

布洛芬纳米微粉的制备、表征及体外透皮性研究^Δ

邓怡平*, 赵修华#, 祖元刚, 王 璐(东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R943;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)01-0099-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.01.26

摘要 目的:制备布洛芬纳米微粉并对其进行表征,考察其体外透皮作用。方法:采用乳化法,以氯仿-乙醇(7:3, V/V)为有机相、超纯水为水相、聚山梨酯80为表面活性剂制备布洛芬纳米微粉。利用激光粒度分析方法、扫描电镜、傅里叶变换红外光谱、X射线衍射、差示扫描对制备的布洛芬纳米微粉进行表征。比较布洛芬纳米微粉与原料药的饱和溶解度、体外溶出度和体外透皮率。结果:确定的处方及制备工艺为聚山梨酯80 5 mg/mL、水相-有机相体积比40:1、布洛芬质量浓度250 mg/mL、匀浆速度5 000 r/min、匀浆时间2 min。所制布洛芬纳米微粉为多孔疏松珊瑚状,其化学结构未改变,由原来的晶体态变为无定形态,粒径为179.6 nm,载药量为8.99%;其饱和溶解度、溶出度和透皮率分别是原料药的148、1.23、4.08倍。结论:所制布洛芬纳米微粉具有良好的水溶性和体外透皮性。

关键词 布洛芬;乳化法;纳米微粉;表征;透皮

Preparation, Characterization and Transdermal Ability Study *in vitro* of Ibuprofen Nano-powder

DENG Yiping, ZHAO Xiuhua, ZU Yuangang, WANG Lu (Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare and characterize Ibuprofen (IBU) nano-powder, and to investigate its transdermal ability *in vitro*. METHODS: Using chloroform-ethanol (7:3, V/V) as organic phase, deionized water as aqueous phase and polysorbate 80 as surfactant, the emulsification method was used to prepare IBU nano-powder. Laser granulometric analysis, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC) were used to characterize IBU nano-powder. IBU nano-powder was compared with bulk drug in respects of saturation solubility, dissolution rate and transdermal rate *in vitro*. RESULTS: The optimum condition was as follows that the concentration of polysorbate 80 was 5 mg/mL; the volume ratio of water phase-organic phase was 40:1; the concentration of IBU was 250 mg/mL; homogenate speed was 5 000 r/min; homogenate time was 2 min. Prepared IBU nano-powder was polyporous crumbly coralliform, and its chemical structure kept stable; the nano-powder changed from crystal to amorphous state; the particle size was 179.6 nm, and drug-loading amount was 8.99%; saturation solubility, dissolution rate and transdermal rate of IBU nano-powder were 148, 1.23 and 4.08 times of bulk drug. CONCLUSIONS: The prepared IBU nano-powder shows good water-solubility and percutaneous permeability.

KEYWORDS Ibuprofen; Emulsion method; Nano-powder; Characterization; Transdermal

布洛芬(异丁苯丙醇, Ibuprofen)是一类非甾体抗炎药,具有抗炎、镇痛、解热作用。临床上用于轻到中度的偏头痛发作期治疗和预防性治疗,及各类关节和肌肉病变,同时也用于躯体疼痛、手术及外伤后的镇痛^[1-3]。但是,由于布洛芬水溶性差,而且口服时会引起溃疡、出血等胃肠道反应^[4-6],导致其应用受到了限制。笔者希望通过将布洛芬制备成粒径小的纳米微粉来解决其水溶性差的问题。本研究采用乳化法制备布洛芬纳米微粉,并

对其进行表征,比较其与布洛芬原料药的饱和溶解度、体外溶出度和体外透皮率。

1 材料

1.1 仪器

Zeta Potential Analyzer 激光粒度仪(美国 Brookhaven 公司); Waters 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Shimadzu I Raffinity-1 傅里叶红外光谱(FT-IR)仪(日本 Shimadzu 公司); S4800 扫描电镜(SEM, 日本 Hitachi 公司);热重力分析仪(美国 PerkinElmer 公司); Philips X射线衍射(XRD)仪(荷兰 Philips 公司);透皮扩散仪(天津矽新科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

布洛芬原料药(山东新华制药厂,批号:12083626,纯

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.21473023)

* 硕士研究生。研究方向:植物化学与植物药。E-mail: 774098-918@qq.com

通信作者:研究员,博士。研究方向:植物化学与植物药。电话:0451-82191517。E-mail: xiuhuazhao@nefu.edu.cn

度: $\geq 98\%$); 布洛芬标准品(英国 Alfa Aesar 公司, 批号: C7520A, 纯度: 99%); 聚山梨酯 80(天津恒兴化学试剂公司, 分析纯); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为去离子水。

1.3 动物

SD 大鼠, ♀, 体质量为 $240\sim 260\text{ g}$, 购于哈尔滨医科大学动物实验中心, 许可证号为 SCXK(黑)2013-1-1。

2 方法与结果

2.1 鼠皮的制备

将大鼠断颈处死, 剃掉腹毛, 剥离腹部皮肤, 用 1% 胰蛋白酶溶液(用 0.5% NaHCO_3 溶液制备)于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴处理 3 h , 去除皮下结缔组织和蛋白。将处理后的鼠皮用正己烷漂洗 $5\sim 30\text{ s}$, 然后用生理盐水冲洗多次后, 用滤纸将生理盐水吸干, 备用。

2.2 含量的测定

参考文献[7], 采用高效液相色谱法测定布洛芬的含量。色谱柱为 Diamonsil C_{18} ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相为甲醇- (0.05 mol/L) KH_2PO_4 (用 25% H_3PO_4 调 pH 至 3), 流速为 1 mL/min ; 柱温为 $50\text{ }^\circ\text{C}$; 进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$; 检测波长为 220 nm 。该色谱条件下, 布洛芬的出峰时间为 11.5 min , 其方法学考察结果均符合相关规定, 其中回归方程为 $y(\text{峰面积})=40\ 515\ 098.91x(\text{质量浓度})+234\ 309.75$ ($r^2=0.999\ 9$)。

2.3 布洛芬纳米微粉的制备

称取一定量的聚山梨酯 80 溶于一定量的去离子水中, 作为水相; 称取一定量的布洛芬溶于一定体积的氯仿-无水乙醇 ($8:2$) 体系中, 作为有机相; 将二者混合的同时按一定的转速匀浆一定时间, 制成混悬液; 最后, 将混合物放入 100 mL 旋瓶中进行旋转蒸发 ($40\text{ }^\circ\text{C}, 30\text{ min}$), $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 预冻 2 h , 转入冷冻干燥机内进行冷冻干燥, 制得布洛芬纳米微粉。

2.4 单因素试验

以粒径为指标, 对纳米微粉影响较大的因素(聚山梨酯 80 质量浓度、水相-有机相体积比、布洛芬质量浓度、匀浆速度、匀浆时间)进行单因素试验。以上因素的水平分别设为: 聚山梨酯 80 质量浓度为 $1, 3, 5, 7, 9\text{ mg/mL}$, 水相-有机相体积比为 $10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1$, 布洛芬质量浓度为 $100, 150, 200, 250, 300\text{ mg/mL}$, 匀浆速度为 $3\ 000, 4\ 000, 5\ 000, 6\ 000, 7\ 000\text{ r/min}$, 匀浆时间为 $2, 3, 4, 5, 6\text{ min}$, 每个因素重复 3 次。结果确定聚山梨酯 80 质量浓度为 5 mg/mL , 水相-有机相体积比为 $40:1$, 布洛芬质量浓度为 250 mg/mL , 匀浆速度为 $5\ 000\text{ r/min}$, 匀浆时间为 2 min , 冻干保护剂甘露醇用量为布洛芬投药量的 5 倍。制备的布洛芬混悬液的平均粒径为 34.8 nm , 冻干后所得布洛芬纳米微粉的平均粒径为

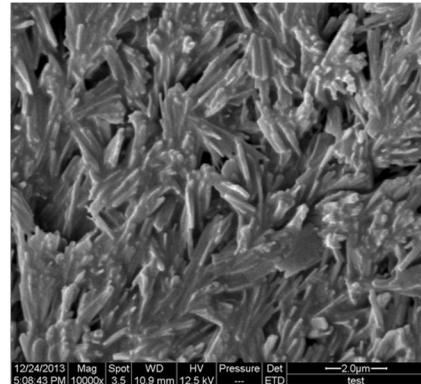
179.6 nm 。

2.5 布洛芬纳米微粉的表征

2.5.1 SEM SEM 观察布洛芬原料药和布洛芬纳米微粉。结果显示, 布洛芬原料药呈粒径为 $5\sim 50\text{ }\mu\text{m}$ 的长方形结构晶体; 布洛芬纳米微粉呈多孔疏松的珊瑚状, 其直径约为 180 nm 。由于微粉中存在聚山梨酯 80 和甘露醇, 布洛芬被辅料包被后呈现多孔疏松的珊瑚状, 其疏松多孔的结构有助于提高其水溶性, 并且可以提高其溶于水时的分散速度。二者 SEM 图见图 1。



布洛芬原料药



布洛芬纳米微粉

图 1 SEM 图

Fig 1 SEM images

2.5.2 FT-IR 将布洛芬原料药、布洛芬纳米微粉和甘露醇分别与溴化钾粉末按照 1% 的含量混合研磨后压制成片, 在 $4\ 000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内进行 FT-IR 分析, 解析度为 4 cm^{-1} 。结果显示, 布洛芬纳米微粉的吸收峰与布洛芬原料药和甘露醇的吸收峰位置重合, 提示布洛芬纳米微粉在制备过程中的化学结构没有发生变化, 其与布洛芬原料药的性质差异是由于其添加了甘露醇导致的。三者 FT-IR 图见图 2。

2.5.3 XRD 采用 XRD 分析布洛芬原料药、甘露醇、布洛芬纳米微粉、布洛芬原料药和甘露醇的物理混合物, 扫描步长为 0.02° , 扫描范围为 $5\sim 50^\circ$, 电压为 40 kV , 电流为 30 mA 。结果显示, 布洛芬原料药为晶体状态, 在 2θ 为 $6.16^\circ, 12.25^\circ, 16.70^\circ, 19.57^\circ, 20.27^\circ, 22.43^\circ$ 处均有明显的吸收峰; 甘露醇为晶体状态, 在 2θ 为 23.5° 、

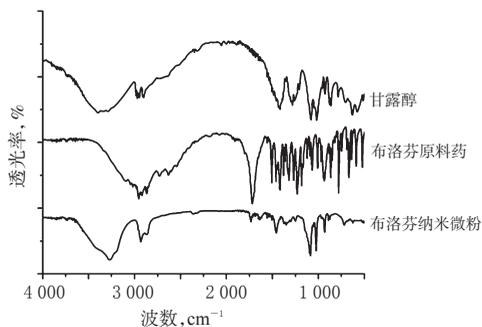


图2 FT-IR图

Fig 2 FT-IR spectra

18.86°处有极强的吸收峰;二者的物理混合物并没有改变其晶体状态,在其相同的位置具有对应的衍射峰。而布洛芬纳米微粉的衍射峰相对于布洛芬原料药来说大大减小,提示布洛芬在纳米微粉中呈无定形态或低结晶态,相对于布洛芬原料药,其溶出速率和溶解度可能会大大提高。四者XRD图见图3。

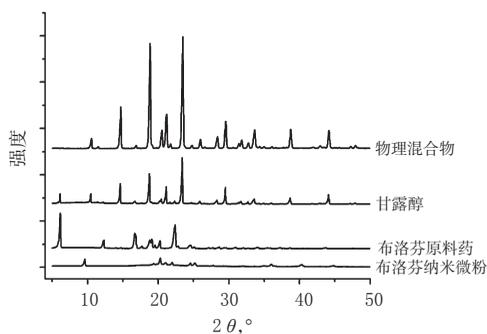


图3 XRD图

Fig 3 XRD spectra

2.5.4 DSC 采用DSC分析布洛芬原料药、甘露醇、布洛芬纳米微粉,温度为20~250℃,升温速度为10℃/min。结果显示,布洛芬原料药在75.1~88.18℃之间具有明显的吸收峰,甘露醇在159.64~170.49℃之间具有明显的吸收峰,其峰形均表现出明显的晶体特征。而布洛芬纳米微粉在布洛芬原料药所在的吸收峰位置无明显吸收峰,其吸收峰位置与甘露醇吸收峰位置相一致。这提示布洛芬在布洛芬纳米微粉中呈无定形态出现,而部分甘露醇在布洛芬纳米微粉中呈结晶态存在。三者DSC图见图4。

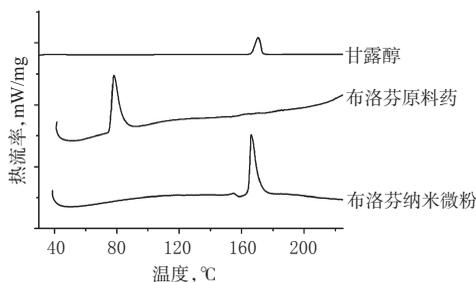


图4 DSC图

Fig 4 DSC spectra

2.6 载药量的测定

准确称取布洛芬纳米微粉10 mg,用甲醇溶解并定容至10 mL,超声5 min后10 000 r/min(离心半径为13.5 cm,下同)离心10 min,取上清10 μL进样测定。按峰面积计算布洛芬质量浓度和载药量,载药量(%)=布洛芬质量浓度×10 mL/布洛芬加入量×100%。结果显示,布洛芬纳米微粉中布洛芬的载药量为8.99%。

2.7 饱和溶解度的测定

将布洛芬原料药20 mg、布洛芬纳米微粉200 mg分别加入0.2 mol/L的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)5 mL中,在37℃下以100 r/min搅拌48 h,10 000 r/min离心10 min,取上清加入9倍体积甲醇,重复混匀后10 000 r/min离心10 min,取上清10 μL进样,测定布洛芬的浓度。结果显示,二者饱和溶解度分别为17.381、0.117 mg/mL。

2.8 体外溶出度的测定

采用浆法测定布洛芬原料药和布洛芬纳米微粉的溶出度。分别称取布洛芬原料药692 mg、布洛芬纳米微粉7.669 g、布洛芬原料药和辅料的物理混合物(含布洛芬原料药692 mg)分别放入透析袋中,加入5 mL PBS。以PBS 200 mL作为溶出介质,搅拌速度设为100 r/min,溶液温度设为37℃。分别于5、10、15、30、45、60、90、120、180、270、360、480 min时取样5 mL,同时补充等量等温的溶出介质。将溶出液10 000 r/min离心10 min,取上清10 μL进样测定布洛芬的浓度,绘制溶出曲线,见图5。

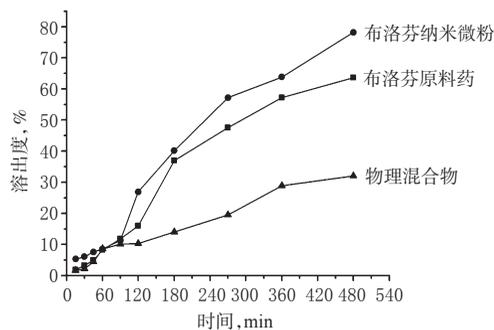


图5 3种样品的溶出曲线

Fig 5 Dissolution curves of 3 kinds of sample

由图5可知,在相同条件下,布洛芬纳米微粉的溶出度最高,其次是布洛芬原料药,物理混合物最低;当溶出时间达到480 min时,布洛芬纳米微粉、原料药和物理混合物的累积溶出度分别为78.14%、63.61%、32.05%。这提示制备的布洛芬纳米微粉在溶出速度和溶出度方面均优于布洛芬原料药,且单纯加入辅料对布洛芬溶出度的改善并无效果。

2.9 体外透皮率的测定

将透皮扩散仪内加满水预热至37℃。取“2.1”项下鼠皮表面向上,夹在供给室与接收室之间,接收室内径

为9 mm,接收室内放入小转子,并分别在接收室内加入PBS(0.2 mol/L,pH 7.4)5 ml作为接收液。制备含有1%氮酮、布洛芬质量浓度为4 mg/mL的布洛芬纳米微粉溶液、布洛芬原料药混悬液和布洛芬原料药与辅料物理混合物的混悬液。设搅拌速度为100 r/min、温度为37 ℃,分别于5、15、30、60、90、120、180、270、360 min时取样600 μL,并补充等量等温接收液。将取出的接收液10 000 r/min离心10 min,取上清10 μL进样测定布洛芬的质量浓度,绘制透皮曲线,见图6。

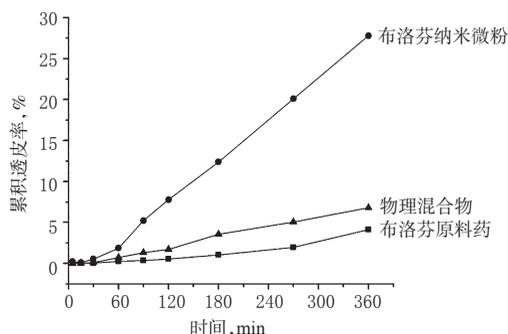


图6 3种样品的透皮曲线

Fig 6 Transdermal curves of 3 kinds of sample

由图6可知,在相同条件下,布洛芬纳米微粉的透皮率远大于布洛芬原料药和物理混合物;透皮时间达360 min时,布洛芬纳米微粉的累积透皮率为27.25%,而布洛芬原料药与物理混合物的累积透皮率分别为4.13%和6.80%。这提示低结晶度和小粒径的药物相对于结晶的原料药来说具有更高的溶解速度和更好的透皮率,并可能具有更高的生物活性。

3 讨论

药物微粉化技术主要包括机械粉碎法、沉淀法、超临界流体技术以及乳化法。机械粉碎法是最常用的药物微粉化方法,但是该方法能耗大、效率低,且制备出的微粉形态和粒径大小分布不均匀^[8]。超临界流体技术制备微粉时存在着设备投资大、成本高、产率低及难以工业化等缺点^[9-10]。笔者前期采用沉淀法^[11]制备布洛芬纳米粒时发现,其存在粒径较大、粒度分散不均匀的问题。乳化法是将一种液体以极微小液滴均匀地分散在互不相溶的另一种液体中,目前,通过该方法已经成功制备了多种难溶性药物的纳米制剂^[12-14]。

在本研究中,笔者通过乳化法成功制备出了平均粒径为179 nm的布洛芬纳米微粉,改善了其水溶性差的缺点。其中SEM图像显示布洛芬原粉经过处理后形成了易溶的疏松多孔结构;FT-IR、XRD、DSC分析结果则表明布洛芬原料药经过处理后由晶态变为了无定形态,而

其化学结构并未发生改变,但其体外溶出度和透皮率均得到了提高。

参考文献

- [1] Algieri C, Drioli E, Donato L. Development of mixed matrix membranes for controlled release of ibuprofen[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 128(1): 754-760.
- [2] 李海刚,陈香,郭绍芬,等.右旋布洛芬缓释微丸的制备及其释药行为分析[J]. *中国药房*, 2016, 27(1): 95-97.
- [3] 王玉杰,胡剑,赵凯.布洛芬混悬液口服治疗儿童急性发热退热的疗效观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2013, 6(7C): 47-48.
- [4] Wang JJ, Dai DY, Qiu QQ, et al. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic effects of synthesized derivatives of ibuprofen[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2015, 85(5): 623-632.
- [5] 杨国瑛,阮淑芳.儿童使用布洛芬致不良反应15例回顾性分析[J]. *中国药房*, 2014, 25(8): 727-728.
- [6] 周晓梅,兰玉梅.布洛芬的不良反应33例文献分析[J]. *中国医药科学*, 2013, 3(9): 76-77.
- [7] 张莉,齐刚,朱辉.布洛芬透皮吸收制剂的家兔体内药代动力学研究[J]. *中国药学杂志*, 2000, 35(3): 47-49.
- [8] 赵修华,刘影,王卫国,等.微粉化反式肉桂酸的反溶剂重结晶法制备与表征[J]. *中草药*, 2014, 45(15): 2165-2171.
- [9] 刘楠,王卫京,赵启成,等.利用超临界CO₂制备聚合物载药微粒的研究进展[J]. *化工新型材料*, 2015, 43(10): 212-214, 217.
- [10] 刘克.超临界二氧化碳技术制备纳米药物颗粒的研究[D].北京:北京化工大学, 2015.
- [11] 闫俊锋.布洛芬微粉化的研究[D].天津:天津大学, 2010.
- [12] Li Y, Zhao XH, Zu YG, et al. Preparation and characterization of paclitaxel nanosuspension using novel emulsification method by combining high speed homogenizer and high pressure homogenization[J]. *Int J Pharm*, 2015, 490(1/2): 324-333.
- [13] Zu YG, Meng L, Zhao XH, et al. Preparation of 10-hydroxycamptothecin-loaded glycyrrhizic acid-conjugated bovine serum albumin nanoparticles for hepatocellular carcinoma-targeted drug delivery[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013; 10: 2147-IJN.S40493.
- [14] 肖志方.美洛昔康固体脂质纳米粒的制备及体外透皮研究[J]. *中国药师*, 2015, 18(9): 1512-1515.

(收稿日期:2016-04-10 修回日期:2016-06-07)

(编辑:邹丽娟)