2 种美洛昔康混悬剂的制备及其体内外释药行为考察

刘俊峰，王君吉，赵 源，李 钦，何 军*
（中国医药工业研究总院药物制剂国家工程研究中心，上海 201203）

摘要：本研究分别采用湿磨法和微射流高压均质法制备了美洛昔康（**1**）的纳米与微米级混悬剂，优化了二者的处方及制备工艺参数，并进行了体外表征和体内外释药行为考察。使用分散剂释放装置考察了 2 种粒径混悬剂的体外释放，纳米混悬剂的释放终点较微米混悬剂缩短 12 h。以雌性 SD 大鼠为模型，采用肌内注射方式给药，考察 2 种混悬剂的药动学行为。结果表明，纳米混悬剂较微米混悬剂的达峰时间显著缩短（1.00 h vs. 16.00 h）、最大血药浓度显著提高（5.10 μg/ml vs. 4.20 μg/ml）。纳米混悬剂与微米混悬剂均可在 144 h 内维持缓释作用。纳米混悬剂的体循环吸收速率较快，可应用于缓解急性疼痛；微米混悬剂血药浓度平稳，可应用于长期疼痛的治疗。

关键词：美洛昔康；纳米混悬剂；微米混悬剂；分散剂释放装置；体内外评价；药动学
中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)12-1743-09
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.12.010

Preparation of Two Kinds of Meloxicam Suspensions and Investigation on Their Release Behaviors *in vitro* and *in vivo*

LIU Junfeng, WANG Junji, ZHAO Yuan, LI Qin, HE Jun*
(*National Pharmaceutical Engineering and Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: The nano- and micro-suspensions loaded with meloxicam (**1**) were prepared by wet milling process and microfluidic homogenization method, respectively. Their formulations and process parameters were optimized and characterized. And the *in vitro* and *in vivo* release behaviors of nano- and micro-suspensions were investigated. The *in vitro* release test was carried out with the dispersion releaser device. The results showed that the release plateau of the nanosuspensions was shortened by 12 h, compared with the microsuspensions. The *in vivo* test with female SD rats as the models was adopted to investigate the pharmacokinetic behaviors of two kinds of suspensions of **1** after intramuscular injection. The results showed that compared with micro-suspensions, the t_{max} of nanosuspensions was significantly shortened (1.00 h vs. 16.00 h) and the c_{max} was increased (5.10 μg/ml vs. 4.20 μg/ml). However, both nanosuspensions and microsuspensions can maintain sustained-release profiles for 144 h. **1**-Nanosuspensions with faster systemic absorption could be applied to relieve acute pain, and **1**-microsuspensions with stable plasma concentration could be used for treatment of long-term pain.

Key Words: meloxicam; nanosuspension; microsuspension; dispersion releaser device; *in vitro* and *in vivo* evaluation; pharmacokinetics

类风湿性关节炎（rheumatoid arthritis，RA）是滑膜关节中结缔组织的一种慢性自身免疫性疾病，特征是局部炎症导致关节肿胀及变形，轻度 RA 导致运动受损，重度 RA 可导致残疾[1]。目前 RA 潜在的疾病机制仍不清楚，通常由感染和炎症介质触发。RA 的发病概率随着年龄的增长而增加，且女性更容易患病；全球有 0.3%～1% 的人受到该疾病的影响[2]。目前临床治疗 RA 主要使用非甾体抗炎药（NSAID），通过抑制环氧合酶 -2（COX-2）受

收稿日期：2022-04-04
作者简介：刘俊峰(1998—)，男，硕士研究生，专业方向：药物新制剂。
通信作者：何 军(1976—)，男，研究员，从事新型注射给药系统的研究。
E-mail：chinaynhe@163.com

体抑制前列腺素合成而起到抗炎镇痛的效果[3]。美洛昔康（meloxicam，**1**）可选择性抑制 COX-2 受体，相较于双氯芬酸与萘普生等非选择性抑制剂具有较高的安全性，且 **1** 用于局部肌内注射给药时具有刺激性小、耐受性良好的优点[4]。

1 为生物药剂学分类系统（BCS）Ⅱ类药物，溶解性较差[5]，应用肌内或静脉注射方式给药较为困难。因此，本研究将 **1** 分别制成纳米和微米级的混悬剂，期望达到延长体内半衰期、减少给药频次的目的，同时通过考察二者在大鼠体内的药动学差异来探究纳米和微米级的混悬剂肌内注射后的释药机制，为后续制备不同类型的 NSAID 混悬剂用于治疗急性疼痛、局部炎症提供新思路。

1　仪器与试药

Research Lab 型湿法球磨机和氧化锆（ZrO_2）珠（直径为 0.2 和 0.3 mm）（瑞士华尔宝公司）；实验型微射流高压均质机（美国 Nano DeBEE 公司）；LC-20A 型高效液相色谱仪、LCMS-8030-LC-20A 型液质联用仪（日本岛津公司）；Mastersize-3000 型激光粒度仪（英国 Malvern 公司）；Nicomp Z3000 型纳米粒径测定仪（美国 PSS 公司）；PTWS120s 型全自动纳米体外溶出仪（德国 Pharma Test 公司）；D8 Advance 型 X 射线粉末衍射（XRD）仪（德国 Bruker 公司）；EL-85 型冷冻干燥仪（美国 SP Scientific 公司）；纤维素透析膜（截留分子量 50 000，美国 Spectrum 公司）。

1 原料药［江苏飞马药业有限公司，含量≥ 99%，批号 M200601，初始粒径 $d(0.5)$=23 μm］；吡罗昔康（美国 MCE 公司，含量≥ 99%，批号 14738）；聚乙烯吡咯烷酮 K12、K17 和泊洛沙姆 188、407（以下简称 PVP K12、PVP K17、p188、p407，均由德国 BASF 公司赠送）；聚乙烯吡咯烷酮 K30（PVP K30，上海沃凯试剂有限公司）；羟丙甲纤维素（HPMC，美国陶氏化学公司，型号 E3 和 E5）；脱氧胆酸钠（NaDOC，上海麦克林生化科技有限公司）；乙酸铵、二甲基亚砜、蔗糖（均购自中国医药集团化学试剂有限公司）；纯化水由实验室自制。

SD 大鼠 10 只，雌性，7 ～ 8 周龄、180 ～ 220 g，上海西普尔 - 必凯实验动物有限公司，试验动物生产许可证编号 SCXK（沪）20180006。

2　方法与结果

2.1　**1** 纳米混悬剂（**1**-nano）的制备

1-nano 的制备工艺和处方参照文献报道[6]。向纯化水 100 ml 中加入 PVP K12（1.35 g）和脱氧胆酸钠（0.45 g），搅拌至完全溶解后加入 **1** 原料药 4.5 g，充分分散得到粗混悬剂 a，加入球磨机研磨腔内，同时加入一定粒径的氧化锆珠 70 ml，研磨转速设定为 4 500 r/min，研磨一定时间后移取混悬剂，测定混悬剂中 **1** 浓度，使用纯化水稀释样品至 **1** 质量浓度为 30 mg/ml。向混悬剂中加入蔗糖质量浓度为 90 mg/ml 的溶液，调节至 **1**-nano 渗透压为 278 mOms/L 以满足小剂量肌内注射剂的渗透压要求，即得 **1**-nano。

2.2　**1**-nano 制备工艺优化

2.2.1　**1**-nano 粒径测定方法

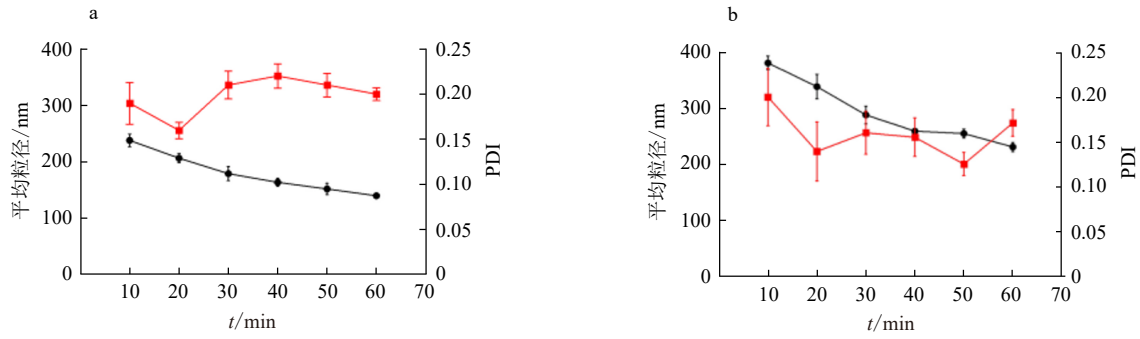
使用纳米粒径测定仪测定 **1**-nano 的平均粒径。向纯化水 3 ml 中加入 **1**-nano 混悬液 10 μl，充分分散后加入比色皿中测定平均粒径。仪器参数设定如下：分散介质折射率 1.330；黏度 0.887 Pa·s；折射率 1.720；密度 1.613 g/cm^3。平行测定 3 次，计算平均值。

2.2.2　研磨珠粒径与研磨时间的影响

其他参数同“**2.1**”项，分别使用直径为 0.2 和 0.3 mm 的氧化锆珠作为研磨介质，在研磨开始后 10、20、30、40、50、60 min 移取样品 0.5 ml，采用“**2.2.1**”项下方法测定样品平均粒径与多分散性指数（PDI），结果如图 1 所示。2 组 **1**-nano 的平均粒径均随研磨时间增加呈下降趋势。采用 0.2 和 0.3 mm 的氧化锆珠研磨 60 min，所得 **1**-nano 的平均粒径分别为（140.81±5.56）和（232.07±8.23）nm。文献报道[7]，固体颗粒纳米混悬剂保持微粒布朗运动抵消重力沉降作用的粒径极限约为 300 nm。因此，为保证 **1**-nano 稳定性、抑制 **1**-nano 的沉降聚集，选择 0.2 mm 的氧化锆珠为研磨介质，研磨时间为 60 min。

2.3　**1** 微米混悬剂（**1**-micro）的制备

向纯化水 100 ml 中加入一定剂量的稳定剂与



a—0.2 mm 的氧化锆珠；b—0.3 mm 的氧化锆珠。

●—平均粒径；■—PDI。

图 1 纳米混悬剂平均粒径、PDI 随研磨时间的变化（*n*=3）

Fig.1 Changes of Average Particle Size and PDI of the Nanosuspensions with the Milling Time (*n*=3)

润湿剂，搅拌至完全溶解后加入 **1** 原料药 3.0 g，充分分散得到粗混悬剂 b，将其加入微射流高压均质机均质腔内，以一定压力与均质次数对粗混悬剂进行微射流均质，均质完成后向混悬剂中加入蔗糖质量浓度为 90 mg/ml 的溶液，调节渗透压以满足小剂量肌内注射剂的渗透压要求，即得 **1**-micro。

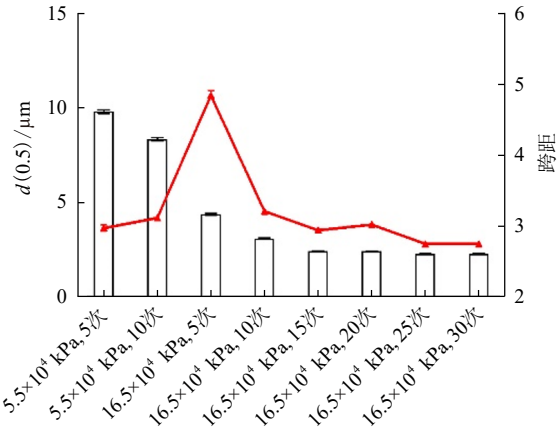
2.4 1-micro 制备工艺优化

2.4.1 1-micro 粒径测定方法

使用激光粒度仪测定 **1**-micro 的中值粒径 *d*(0.5) 及跨距（span，代表粒度分布范围的宽窄）。取 **1**-micro 混悬液 0.5 ml，加入纯化水 500 ml 中，搅拌分散，搅拌转速为 1 500 r/min，平行测定 3 次，计算平均值。

2.4.2 1-micro 工艺优化

向纯化水 100 ml 中加入脱氧胆酸钠（润湿剂）0.3 g 和 PVP K17（稳定剂）0.9 g，搅拌至完全溶解后加入 **1** 原料药 3 g，充分分散后加入微射流高压均质机的均质腔内，在 5.5×10^4 kPa 的均质压力下循环混悬 10 次、16.5×10^4 kPa 循环 30 次，每循环 5 次取样，采用“**2.4.1**”项下方法测定样品 *d*(0.5) 及跨距，结果见图 2。随着均质次数的增加，混悬剂粒径呈下降趋势，在 16.5×10^4 kPa 循环 15 次后，混悬剂 *d*(0.5) 为 (2.44±0.03) μm，跨距为 2.94±0.02；均质次数继续增加则跨距呈下降趋势，但 *d*(0.5) 不再显著下降；至循环 25 次时跨距为 2.76±0.01；继续循环至 30 次，跨距未见显著下降。粒度分布窄的混悬剂稳定性受奥斯特瓦尔德效应影响减小，制剂稳定性高。综上所述，选用 5.5×10^4 kPa 均质 10 次后 16.5×10^4 kPa 均质 25 次作为 **1**-micro 最优制备工艺。



□—*d*(0.5)；▲—跨距。

图 2 均质次数与压力对微米混悬剂粒径的影响（*n*=3）

Fig.2 Effect of Homogenization Times and Pressure on Particle Size of the Microsuspensions (*n*=3)

2.5 1-micro 处方优化

2.5.1 稳定剂种类的筛选

参照《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020）收载的 **1** 含量测定方法，进行 HPLC 检测。

色谱条件：色谱柱 CAPCELL PAK C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 甲醇：0.1 mol/L 乙酸铵

溶液（1 ∶ 1）；检测波长 270 nm；柱温 30 ℃；流速 1 ml/min；进样量 20 μl。

本试验中 **1** 的线性范围为 10 ～ 100 μg/ml（相关系数 r=0.998 2）；方法学验证结果表明该方法专属性较好，日内 RSD 为 0.22%、日间 RSD 为 1.18%。

分别取 PVP K12、PVP K17、PVP K30、p188、p407、HPMC E3、HPMC E5 各 10 mg，加入纯化水 100 ml 搅拌至完全溶解，得各稳定剂溶液；另取 **1** 原料药 30 mg，加入 DMSO 1 ml 完全溶解。室温下将 **1** 的 DMSO 溶液 10 μl 加至上述稳定剂溶液 2 ml 中，3 000 r/min 涡旋 5 min，离心（8 000×g）10 min，收集上清液，经 0.22 μm 水系滤膜过滤，滤液加入等体积甲醇稀释后照上述色谱条件测定 **1** 浓度。与此同时，取纯化水 2 ml 于 EP 管内，采用相同处理方法测定 **1** 水溶液浓度，照式①计算 7 种稳定剂中 **1** 的过饱和度，结果见表 1。PVP 类聚合物中，PVP K30 对 **1** 的增溶效果较好、过饱和度较高，HPMC 类聚合物中则是 HPMC E3 效果较好，而泊洛沙姆类聚合物效果均较差。

$$过饱和度=\frac{c_{稳定剂增溶后}}{c_{1水溶液}} \qquad 式①$$

表 1　不同稳定剂的增溶结果（n=3）

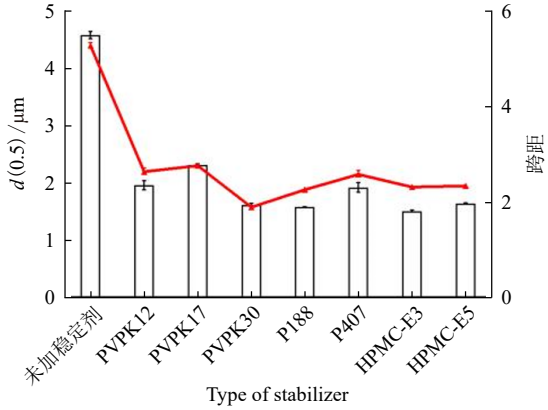
Tab.1　Solubilization Results of Different Stabilizers (n=3)

稳定剂种类	质量浓度/(μg·ml^{-1})	过饱和度
未加稳定剂	15.12±1.17	1
PVP K12	31.55±3.61	2.09
PVP K17	38.27±5.62	2.53
PVP K30	46.14±1.58	3.05
p188	18.38±8.00	1.22
p407	15.32±1.12	1.01
HPMC E3	52.14±11.31	3.45
HPMC E5	37.69±7.34	2.49

根据稳定剂发挥作用的机制对结果进行分析可知，PVP 类聚合物可与 **1** 的 4 位羟基形成氢键，有效增加 **1** 溶解度。HPMC E 型聚合物同时具有一定比例的亲水基团（—POOH、取代度 7%～12%）和较高比例的疏水基团（—OCH_3、取代度 28%～30%），对难溶性药物具有较好的增溶效果，而 E3 与 E5 增溶效果产生差异的原因可能与 HPMC 对 **1** 的最大增溶分子量（当 HPMC 的相对分子质量处于中低范围时，对药物结晶的抑制作用有较大影响；但当相对分子质量达到一个临界水平后，继续增加相对分子质量对抑制结晶无明显作用，该相对分子质量即对应为最大增溶分子量）相关[8]。泊洛沙姆类聚合物增溶作用较差，可能是因为该类型聚合物主要通过聚氧乙烯（PEO）- 聚氧丙烯（PPO）的两亲性对 BCS Ⅱ类药物的强疏水表面进行半锚定，起到空间稳定的作用[9]。因此，不能仅根据增溶结果选择稳定剂种类，还需要通过测定不同稳定剂制备的混悬剂的粒径进行确证。

2.5.2　稳定剂对粒径的影响

用“**2.5.1**”项下的 7 种聚合物作为稳定剂，分别制备 **1**-micro（稳定剂质量浓度为 9 mg/ml，其余辅料及制备工艺参数同“**2.4.2**”项），并测定其 d(0.5) 与跨距，结果如图 3 所示。PVP K30 组制品较 PVP K17 与 PVPK 12 组显示出较小的 d(0.5) 与跨距，与“**2.5.1**”项下过饱和度结果一致；p188、p407 组在混悬剂制备完成的 24 h 后出现局部结块现象，表明 PEO-PPO 链在贮存过程中无法提供足够的空间稳定性阻止药物颗粒的聚集；HPMC E3 与 HPMC E5 组产品同样显示出较低的 d(0.5) 及跨距，但跨距均大于 PVP K30 组。因此，最终选择 PVP K30 作为制备 **1**-micro 的稳定剂。



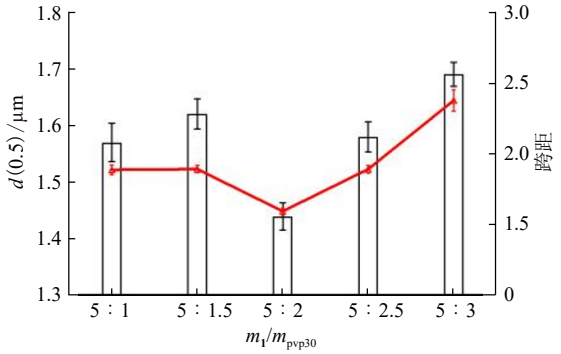
□—d(0.5)；▲—跨距。

图 3　稳定剂种类对 d(0.5) 及跨距的影响（n=3）

Fig.3　Effect of Stabilizer Type on d(0.5) and Span Values (n=3)

2.5.3 稳定剂与 **1** 比值的优化

在其他条件不变的情况下，考察 **1** 与 PVP K30 的不同质量比（5 ∶ 1 ～ 5 ∶ 3）对所得混悬剂 *d*(0.5) 及跨距影响，结果如图 4 所示。稳定剂含量增加时，制备过程中介质黏度增大，且均质过程易出现泡沫，从而将空气带入均质腔内，降低空化作用，使破碎效率下降；稳定剂含量较低时，制备过程中无泡沫产生，高压下的空化作用强，破碎效率提升[7]，但 PVP K30 占比过低不利于小粒径颗粒的稳定；当 **1** 与 PVP K30 质量比为 5 ∶ 2 时，制备过程中仅有少量泡沫产生，*d*(0.5) 与跨距均显著下降。因此，**1** 与 PVP K30 质量比选用 5 ∶ 2。



□—*d*(0.5)；▲—跨距。

图 4 1 与 PVP K30 质量比对 *d*(0.5) 及跨距影响 (*n*=3)

Fig.4 Effect of Mass Ratio of **1** to PVP K30 on *d*(0.5) and Span Values (*n*=3)

2.6 **1**-nano、**1**-micro 理化性质表征

2.6.1 粒径与 ζ 电位分析

采用“**2.2.1**”与“**2.4.1**”项下方法测定 **1**-nano、**1**-micro 粒径，采用“**2.2.1**”项下的稀释倍率对 **1**-micro、**1**-nano 进行 ζ 电位分析。结果显示，**1**-micro 的 *d*(0.5) 为 (1.44±0.02) μm、跨距 (1.61±0.02)、ζ 电位 －40.06 mV，**1**-nano 平均粒径 (140.81±63.36) nm、PDI (0.20±0.12)、ζ 电位 －40.46 mV。**1**-micro 与 **1**-nano 的 ζ 电位绝对值均大于混悬剂稳定的最小电位值 25 mV[10]，表明 2 种混悬剂微粒间电荷斥力满足稳定性要求。

2.6.2 晶型分析

采用 XRD 法表征样品中 **1** 的晶型。检测条件：管压 40 kV、管流 40 mA、扫描速度 1 (°)/min、衍射角 3° ～ 45°，结果如图 5 所示。**1** 目前报道已有 4 种晶型，晶型Ⅰ为主要晶型[5]，**1**-micro 与 **1** 原料药图谱中的特征峰与晶型Ⅰ一致，表明制备过程中晶型未发生改变；**1**-nano 图谱中 **1** 的特征峰强度较低，无法判断晶型是否发生转变。因此，使用冷冻干燥机对 **1**-nano 进行处理，将冻干粉进行 XRD 分析，结果如图 6 所示。**1** 的 8 个特征峰在 **1**-nano 冻干粉中均存在，表明 **1**-nano 在制备过程中晶型未发生改变。

2.7 **1**-micro 和 **1**-nano 的体外释放研究

使用结合桨法的 Pharma Test 分散剂释放装置（如图 7 所示）对 **1**-micro 和 **1**-nano 的体外释放进行考察。该释放装置与全自动桨法溶出仪连接，药物供体隔室内部通过带有集成磁铁的桨式搅拌器进行搅拌，外部包覆透析膜截留内部未溶解的药物颗粒，下方连接磁力搅拌桨对溶出杯内部介质进行搅拌。该装置通过隔室内部的磁性桨带动外部磁力搅拌桨调节体系搅拌速率，维持药物供体隔室内部介质与外部释放介质的稳态剪切流动，促进供体隔室内已溶解药物以较高的膜传导速率向外部释放[11]。

使用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液（PBS，pH 7.0）为释放介质，药物供体隔室外部包覆的半透膜截留分子量为 50 000。供体室内部分别加入 **1**-micro、**1**-nano 混悬液 500 μl，然后补充 PBS 3.5 ml（最大内容积为 4 ml）；外部溶出杯中加入 PBS 130 ml。设定释放温度为 37 ℃、内外桨转速为 100 r/min，于 0.083、0.167、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、16 和 24 h 取出外部释放介质 1 ml（及时补充新鲜释放介质 1 ml）。取样位置固定在药物供体室与溶出杯中点液面下 1.5 cm 处，按“**2.5.1**”项下方法测定对应时间点释放介质中 **1** 的浓度，计算累积释放率，结果见图 8。**1**-nano 具有较快的释放速率，6 h 累积释放率达到 (85.01±1.16) %，12 h 达到释放终点，而 **1**-micro 6 h 累积释放率仅为 (70.02±1.77) %，24 h 时达到释放终点。相较而言，纳米混悬剂的释放终点较微米混悬剂缩短 12 h。粒径差异是导致 2 种混悬剂释放速率产生差异的主要原因，该试验方法能有效区分这 2 种粒径不同的混悬剂体外释放行为。

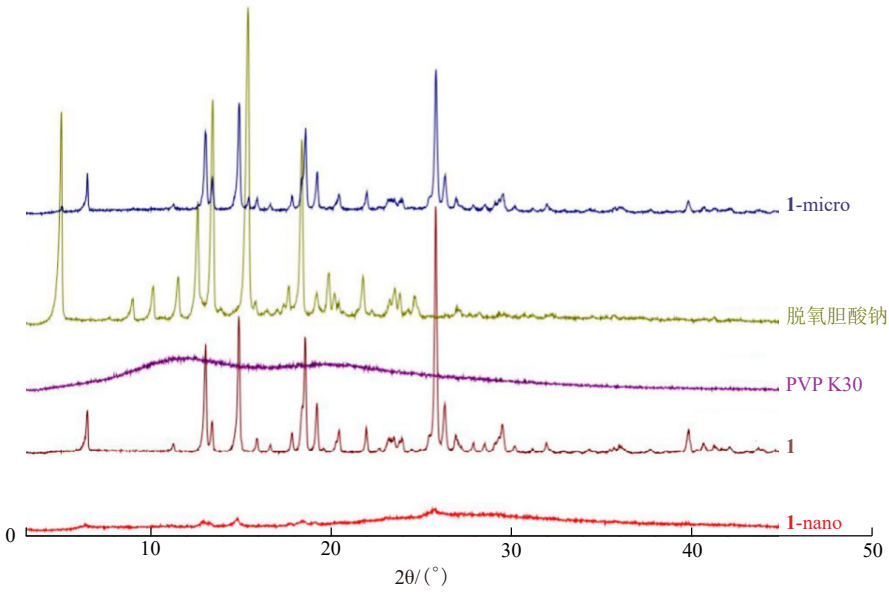
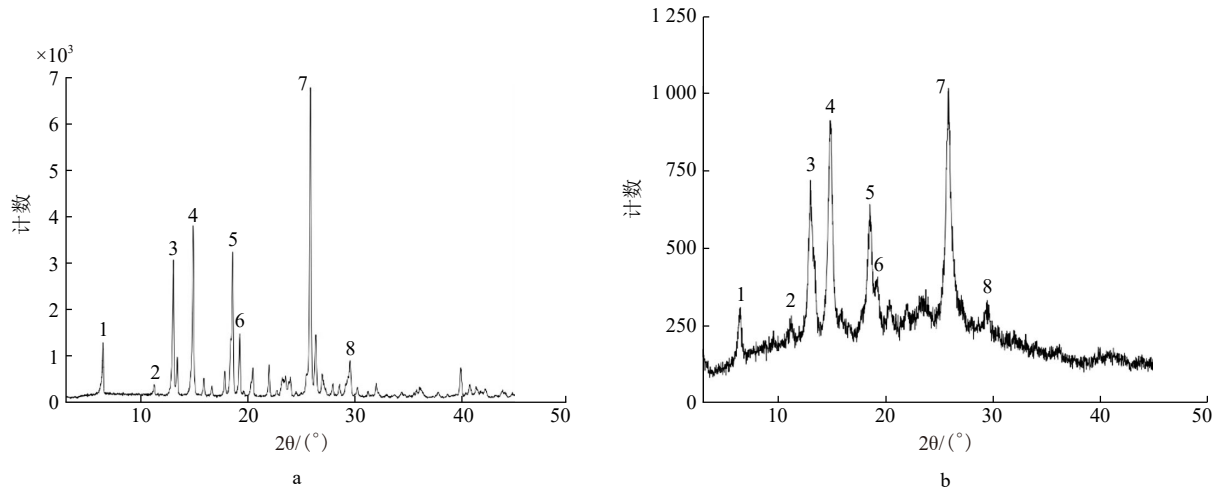


图 5　1-micro、脱氧胆酸钠、PVP K30、1 和 1-nano 的 XRD 图谱

Fig.5　XRD Patterns of **1**-micro, Sodium Deoxycholate, PVP K30, **1**, and **1**-nano



1 ～ 8—晶形 Ⅰ 的特征峰。

图 6　1(a) **和 1-nano 冻干粉** (b) **的 XRD 图谱**

Fig.6　XRD Patterns of **1** (a), Freeze-dried Powder of **1**-nano (b)

2.8　1-micro 和 **1**-nano 的大鼠体内药动学研究

选用雌性 SD 大鼠，适应性喂养 1 周后，采用随机分组法分为 **1**-micro 和 **1**-nano 组，每组 5 只。分别于右后肢大腿内测肌内注射混悬剂 0.04 ml（给药剂量为 6 mg/kg），在 0.167、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96、120、144 h 时从眼框取血 0.5 ml，离心 (8 000×*g*) 10 min 取血浆，将甲醇 300 μl 加入血浆 100 μl 中，2 700 r/min 涡旋 5 min，离心 (8 000×*g*) 10 min 沉淀蛋白，移取上清 50 μl 加至内标溶液 (500 ng/ml 的吡罗昔康甲醇溶液) 950 μl 中，使用液质联用仪测定大鼠体内 **1** 血药浓度。

色谱条件：色谱柱 AQUITY UPLC-BEH Shield RP18 柱 (2.1 mm×100 mm，1.7 μm)；流动相 0.1 mol/L 甲酸溶液 (A)：甲醇 (B)，梯度洗脱 (0—1 min，



图 7 Pharma Test 分散剂释放装置

Fig.7 Pharma Test Dispersion Releaser Device

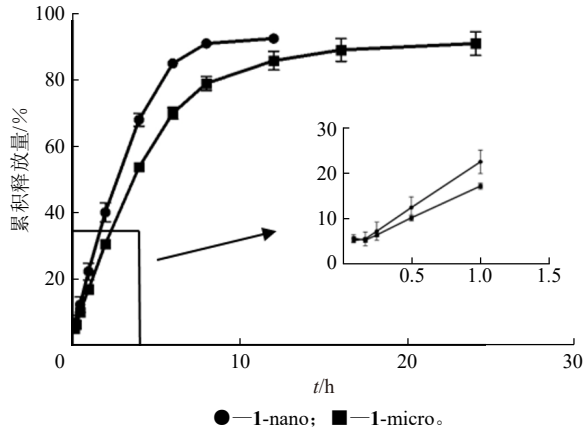


图 8 1-nano、1-micro 体外释放曲线（*n*=3）

Fig.8 *In vitro* Release Curves of **1**-nano and **1**-micro (*n*=3)

A 90%；1—5 min，A 40%）；流速 0.4 ml/min；柱温 40 ℃；进样量 10 μl。

质谱条件：电离源 电喷雾电离源，正离子模式；离子化温度 400 ℃；电喷雾电压 4.5 kV；雾化气（GS1）流速 3 L/min；去溶剂气（GS2）流速 15 L/min；碰撞气（CID）压力 230 kPa；监测离子对 *m/z* 351 → *m/z* 115（**1**）、*m/z* 332 → *m/z* 95（内标）。

使用 DAS 2.1.1 软件对数据进行处理，绘制药 - 时曲线，计算主要药动学参数，结果如图 9 和表 2 所示。**1**-nano 组 t_{max} 仅为（1.01±0.02）h，较 **1**-micro 组达峰时间（16.00±7.48）h 缩短了 15 h，同时 c_{max} 提升至（5.10±0.37）μg/ml，较 **1**-micro 组［(4.20±0.67) μg/ml］显著升高。

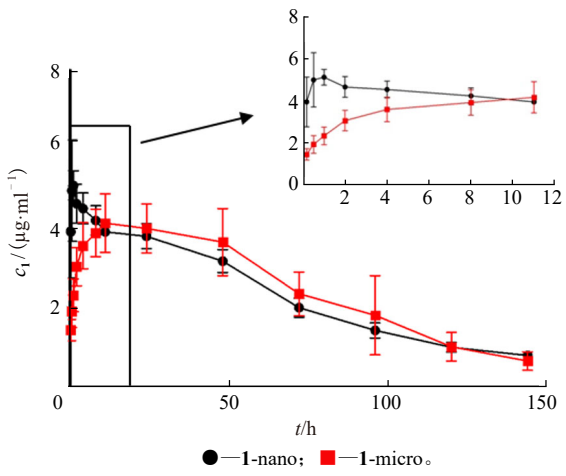


图 9 1-nano 或 1-micro 大鼠肌内注射给药后的药 - 时曲线（*n*=5）

Fig.9 Plasma Drug Concentration-time Curves of **1** in Rats after Intramuscular Injection of **1**-nano or **1**-micro (*n*=5)

表 2 1-micro、1-nano 的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，*n*=5）

Tab.2 Main Pharmacokinetic Parameters of **1**-micro and **1**-nano ($\bar{x}\pm s$, *n*=5)

参数	**1**-micro	**1**-nano
c_{max}/(μg·ml^{-1})	4.20±0.67	5.10±0.37[1)]
t_{max}/h	16.00±7.48	1.00±0.02[2)]
$t_{1/2}$/h	34.56±9.55	52.43±8.67[1)]
$AUC_{0\to t}$/(μg·h·ml^{-1})	360.08±8.07	336.39±15.61
$MRT_{0\to t}$/h	52.02±3.73	50.65±1.84

注：[1)] 表示 $P<0.05$，[2)] 表示 $P<0.01$。

3 讨论

本试验通过湿磨法与微射流法制备了 **1**-nano、**1**-micro。**1**-nano 需要破碎效率较高的湿磨法进行制备，而湿磨法中的研磨介质对于研磨效率有至关重要的影响。本研究探究了研磨介质粒径对最终粒径的影响，对比了 2 种粒径的氧化锆珠作为研磨介质制备的纳米混悬剂的粒径及 PDI。结果显示，直径 0.2 mm 的氧化锆珠具备更高的破碎效率，因为小粒径氧化锆珠能增加研磨过程中的应力点[7]。结合湿法研磨每单位体积料液施加的功率 P_w 计算公式（式

②）[12]，可见在控制药物悬浮液表观性质一致，相同设备、介质填充体积、研磨转速、研磨时间的条件下，氧化锆珠粒径越小，P_w 值越大，最终得到纳米混悬剂粒径具备粒径小、分布窄的优点。

$$P_w=\frac{54\mu_1 c\theta R_{diss}}{d_b^2}+\frac{12}{d_b\pi}(1-k^2)\left[\frac{1-0.5c}{(1-c)^3}\right]c^2\rho_b\theta^{\frac{3}{2}}+\varepsilon_{ht}\quad 式②$$

其中，μ_1 为液体表观黏度，c 为研磨介质体积分数，θ 为颗粒温度，R_{diss} 为有效耗散阻力系数（与腔体结构相关），d_b 为氧化锆珠中值粒径，k 为介质碰撞恢复系数，ρ_b 为氧化锆珠密度（约 6 000 kg/m^3），ε_{ht} 为剪切等效液体（研磨药物悬浮液）所消耗的功率。

1-nano 制备过程中料液温度会升高，在研磨至 60 min 时料液整体温度达到 70 ℃，继续研磨温度还会继续升高，易导致处方中聚合物稳定剂出现交联或降解，因此确定本验条件下研磨时间极限为 60 min。

由于微米混悬剂的颗粒较大，受重力作用易产生聚集、结块，不能直接参照 **1**-nano 处方进行制备，需要对稳定剂种类及用量进行重新优化。具有较高增溶效果的稳定剂在一定程度上可降低结晶的热力学驱动力，同时可阻止已溶解的药物分子与晶体表面的相互作用，从而抑制晶体生长，降低长期存放过程中的奥斯特瓦尔德效应，该作用也被称作稳定剂的“降落伞作用”[13]。**1**-micro 的微射流制备过程中，溶液黏度与空化效应对颗粒破碎效率具有显著影响，黏度不同的液体通过内腔中微孔的速度具有明显差异，可影响后续的撞击破碎、剪切力破碎、空化作用、振动破碎等一系列作用[14]。高分子聚合物稳定剂的黏度通常较高，高比例应用时会带来难以破碎的缺点，而低浓度稳定剂对小粒径颗粒的稳定效果较差。本试验通过筛选稳定剂的种类和用量，在保证破碎效率的同时可维持药物微粒稳定。

目前对于纳米和微米级制剂的体内外评价方法依旧存在较大争议[15]。传统透析袋法具有重现性差、组间变异系数大等问题，为解决上述问题相继开发出流通池法与结合桨法的纳米释放装置，使纳米和微米级制剂的体外释放曲线更具有区分度。本试验使用结合桨法的纳米释放装置对 **1**-nano、**1**-micro 进行了体外释放试验，在选用合适截留分子量纤维素透析膜的情况下，该方法可以模拟体内药物贮库缓慢释药的特性，有效区分不同粒径混悬剂释放速率的差异，为后续研究其他 BCS Ⅱ类药物混悬剂的体外释放行为提供方法参考。

在体内评价方面，药物纳米混悬剂通过口服、静脉、肌内、皮肤等途径给药可实现提升药物生物利用度、缩短达峰时间；微米混悬剂则具有能长期释药的特点。本研究表明，**1**-nano 在肌内注射后相较 **1**-micro 具有 t_{max} 缩短、c_{max} 升高、$t_{1/2}$ 延长的特点。结合已报道文献[16—17]，对 **1**-nano、**1**-micro 体内释药机制进行探讨，结论如下：**1**-nano 肌内注射后，粒径小于肌纤维细胞间隙（25 ～ 30 nm[16]）的部分颗粒能快速渗漏进入体循环，剩余的、未渗漏的大粒径微粒则在肌肉间隙内形成贮库，延长药物半衰期，呈现出初始速释、后续缓释的特点；而 **1**-micro 肌注后，几乎全部分散在肌肉间隙，注射部位由于局部炎症反应形成致密的炎症包膜，药物在包膜中形成贮库[17]，限制 **1** 的释放速率，药 - 时曲线呈现缓慢上升至 c_{max} 后缓慢下降的趋势。2 种混悬剂的释药机制示意图如图 10 所示。不同于先前部分报道中纳米混悬剂具有快速达峰、快速清除的特点[18]，本研究中 2 种混悬剂的释药特点可能与药物种类、粒度分布及给药途径相关。

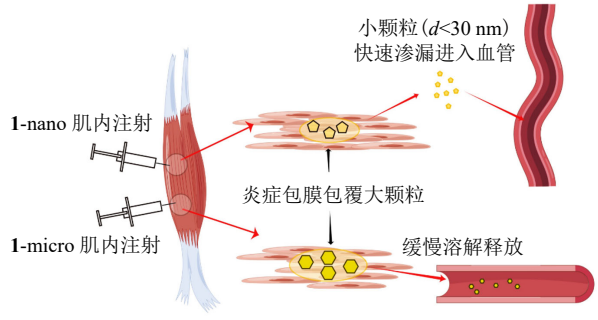


图 10　1-nano、1-micro 肌内注射后释药机制示意图

Fig.10　Schematic Diagram of Mechanism of Drug Release from the **1**-nano and **1**-micro after Intramuscular Injection

综上所述，**1** 的纳米及微米剂混悬剂均具有高载药量的优点，但 2 种混悬剂的释药特点不同，应用领域也不同。**1**-nano 适用于初次给药需要达到较高血药浓度后维持治疗剂量的适应证，如术后的快速镇痛、急性强直性脊柱炎等；而 **1**-micro 适用于需要平稳剂量维持治疗的适应证，以降低药物不良反应的发生概率，如长期类风湿性关节炎、骨关节炎及慢性疼痛等的治疗。

参考文献：

[1] MICHAUD K, POPE J, VAN DE LAAR M, *et al*. Systematic literature review of residual symptoms and an unmet need in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Care Res* (Hoboken), 2021, **73**(11): 1606-1616.

[2] CHAUDHARI K, RIZVI S, SYED B A. Rheumatoid arthritis: current and future trends [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, **15**(5): 305-306.

[3] VANE J R, BOTTING R M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. *Am J Med*, 1998, **104**(3A): 2S-8S.

[4] QASSIM A H, HAMDI O R, AYOOB A A, *et al*. Local effect of intramuscular injection of meloxicam and diclofenac: an experimental, comparative and histological study [J]. *Ann Coll Med Mosul*, 2020, **41**(2): 163-169.

[5] LUGER P, DANECK K, ENGEL W, *et al*. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1996, **4**(3): 175-187.

[6] COOPER E R, RYDE T, PRUITT J, *et al*. Nanoparticulate meloxicam formulations: US, 10709713 B2 [P]. 2020-07-14.

[7] RABINOW B E. Nanosuspensions in drug delivery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, **3**(9): 785-796.

[8] SEPASSI S, GOODWIN D J, DRAKE A F, *et al*. Effect of polymer molecular weight on the production of drug nanoparticles [J]. *J Pharm Sci*, 2007, **96**(10): 2655-2666.

[9] TUOMELA A, HIRVONEN J, PELTONEN L. Stabilizing agents for drug nanocrystals: effect on bioavailability [J]. *Pharmaceutics*, 2016, **8**(2): 16.

[10] CLOGSTON J D, PATRI A K. Zeta potential measurement [M]// MCNEIL S E. Characterization of nanoparticles intended for drug delivery. Methods in molecular biology, vol 697. Totowa: Humana Press, 2011.

[11] JANAS C, MAST M P, KIRSAMER L, *et al*. The dispersion releaser technology is an effective method for testing drug release from nanosized drug carriers [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, **115**: 73-83.

[12] LI M, ALVAREZ P, BILGILI E. A microhydrodynamic rationale for selection of bead size in preparation of drug nanosuspensions via wet stirred media milling [J]. *Int J Pharm*, 2017, **524**(1/2): 178-192.

[13] PELTONEN L, STRACHAN C. Understanding critical quality attributes for nanocrystals from preparation to delivery [J]. *Molecules*, 2015, **20**(12): 22286-22230.

[14] PREISS F J, HETZ M, KARBSTEIN H P, *et al*. Does cavitation affect droplet breakup in high‐pressure homogenization ? Insights into local effects [J]. *Chem Ing Tech*, 2022, **94**(3): 374-384.

[15] MA Z, ZHANG H, WANG Y, *et al*. Development and evaluation of intramuscularly administered nano/microcrystal suspension [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2019, **16**(4): 347-361.

[16] MELCHIOR F, GERACE L. Mechanisms of nuclear protein import [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1995, **7**(3): 310-318.

[17] DARVILLE N, VAN HEERDEN M, VYNCKIER A, *et al*. Intramuscular administration of paliperidone palmitate extended-release injectable microsuspension induces a subclinical inflammatory reaction modulating the pharmacokinetics in rats [J]. *J Pharm Sci*, 2014, **103**(7): 2072-2087.

[18] YU Y, TIAN Y, ZHANG H, *et al*. The evaluation of meloxicam nanocrystals by oral administration with different particle sizes [J]. *Molecules*, 2022, **27**(2): 421.