

微球中聚乳酸羟基乙酸共聚物浓度与微球结构、释药、降解的关系研究

罗宇燕^{1*}, 成晓岚¹, 郭喆霏¹, 钟晨², 张永明^{1#} (1. 中山大学附属第三医院, 广州 510630; 2. 中山大学药学院, 广州 510006)

中图分类号 R944.9; R94 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0986-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.38

摘要 目的: 研究微球中聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA)浓度与微球结构、释药、降解的关系。方法: 以牛血清白蛋白(BSA)为药物, 采用复乳法制备PLGA浓度分别为10%、15%、20%的BSA-PLGA微球, 以包封率、载药量、粒径为指标考察PLGA浓度对3种微球性质的影响; 采用扫描电子显微镜观察3种微球和降解40 d内的外观和内部形态; 使用荧光蛋白-异硫氰酸荧光素牛血清白蛋白代替BSA作为模型药物制备PLGA微球, 并采用激光共聚焦显微镜观察荧光蛋白在微球骨架内的分布情况; 采用BCA法考察3种微球的体外释药情况; 采用压汞仪考察降解28 d内20% PLGA所制微球的孔径、孔隙率、截面孔隙率的变化; 采用凝胶渗透色谱法检测10%、20% PLGA所制微球降解28 d内分子质量及其降解模型拟合。结果: 与10%、15% PLGA所制微球比较, 20% PLGA所制微球的包封率 $[(81.96 \pm 1.84)\%]$ 和粒径 $[(139.50 \pm 0.21) \mu\text{m}]$ 最大, 载药量 $[(7.28 \pm 0.45)\%]$ 最低, 截面孔隙率 $[(32.35 \pm 1.98)\%]$ 和孔径 $[(12.43 \pm 0.14) \mu\text{m}]$ 最小, 释药突释率最低, 40 d内的释放速率相对较慢, 降解后截面孔隙率最大, 降解均遵循假一级模式($r^2=0.0653$)。结论: 在考察范围内, 随着PLGA浓度的增加, 微球的结构更致密, 释药更平稳, 降解更易形成中空结构。

关键词 微球; 聚乳酸羟基乙酸共聚物; 浓度; 结构; 缓释

Study on the Relationship among the PLGA Copolymers Concentration and the Structure, Release and Degradation of Microspheres

LUO Yu-yan¹, CHENG Xiao-lan¹, GUO Zhe-fei¹, ZHONG Chen², ZHANG Yong-ming¹ (1. The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the relationship among PLGA copolymers concentration and the structure, release and degradation of microspheres. METHODS: With bovine serum albumin (BSA) as model drug; W/O/W solvent evaporation method was conducted to prepare BSA-PLGA microspheres with the PLGA concentration of 10%, 15% and 20%; encapsulation efficiency, drug-loading amount and particle size were used to investigate the effect of PLGA concentration on microspheres property; SEM was used to observe the external and internal forms of 3 microspheres and within 40 d degradation; The fluorescent protein the albumin-fluorescein isothiocyanate conjugate was taken as model drug instead of BSA to prepare PLGA microspheres, and confocal laser scanning microscope was utilized to observe the fluorescent protein distribution within the microsphere skeleton. BCA was used to study the in vitro release; mercury porosimeter was used to study the changes of the pore size, porosity and surface porosity of microspheres prepared with 20% PLGA within 28 d degradation; gel permeation chromatography was used to detect the molecular mass and its degradation model fit of microspheres prepared with 10% and 20% PLGA within 28 d degradation. RESULTS: Compared with the microspheres prepared with 10% and 15% PLGA, microspheres prepared with 20% PLGA had the highest encapsulation efficiency $[(81.96 \pm 1.84)\%]$ and particle size $[(139.50 \pm 0.21) \mu\text{m}]$, lowest drug-loading amount $[(7.28 \pm 0.45)\%]$, surface porosity $[(32.35 \pm 1.98)\%]$, pore size $[(12.43 \pm 0.14) \mu\text{m}]$ and release burst rate, which released more slowly within 40 d and had largest surface porosity after degradation; the degradation followed pseudo-first order kinetics ($r^2=0.0653$). CONCLUSIONS: Within the range of the investigation, with the increasing of PLGA concentration, the microspheres have closer structure and more stable release. The degradation is easier to form a hollow structure.

KEYWORDS Microspheres; PLGA copolymers; Concentration; Structure; Release

- [6] 顾晓华, 王轩, 安磊, 等. 齐墩果酸/PLGA-TPGS纳米粒的制备及其体外释药行为研究[J]. 中国药房, 2012, 23(29): 2 726.
[7] 侯鹏伟, 王东, 范娇, 等. RP-HPLC法测定盐酸青藤碱PLGA纳米粒的包封率及载药量[J]. 中国医院用药评价

与分析, 2010, 10(8): 719.

- [8] 徐红, 高萌, 张成鸿, 等. 青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒的制备及处方工艺优化[J]. 中国药房, 2015, 26(4): 525.

- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录199-200.

* 药师, 硕士。研究方向: 缓控释制剂。电话: 020-85252100。E-mail: 27132889@qq.com

通信作者: 主任药师, 博士。研究方向: 缓控释制剂。电话: 020-85253112。E-mail: 874477522@qq.com

(收稿日期: 2014-11-17 修回日期: 2015-02-15)

(编辑: 邹丽娟)

聚乳酸羟基乙酸共聚物 [Poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 微球具有生物相容性好、可生物降解性、安全无毒等优点, 在药物缓控释领域得到了广泛的研究与应用。微球的释药可控性是其研发过程中需要实现的重要目标。由于 PLGA 分子质量较大, 用其制备的微球结构较为致密, 其药物释放行为由药物在 PLGA 中的扩散及 PLGA 的降解两方面来控制^[1]。因此, 研究药物释放的机制有助于从本质上把握影响药物释放的相关因素, 以便于更好地调节微球的释放行为, 从而设计出合理的释药体系。本文较为系统地研究了有机相中 PLGA 浓度对微球粒径、孔隙率、孔径等结构参数的影响, 并对微球的释药及降解行为进行了动态考察, 深入探讨了微球中 PLGA 浓度与微球结构、释药、降解的关系, 为释药可控性的微球研发提供了一定的理论基础。

1 材料

1.1 仪器

T25 高速匀浆器、RW16 电动搅拌机 (德国 IKA 公司); SL16/40(R) 型冷冻离心机 (美国 Thermo 公司); 92SM-202A 型电子天平 (瑞士 Precisa 公司); TGL-18C 型台式高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); ALPHA1-4LSC 型冷冻干燥机 (德国 Christ 公司); LSM710 型激光共聚焦显微镜 (德国 Zeiss 公司); JSM-6330F 型冷场扫描电子显微镜 (SEM, 日本电子株式会社); ELX 800 型全自动酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); Mastersizer2000 激光粒度仪 (英国 Malvern Instruments 公司); 515 型凝胶渗透色谱仪、Waters2414 型折光指数检测仪 (美国 Waters 公司)。

1.2 药品与试剂

牛血清白蛋白 (BSA, 美国 Genview 公司, 分子质量: 68 kD, 批号: 2030020540, 纯度: >96%); PLGA (美国 Durect 公司, DL-PLG: 50:50, 批号: A13-056); 异硫氰酸荧光素-牛血清白蛋白 (FITC-BSA, 美国 Sigma 公司, 批号: SLBB9547V, 规格: 1 g/瓶); BCA 蛋白试剂定量盒 (美国 Pierce 公司, 批号: OH192680); 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 微球的制备

采用复乳法, 在避光环境下, 将适量的 BSA 溶解于 1% (m/V) 的表面活性剂水溶液中, 混合均匀形成内水相; 将内水相分别加入 10%、15%、20% (m/V) 的 PLGA 二氯甲烷溶液 (油相) 中, 在冰水浴中高速搅拌得到初乳 (W/O); 将初乳加入聚乙烯醇 (PVA) 溶液 (外水相 1) 中搅拌 10 min, 形成 W/O/W 复乳。将复乳转移至装有 PVA 溶液的大烧杯中, 缓慢搅拌使微球固化, 2 500 r/min (离心半径为 12.6 cm, 下同) 离心 10 min, 用水洗涤 3 次后冷冻干燥, 制备成 BSA-PLGA 微球。载荧光蛋白 FITC-BSA 的 PLGA 微球的制备方法与上述方法基本一致, 另将内水相中的 BSA 替换为 FITC-BSA, 其他制备方法相同, 制备成 FITC-BSA-PLGA 微球。

2.2 微球包封率和载药量的测定

精密称取 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 BSA-PLGA 微球, 各约 10 mg, 加入 4.0 ml 裂解液 (0.1 mol/L NaOH-2% 十二烷基硫酸钠水溶液), 37 °C 恒温水浴振荡 48 h, 使微球完全溶解, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液使用 BCA 法测定蛋白含量。按公式计算微球的包封率和载药量, 包封率 = 微球中蛋白含量/蛋白投入量 × 100%, 载药量 = 微球中蛋白含量/微球总质量 × 100%。

2.3 微球形态和结构的检测

2.3.1 粒径 采用激光粒度仪测定 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 BSA-PLGA 微球的粒径, 干法测量, 遮光度为 0.5%~6%, 测量时间为 8~10 s, 分散气压为 150 mPa。

2.3.2 外观形态^[2] 取 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 BSA-PLGA 微球适量, 干燥后切片, 固定于导电胶上, 置于真空条件下, 喷上金粉, 采用扫描电子显微镜在电子束强度为 10 kV 的条件下观察微球的表面形态。选取 6 张扫描电子显微镜图片, 使用 Image J 软件统计分析微球截面的孔径、孔隙总面积及微球面积, 计算微球截面孔隙率^[3]。截面孔隙率 = (微球截面孔隙总面积/截面的平面面积) × 100%。

2.3.3 内部形态 采用激光共聚焦显微镜考察 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 FITC-BSA-PLGA 微球的内部形态, 用油镜观察内部形态, 激发波长为 488 nm。

2.4 微球体外释放曲线的绘制

精密称取 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 BSA-PLGA 微球各约 50 mg, 置于 5 ml 离心管中, 加入 1.5 ml pH 7.4 的磷酸盐缓冲液 (PBS), 于 37 °C 恒温水浴振荡, 分别于 5、12 h 和 1、2、4、7、10、15、20、25、30、35、40 d 时取出离心管, 5 000 r/min 离心 5 min, 取上清液用 BCA 法测定其中的蛋白含量, 同时向离心管中补充同温同体积的 PBS, 计算累积释放度, 绘制释放曲线。

2.5 微球降解形态的检测

精密称取 PLGA 浓度分别为 10%、15%、20% 的 BSA-PLGA 微球各约 50 mg, 置于 5 ml 离心管中, 加入 1.5 ml pH 7.4 的 PBS, 于 37 °C 恒温水浴振荡, 分别于 0、15、30、40 d 时取出离心管, 5 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 加入 4 ml 蒸馏水涡旋洗涤, 离心 5 000 r/min 离心 5 min, 重复 3 次, 收集残留微球, 并将其冷冻干燥制成微球, 按“2.3.2”项下方法观察其外观和内部形态。

2.6 降解微球的孔径、孔隙率、平面孔隙率检测

以 PLGA 浓度为 20% 的 BSA-PLGA 微球为对象, 按“2.5”项下方法进行操作并制成不同降解周期的微球样品, 降解时间为 0、7、14、28 d。采用压汞仪和孔隙分析软件考察孔径和孔隙率, 使用 Image J 软件分析计算截面孔隙率, 低压分析: 0~206.8 kPa, 高压分析: 206.8~413 688 kPa。以孔径为横坐标、单位面积孔洞体积 (孔容) 为纵坐标, 绘制降解周期微球孔径的分布图。

2.7 降解微球的分子质量的检测

为了更清晰地阐述不同 PLGA 浓度所得微球在降解过程中分子质量的变化, 选取“2.5”项下 PLGA 浓度分别为 10% 和 20% 的不同降解周期的 BSA-PLGA 微球, 采用凝胶渗透色谱法检测微球降解后的分子质量, 色谱柱为 Waters Styragel Shodex K-805 柱 (300 mm × 8 mm, 10 μm), 流动相为氯仿, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 40.0 °C, 检测波长为 254 nm, 进样量为 20 μl, 以聚苯乙烯为标样进行校正^[4]。一般认为, PLGA 的降解遵循假一级降解模式^[5], 其分子质量的变化可用公式 $M_{w(t)} = M_{w(0)} \times e^{(-k_{\text{degr}}t)}$ 表示, 式中 $M_{w(t)}$ 表示降解 t 时间微球的分子质量, $M_{w(0)}$ 表示降解 0 d 微球的分子质量, t 代表降解时间, k_{degr} 为微球的降解速率常数。以降解时间 t 为横坐标、 $-\ln[M_{w(t)}/M_{w(0)}]$ 为纵坐标, 进行线性回归, 根据直线斜率计算微球的降解速率常数 k_{degr} 。

3 结果

3.1 微球载药性质

PLGA 浓度对 BSA-PLGA 微球性质的影响见表 1, 微球外观电子扫描显微镜图见图 1 (Aa、Ba、Ca), 微球截面电子扫描

显微镜图见图1(Ab、Bb、Cb),微球内部激光共聚焦显微镜见图1(Cc、Bc、Cc)。

表1 PLGA浓度对BSA-PLGA微球性质的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)
Tab 1 Effects of PLGA concentration on the property of BSA-PLGA microspheres($\bar{x} \pm s, n=3$)

PLGA浓度(m/V),%	包封率,%	载药量,%	平均粒径, μm	截面孔隙率,%	平均孔径, μm
10	67.50 \pm 0.72	10.66 \pm 0.56	50.96 \pm 1.88	52.65 \pm 6.68	7.49 \pm 0.23
15	79.57 \pm 3.14	8.84 \pm 0.70	77.30 \pm 1.77	39.12 \pm 1.49	3.76 \pm 0.087
20	81.96 \pm 1.84	7.28 \pm 0.45	139.50 \pm 0.21	32.35 \pm 1.98	2.43 \pm 0.14

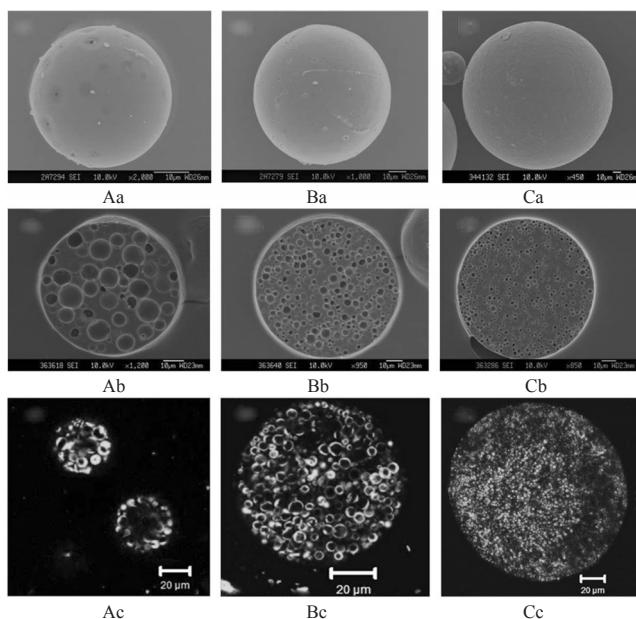


图1 不同浓度PLGA制备微球的外观、内部形态及激光共聚焦药物分布图

Aa~Ac.10%;Ba~Bc.15%;Ca~Cc.20%

Fig 1 Distribution of external and internal forms and confocal laser drugs of microspheres prepared with different concentrations of PLGA

Aa-Ac.10%;Ba-Bc.15%;Ca-Cc.20%

由表1结果显示,微球的包封率与粒径随PLGA浓度的增加而升高,而载药量随PLGA浓度的增加而降低。比较各载药量与对应理论载药量(蛋白投入质量/微球总质量)15.79%、12.50%、8.57%发现,PLGA浓度为20%时微球的载药量与理论载药量最接近。由图1显示,当PLGA浓度为10%时,微球表面可见明显的孔径,随着其浓度的增加,微球表面孔径越来越少,内部孔径越来越小,平面孔隙率降低。表明微球结构随更PLGA浓度的增加越来越致密,同时,从激光共聚焦显微镜图中可见,BSA在微球内的分布更加均匀。

3.2 微球体外释放

以释药时间为横坐标,累积释放度为纵坐标绘制PLGA浓度分别为10%、15%、20%的BSA-PLGA微球的释放曲线,见图2。

由图2显示,增加PLGA的浓度可以降低微球的突释率,PLGA浓度为10%、15%、20%的BSA-PLGA微球,其1d的突释率分别约为73.5%、17.18%、12.42%;PLGA浓度为10%的BSA-PLGA微球其后释药缓慢,40d的累积释放度约为83%;PLGA浓度为15%的BSA-PLGA微球前25d释放速度相对较快,40d的累积释放度约为50%;PLGA浓度为20%的

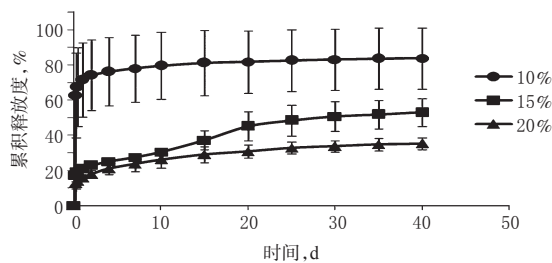


图2 不同浓度PLGA所制微球的释放曲线

Fig 2 Release curve of microspheres prepared with different concentrations of PLGA

BSA-PLGA微球的释放速度较平稳,40d的累积释放度约为35%。

3.3 微球降解形态

PLGA浓度为10%、15%、20%的BSA-PLGA微球降解40d内的外观扫描电子显微镜图见图3(A、B、C、D),内部扫描电子显微镜图见图3(a、b、c、d)。

由图3显示,PLGA浓度为10%的BSA-PLGA微球在未降解时呈现类球形,轮廓清晰,表面存在少量孔洞;降解15d后,微球表面开始变得粗糙,孔洞增加;30d后,球形变得不平整,表面的孔洞明显变大,内部原有的大孔洞减少,出现大量细小的孔洞;40d后,微球表面出现大量的孔洞和裂隙,但整体形态保持较好,未出现坍塌,内部大孔洞开始融合成更大的孔洞,内部仍然存在大量的细小孔洞。PLGA浓度为15%的BSA-PLGA微球在前30d的降解趋势较为一致,除微球表面略微变粗糙外,微球的外观及内部形态在前15d无明显变化,直到降解30d后表面才开始出现孔洞,变得凹凸不平,40d后微球表面开始出现裂隙,而内部形态方面,从第15天起随着降解时间延长,孔洞开始融合,40d后微球内部出现大量的连通孔洞。PLGA浓度为20%的BSA-PLGA微球降解40d后则呈现明显的中空结构。

3.4 降解过程中孔隙率变化的规律

有研究表明,微球在降解之前,其内部已经具有一定数量的大孔^[9],孔径大概集中在220nm左右,降解7d后微球的孔径分布几乎没有变化,但孔隙率有所增加,说明微球表面开始形成新的孔洞;降解14d后微球的孔隙率进一步增加,其孔径分布变宽,平均孔径增加至约360nm;降解28d后微球的平均孔径进一步增加至600nm左右。截面孔隙率随微球降解时间的延长而增加。PLGA浓度为20%的BSA-PLGA微球降解不同时间后的孔径、孔隙率、截面孔隙率变化见表2,降解周期微球孔径的分布图见图4。

3.5 微球降解过程中PLGA分子量的变化

10%、20%PLGA所制微球的降解分子量-时间曲线见图5, $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]$ -时间曲线见图6, $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]$ 线性拟合结果见表3。

由图5显示,降解的前15d,PLGA浓度为10%的BSA-PLGA微球的分子量变化稍快于PLGA浓度为20%的BSA-PLGA微球;15d后PLGA浓度为20%的BSA-PLGA微球降解变快。线性回归指数 r^2 表明微球中的PLGA以假一级模式降解,PLGA浓度为20%的BSA-PLGA微球在40d的降解周期内整体降解速率稍快于PLGA浓度为10%的BSA-PLGA微球。

4 讨论

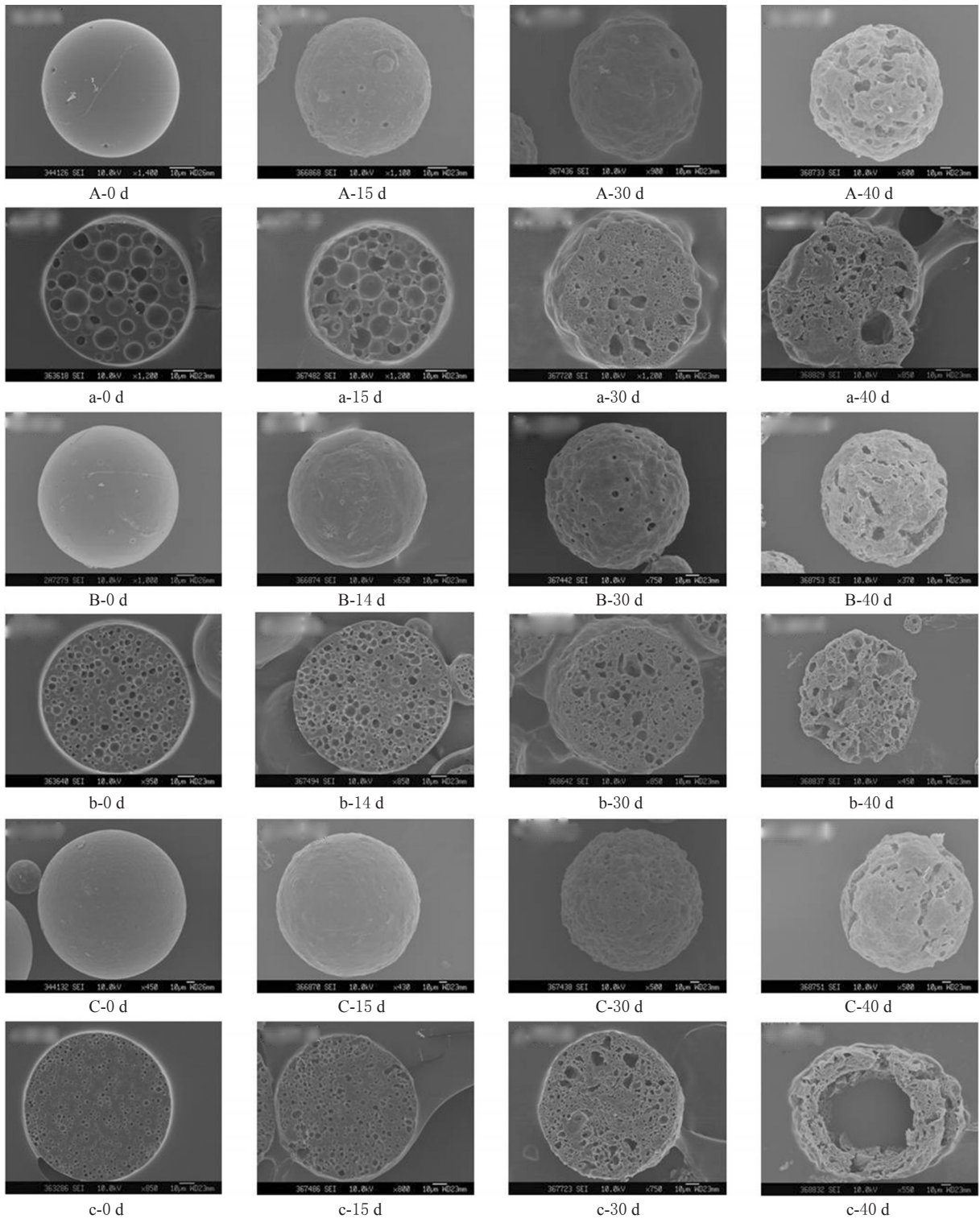


图3 不同浓度PLGA制备的微球在降解中外观、内部形态的变化

A, a:10%; B, b:15%; C, c:20%

Fig 3 Changes of external and internal forms of microspheres prepared with different concentrations of PLGA during degradation

A, a,10%; B, b,15%; C, c,20%

油相中聚合物材料的浓度是微球制备过程中一个易于调节的参数,而且其浓度大小决定微球粒径和包封率的主要因素之一^[7]。考察聚合物材料对微球载药性能、释放及降解行为的影响并掌握其影响规律,为制备释放可控的微球提供了理

论指导。随着载体材料PLGA浓度的增加,油相黏度增大,在相同搅拌条件下,分散形成复乳的效率降低,使形成的微球粒径增大;其次,油相黏度的增加会使初乳处于复乳与固化过程中,微球沉降速度减慢,微球粒径增加^[8];然后,高浓度的

表2 20% PLGA 所制微球降解不同时间后的孔径、孔隙率、截面孔隙率变化 (n=3)

Tab 2 Changes of pore size, porosity and surface porosity of microspheres prepared with different concentrations of PLGA in different time (n=3)

降解时间, d	平均孔径, nm	孔隙率, %	截面孔隙率, %
0	227	54.841 3	32.35 ± 1.98
7	227	74.096 8	33.13 ± 4.50
14	360	76.548 4	37.41 ± 3.63
28	598	79.762 7	39.96 ± 4.75

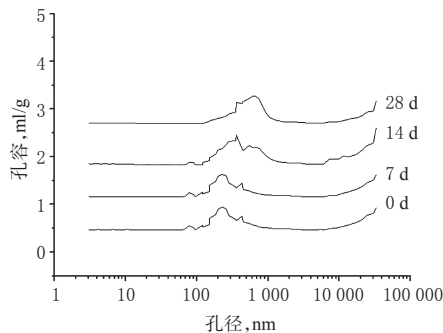


图4 不同降解周期微球孔径的分布

Fig 4 Distribution of pore size of microspheres at different degradation stages

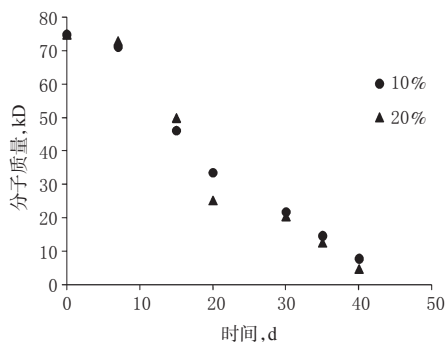


图5 10%、20% PLGA 所制微球的降解分子质量-时间曲线
Fig 5 Quality-time curve of molecular degradation of microspheres prepared with 10% and 20% PLGA

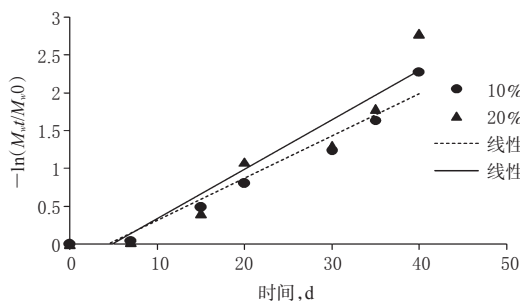


图6 10%、20% PLGA 所制微球的 $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]$ -时间曲线
Fig 6 $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]$ -time curve of microspheres prepared with 10% and 20% PLGA

PLGA 可提高材料自身在油水界面的固化速度,阻止药物向水相中扩散,使微球的包封率提高。

从微球的释药行为来看,增加 PLGA 的浓度可显著降低突释,使后期释药速度减慢,原因可能是:在释放初期,微球中的

表3 10%、20% PLGA 所制微球的 $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]-t$ 拟合结果
Tab 3 Results of fitting of $-\ln[M_w(t)/M_w(0)]-t$ of microspheres prepared with 10% and 20% PLGA

PLGA 浓度, %	方程	k_{app}	r^2
10	$-\ln(M_w(t)/M_w(0))=0.055 7t-0.24$	0.055 7	0.95
20	$-\ln(M_w(t)/M_w(0))=0.065 3t-0.315$	0.065 3	0.91

药物主要通过扩散进入释放介质,因此微球表面的孔洞对微球的突释率具有重要影响^[9], PLGA 黏度越大,微球表面的孔洞越少,渗透介质进入微球内部的通道越少,因而突释率越低;同时 PLGA 的黏度还可通过影响微球的粒径来改变药物的扩散路径,以控制药物的释放^[10];在释放后期,聚合物的降解导致微球传质通道的改变进而影响药物的释放,不同黏度的 PLGA 所制备的微球因其降解速率的不同导致其释药行为的差异。

PLGA 浓度分别为 15% 和 20% 的微球,这两种微球的载体材料性质一样,后者的粒径远大于前者,在 40 d 的降解后, PLGA 浓度为 20% 的微球形成了明显的中空结构。原因可能是:小粒径的微球内部 PLGA 降解产生的酸性产物由于扩散路径较短,容易从微球中释放出来;而大粒径的微球则具有相对较长的扩散路径,阻碍了酸性降解产物向外界的扩散,继而在微球内部累积,引起局部 pH 的下降,自催化效应导致大粒径微球内部的加速降解,随着降解时间的延长,酸性降解产物在微球内部累积得越来越多,自催化效应也越显著^[11],使微球不均匀降解,形成中空结构,而小粒径的微球则倾向于更均匀的降解^[12]。采用凝胶渗透色谱法对 PLGA 浓度分别为 10% 和 20% 的微球的分子质量变化进行考察发现,后者的微球降解速率比前者快,进一步验证了粒径对 PLGA 微球降解速率的影响。

参考文献

- [1] Berklund C, Pollauf E, Raman C, et al. Macromolecule release from monodisperse PLG microspheres: control of release rates and investigation of release mechanism[J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96(5): 1 176.
- [2] 黎呐, 麦海燕, 罗宇燕, 等. 聚乳酸聚乙醇酸微球冷冻切片方法的研究[J]. *广东药学院学报*, 2014, 30(1): 1.
- [3] Mao S, Xu J, Cai C, et al. Effect of WOW process parameters on morphology and burst release of FITC-dextran loaded PLGA microspheres[J]. *Int J Pharm*, 2007, 334(1/2): 137.
- [4] Jaklenc A, Hinckfuss A, Bilgen B, et al. Sequential release of bioactive IGF-I and TGF- β 1 from PLGA microsphere-based scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(10): 1 518.
- [5] Zolnik BS, Burgess DJ. Effect of acidic pH on PLGA microsphere degradation and release[J]. *J Control Release*, 2007, 122(3): 338.
- [6] Furmann A, Mastalerz M, Schimmelmann A, et al. Relationships between porosity, organic matter, and mineral matter in mature organic-rich marine mudstones of the Belle Fourche and Second White Specks formations in Alberta, Canada[J]. *Mar Petrol Geol*, 2014, doi: 10.1016/j.marpetgeo.2014.02.020.
- [7] Mao S, Shi Y, Li L, et al. Effects of process and formula-

偏最小二乘法建立三磷酸腺苷二钠注射液近红外快速定量模型

韩莹^{1*}, 曾文珊¹, 周远华¹, 王文佳¹, 赖衍清²[1.广州市药品检验所, 广州 510160; 2.布鲁克(北京)科技有限公司, 北京 100081]

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0991-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.39

摘要 目的:建立可用于现场快速筛查、监督药品质量的三磷酸腺苷二钠(ATP-2Na)注射液的快速定量分析模型。方法:收集全国16家生产企业共73批ATP-2Na注射液样品,采集近红外光谱图,利用化学计量学偏最小二乘法(PLS)将光谱信息与含量数据关联,建立通用型定量分析模型,并进行方法学验证。结果:全部样品经聚类分析分为I类、II类,分开建立两组均质样本定量模型。建立的模型(I)交叉验证均方根误差(RMSECV)为1.73%,相关系数为0.951 2;模型(II)RMSECV为1.55%,相关系数为0.943 1。模型验证试验中,经配对 t 检验,两种模型分别对18批和14批样品的预测值与真实值比较,差异无统计学意义。结论:建立的模型能够快速、准确地预测不同生产企业ATP-2Na注射液中ATP-2Na的含量,并能对不合格样品进行预测,达到现场监督快速测定样品含量的目的。

关键词 近红外光谱;偏最小二乘法;三磷酸腺苷二钠注射液;定量模型

Establishment of Near-infrared Rapid Quantitative Model for Adenosine Triphosphate Disodium Injection by Partial Least Squares

HAN Ying¹, ZENG Wen-shan¹, ZHOU Yuan-hua¹, WANG Wen-jia¹, LAI Yan-qing²[1.Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China; 2.Brook(Beijing) Science and Technology Co., Ltd., Beijing 100081, China]

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the rapid quantitative model for Adenosine triphosphate disodium (ATP-2Na) injection that can be used for on-site rapid screening and monitoring of drug quality. METHODS: 73 batches of ATP-2Na injection were collected from 16 manufacturers to collect their near-infrared (NIR) spectroscopy; the universal quantitative model was established through combing spectral information with content data with chemometrics partial least square (PLS), and then the methodology validation was conducted. RESULTS: According to cluster analysis, all samples were divided into type I and type II, and homogeneous sample quantitative model of 2 groups were established separately. The root mean square error of cross validation (RMSECV) of model (I) and model (II) were 1.73% and 1.55%, respectively; the correlation coefficient of model (I) and model (II) were 0.951 2 and 0.943 1, respectively. According to the paired t -test, there were no statistically significant differences between predicted and measured values in 18 batches and 14 batches of samples in the model validation test. CONCLUSIONS: The model can predict the content of ATP-2Na in ATP-2Na injection from different manufacturers fast and accurately, predict those unqualified samples and achieve the purpose of on-site monitoring and rapid determination of sample content.

KEYWORDS Near-infrared spectrascopy; Partial least square; Adenosine triphosphate disodium injection; Quantitative model

tion parameters on characteristics and internal morphology of poly(D, L-lactide-co-glycolide) microspheres formed by the solvent evaporation method[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 68(2): 214.

[8] 张海龙.丹皮酚聚乳酸羟基乙酸微球的制备及体外释药考察[J]. *中国药房*, 2013, 24(19): 1765.

[9] Klose D, Siepmann F, Elkharraz K, et al. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles[J]. *Int J Pharm*, 2006, 314(2): 198.

[10] Siepmann J, Faisant N, Akiki J, et al. Effect of the size of

biodegradable microparticles on drug release: experiment and theory[J]. *J Control Release*, 2004, 96(1): 123.

[11] Siepmann J, Elkharraz K, Siepmann F, et al. How autocatalysis accelerates drug release from PLGA-based microparticles: a quantitative treatment[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(4): 2312.

[12] Zhao A, Hunter SK, Rodgers V. Theoretical prediction of induction period from transient pore evolution in polyester-based microparticles[J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(11): 4477.

* 主管药师。研究方向:药品快速检验、药物分析。E-mail: han-ning@126.com

(收稿日期:2014-07-18 修回日期:2014-11-27)

(编辑:邹丽娟)