

避蚊胺乙基纤维素微球的制备及其性质考察

高 静¹, 管 斐², 高 申^{1*} (1. 第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433; 2. 药学院分析测试中心)

[摘要] 目的: 制备避蚊胺乙基纤维素微球, 考察其性质。方法: 采用溶剂挥发法制备避蚊胺乙基纤维素微球。将乙基纤维素溶于二氯甲烷中, 滴入避蚊胺, 密闭超声溶解, 作为分散相。配制 1% 聚乙烯醇水溶液作为连续相。1 000 r/min 搅拌下将分散相缓缓加入连续相中, 30 min 后降低搅速至 600 r/min 继续搅拌直至二氯甲烷挥干。离心, 蒸馏水洗, 冷冻干燥 12 h 即得, 并用扫描电镜观察微球外观, 光学显微镜下计数 500 个微球考察粒径分布, HPLC 法(Diamondsil ODS 柱 150 mm × 4.6 mm, 流动相为甲醇 水= 65 35, 检测波长 210 nm, 流速 1 ml/min), 建立标准回归方程测定载药量和药物包封率。结果: 所得微球为乳白色微粒, 外观圆整, 粒径 90% 分布在 30~70 μm 范围内, 平均算术径(\bar{d}_{ar})及平均球径(\bar{d}_v)分别为 49.6 μm 和 51.2 μm, 微球载药量为 18.7%, 包封率可达 56.1% (n=6)。结论: 该成球方法简便易行。

[关键词] 避蚊胺; 微球; 乙基纤维素; 溶剂挥发法

[中图分类号] R 979.8

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2004)11-1235-03

Preparation and evaluation of DEET-ethylcellulose microspheres

GAO Jing¹, GUAN Fei², GAO Shen^{1*} (1. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Center of Analysis and Testing, School of Pharmacy)

[ABSTRACT] **Objective:** To prepare DEET-ethylcellulose microsphere (DEET-EC) and observe its properties to retard volatilization of DEET. **Methods:** DEET-EC was prepared with solvent evaporation method. DEET was dissolved in CH₂Cl₂ with EC served as dispersed phase and 1% PVA water solution as continuous phase. The dispersed phase was added into the continuous phase with stirring rate at 1 000 r/min. The stirring rate was changed into 600 r/min after 30 min, and was kept until CH₂Cl₂ was entirely volatilized. After being watered, precipitated and lyophilized for 12 h, DEET-EC was derived, and the shape was observed with electron microscope. The particle size distribution was detected in 500 microspheres with optical microscope. HPLC method was established to determine the embedding ratio and loaded ratio of DEET-EC microsphere. Chromatograph conditions: Diamondsil ODS column (150 mm × 4.6 mm), CH₃OH:H₂O=65:35 as mobile phase at 1 ml/min, the detected wavelength 210 nm. **Results:** The DEET-EC was egg-white and had spherical shape. A most 90% of the MS distributed in 30-70 μm, while (\bar{d}_{ar}) and (\bar{d}_v) were 49.6 μm and 51.2 μm, respectively. The loading ratio was 18.7% and the embedding ratio was 56.1% (n=6). **Conclusion:** The solvent evaporation method is convenient and simple to prepare DEET-EC microsphere.

[KEY WORDS] DEET; microsphere; ethylcellulose; solvent evaporation method

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(11): 1235-1237]

* 避蚊胺, 化学名 N,N-二乙基-3-甲基苯酰胺 (N,N-diethyl-m-toluamide), 是目前公认的实际应用效果最好的广谱蚊虫驱避剂, 依靠自然挥发或借助载体挥发的气味, 可使吸血昆虫嗅到后产生忌避而不接近人体, 达到预防叮咬和侵袭的目的^[1,2]。避蚊胺制剂作用时间较短, 皮肤用量大, 吸收较多, 从而可能引发皮炎及心血管疾病等不良反应^[3-5]。本研究采用溶剂挥发法制备避蚊胺的乙基纤维素微球 (DEET-EC), 探讨不同制备条件对微球囊径、载药量及药物包封率的影响, 并从中选择影响显著的因素进行正交实验, 得到了成球效果最佳的制备工艺。

1 材料和方法

1.1 药品和仪器 避蚊胺 (DEET, 纯度 99.9%, 美

国辛普公司惠赠); 乙基纤维素 (EC, 卡乐康公司惠赠); 聚乙烯醇 (PVA, 进口分装); 其他试剂均为分析纯。GS12-2 型电子恒速搅拌器 (上海医疗器械专用机器厂); FA 1004 电子天平 (上海天平仪器厂); SHZ-88 台式水浴恒温振荡器 (江苏太仓实验设备厂); HPLC 色谱系统 (515 泵, 916 二极管阵列检测器, Millennium 工作站, 美国 Waters 公司); 80-2 型离心机 (上海手术器械厂); S-520 型扫描电子显微镜 (Hitachi, 日本); Euromax 光学显微镜 (荷兰)。

1.2 DEET-EC 微球的制备 采用溶剂挥发法。将 600 mg EC 溶于 20 ml 二氯甲烷中, 滴入 300 mg

* [作者简介] 高 静 (1979-), 女 (汉族), 博士生

* Corresponding author. E-mail: liulik@online.sh.cn

DEET, 密闭超声溶解, 作为分散相。配制 1% PVA 水溶液 80 ml 作为连续相。1 000 r/min 搅拌下将分散相缓缓加入连续相中, 30 min 后降至 600 r/min 继续搅拌直至二氯甲烷挥干。3 000 r/min 离心, 蒸馏水洗, 冷冻干燥 12 h 即得, 放置于干燥器内备用。

1.3 DEET-EC 微球理化性质的考察 取适量微球于扫描电镜的样品台上, 以 5 mA 电流镀金 5 min, 置电镜中观察微球的形态并照相。将适量微球均匀分散于载玻片上, 通过光学显微镜测定微球粒径并计数 500 个微球。根据测得的粒径作粒度分布图, 并按下列公式计算平均算术径(\bar{d}_{ar})及平均球径(\bar{d}_v):

$$(\bar{d}_{ar}) = \frac{\sum nd}{n}$$

$$(\bar{d}_v) = \sqrt[3]{\frac{\sum nd^3}{n}}$$

1.4 HPLC 法测定微球载药量及药物包封率 色谱条件: 色谱柱(美国迪马公司 Diamonsil ODS 150 mm × 4.6 mm 不锈钢柱); 流动相(甲醇 水 = 65 35); 检测波长 210 nm; 流速 1 ml/min; 进样量 20 μl。精密称取适量避蚊胺精制品, 配制成浓度为 10.0, 25.0, 50.0, 75.0, 100.0, 120.0, 150.0 μg/ml 的甲醇溶液, 在 210 nm 处测定吸收峰面积 A 并与相应浓度回归。精密称取 DEET-EC 微球适量(约相当于避蚊胺 800 μg), 以 3 ml 二氯甲烷振荡溶解破碎, 转移至容量瓶中, 以甲醇定容至 10 ml, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后进样, 据标准曲线回归方程计算载药量及包封率。

1.4.1 方法精密度试验 配制含避蚊胺 10.0, 75.0, 150.0 μg/ml 的甲醇溶液, 分别于 1 d 内(5 次), 连续 5 d 间量测定, 计算日内和日间精密度。

1.4.2 方法回收率试验 精密称取避蚊胺 30.0, 40.0, 50.0 mg 各 3 份, 置 50 ml 容量瓶中, 分别加入空白微球 200 mg, 加二氯甲烷 3 ml 使微球溶解, 加甲醇稀释至刻度。3 000 r/min 离心 10 min, 精密量取上清液 1 ml 置 10 ml 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度。HPLC 法测定, 计算峰面积, 由标准曲线计算药物浓度, 并计算回收率。

1.5 二氯甲烷残余量的测定 根据《中华人民共和国药典》(2000 版)二部附录 VIII P。将二氯甲烷对照品以氯仿为溶剂配成 20.28 μg/ml, 进样, 得到 6×10^{-5} g/ml 二氯甲烷的峰面积。将供试品精密称量 100 mg, 用氯仿 2 ml 溶解, 进样。测定条件如下: 柱温: 70 保持 10 min, 而后以 50 /min 升温至 250 , 保持 5 min。进口温度: 250 , 检测温度: 250 , 检测器: FD, 载气: 氮气, 进样量: 2 μl。将样品的峰面积与对照品的峰面积比较, 得知样品中二

氯甲烷的残余量是否超标。

2 结果

2.1 微球理化性质 制得的 DEET-EC 微球为乳白色微粒, 扫描电镜观察其表面有许多微小的气孔, 是由于制备过程中二氯甲烷的挥发而形成, DEET 可从这些气孔中逐渐释放出来(图 1)。微球粒径呈正态分布, 90% 的微球粒径分布在 30~70 μm 间, 40~60 μm 粒径微球占 68.3% (图 2)。其平均算术径(\bar{d}_{ar})及平均球径(\bar{d}_v)分别为 49.6 μm 和 51.2 μm。

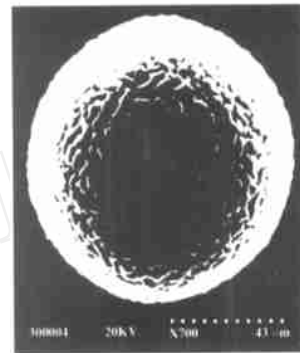


图 1 避蚊胺乙基纤维素微球扫描电镜照片
Fig 1 Micrographs of DEET-EC microsphere by scanning electron microscope (×700)

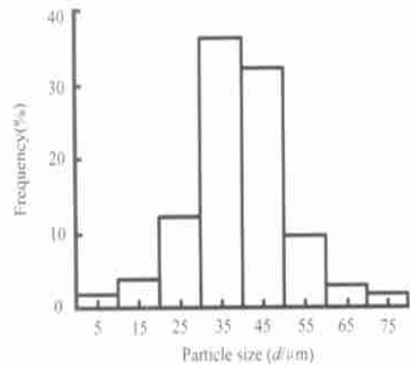


图 2 避蚊胺乙基纤维素微球光学显微镜下粒径分布
Fig 2 Particle size distribution of DEET-EC microspheres estimated by optical microscope

2.2 HPLC 法测定微球载药量及包封率 标准曲线为 $A = 67111.5 + 88161.6c$ ($r = 0.9999$)。日内 RSD < 1.1%, 日间 RSD < 1.70%。方法回收率 99.2%~100.5%, RSD < 2.0%。经测定, 微球载药量为 18.7% (W/W), 药物包封率为 56.1% (n = 6)。

2.3 二氯甲烷残余量 6×10^{-5} g/ml 的二氯甲烷吸收峰面积为 135 ± 3 (n = 3), DEET-EC 的二氯甲烷吸收峰面积为 114 ± 1 (n = 3), 可见, DEET-EC 的二氯甲烷的残余量小于 6×10^{-5} g/ml, 符合药典规定。

3 讨 论

由于避蚊胺为液体油性易挥发药物, 所以微球制备时选择适当的干燥方法非常重要, 我们曾尝试使用真空干燥法(40)短时间内快速干燥微球, 结果发现所得微球载药量低, 仅约 5%。改用冷冻干燥则大幅度地提高了微球的载药量。

因避蚊胺在水中有一定的溶解度(0.99 g/L), 所以制备微球时适当减少水相体积会提高避蚊胺的包封率。但当油相比例超过总体积的 50% 时, 制得的微球会有粘连现象。

制备过程中所用乳化剂 PVA 的浓度不仅与微球的粒径大小直接相关, 更可对微球载药量产生影响。如 PVA 浓度增高, 则为防止微球粘连, 清洗次数增多, 此时微球中的 DEET 会有一部分溶解在水中被带走。

以上实验表明, 以溶剂挥发法制得的避蚊胺乙基纤维素微球可通过在水中扩散去除溶剂, 避免了升温除溶剂法对挥发性药物的损失, 为一种挥发性

药物制备微球的优良方法。

[参 考 文 献]

- [1] Rutledge LC, Gupta RK, Mehr ZA, et al. Evaluation of controlled-release mosquito repellent formulations[J]. *J Am Mosq Control Assoc*, 1996, 12(1): 39-44
- [2] Qiu H, Jun HW, McCall JW. Pharmacokinetics, formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET): a review [J]. *J Am Mosq Control Assoc*, 1998, 14(1): 12-27.
- [3] Salafsky B, He YX, Li J, et al. Short report: study on the efficacy of a new long-acting formulation of N,N-diethyl-m-toluidide (DEET) for the prevention of tick attachment [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2000, 62(2): 169-172
- [4] 张稷博, 关玉辉, 邢 丽, 等. 避蚊胺包结化合物的研制及其生物效能评价 [J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2001, 12(1): 56-57.
- [5] Fong CPT, Fai Y, SAFMC, et al. Perception and use of insect repellent among soldiers in the Singapore Armed Forces [J]. *Mil Med*, 1996, 161(2): 113-116

[收稿日期] 2004-07-16

[修回日期] 2004-09-21

[本文编辑] 尹 茶

· 短篇报道 ·

口服免疫球蛋白治疗小儿病毒性肠炎 60 例疗效观察

Oral immunoglobulin in treatment of child rotavirus enteritis an observation of 60 cases

张清玉(河南省镇平县医院儿科, 镇平 474250)

[关键词] 病毒性肠炎; 轮状病毒; 免疫球蛋白

[中图分类号] R 512.5

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)11-1237-01

* 病毒性肠炎为 2 岁以下小儿腹泻病的常见病因, 其中轮状病毒为最主要的病原体。目前仍缺乏特效的抗轮状病毒药物, 临床上多采用饮食疗法和体液疗法, 但效果欠佳。我们于 2003 年 10 月上旬至 2004 年 1 月下旬病毒性肠炎高峰期采用猪免疫球蛋白口服液治疗 60 例病毒性肠炎患儿, 现将结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料 2003 年 10 月上旬至 2004 年 1 月下旬我院儿科收治的腹泻病患儿, 参照中国腹泻病诊断治疗方案^[1]中的临床诊断及病原学诊断内容, 剔除其他因素引起的腹泻, 诊断为病毒性肠炎, 共 110 例。病程 < 72 h, 大便无脓血, 便质成蛋花汤样或黄色水样或间有黏液, 无腥臭气, 大便每日 5 次以上, 伴有或不伴有脱水及电解质紊乱, 所有病例均在入院后作大便常规检查, 大便细菌培养均阴性。按入院顺序分为两组, 治疗组 60 例, 男 38 例, 女 22 例, 年龄 6 个月 12 例, 6 个月至 1 岁 22 例, 1~2 岁 26 例; 对照组 50 例, 男 29 例, 女 21 例, 年龄 6 个月 9 例, 6 个月至 1 岁 19 例, 1~2 岁 22 例。36 例患儿 ELISA 法粪便检出人轮状病毒, 其中治疗组 20 例, 对照组 16

例。两组均给以调整饮食, 助消化, 常规补液, 纠正水、电解质、酸碱平衡紊乱。有呼吸道症状者适当给以抗感染及对症治疗, 发热者适当给以退热药物。治疗组加服三九集团生产的猪免疫球蛋白口服液, 每次 0.5 ml/kg, 每日 3 次口服, 疗程 5 d。

1.2 疗效判定标准 根据全国第二次小儿腹泻会议制定的标准判断疗效。显效(痊愈): 服药 24~48 h 粪便次数减少至每日 < 2 次或恢复到病前次数, 粪便性状恢复正常, 临床症状完全消失; 有效: 服药 48~72 h, 粪便次数减少至每日 2 次, 粪便性状好转, 水分明显减少, 临床症状基本消失; 无效: 服药 72 h, 腹泻次数仍每日 > 2 次或粪便性状无明显好转。

2 结 果

免疫球蛋白治疗组 60 例中, 显效 45 例(75.0%)、有效 7 例(11.6%)、无效 8 例(13.3%); 对照组 50 例中, 显效 24 例(48.0%)、有效 11 例(22.0%)、无效 15 例(30.0%)。两组间

(下转第 1242 页)

* [作者简介] 张清玉(1956-), 女(汉族), 副主任医师