

氟苯尼考 β -环糊精包合物中试产品的质量评价

胡帅, 李凌峰, 李灵娟, 袁富威 (河南牧翔动物药业有限公司, 河南郑州 451164)

摘要 [目的]对氟苯尼考 β -环糊精包合物中试产品进行质量评价, 验证中试工艺的可行性。[方法]采用超声波-离心喷雾干燥中试生产工艺, 以 β -环糊精为包合材料制备包合物, 通过薄层色谱法、X-射线粉末衍射法、高效液相色谱法对氟苯尼考 β -环糊精包合物进行质量评价。[结果]采用超声波-离心喷雾干燥法制备的产物为 β -环糊精包合物, 收率为 98.2%, 包合率为 95.1%。[结论]采用该生产工艺制备的 β -环糊精包合物收率和包合率较高, 工艺可行性高, 可扩大生产。

关键词 氟苯尼考; β -环糊精; 包合物; 超声波-离心喷雾干燥法

中图分类号 S 859.79⁺6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)24-0057-03

Quality Evaluation of the Pilot Products of Florfenicol β -cyclodextrin Inclusion Complex

HU Shuai, LI Ling-feng, LI Ling-juan et al (Henan Muxiang Veterinary Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 451164)

Abstract [Objective] To make quality evaluation of the pilot products of florfenicol β -cyclodextrin inclusion complex and verify the feasibility of pilot technology. [Method] Using ultrasonic and centrifugal spray drying pilot technology, the inclusion compound was prepared with β -cyclodextrin as inclusion material. The quality of florfenicol β -cyclodextrin inclusion complex was evaluated by thin-layer chromatography (TLC), X-ray powder diffraction (XRD), and high-performance liquid chromatography (HPLC). [Result] The products prepared by ultrasonic and centrifugal spray drying method were florfenicol β -cyclodextrin inclusion complex. The yield and inclusion rate were 98.2% and 95.1% respectively. [Conclusion] The inclusion compound with better yield and inclusion rate was obtained by ultrasonic and centrifugal spray drying method. This process had high feasibility and could be expanded for production.

Key words Florfenicol; β -cyclodextrin; Inclusion complex; Ultrasonic and centrifugal spray drying method

氟苯尼考(flورfenicol)为酰胺醇类动物专用广谱抗生素, 其抗菌活性明显优于氯霉素和甲砒霉素。目前该药在兽医临床上应用非常广泛, 但该药难溶于水, 口服生物利用度很低。因此, 如何通过制剂技术提高该药的溶解度及溶出速率对于氟苯尼考的临床应用具有重要意义。

自从 1903 年首次从发酵液成功提取出 β -环糊精以来, 研究人员在环糊精的制备、性质和应用等方面取得了巨大的进展。特别是近年来, 环糊精及其衍生物在药学中的应用引起了研究人员的极大兴趣。药物环糊精包合物在提高药物的溶解度、溶出速度、生物利用度等方面显示出独特的性能和应用价值^[1]。

关于氟苯尼考 β -环糊精包合物在实验室研究方面已有一些报道, 如采用饱和溶液法^[2-6]和超声波法^[7]制备出氟苯尼考 β -环糊精包合物, 但仍然存在以下问题: 包合物评价体系不完善、包合率测定方法不恰当、不能综合评价氟苯尼考 β -环糊精包合物。因此, 有必要建立一种完善的氟苯尼考 β -环糊精的评价体系, 来指导氟苯尼考 β -环糊精包合物的中试转化。笔者采用超声波-离心喷雾干燥中试生产工艺, 以 β -环糊精为包合材料制备包合物, 通过薄层色谱法、X-射线粉末衍射法、高效液相色谱法对氟苯尼考 β -环糊精包合物进行质量评价。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料。氟苯尼考对照品(中国兽药药品监察所); 氟苯尼考(浙江康牧药业有限公司); β -环糊精(山东新大生物科技有限公司); 溴化钾(光谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司)。

作者简介 胡帅(1985—), 男, 河南驻马店人, 兽医师, 硕士, 从事新兽药研发工作。

收稿日期 2018-05-07

1.1.2 仪器。1206 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司); LPG300 高速离心喷雾干燥机(无锡市能达干燥设备有限公司); X 射线衍射仪 D8 FOCUS(德国布鲁克公司); Good-See 薄层色谱成像仪(上海科哲生化科技有限公司); KC7000W 超声波机(济宁科源超声波设备有限公司)。

1.2 氟苯尼考含量的测定 采用高效液相色谱法^[8]测定氟苯尼考含量。用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-水-冰醋酸(100:197:3)为流动相; 检测波长为 224 nm; 取样品适量, 精密称定, 加入流动相溶解并定量稀释成每毫升约含 50 μ g 的溶液, 作为供试品溶液, 精密量取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取氟苯尼考对照品, 采用相同方法测定。采用外标法, 根据峰面积计算氟苯尼考含量。

1.3 氟苯尼考 β -环糊精包合物鉴别

1.3.1 薄层色谱法。取样品约 1 g, 置于烧杯中, 加入 50 mL 无水乙醇, 超声 10 s 后离心弃去上清, 将沉淀溶解后再加入 50 mL 无水乙醇, 重复上述操作, 重复 2 次。收集沉淀物, 于 60 $^{\circ}$ C 下烘干。取包合物烘干物适量(约相当于氟苯尼考 5 mg), 置于 2 mL 离心管中, 加入 1 mL 水使其溶解, 得到供试品溶液 A; 采用相同方法制得物理混合物烘干物, 加入流动相溶解得到溶液 B。取氟苯尼考对照品适量, 加入甲醇制成 10 mg/mL 氟苯尼考溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 A、B 溶液各 2 μ L, 对照品溶液 1 μ L 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 板上, 以氯仿-甲醇-乙酸乙酯-水(15:6:15:1)为展开剂, 展开后晾干, 置于紫外灯(GF₂₅₄)下检视。供试品溶液 A 所显示斑点位置应与对照品相同, 供试品溶液 B 不显示斑点。

1.3.2 X-射线粉末衍射法^[9]。取供试品, 采用 X-射线粉末衍射法分析。试验条件如下: 辐射源 CuK α , 管电压 40 kV, 管电流 60 mA; 入射狭缝 0.6 mm, 索拉狭缝 4 $^{\circ}$; 扫描速度 0.2 s/step; 扫描步长 0.02 $^{\circ}$ 。

1.4 氟苯尼考 β -环糊精收率和包合率的测定

1.4.1 氟苯尼考 β -环糊精收率的测定。按照以下公式计算氟苯尼考 β -环糊精的收率:

$$\text{收率} = \frac{M_{\text{氟苯尼考-}\beta\text{-环糊精产量}}}{M_{\text{氟苯尼考投药量}} + M_{\beta\text{-环糊精投药量}}} \times 100\% \quad (1)$$

1.4.2 氟苯尼考 β -环糊精包合率的测定。取制得的氟苯尼考 β -环糊精包合物,按照“1.2”的方法进行含量测定,得到总的氟苯尼考含量 $C_{\text{总}}$ 。另取氟苯尼考 β -环糊精包合物1 g,加入50 mL无水乙醇,超声10 s后离心弃去上清,将沉淀溶解后再加入50 mL无水乙醇,重复上述操作,重复2次。收集沉淀物,置于60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下烘干,按照“1.2”的方法测定烘干物的含量,得到包合的氟苯尼考含量 $C_{\text{包合}}$ 。按照以下公式计算氟苯尼考 β -环糊精的包合率:

$$\text{包合率} = \frac{C_{\text{包合}}}{C_{\text{总}}} \times 100\% \quad (2)$$

2 结果与分析

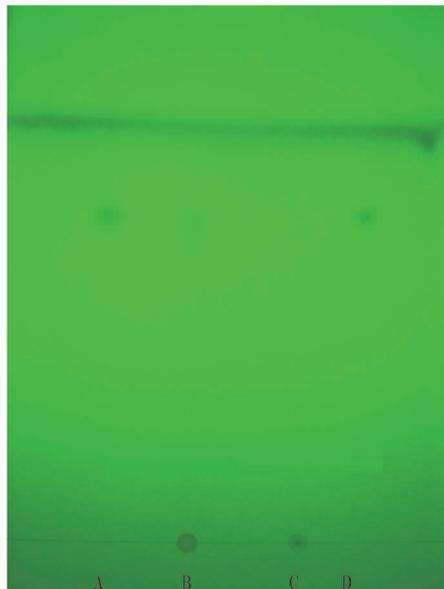
2.1 氟苯尼考 β -环糊精包合物的制备 参照笔者发明专利^[10]中的制备方法进行中试,分3批进行。称取氟苯尼考40 kg和 β -环糊精160 kg,加入反应釜中,加入纯化水600 kg,于100 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温加热溶解,得到料液A;使用超声仪,以50 Hz的频率对料液A超声2 h,得到料液B;使用LPG型高速离心干燥机对料液B进行离心喷雾干燥,干燥产物即为氟苯尼考 β -环糊精包合物,干燥参数设置如下:离心盘转速22 000 r/min,进风温度150 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 氟苯尼考 β -环糊精包合物鉴别结果

2.2.1 薄层色谱法鉴别结果。从图1可以看出,包合物中的氟苯尼考由于被包合而未能被洗液洗去,包合物供试品(图1B)与对照品(图1A、D)相同位置可见清晰斑点,分离效果

好;氟苯尼考与 β -环糊精混合物(图1C)中游离的氟苯尼考全部被洗去,故不显示斑点。此鉴别方法不仅鉴别出氟苯尼考,而且能将包合物与混合物区分开来。

2.2.2 X-射线粉末衍射法鉴别结果。氟苯尼考、 β -环糊精、氟苯尼考 β -环糊精混合物、氟苯尼考 β -环糊精包合物的X-射线衍射图分别见图2。从图2可以看出,氟苯尼考 β -



注:A、D.氟苯尼考对照品;B.氟苯尼考 β -环糊精包合物;C.氟苯尼考与 β -环糊精混合物

Note:A, D. Florfenicol reference substance; B. Florfenicol β -cyclodextrin inclusion complex; C. Mixture of florfenicol and β -cyclodextrin inclusion

图1 氟苯尼考包合物薄层鉴别图

Fig.1 TLC identification results of florfenicol inclusion complex

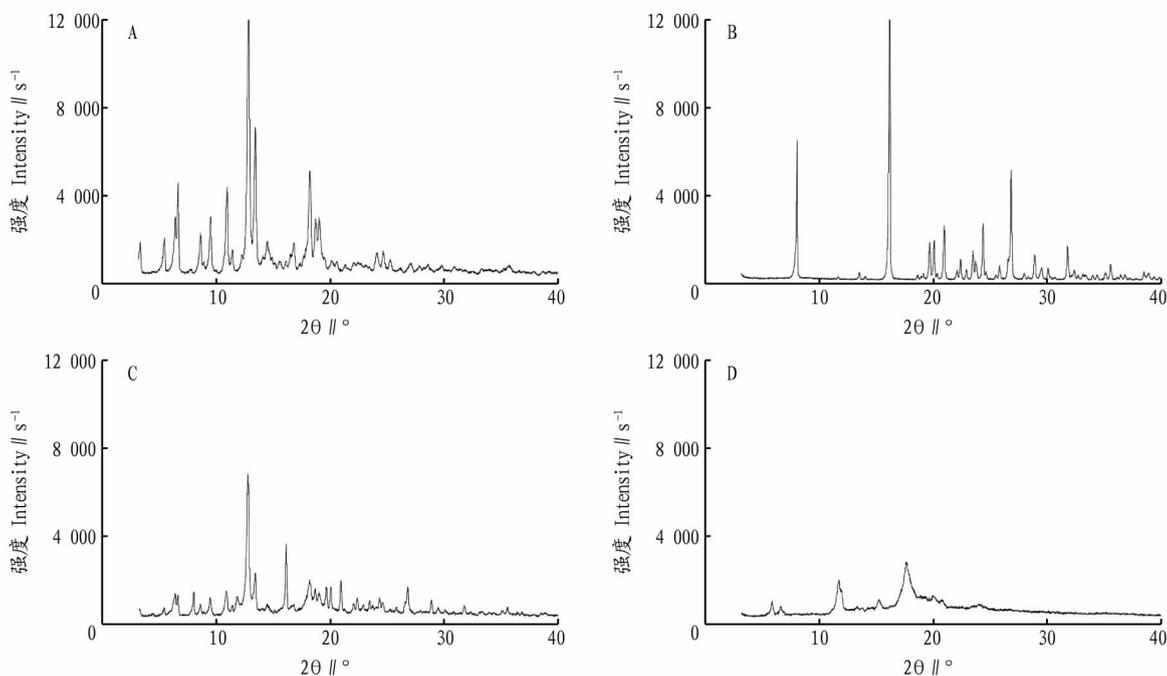


图2 氟苯尼考(A)、 β -环糊精(B)、氟苯尼考 β -环糊精混合物(C)、氟苯尼考 β -环糊精包合物(D)的X-射线衍射图

Fig.2 X-ray diffraction diagram of florfenicol (A), β -cyclodextrin (B), mixture of florfenicol and β -cyclodextrin (C), florfenicol- β -cyclodextrin inclusion complex (D)

环糊精物理混合物衍射图峰(图 2C)为氟苯尼考(图 2A)和 β -环糊精(图 2B)衍射峰的叠加;包合物呈现典型的无定型衍射图(图 2D),氟苯尼考和 β -环糊精的结晶衍射峰均已消失,表明氟苯尼考以无定型或分子形式包合,形成了氟苯尼考 β -环糊精包合物,包合形式为分子包合。

2.3 氟苯尼考 β -环糊精包合物的收率和包合率 制得 3 批氟苯尼考 β -环糊精包合物,测得平均收率为 $(98.20 \pm 0.37)\%$,平均包合率为 $(95.10 \pm 1.28)\%$ 。3 批氟苯尼考 β -环糊精包合物的收率和包合率都较高,批间精密度较好。

3 结论

氟苯尼考 β -环糊精鉴别方法有傅里叶红外光谱法、X 射线粉末衍射法和差示扫描量热法。傅里叶红外光谱法测定样品时基线易漂移,重复性差;X 射线粉末衍射法和差示扫描量热法只能证实有新的物相产生,不能直接证实包合物的产生及产物的包合率,目前这些鉴别方法在药典中只作为药物的辅助鉴别方法。薄层色谱方法作为药典中普遍采用的特征性鉴别方法,具有专属性强和易操作等优点。

包合率作为包合物的最重要指标,是判断包合工艺质量的重要指标。罗娟等^[3]报道了氟苯尼考 β -环糊精的包合率测定方法,但其实际测定的是氟苯尼考原料的回收率,而不是氟苯尼考 β -环糊精包合率。该研究通过将游离氟苯尼考与包合氟苯尼考分离,建立了氟苯尼考 β -环糊精包合率的测定方法,可以科学评价产物中氟苯尼考 β -环糊精的纯度。

该研究建立了氟苯尼考 β -环糊精薄层色谱法和包封率的测定方法,结合 X 射线粉末衍射法和高效液相色谱法完善

了氟苯尼考 β -环糊精的评价方法。通过该评价体系,有效指导了氟苯尼考 β -环糊精的中试生产。包合率低和缺乏大生产设备是制约氟苯尼考 β -环糊精包合物扩大化生产的两大主要因素。该试验结果表明,采用超声波-离心喷雾干燥法中试制备的产物为氟苯尼考 β -环糊精包合物,收率为 98.2%,包合率为 95.1%;收率和包合率均较高,较好地解决了上述两大问题,该中试制备工艺简单可控,重复性好,可扩大化生产,具有较好的工业化前景。

参考文献

- [1] 何仲贵.环糊精包合物技术[M].北京:人民卫生出版社,2008:1.
- [2] 马可,张勇军,邓桦,等.氟苯尼考- β -环糊精包合物的制备与结构表征[J].中国抗生素杂志,2018(2):223-227.
- [3] 罗娟,陈彪,郑珊,等.氟苯尼考 β -环糊精包合物的制备[J].中兽医医药杂志,2015,34(1):58-62.
- [4] 马素英,尚校军,闫福林.氟苯尼考 β -环糊精包合物的制备与表征研究[J].湖北农业科学,2011,50(4):802-806.
- [5] 魏海涛,宋敏,李亮华,等.氟苯尼考- β -环糊精包合物的研制[J].华南农业大学学报,2009,30(4):94-97.
- [6] 魏小藏,刘卫,周小顺,等.氟苯尼考- β -环糊精包合物的制备研究[J].中南药学,2006,4(6):406-409.
- [7] 赵玲,苏健裕,陈建平,等.氟苯尼考- β -环糊精包合物的结构表征[J].食品工业科技,2012,33(20):148-150,155.
- [8] 国家兽药典委员会.中华人民共和国兽药典:2015 年版一部[S].北京:中国农业出版社,2015:191-192.
- [9] SEMCHEDDINE F, GUISSI N E I, LIU X Y, et al. Effects of the preparation method on the formation of true nimodipine SBE- β -CD/ HP- β -CD inclusion complexes and their dissolution rates enhancement[J]. AAPS PharmSciTech, 2015, 16(3): 704-715.
- [10] 胡帅.一种超声波-离心干燥法制备氟苯尼考- β -环糊精包合物的方法:CN107693801A [P].2018-02-16.

(上接第 38 页)

参考文献

- [1] SOMLYAI G. The biological effects of deuterium depletion[M]. Bloomington: Ist Book Librang, 2002:47-65.
- [2] ARTSYBASHEVA O, BARYSHEVA E, SHASHKOV D, et al. Changes of oxidation during use the food diet with deuterium depleted water in laboratory animals with purulent inflammation[J]. Russian open medical journal, 2014, 3(2): 201.
- [3] MOLNÁR M, HORVÁTH K, DANKÓ T, et al. Effect of deuterium oxide (D2O) content of drinking water on glucose metabolism in STZ-induced diabetic rats[C]//MARTIROSYAN D M. Functional foods in the prevention and management of metabolic syndrome: 7th international conference. [s.l.]: Food Science Publisher, 2010.
- [4] STREKALOVA T, EVANS M, CHERNOPIATKO A, et al. Deuterium content of water increases depression susceptibility: The potential role of a serotonin-related mechanism[J]. Behavioural brain research, 2015, 277: 237-244.
- [5] WANG H Q, ZHU B H, HE Z W, et al. Deuterium-depleted water (DDW)

- inhibits the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells in vitro[J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2013, 67(6): 489-496.
- [6] BOROS L G, D' AGOSTINO D P, KATZ H E, et al. Submolecular regulation of cell transformation by deuterium depleting water exchange reactions in the tricarboxylic acid substrate cycle [J]. Medical hypotheses, 2016, 87: 69-74.
- [7] 杨晓,余志,高丽伟,等.叶用莴苣抗氧化物及其生物活性研究进展[J].中国蔬菜,2015(2):17-24.
- [8] TANASE C, STANGU A, VOLF I, et al. The effect of spruce bark polyphenols extract in combination with deuterium depleted water (DDW) on *Glycine max* L. and *Helianthus annuus* L. development[J]. Analele Științifice Ale Universit ă ții Alexandru Ioan Cuza Din Iași, 2010, 12(3): 115-120.
- [9] TANASE C, BOZ I, STINGU A, et al. Physiological and biochemical responses induced by spruce bark aqueous extract and deuterium depleted water with synergistic action in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants[J]. Industrial crops & products, 2014, 60(1): 160-167.
- [10] TANASE C, VOLF I, VANTU S, et al. Potential applications of wastes from energy and forestry industry in plant tissue culture[J]. Cellulose chemistry & technology, 2013, 47(7): 553-563.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量,均用阿拉伯数字。年份不能简写,如 1990 年不能写成 90 年,文中避免出现“去年”“今年”等写法。小于 1 的小数点前的零不能省略,如 0.245 6 不能写成 .245 6。小数点前或后超过 4 位数(含 4 位数),从小数点向左右每 3 位空半格,不用“,”隔开。如 18 072.235 71。尾数多的数字(5 位以上)和小数点后位数多的小数,宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数)的写法。数字应正确地写出有效数字,任何一个数字,只允许最后一位存在误差。