

PF-溃疡速宁的研制

俞惠琴 陆克平 刘卫 孙昕 杨素兰

济南军区 88 医院

王嘉德 邹志彤 温进川 张秀萍* 高东来**

吡哌酸(PPA)系全合成抗菌药,抗菌谱广,对包括绿脓杆菌在内的革兰氏阴性杆菌有较强的抗菌作用,对革兰氏阳性球菌也有明显的抗菌活性(1),已收载于 1990 年版中国药典。为进一步开发吡哌酸新剂型我们研制了吡哌酸骨架型外用散剂 PF-溃疡速宁,三年来临床用于治疗小腿溃疡、脓肿、褥疮、创伤感染、烧伤、创面不愈等疗效显著,现报告如下:

一、处方组成

吡哌酸细粉 20 g
载体基质 80 g

二、制备工艺

取处方量的载体基质,置于容器中,在水浴上加热熔融,分次加入吡哌酸细粉(过 100 目筛)边加边搅拌,使成乳状液,保持适宜的温度,继续充分搅拌,然后将药液使呈细条状倾入方盘中,放冷,凝固后,置干燥器中干燥,粉碎,研细,过 100 目筛,分装,即得。

三、质量控制

(一)本品为淡黄色粉末

(二)鉴别

1. 取本品 0.1 g,加枸橼酸醋酐试液 1 ml,加热后显黄色,继续煮沸 2 分钟呈棕红色。

2. 取本品用氢氧化钠液(0.01 mol/L)制成含主药吡哌酸 4 μg/ml 的浓度,照分光光度法测定在 273、332±1 nm 的波长处有最大吸收。

(三)含量测定

用紫外分光光度法:仪器 PYE UNIC-AM sp 8-100 uv 仪(英国)

对照品溶液的制备:精密称取经 105℃ 干燥至恒重的吡哌酸对照品约 0.1 g,置 500 ml 量瓶中,加氢氧化钠液(0.01 mol/L)适量使溶解,并稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 2 ml 置 100 ml 量瓶中,加氢氧化钠液(0.01 mol/L)稀释至刻度,摇匀,即得。(每 1 ml 含吡哌酸 4 μg)

供试品溶液的制备:精密称取 PF-溃疡速宁约 0.5 g 置 500 ml 量瓶中,照对照品溶液的制备方法制备。

测定法:照分光光度法,以氢氧化钠液(0.01 mol/L)为空白,在 273±1 nm 波长处分别测定吸收度。

$$\text{计算: } C_i = \frac{A_i}{A_r} C_r \times 1.178$$

其中, C_i 为样品溶液含 $C_{14}H_{17}N_4O_3 \cdot 3H_2O$ 的浓度。

A_i 为样品溶液的吸收度。

C_r 为对照品溶液含 $C_{14}H_{17}N_4O_3$ 的浓度。

A_r 为对照品溶液的吸收度。

含量应为标示量的 90~110%

样品的含量测定结果:(见表 1)

表 1. PF-溃疡速宁含量测定结果

批号	含量(%)	标示量(%)
910306	20.17	100.85
910311	20.36	101.80
910328	20.16	100.81

四、粘膜刺激试验-家兔点眼法

* 检验科军医, ** 外科军医。

(一)实验动物和材料 家兔 3 只, 体重 1.5~2.5 kg, 雌雄兼用; PF-溃疡速宁加重蒸馏水制成含主药吡哌酸 2 mg/ml 的溶液; 生理盐水(对照用)。

(二)方法与结果 将药液与生理盐水各 0.1 ml, 分别滴入家兔左右眼结膜囊内, 观察 4 小时, 各兔双眼均未发现充血、水肿、眼分泌物增多、流泪、怕光等异常现象, 继续观察 3 天无异常。实验结果表明 PF-溃疡速宁对粘膜无刺激反应。

五、PF-溃疡速宁的体外抗菌实验

实验选用易致临床外科感染的各种常见细菌进行体外抗菌活性研究, 以进一步证实 PF-溃疡速宁的疗效。实验与结果如下:

材料与与方法

(一)药物

1. PF-溃疡速宁(以下简称 PF): 淡黄色粉型制剂。实验时以 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液溶解, 然后调整溶液 pH 值为 7.0, 以重蒸馏水稀释, 溶液浓度依次为以含吡哌酸计: 1000、500、200、100、50、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 灭菌后备用。

2. 庆大霉素(GM): 济南第三制药厂产品(注射用), 批号: 871212, 8 万单位/ml, 稀释为 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

3. 磺胺结晶(SN): 即外用消炎粉; 泰安制药厂产品, 白色颗粒状结晶, 5 g/包。稀释为 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 灭菌备用。

4. 载体基质(PO.): 批号: 870520(上海化学试剂采购供应站经销)。

(二)菌株

甲型链球菌、乙型链球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、普通变形杆菌、大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌、白色念珠状菌等 8 株, 均为临床近期分离的致病菌。试验前将菌株接种于培养基中, 37°C 培养 16~18 小时后比浊(按卫生部药品生物制品检定所当年细菌浊度标准), 稀释至所需浓度($4-8 \times 10^8/\text{ml}$)。白色念珠状菌培养于 30°C 孵箱中。

(三)培养基

用 pH 7.4 的肉汤琼脂培养基或血琼脂培养基以及沙保弱氏培养基。

(四)方法

1. 管碟法 将已培育 16~18 小时琼脂斜面, 刮取菌苔按 10^{-2} 稀释的新鲜菌液与 0.7% 琼脂培养基混匀, 倒入血琼脂平皿中, 在平皿上置牛津小杯, 加入不同浓度的药液, 于 37°C 培养 16~18 小时观察结果。

2. 试管稀释法 按上述比浊法取稀释为 $4-8 \times 10^3/\text{ml}$ 的新鲜菌液, 于各系列试管中加入 0.1 ml 菌液, 再加入不同待测药液各 0.5 ml, 设阳性药物和菌液对照, 37°C 培养 16 小时(白色念珠状菌 30°C 培养 48 小时), 肉眼观察结果。以能抑制细菌生长的最低药物浓度为该药的最低抑菌浓度(MIC)。

结果

1. 管碟法 试验结果为两次试验均数, 结果判定为: 抑菌直径(mm)7~8 为(±)可疑; 9~12(+)低度敏感; 13~17(++)中度敏感; 18~20(+++)高度敏感; 21 以上(++++)极敏感, 结果见表 2, 表中所列为不同药物浓度对各种致病菌的抑菌直径(mm)。

2. 试管稀释法 根据两次重复试验判定结果, 结果评价标准定为 - 表示液体澄清; ± 表示液体微浊; + 表示液体混浊; ++ 表示液体明显混浊; +++ 表示液体极混浊。结果见表 3、表 4。

将各菌 PF-溃疡速宁管倒入平皿继续培养发现 PF-溃疡速宁对变形杆菌、大肠杆菌为杀菌效应, 对其它菌为抗菌效应。

以上结果表明, 体外法测得 PF-溃疡速宁抗菌谱较广, 不仅对革兰氏阴性杆菌具有良好的抗菌效能, 对革兰氏阳性球菌也有一定的抗菌活性, 变形杆菌、绿脓杆菌、大肠杆菌对于 PF-溃疡速宁极敏感见表 2, 与同等剂量庆大霉素比较, 抗菌效应优于庆大霉素, 如变形杆菌; 乙型链球菌、甲型链球菌、肺炎双球菌、金黄色葡萄球菌亦表现出敏感性, 随

表 2 不同药物浓度抑菌活性比较(管碟法)、抑菌直径 mm

菌 株	PF-溃疡速宁(含 PPA $\mu\text{g/ml}$)						SN($\mu\text{g/ml}$)	PO($\mu\text{g/ml}$)	GM($\mu\text{g/ml}$)
	1000	500	200	100	50	10	200	4000	200
甲型链球菌	16	13	12.5	11	9.5	—	—	—	17
乙型链球菌	18.5	11.5	10.5	—	—	—	—	—	20
肺炎双球菌	14	11	10	9	8.5	8	—	—	16
金黄球菌	13	11.5	10	9	—	—	—	—	15
变形杆菌	22	20.5	18	17	14	—	—	—	15
大肠杆菌	21	18	17	16	16	10	—	—	18
绿脓杆菌	21.5	19	14.5	12.5	10	7	—	—	16

表 3 不同药物浓度的抗菌作用(试管法)

药物浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	PF-溃疡速宁(含 PPA)						SN	PO	GM	菌液	药物
	1000	500	200	100	50	10	200	400	200		
菌株	1000	500	200	100	50	10	200	400	200	对照	对照
甲型链球菌	—	—	—	—	±	+	±	++	—	++	—
乙型链球菌	—	—	—	—	±	+	—	++	—	++	—
肺炎双球菌	—	—	—	—	+	+	±	+	—	+	—
金葡球菌	±	±	+	+	++	++	+++	+++	+	+++	—
变形杆菌	—	—	—	—	—	±	+	++	—	++	—
大肠杆菌	—	—	—	—	±	±	++	++	—	++	—
绿脓杆菌	—	—	—	—	—	+	++	+++	—	+++	—
白色念珠状菌	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—

表 4 PF-溃疡速宁*抗各菌 MIC($\mu\text{g/ml}$)(试管法)

菌 株	甲型链球菌	乙型链球菌	肺炎双球菌	金葡球菌	变形杆菌	大肠杆菌	绿脓杆菌
MIC	500	500	500	>5000	250	500	250

* PF 各剂量相应的 PPA 剂量($\mu\text{g/ml}$),括号中各 PPA 剂量:5000(1000),500(100),250(50),50(10)

药物浓度增高敏感性增强。进一步定量分析(如表 3、表 4)提示, PF-溃疡速宁的效果与庆大霉素接近,明显优于磺胺结晶。

六、PF-溃疡速宁的体内药效学试验

体外抑菌试验表明 PF-溃疡速宁对引起局部感染的常见致病菌有明显的抑制和杀灭作用。为验证其疗效,建立人工外科伤感染的家兔动物模型,以 PF-溃疡速宁治疗,实验与结果如下:

(一)动物和材料

体重 1.5~2.0 kg 的家兔 50 只(雄性: 14 只、雌性: 36 只),实验室饲养一周后备用。

PF-溃疡速宁为淡黄色粉剂,空白对照品载体基质(PO.),注射用庆大霉素(GM)。

(二)方法

1. 家兔外伤感染模型的建立 实验用家兔随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄兼有。并于实验前称量体重,测外周血白细胞计数。

家兔背侧用硫化钡脱毛备皮,在 6.5cm²

备皮范围内用 100% 冰乙酸烧灼 7—10 分钟,用生理盐水洗去残留冰乙酸,擦去表皮,用 8 号针头划开深层皮肤,涂以含 5% 胃膜素的混合菌液 0.1 ml (内含金葡菌 1.2×10^7 , 绿脓杆菌 3×10^7 , 变形杆菌 9×10^7), 创面覆盖聚乙烯薄膜 ($d = 4 \text{ cm}$), 胶布固定, 次日重复染菌 0.1 ml (菌种菌量同前)。经两次染菌后各兔的人工创面均显示程度相似的红肿

及脓性分泌物等改变。

2. 分组处理方法 人工感染的家兔自第三天起给予不同的处理,见表 5, 感染治疗全程为九天,其中第五天(治疗第三天)和第八天(治疗第六天)分别测血 WBC 计数并于次日按疗效标准结果作出判断,按等级资料的 Ridit 分析方法进行统计分析。各组动物于第九天处死,取已愈创面组织作病理检查。

表 5 PF—溃疡速宁体内药效学试验分组及处理方法

分 组	动物数	处 理 方 法	给药次数
空白对照组	10	不作治疗	
PO. 对照组	10	PO. 0.5-1 克 1次/日, 外敷	6
GM 治疗组	10	GM 0.4 万 U 1次/日, 外敷	6
PF 治疗一组	10	PF-溃疡速宁 0.5-1 克 1次/日, 外敷	6
PF 治疗二组	10	PF-溃疡速宁 0.5-1 克 2次/日, 外敷	12

3. 疗效判断标准 分为三级

治愈/显效(f1): (1) 动物一般表现正常(毛整齐、光亮、动物活动正常、无倦卧, 食纳正常), (2) 创面结痂, 痂较薄, 周围无红肿, (3) 动物血 WBC 计数正常。符合上述三项者归入第一级(f1)。

有效/好转(f2): (1) 创面干燥, 但周围仍有红肿等炎症反应。(2) 创面有少量脓液或病灶局部形成脓肿。(3) 动物创面结痂好转, 但血 WBC 计数增高。符合上述三项中

一项以上者归入第二级(f2)。

无效/死亡(f3): 创面仍有脓性分泌物或糜烂坏死组织, 未见好转, 同时动物血 WBC 计数增高。或者动物因感染死亡者归入第三级(f3)。

结果

除空白对照组和治疗一组各有一例因感染死亡, 各组动物治疗期间无死亡, 体重均无下降。治疗第四天治疗组创面即见明显好转。各组治疗结果列于表 6。

表 6 PF—溃疡速宁治疗结果比较及 Ridit 分析(1)

*分级	标准组	R	空白组	PO. 组	GM 组	治疗一组	治疗二组
f1	12	0.12			1	6	5
f2	29	0.53	5	7	8	4	5
f3	9	0.21	5	3		1	
N	50		10	10	9	11	10
		\bar{R}	0.72	0.644	0.48444	0.34091	0.325
		**P	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01

* f1=痊愈/显效 f2=有效/好转 f3=无效/死亡

** P: 各组与空白组比较

表 6 显示 PF-溃疡速宁治疗组与空白组相比较有明显差异($P < 0.01$), 治愈/显效率约占动物数一半, 与庆大霉素组相比, 疗效优于庆大霉素组。

表 7 显示治疗结束时各组疗效比较。其中治疗各组仍与空白组有显著性差异($P < 0.01$), 且疗效仍较庆大组为优。

表 7 PF-溃疡速宁治疗结果比较及 Ridit 分析(2)

*分级	标准组	R	空白组	PO.组	GM组	治疗一组	治疗二组
f1	14	0.14		1	2	6	5
f2	23	0.56	6	6	7	4	5
f3	8	0.92	4	3		1	
N	50		10	10	9	11	10
		\bar{R}	0.704	0.626	0.46666	0.363636	0.35
		**P	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01

* f1 = 痊愈/显效 f2 = 有效/好转 f3 = 无效/死亡

** P: 各组与空白组比较

病理检查结果: 空白对照组送检皮肤组织均为严重感染, 表皮、真皮、皮下均见大量炎细胞, 表皮已全部破坏, 皮肤附件周围炎症明显结构不清。而治疗组送检皮肤标本的表皮及部分真皮中可见炎细胞浸润, 数量明显减少, 有的表皮已完全愈合, 仅在表皮下有少数散在炎细胞。

讨论与小结

吡哌酸是临床常用的新型全合成抗菌药, 抗菌谱广, 副作用小, 辅以高分子固体载体利用制剂技术, 制成吡哌酸骨架型固体散剂取名PF-溃疡速宁。其所含载体基质具有致孔道性, 当药物撒布于创面即能形成一层具有透气性的薄膜, 药物逐渐从骨架孔道中释出, 使药物和创面紧密接触, 从而发挥局部药物浓度高, 作用持久的特点, 是局部用药的

一种新剂型。近年来利用高分子固体载体将难溶性药物分散成分子, 胶体或微晶状态然后再制成一定的剂型, 使药物在机体内增加表面积, 克服药物之间的凝集而被迅速吸收, 达到高效、速效作用, 已日益受到人们的重视。尤其是骨架型制剂的制备技术有很大的发展, 有利于新剂型新制剂的研究与开发。

PF-溃疡速宁的体外抗菌试验、体内药效学实验证实其对局部感染的常见致病菌有明显的抑菌和杀菌作用, 优于某些抗菌药, 临床使用疗效十分显著。在一定程度上优于庆大霉素局部治疗, 是值得开发的新剂型。

参考文献

山东新华制药厂主编, 吡哌酸药理及临床应用, 1985: 14.

· 书讯 ·

《老药新用 110 种》搜集整理了国内外近年来发表的大量文献资料, 介绍了 110 种老药的临床应用最新进展, 并有选择地介绍了药物的药理学基础、某些老药新用的作用机制和有关的治疗学理论, 以及临床评价等内容, 是临床医师和药师的必要参考书。本书 356 页, 售价 3.50 元, 另加挂号邮费 0.50 元, 欢迎向本编辑室邮购。