层朝向扩散室,使其紧密接触。在两组猪皮扩散室上分别覆盖双氯芬酸钠凝胶,均在接受室中注入生理盐水接收液,液面恰与皮肤内层接触,开动电磁搅拌器恒速搅拌并恒温,接收池体积为6.5 mL,有效扩散面积为2.4 cm²。分别在给药后2、4、6、8、10、12 h 取样置10 mL量瓶中。每次取样后均补加相同体积的新鲜接收液并排除接受室中的气泡。在波长为276 nm下,用生理盐水接收液归零,测量各个浓度吸光度,计算双氯芬酸钠的含量,并按以下公式计算累积渗透量 Q ,

$$Q = (C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot V_i) / S,$$

式中 C_n :第 n 个时间点取样测得的质量浓度(mg/mL); V :接受室容积(mL); $\sum_{i=1}^{n-1}$:为取样时药物累积量之和; C_i :第 i 个时间点取样测得的药物质量浓度(mg/mL); V_i :取样的体积(mL); S :有效透皮面积(cm²)。

3 结果

3.1 不同型号PEG对胶凝温度的影响

三种不同型号PEG对凝胶胶凝温度影响结果可见表1。结果表明,虽然添加PEG对胶凝温度有一定影响,且不同型号PEG的影响不同,但总体影响较小。

表1 不同型号的PEG对胶凝温度的影响

Tab. 1 Influence of different types of PEG on gelation temperature

试验号	处方组成/%							胶凝温度/°C
	双氯芬酸钠	P407	P188	蒸馏水	PEG2000	PEG4000	PEG6000	
1	1	17	1	80	1	0	0	31
2	1	17	1	80	0	1	0	32
3	1	17	1	80	0	0	1	32

3.2 温敏凝胶组成比例对胶凝温度的影响

本次实验研究了P188对温敏凝胶胶凝温度的影响,结果见表2。结果表明当P407含量一定时,在一定范围内,胶凝温度随P188的含量增大而增大,其原因可能是P188可参与P407胶束的形成,使体系中环氧树脂和聚氧乙烯的比值降低,胶凝温度升高。

表2 温敏凝胶组成比例对胶凝温度的影响

Tab. 2 Influence of thermosensitive gel composition on gelation temperature

试验号	处方组成/%							胶凝温度/°C
	双氯芬酸钠	P407	P188	蒸馏水	PEG2000	PEG4000	PEG6000	
1	1	17	1	80	1	0	0	31
2	1	17	2	79	1	0	0	32
3	1	17	3	78	1	0	0	33
4	1	17	4	77	1	0	0	34
5	1	17	5	76	1	0	0	36
6	1	17	1	80	0	1	0	32
7	1	17	2	79	0	1	0	34
8	1	17	3	78	0	1	0	35
9	1	17	4	77	0	1	0	36
10	1	17	1	80	0	0	1	32
11	1	17	2	79	0	0	1	34
12	1	17	3	78	0	0	1	36

3.3 体外透皮实验结果

分别取胶凝温度为32、34、36℃的温敏凝胶进行透皮实验,不同处方在不同温度下的Q12h见表3。数据显示,添加不同型号PEG的处方在实验的任何温度下,体外透皮量均比不添加PEG的温敏凝胶处方高,说明在温敏凝胶处方中添加PEG2000、PEG4000或PEG6000,均能提高温敏凝胶的经皮渗透效果,从而明显提高药物生物利用度。体外经皮渗透曲线见图1、图2和图3。

表3 不同处方在不同温度下的Q12h
Tab. 3 Q12h of different prescriptions at different temperatures

温度/℃	添加 PEG2000	添加 PEG4000	添加 PEG6000	不添加 PEG
32	0.129 8	0.272 1	0.398 6	0.120 8
34	0.253 2	0.232 7	0.218 1	0.201 3
36	0.252 8	0.589 9	0.295 7	0.236 9

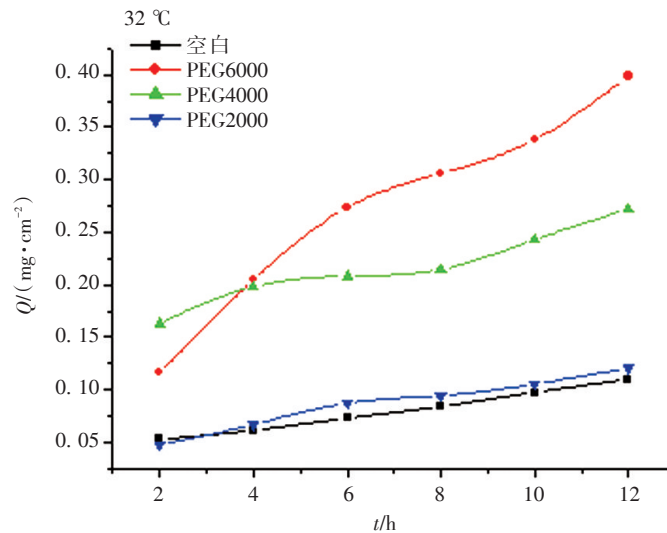


图1 胶凝温度为32℃的温敏凝胶透皮结果

Fig. 1 Percutaneous results at 32 °C gelling temperature

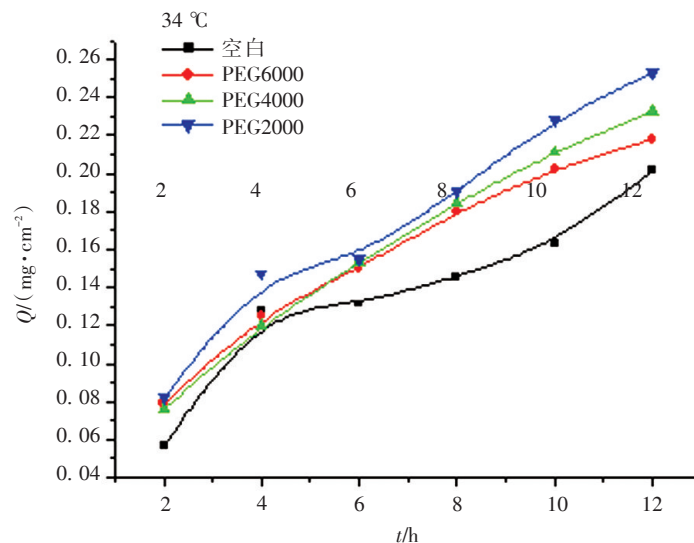


图2 胶凝温度为34℃的温敏凝胶透皮结果

Fig. 2 Percutaneous results at 34 °C gelling temperature

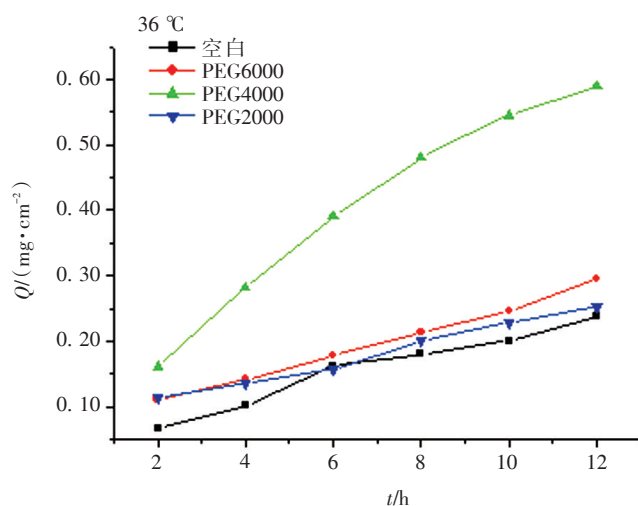


图3 胶凝温度为36 °C的温敏凝胶透皮结果

Fig. 3 Percutaneous results at 36 °C gelling temperature

4 讨论

温敏凝胶剂是一种新型的现代给药系统,制剂的关键在于确定适宜的胶凝温度。本实验以P188与P407作为温敏材料,结果也证实当P407比例不变时,在一定范围内,随着P188的比例增大,胶凝温度升高。

聚乙二醇是一类亲水性基质,其性质稳定,对皮肤无刺激性,具有润滑性,可用于凝胶剂,且无毒、无味,与药物、基质、皮肤有良好的相容性,可作为渗透促进剂,可逆地改变角质层的屏障功能,又不损伤活性细胞^[11],用在凝胶制剂中可以提高药物透皮吸收率。本研究采取与P407和P188熔点相似的PEG2000、PEG4000、PEG6000作为凝胶辅料进行体外透皮实验。结果证实,添加不同型号聚乙二醇的双氯芬酸钠温敏凝胶剂在不同温度下的透皮量均比未加聚乙二醇的高,说明处方中添加聚乙二醇制备双氯芬酸钠温敏凝胶能有效提高双氯芬酸钠的经皮渗透效果。本研究可为温敏凝胶载药系统的制备方法改进提供一定参考。

参考文献 (References)

- [1] 谢涛,刘汉清,张明,等. 黄葵缓释片的研制及体外释放度的考察[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(2): 50-53.
- [2] 甘勇军,吴禄春,方大树,等. 罗格列酮肠溶片的体外释放特性[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(14): 1159-1161.
- [3] 乔明艳. 国内双氯芬酸钠制剂开发状况[J]. 实用药物与临床, 2010, 13(5): 379-380.
- [4] 苏娜,徐娜,唐尧. 双氯芬酸钠致不良反应的文献分析[J]. 中国药业, 2008, 17(17): 44-45.
- [5] 李欣宇,肖磊,朱照静. 地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶释药与溶蚀行为的影响因素考察[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(2): 142-146.
- [6] 陈美婉,余思琴,杨志文,等. 纳米银温敏喷雾凝胶的毒性试验研究[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 174-178.
- [7] PISAL S S, PARADKAR A R, MAHADIK K R, et al. Pluronic gels for nasal delivery of Vitamin B12. Part I: preformulation study[J]. Int J Pharm, 2004, 270(1): 37-45.
- [8] URREHMAN T, TAVELIN S, GRÖBNER G. Chitosan in situ gelation for improved drug loading and retention in poloxamer407 gels[J]. Int J Pharm, 2011, 409(1): 19-29.
- [9] GAUDIN K, BARBAUD A, BOYER C, et al. In vitro release and stability of an artesunate rectal gel suitable for pediatric use [J]. Int J Pharm, 2008, 353(1): 1-7.
- [10] 朱铁梁,胡霞,张莉,等. 黄芩苷温敏凝胶的处方筛选及体外释放研究[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2164-2167.
- [11] 张伟,刘琳婕,何仲贵. 聚乙二醇在药物制剂中的应用[J]. 中国药剂学杂志(网络版), 2007, 5(2): 67-73.

(责任编辑:范建凤)