

紫外分光光度法测定眼用固体脂质纳米粒中氟比洛芬含量

赵亚鑫^{1,2} 汪海洋¹ 姚庆强¹

(¹ 山东省医学科学院药物研究所, 山东 济南 250062; ² 济南大学山东省医学与生命科学学院, 济南 250200)

摘要 **目的** 建立固体脂质纳米粒眼用制剂中氟比洛芬含量测定的方法。**方法** 采用紫外分光光度法, 通过测定波长 247nm 处的吸光度, 计算固体脂质纳米粒制剂中氟比洛芬的含量。**结果** 氟比洛芬在 1.0~8.0 $\mu\text{g/ml}$ 的浓度范围内, 与 247nm 处的吸光度线性关系良好, 回归方程为 $A=0.0784 C+0.0079$ ($r=0.9992$), 平均回收率为 98.0%, RSD 为 1.72% ($n=9$)。**结论** 本方法操作简便, 且精密度、准确度和稳定性均符合要求, 可用于固体脂质纳米粒眼用制剂中氟比洛芬含量的测定。

关键词 氟比洛芬; 固体脂质纳米粒; 紫外分光光度法

中图分类号: R943 **文献标识码**: B **文章编号**: 1000-9760(2015)10-375-03

氟比洛芬(Flurbiprofen)是一种新型的丙酸类非甾体抗炎镇痛药, 主要通过抑制前列腺素合成酶起作用^[1-2]。眼科临床使用的制剂为氟比洛芬钠滴眼液(0.03%, w/v), 用于抑制内眼手术时缩瞳及术后抗炎^[3]。普通滴眼液存在一定的刺激性, 且眼部给药后滞留时间短, 需频繁给药^[4]。

固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)是以固态合成或天然类脂如三酰甘油、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂等为载体材料, 将药物包埋或夹嵌于类脂核内制得的固体胶粒递药系统, 是 20 世纪 90 年代初发展起来的一种可替代脂质体、乳剂和聚合物纳米粒的新型胶体递药系统^[5-6]。将氟比洛芬制备成固体脂质纳米粒, 可以降低对眼部的刺激, 并具有延长眼部滞留及减少给药次数等优点。

本文在制备氟比洛芬固体脂质纳米粒滴眼剂的基础上, 建立了利用紫外分光光度法测定固体脂质纳米粒制剂中氟比洛芬含量的方法, 旨在为该制剂的进一步研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

EL204 型电子天平(梅特勒托利多仪器有限公司仪器公司); TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); KQ5200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司)。氟比洛芬原料药(湖北远成赛创科技有限公司, 含量>99%); 单硬脂酸甘油酯(天津市博迪化工有限公司); 聚乙二醇-15 羟基

硬脂酸酯(Solutol® HS 15, 巴斯夫(中国)有限公司); 其他试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 氟比洛芬固体脂质纳米粒的制备

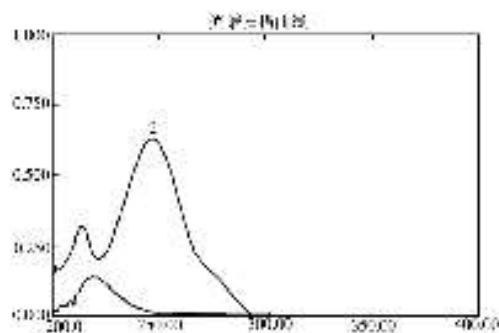
称取处方量药物和单硬脂酸甘油酯置烧杯中, 80 $^{\circ}\text{C}$ 加热搅拌作为油相。另将含有处方量 Solutol® HS 15 的 20 ml 水溶液加热至 80 $^{\circ}\text{C}$, 作为水相。在磁力搅拌下, 将油相迅速滴加到水相中, 继续搅拌 10 min, 制得初乳。超声处理得氟比洛芬 SLN 混悬体系, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用^[7]。

2.2 供试溶液的制备

对照品溶液的制备。精密称取已干燥至恒重的氟比洛芬原料药 10 mg, 置于 100 ml 量瓶中, 用乙醇定容至刻度, 摇匀制得质量浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 的标准贮备溶液。供试品溶液的制备: 精密移取 SLN 混悬剂 1 ml, 置于 50 ml 容量瓶内, 加入适量无水乙醇超声处理 10 min, 待自然冷却到室温后用乙醇定容至刻度, 摇匀后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤即得。同法制得空白固体脂质纳米粒溶液。

2.3 方法学建立

2.3.1 最佳测定波长的选择 取适宜浓度氟比洛芬溶液、空白固体脂质纳米溶液, 以蒸馏水作为空白, 在 200~400 nm 波长范围内扫描紫外光谱。结果显示, 氟比洛芬在 247 nm 波长处有最大吸收, 而空白固体脂质纳米粒在 247 nm 波长处无吸收。因此, 选择 247 nm 波长为最佳测定波长。见图 1。



1. 空白固体脂质纳米粒; 2. 氟比洛芬

图1 紫外吸收光谱图

2.3.2 标准曲线的绘制 精密称取干燥到恒重的氟比洛芬对照品 10.0 mg, 置于 100 ml 容量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准储备液。

分别精密移取标准储备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 ml, 分别置于 50 ml 容量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液。以无水乙醇作空白, 测定 247 nm 波长处吸光度值, 以吸光度值(A)对质量浓度(C)进行线性回归, 其回归方程为 $A=0.0784C+0.0079$ ($r=0.9992$)。结果表明, 氟比洛芬浓度在 1.0~8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内, 吸光度值与浓度的线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 将低、中、高(2.0、4.0、6.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 3 种浓度氟比洛芬标准溶液, 于室温放置, 1 日内连续测量 5 次, 计算其日内精密度; 相同条件连续测量 5d, 计算其日间精密度。结果显示, 日间精密度 RSD 分别为 0.86%、0.98%、1.25% ($n=3$), 日内精密度的 RSD 分别为 1.31%、1.56%、1.82% ($n=3$), 日间精密度及日内精密度均符合测定要求。

2.3.4 稳定性试验 将浓度为 6.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 氟比洛芬标准溶液, 在室温下放置 0、2、4、8、12、24 h, 在 247 nm 处测定吸光度。结果其 RSD 为 1.02% ($n=3$), 表明氟比洛芬在 24 h 内其吸光度较为稳定, 符合测定要求。

2.3.5 重复性试验 精密量取载药的 SLN 制剂 5 份, 按“2.2”项下溶液制备方法进行操作, 测定吸光度值, 其 RSD 为 0.65% ($n=5$), 表明本方法重复性良好, 能满足分析要求。

2.3.6 加样回收率测定 精密移取 1 ml 空白 SLN 混悬液 9 份, 分别置于 9 个 50 ml 棕色容量瓶, 并将量瓶分为 3 组, 每组 3 份。于每组量瓶中

加入标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 2.0、3.0、4.0 ml, 配得高、中、低 3 种不同浓度溶液。分光光度法于 247 nm 波长处测定吸光度值, 通过回归方程计算氟比洛芬回收率, 结果见表 1。由结果可知平均回收率为 98.0%, RSD 为 1.72% ($n=9$), 表明本分析方法符合要求。

表1 回收率试验结果($n=9$)

序号	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 / μg	平均回收率 /%	RSD /%
1	200	194	97.0	98.0	1.72
2	200	193	97.3		
3	200	195	96.9		
4	300	289	96.2		
5	300	292	102.0		
6	300	294	98.1		
7	400	390	97.7		
8	400	395	98.8		
9	400	393	98.4		

2.4 样品检测

制备 3 批载药 SLN 制剂, 按照“2.2”项下方法制备供试品溶液。以无水乙醇为空白对照, 在 247 nm 波长处测定吸光度值, 利用回归方程得浓度 C, 计算 SLN 制剂中氟比洛芬的含量, 结果见表 2。

表2 SLN 中药物含量测定结果($n=3$)

序号	批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$	平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$
1	15041601	0.289	0.297
2	15041602	0.295	
3	15041603	0.308	

3 讨论

针对眼科应用的氟比洛芬滴眼剂存在的不足, 本文研制的固体脂质纳米粒制剂, 选择单硬脂酸甘油酯为脂质载体材料, 通过其对药物的包埋负载作用, 可大大降低药物本身的刺激性不良反应。固体脂质纳米粒的乳附性质, 能够延长药物在眼部的滞留时间, 进而提高药物的生物利用度^[8]。

制备固体脂质纳米粒的乳化剂种类较多, 本试验选用的 Solutol® HS 15 对药物含量测定无干扰。

本文建立了紫外分光光度法测定固体脂质纳米粒眼用制剂中氟比洛芬含量的方法, 方法学验证结果显示本方法操作简便易行, 重现性好, 准确度高, 结果准确可靠, 可用于测定其中药物含量。

参考文献:

- [1] 周海波,张向荣,王岩,等. 氟比洛芬羟丙基- β -环糊精包合物的研制[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(18):1539-1541.
- [2] 彭俊杰,简聪聪,李江,等. 氟比洛芬的大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 药科学报,2013,48(3):423-427.
- [3] 沈锦秋,甘勇,甘莉,等. 氟比洛芬酯眼用纳米乳-离子敏感型原位凝胶的研究[J]. 药科学报,2010,45(1):120-125.
- [4] Goold Health Systems. Therapeutic class review: ophthalmic NSAIDs[R]. Wyoming Pdlac; Goold Health Systems, 2009.
- [5] 索绪斌,张涵,王文青,等. 丹参酮 II A 固体脂质纳米粒缓释

- 凝胶骨架片的制备[J]. 中国新药杂志,2015,24(5):576-580.
- [6] 王贤儿,钟希文,梅全喜,等. 固体脂质纳米粒在中药经皮给药中的研究进展[J]. 中国药房,2015,26(13):1860-1862.
- [7] Tian B C, Zhang W J, Xu H M, et al. Further investigation of nanostructured lipid carriers as an ocular delivery system: In vivo transcorneal mechanism and in vitro release study[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 102: 251-256.
- [8] 丁立新,柴佳丽,李煥,等. 固体脂质纳米粒的研究新进展[J]. 中国民康医学,2014,26(20):69-71.

(收稿日期 2015-08-15)

(上接第 374 页)

3.4 改进考核设置,培养学生临床思维能力

临床教学过程中加强学生临床思维能力的培养对培育优秀医学人才至关重要^[8],学生临床思维能力的培养是临床教学中的难点和重点^[9],是一个循序渐进的过程,需要贯穿在学生培养的全过程,而学生临床诊疗技能和临床思维能力的测评和考核是培养学生临床思维能力的重要组成部分^[10]。在 2014 年考站设置的基础上,2015 年我们根据需要对考站进行优化,将 SP 问诊和内科技能操作关联起来,考生需在问诊和体格检查后做出疾病的初步诊断,继而选择相应操作进行考试,模拟临床真实诊疗过程,结合病例分析考站,强化了学生临床思维能力的培养。

4 小结

医学实践技能考试是评价医学生临床能力的重要手段,OSCE 是医学生各种评价手段的综合体,是目前较全面的评价体系^[11]。通过两年的实践和不断调整优化,我校初步建立了具有科学性和操作性的规模 OSCE 组织与实施的步骤和规范。为优化 OSCE 考核模式,提高考试成效,在以后的 OSCE 中,应进一步加强考试试题信度和效度分析,完善评价标准,逐步实现 OSCE 考核常规化、制度化。同时对考试进行全面分析,做好多方面反馈,切实提高学生临床能力,帮助其有效应对国家临床执业医师资格考试和临床工作实践。

参考文献:

- [1] 吴凡,许杰洲,杨棉华. 素质教育背景下临床能力测试形式的创新及应用[J]. 医学教育探索,2010,9(3):383-385.
- [2] 涂文记,赵骏,潘慧. 客观结构化临床考试在医学生实习前综合测评中的应用[J]. 协和医学杂志,2014,5(1):116-119.
- [3] 张伟,王海平,袁佳英. 我国客观结构化临床考试现状分析[J]. 中外医学研究,2013,11(10):143-144.
- [4] 蔡淳娟. OSCE 实务 建立高品质临床技术测验的指引[M]. 台湾:联新亚洲医学教育有限公司,2012:78-79.
- [5] 涂文记,赵骏,潘慧. 客观结构化临床考试在医学生实习前综合测评中的应用[J]. 协和医学杂志,2014,5(1):116-119.
- [6] 王莉英,钟春玖,邹和建,等. 利用客观结构化临床考试评估医学生临床能力的研究[J]. 中华医学教育杂志,2007,27(4):114-116.
- [7] 宫亮,周向东,杨和平. 加强临床实践阶段医学生的人文素质培养[J]. 医学与哲学,2012,33(3A):59-60.
- [8] Hanne-Lise Eikeland, Knut ørnes, Arnstein Finset. The physician's role and empathy—a qualitative study of third year medical students[J]. BMC Medical Education, 2014, 14: 165-167.
- [9] Yukari Takata, Gerald H Stein, Kuniyuki Endo. Content analysis of medical students' seminars: a unique method of analyzing clinical thinking[J]. BMC Medical Education, 2013, 13: 156-158.
- [10] 杨文卓,程黎明,杨长青,等. 加强医学生临床思维能力的培养和考核的实践[J]. 医学教育探索,2012,11(4):412-414.
- [11] 蔚钰琼. 客观结构化临床考试效果评价[D]. 太原:山西医科大学,2011.

(收稿日期 2015-07-11)