

## 硝酸咪康唑壳聚糖缓释凝胶的制备及释放度研究\*

邢树礼<sup>1</sup>,徐燕平<sup>2</sup>,高培民<sup>1</sup>,孙绍伟<sup>1</sup>,马静<sup>1</sup>,丁召兴<sup>1△</sup>

(1. 滨州医学院附属医院药学部, 山东滨州 256603; 2. 山东省滨州市人民医院消化内科 256610)

**[摘要]** **目的** 建立硝酸咪康唑壳聚糖阴道缓释凝胶的制备方法并检测其缓释性能。**方法** 用壳聚糖及聚卡波菲为基质材料进行硝酸咪康唑缓释凝胶的制备,对该剂型中主药成分硝酸咪康唑进行释放度及含量的测定,测定方法采用紫外分光光度法。**结果** 在 0.05~0.80 mg/mL,硝酸咪康唑呈现良好的线性关系,平均加样回收率为 97.91%(RSD=0.24%),重复性试验的 RSD=0.41%,并进行了日内和日间的精密度的试验;所得的缓释凝胶在 1、2 及 12 h 的累积释放度分别为 35.54%、56.02%和 93.92%。**结论** 该缓释凝胶剂型研制方法较简单,处方组成较合理,稳定性较好。

**[关键词]** 硝酸咪康唑;壳聚糖;缓释凝胶;体外释放**[中图分类号]** R944**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)01-0117-03

## Preparation and releasing rate of miconazole nitrate sustained-release gel prepared with chitosan\*

XING Shuli<sup>1</sup>, XU Yanping<sup>2</sup>, GAO Peimin<sup>1</sup>, SUN Shaowei<sup>1</sup>, MA Jing<sup>1</sup>, DING Zhaoxing<sup>1△</sup>

(1. Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou, Shandong 256603, China; 2. Department of Gastroenterology, People's Hospital of Binzhou, Binzhou, Shandong 256610, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish the preparation method of miconazole nitrate sustained-release gel prepared with chitosan and research the releasing performance. **Methods** Finished the production with chitosan and polycarbophil. Then determined the content and releasing rate of miconazole nitrate by UV-spectrophotometry. **Results** The good linear range of miconazole nitrate was 0.05—0.80 mg/mL. The average sampling recovery rate was 97.91% (RSD=0.24%), the RSD of repeatability test was 0.41% and the precision tests in a day and different days were experimentalized. The cumulative releasing rate of sustained-release gel at 1-, 2- and 12-hour was 35.54%, 56.02%, and 93.92%, respectively. **Conclusion** The preparation method of the sustained-release gel was relatively simple. The prescription composition was reasonable, and the stability was fairly good.

**[Key words]** miconazole nitrate; chitosan; sustained-release gel; release in vitro

硝酸咪康唑是一种广谱、高效、不良反应小的抗真菌药,在结构上属于咪唑类。它对组织浆胞菌、芽生菌属等多种真菌,尤其是念珠菌所致的阴道感染有良好的疗效<sup>[1]</sup>。壳聚糖是甲壳素脱乙酰产物,是我国产量最大的海洋资源之一,具有无毒、无刺激、可降解、生物相容性好等特点<sup>[2-3]</sup>。本研究以壳聚糖、聚卡波菲为混合基质制成阴道用缓释凝胶,其能持续 12 h 缓慢释放,达到减少给药次数的目的,现报道如下。

**1 材料与方法**

**1.1 仪器与试剂** UV 紫外分光光度计(日本岛津); pHs-2C 型数字酸度计(上海伟业仪器厂);硝酸咪康

唑标准品(广西康华药业有限公司,批号:20160913);壳聚糖(滨州市宏远仪器试剂有限公司,脱乙酰度:85%,批号:160517);聚卡波菲(BF Goodrich 公司);山嵛酸甘油酯(滨州市鲁滨试剂公司,批号:160623);甘油(广东台山新宁制药厂,批号:161211);苯甲酸钠(滨州市鲁滨试剂公司,批号:160108);三乙醇胺(沈阳化学试剂厂,批号:160108);其他试剂均为分析纯。

**1.2 方法**

**1.2.1 处方** 硝酸咪康唑 2.0 g,壳聚糖 0.5 g,聚卡波菲 1.0 g,甘油 5 mL,山嵛酸甘油酯 2.0 g,苯甲酸钠 0.3 g,三乙醇胺 0.2 g,2%的醋酸溶液 15 mL,加

\* 基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2016WS0050);山东省滨州市科技发展计划项目(2015ZC0310);滨州医学院科技计划(BY2011KJ026)。作者简介:邢树礼(1983—),主管药师,硕士,主要从事缓控释制剂及新剂型研究。△ 通信作者,E-mail:byfydzx@163.com。

注射用水至 100 mL。

**1.2.2 工艺** 将 2% 的乙酸溶液放入烧杯中,并加入处方量的壳聚糖,搅拌直至溶解;聚合物相:将聚卡波菲加适量注射用水浸泡过夜,充分搅拌直至完全溶胀成均匀的类凝胶聚合物,将前述的壳聚糖醋酸溶液缓慢加入,同时高速搅匀;油相:加热甘油及山嵛酸甘油酯使熔化,充分搅拌使其均匀;水相:将处方量的苯甲酸钠、三乙醇胺及硝酸咪康唑放至剩余的水中,加热。将油相快速加到热的水相里,充分搅拌以便得到均匀的乳状液体。趁热将聚合物相迅速加至混浊液中搅拌、混匀。搅拌下滴入 10 mg/mL 氢氧化钠水溶液,使 pH 在 3.5~5.5。

**1.2.3 确定波长** 取适量的硝酸咪康唑,用甲醇溶液溶解成质量浓度为 0.25 mg/mL 的溶液。按处方比例另取壳聚糖、聚卡波菲及其他辅料用甲醇溶解,分别将上述两种溶液在 250~300 nm 波长范围内扫描吸收图谱<sup>[4]</sup>。

**1.2.4 制备标准曲线** 将硝酸咪康唑标准品放置在烘干机中充分烘干,精密称取 0.25 g 放在 50 mL 的容量瓶内,先倒入 20 mL 甲醇将硝酸咪康唑标准品溶解,再用甲醇稀释至刻度,作为贮备液。分别精密量取贮备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0 mL 置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。分别将这些溶液在波长为 272 nm 处测定吸收度 A (均以甲醇作为空白对照),以浓度 C 对吸收度 A 进行线性回归,表明在 0.05~0.80 mg/mL,浓度 C 与吸收度 A 呈现良好的线性关系<sup>[5-7]</sup>,求得回归方程为  $A=1.4213C+0.0460$ ,  $r=0.9994$ 。

**1.2.5 壳聚糖缓释凝胶含量的测定** 从制备的壳聚糖缓释凝胶中取 3 个批次,从中抽 1 个批次样品,用电子天平精密称取精密称取壳聚糖缓释凝胶约 3.0 g,放至 50 mL 的容量瓶内,将其放在水浴中加热使样品熔融,倒入适量的甲醇,使其完全溶解,定容至刻度。精密量取 5 mL,置 50 mL 容量瓶中,再用甲醇稀释至刻度,摇匀。用紫外分光光度计测定容量瓶中样品的吸收度 A,代入 1.2.4 的回归方程,即可得出相应的浓度 C,然后便可以算出该批次样品的含量。同法,测定出另外 2 批次样品的含量<sup>[8-9]</sup>。

**1.2.6 加样回收率试验** 分别依照处方中硝酸咪康唑剂量的 80%、100%、120%,用分析天平称取,105 °C 干燥至恒重的硝酸咪康唑,并按缓释凝胶处方中各组分比例,精密称取基质及其他处方材料,用甲醇溶解各组分适量,依“1.2.5”项下壳聚糖缓释凝胶含量的测定来测定硝酸咪康唑的含量。

**1.2.7 精密度试验** 按 1.2.4 方法,配制硝酸咪康

唑 0.20、0.40、0.60 mg/mL 的溶液,分别在日内的不同时间(0、2、4、6、8、10 h)和日间(1、2、3、4 d)检测吸收度,从而算出日内和日间的精密度<sup>[9]</sup>。

**1.2.8 重复性试验** 取 1 个批次的缓释凝胶(批号:20160602)6 份,每份按 1.2.5 方法进行测定,以考察缓释凝胶测定的重复性。

**1.2.9 稳定性试验**

**1.2.9.1 离心试验** 取硝酸咪康唑缓释凝胶约 5 g,装入带刻度的离心管中,于 2 500 r/min 下离心 30 min,观察其外观性状,凝胶无分层现象。

**1.2.9.2 高温高寒试验** 取硝酸咪康唑缓释凝胶约 5 g,在包装条件下(铝塑管内涂环氧树脂),分别置于 55 °C 干燥箱恒温 6 h 及 -15 °C 冰箱内 24 h,凝胶无分层现象。

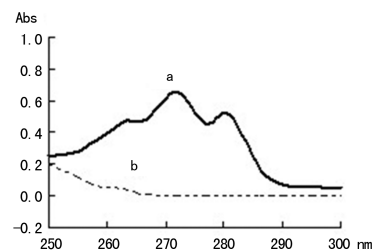
**1.2.10 性状均匀性** 缓释凝胶为浅黄色半透明状半固体,色泽均匀,质地细腻,观察不到肉眼可以看到的颗粒,稠度适宜,涂展润滑性较好。

**1.2.11 体外释放度试验** 参考文献<sup>[10]</sup>,称取壳聚糖缓释凝胶约 3.0 g 放在扩散池装置中,选尼龙膜作为测定膜将缓释凝胶包裹起来,然后盖上并使劲拧紧池盖。把样品池放到溶出杯中,放凝胶的那面向上,将浆的高度调整好,用模拟阴道液 900 mL 作为释放介质,浆的转速为 60 r/min,温度为  $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ,在 0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12 h 分别取溶液 5 mL,并及时补充 5 mL 溶出介质,测定累积释放度,得到壳聚糖缓释凝胶的累积释放度曲线。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用  $t$  检验;计数资料以频数或百分率表示,比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 测定波长的确定** 根据扫描的吸收图谱的结果,在 272 nm 处硝酸咪康唑的吸收最大,而在该波长处,处方中的其他组分基本无干扰,所以选择 272 nm 作为测定波长,见图 1。



a: 硝酸咪康唑; b: 其他处方成分

图 1 紫外吸收图谱

**2.2 加样回收率试验结果** 每个试样测定 3 次,算出平均数,再算出加样回收率,见表 1。

表 1 加样回收率的结果 (n=3)

加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
7.2	7.065	98.13		
9.0	8.813	97.92	97.91	0.24
10.8	10.548	97.67		

2.3 日内和日间精密度试验 硝酸咪康唑 0.20、0.40、0.60 mg/mL 的溶液中,测算日内和日间精密度结果,见表 2。

表 2 精密度试验结果

浓度 (mg/mL)	日内精密度		日间精密度	
	测定值(mg/mL)	RSD(%)	测定值(mg/mL)	RSD(%)
0.20	0.197 00±0.001 37	0.69	0.194 00±0.003 11	1.61
0.40	0.393 00±0.003 77	0.96	0.395 00±0.002 06	0.52
0.60	0.596 00±0.003 32	0.56	0.591 00±0.002 45	0.41

2.4 重复性试验 抽取的 1 个批次(批号:20160602)的缓释凝胶 6 份,测定所得 RSD=0.41%,可见所制得的缓释凝胶重复性良好。

2.5 稳定性试验 经离心试验及高温高寒试验,观察缓释凝胶的外观性状,发现缓释凝胶无分层现象。

2.6 硝酸咪康唑壳聚糖阴道缓释凝胶在模拟阴道液中的释放 在模拟阴道液中测得壳聚糖阴道缓释凝胶的释放曲线,缓释凝胶 1 h 释放 35.54%,2 h 释放 56.02%,12 h 释放达 93.92%,从释放曲线可以看出,药物在前 2 h 快速释放,然后缓慢释放,总体上能达到 12 h 的释放效果,见图 2。

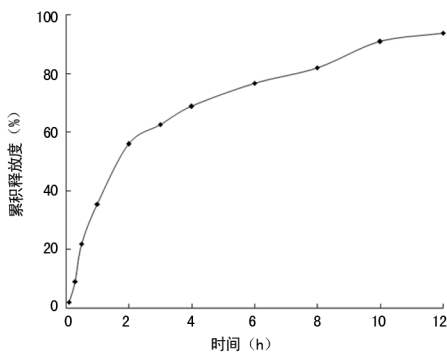


图 2 硝酸咪康唑的累积释放度曲线

### 3 讨论

壳聚糖是由天然多糖甲壳素经过脱乙酰化之后得到的物质,无毒,无刺激性。其生物相容性及黏膜附着性均很好,因此能使药物在阴道黏膜的渗透性、附着性及吸收量等都有不同程度的增加<sup>[11]</sup>。本实验以壳聚糖、聚卡波菲为基质制成的阴道凝胶剂,由于剂型和材料的特点,与栓剂比较,阴道黏膜能与药物有更充分的接触,不但增大了接触面积,还使药物的

滞留时间延长,这既保证了疗效,又减少了给药次数,且无油腻感,使用舒适。

从最佳组合处方的累积释放度曲线可以得知,壳聚糖缓释凝胶中硝酸咪康唑的释放特性与威布尔分布模式有些相近,更与 Ritger-Peppas 的复合模式 (CR=at+bt0.5+c) 类似<sup>[12]</sup>,即初期类似 Higuchi 模式,但后期接近匀速释放,说明硝酸咪康唑在接近缓释凝胶的表面,其硝酸咪康唑的浓度较大或结合较疏松,就能以较快的速率从凝胶间隙中出来,而后期随着凝胶的慢慢溶蚀,内部药物从缓释凝胶中释出。

国内外文献报道用于凝胶的基质有 CP934P、CP940P、PCP、CMC-Na、海藻酸钠等,其中仅有 CP934P 凝胶用 Keshary-Chien 渗透池测定体外释放度,它的制备浓度为 1.5%(w),用 7 mL 溶出介质进行释放度试验,结果凝胶在 7 h 时的药物释放度仅为 25%<sup>[13]</sup>。而本研究缓释凝胶的基质选用的是聚卡波菲,同时用甘油、山嵛酸甘油酯改善凝胶特性,从而控制了硝酸咪康唑的释放速度。

### 参考文献

- [1] 邢树礼,徐燕平,李宁,等.用体外释放度优选硝酸咪康唑缓释凝胶基质的研究[J].中国医院药学杂志,2018,38(8):835-837.
- [2] WANG L S,KHOR E,LIM L Y. Chitosan-alginate-CaCl<sub>2</sub> system for membrane coat application[J]. J Pharm Sci, 2001,90(8):1134-1142.
- [3] 陈奋,贾连群,秦兴军,等.平阳霉素壳聚糖温敏原位凝胶的制备及体外评价[J].中国医院药学杂志,2017,37(9):792-796.
- [4] 宣伟东,袁志仙,成熙.正交试验法优选生姜抗晕凝胶膏剂的制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):53-55.
- [5] 扶昭发,刘冉冉,尹宗宁.羧甲基壳聚糖溶液胶凝的影响因素研究[J].华西药学杂志,2018,33(2):131-134.
- [6] 陈骊媛,马丽芳,钟守国.盐酸莫西沙星眼用壳聚糖纳米粒温度敏感原位凝胶的制备与评价[J].实用医院临床杂志,2016,13(3):34-37.
- [7] 陈东.甲硝唑羧甲基壳聚糖凝胶等 4 种试药治疗大鼠干槽症模型的 TUNEL 分析[J].山西医药杂志,2016,45(11):1263-1264.
- [8] 殷旭东,程威,杨晓虹,等.明胶/羧化壳聚糖水凝胶的制备及其理化性质的测定[J].广东化工,2018,45(10):63-64,81.
- [9] 陈智捷,陈燕芳,郑军,等.壳聚糖水凝胶的制备及其在药物释放中的应用[J].材料导报,2018,32(S1):169-175.
- [10] 李征征,徐子扬,高留意,等.温敏性乙二醇壳聚糖水凝胶的制备及药物缓释性能[J].高等学校化学学报,2016,37(12):2299-2305.

L<sub>5</sub>上关节突尖部成形模型在前屈、后伸、左侧屈、右侧屈、左旋、右旋状态下临近节段 L<sub>3/4</sub> 椎间盘的最大应力分别为 0.369、0.479、0.439、0.428、0.462、0.452 MPa;其基底部成形模型在上述 6 个状态临近节段 L<sub>3/4</sub> 椎间盘的最大应力分别为 0.366、0.476、0.437、0.426、0.459、0.449 MPa。上述两个成形部位在 6 种不同运动状态下临近节段 L<sub>3/4</sub> 椎间盘的最大应力均较正常模型无明显变化,说明腰椎经皮内镜技术在进行椎间孔扩大成形时切除了部分关节突但对临近节段的生物力学影响较小。

综上所述,本研究建立的 L<sub>3-5</sub> 正常三维有限元模型具有良好的几何外形,在其基础上建立的 L<sub>5</sub> 上关节突尖部和基底部成形的三维有限元模型能够很好地模拟临床状况。对其进行力学分析得知 L<sub>5</sub> 上关节突尖部和基底部成形后对 L<sub>4/5</sub> 椎间盘的应力情况均产生一定的影响,其中在 L<sub>5</sub> 上关节突尖部成形的影响明显大于基底部的成形。在 L<sub>5</sub> 上关节突不同部位的椎间孔成型均对临近节段 L<sub>3/4</sub> 椎间盘应力变化的影响较小。

## 参考文献

[1] TENENBAUM S, ARZI H, HERMAN A, et al. Percutaneous posterolateral transforaminal endoscopic discectomy: clinical outcome, complications, and learning curve evaluation[J]. *Surg Technol Int*, 2011, 21: 278-283.

[2] LI Z Z, HOU S X, SHANG W L et al. Modified percutaneous lumbar foraminoplasty and percutaneous endoscopic lumbar discectomy: instrument design, technique notes, and 5 years follow-up[J]. *Pain Physician*, 2017, 20(1): E85-98.

[3] HASSAN A, GUS V, ANDREW P, et al. Biomechanics of the posterior lumbar articulating elements[J]. *Neurosurg Focus*, 2007, 22(1): E1-6.

[4] 唐谨, 刘鏐, 李莹, 吴从俊, 等. 腰椎间盘突出症椎间孔镜术后复发的原因分析及相关预防对策[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(2): 75-78.

[5] ZHANG Q H, TEO E C, NG W H, et al. Finite element

analysis of momentrotation relationships for human cervical spine[J]. *J Biomech*, 2006, 39(1): 189-193.

[6] 苏晋, 赵文志, 陈秉智, 等. 建立全腰椎有限元接触模型[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(3): 200-205.

[7] 黄菊英, 李海云, 吴浩. 腰椎间盘突出症力学特征的仿真计算方法[J]. *医用生物力学*, 2012, 27(1): 96-101.

[8] BROLIN K, HALLDIN P. Development of a finite element model of the upper cervical spine and a parameter study of ligament characteristics[J]. *Spine*, 2004, 29(4): 376-385.

[9] SHIM C S, PARK S W, LEE S H, et al. Biomechanical evaluation of an interspinous stabilizing device, locker[J]. *Spine*, 2008, 33(22): E820-827.

[10] HOOGLAND T, SCHUBERT M, MIKLITZ B, et al. Transforaminal posterolateral endoscopic discectomy with or without the combination of low-dose chymopapain: a prospective randomized study in 280 consecutive cases [J]. *Spine*, 2006, 31(24): E890-897.

[11] HOOGLAND T, VAN DEN BREKEL DIJKSTRA K, SCHUBERT M, et al. Endoscopic transforaminal discectomy for recurrent lumbar disc herniation: a prospective, cohort evaluation of 262 consecutive cases [J]. *Spine*, 2008, 33(9): 973-978.

[12] YEUNG A T, TSOU P M. Posterolateral endoscopic excision for lumbar disc herniation: surgical technique, outcome, and complications in 307 consecutive cases [J]. *Spine*, 2002, 27(7): 722-731.

[13] 阮朝阳, 何永春, 曾强华, 等. 腰椎椎间孔成形幅度对关节突压力变化的有限元分析[J]. *脊柱外科杂志*, 2017, 15(6): 357-360.

[14] 李振宙, 侯树勋, 吴闻文, 等. 经皮侧后路腰椎间孔成形术对腰椎解剖及生物力学影响的实验研究[J]. *中国骨与关节杂志*, 2010, 9(6): 503-508.

[15] 李嵩鹏, 周游, 李定, 等. 椎间孔镜 (TESSYS) 入路相关 L<sub>5</sub>-S<sub>1</sub> 阶段椎间孔解剖学观察[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2015, 30(2): 129-133.

(收稿日期: 2018-06-18 修回日期: 2018-10-01)

(上接第 119 页)

[11] 刘璐. 医用壳聚糖水凝胶研究进展[J]. *科技创新与应用*, 2017, 33(8): 87.

[12] ISHIKAWA T, WATANABE Y, TAKAYAMA K, et al. Effect of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) on the release profiles and bioavailability of a poorly water-solu-

ble drug from tablets prepared using macrogol and HPMC[J]. *Int J Pharm*, 2000, 202(1): 173-178.

[13] 王倩倩, 陈大俊. 壳聚糖可注射水凝胶制备及药物缓释行为[J]. *化工新型材料*, 2017, 45(9): 150-152.

(收稿日期: 2018-05-18 修回日期: 2018-09-08)