

青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒的质量评价

徐红^{1*},高萌²,张成鸿¹,徐静¹,孙艺平¹,王洪刚^{3#}(1.大连医科大学基础医学院,辽宁大连 116044;2.大连医科大学药学院,辽宁大连 116044;3.大连医科大学附属第一医院药剂科,辽宁大连 116011)

中图分类号 R284.62 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0982-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.37

摘要 目的:对青藤碱聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E(PLGA-TPGS)纳米粒(SPTN)的质量进行评价。方法:以PLGA-TPGS为载体,采用超声乳化-溶剂挥发法制备SPTN;另以PLGA为载体制备青藤碱PLGA纳米粒(SPN)作为对照。采用激光粒度仪测定2种纳米粒的粒径和Zeta电位;采用高效液相色谱法测定2种纳米粒中药物含量,计算其载药量、包封率、体外释放度和考察SPTN的体外稳定性,色谱柱为Hypersil C₁₈,流动相为甲醇-10 mmol/L磷酸二氢钠(38:62, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为262 nm,进样量为20 μl。结果:SPTN和SPN的平均粒径分别为(194.6±2.8)、(382.4±3.2) nm, Zeta电位分别为(-21.3±1.7)、(-13.9±2.3) mV;载药量分别为(9.5±0.7)%、(6.2±0.8)%,包封率分别为(41.3±1.6)%、(32.8±1.8)%;体外药物释放二者均呈两相释放,30 d时累积释放度分别为92.8%、71.3%;与0 d时比较,高温(40 ℃)、强光[(4 500±500) lx]、高湿[(90±5)%]条件下10 d内SPTN的外观性状、粒径、载药量均无明显变化,6个月的加速试验和12个月的长期试验中SPTN的外观性状、粒径、载药量也均无明显变化。结论:SPTN具有比SPN更小的粒径、更大的载药量和包封率,体外释放更完全,具有明显的缓释作用,体外稳定性好。

关键词 青藤碱;聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E;纳米粒;质量评价;体外释放度;稳定性

Quality Evaluation of Sinomenine-loaded Poly (Lactic-co-glycolic Acid)/D-α-tocopherol Polyethylene Glycol 1000 Succinate Nanoparticles

XU Hong¹, GAO Meng², ZHANG Cheng-hong¹, XU Jing¹, SUN Yi-ping¹, WANG Hong-gang³(1.College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 2.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3.Dept. of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the quality of Sinomenine (SIN)-loaded poly (lactic-co-glycolic acid)/D-α-tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (PLGA-TPGS) nanoparticles (SPTN). METHODS: SPTN was prepared by ultrasonic emulsification-solvent evaporation technique using PLGA-TPGS as carrier. SIN-loaded PLGA nanoparticles (SPN) was prepared as control using PLGA as carrier. Particle size and Zeta potential of 2 kinds of nanoparticles were determined by laser particle analyzer. Drug content was determined by HPLC, drug-loading amount, encapsulation ratio, *in vitro* release rate were calculated and stability of SPTN was surveyed. The determination was performed on Hypersil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-10 mmol/L NaH₂PO₄ (38:62, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 262 nm, and sample size was 20 μl. RESULTS: Mean particle size of SPTN and SPN were (194.6±2.8) nm and (382.4±3.2) nm; Zeta potential (-21.3±1.7) mV and (-13.9±2.3) mV; drug-loading amount (9.5±0.7)% and (6.2±0.8)%; dissolution ratio (41.3±1.6)% and (32.8±1.8)%, respectively. The *in vitro* drug release profile showed diphasic release pattern, and the cumulative release rates of SPTN and SPN were 92.8% and 71.3% at 30 d. Compared with 0 d, there was no significant change in appearance, particle size and drug-loading amount of SPTN within 10 d under the condition of high temperature (40 ℃), high-lights [(4 500±500) lx] and high humidity [(90±5)%]. There was no significant change in appearance, particle size, drug-loading amount of SPTN in 6 months acceleration test and 12 months long-term test. CONCLUSIONS: Compared with SPN, SPTN has smaller particle size and bigger drug-loading amount and dissolution ratio, releases *in vitro* more completely, and shows obvious sustained-release effect and good stability *in vitro*.

KEYWORDS Sinomenine; PLGA-TPGS; Nanoparticles; Quality evaluation; *in vitro* release rate; Stability

- 合工艺的研究[J].时珍国医国药,2012,23(5):1 217.
- [7] 刘治岐,王鸣刚,薛明.苯环壬酯-β-环糊精包合物的制备与评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(15):22.
- [8] 彭信恩,宋红萍.氨苯砒β-环糊精包合物的制备条件优化[J].中国医院药学杂志,2013,33(10):782.
- [9] 常占瑛,刘桂花,高晓黎.正交试验优选小豆蔻挥发油的提取及β-环糊精包合工艺[J].中国药房,2014,25(7):630.
- [10] 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XC.
- *实验师。研究方向:药物新制剂、新技术。电话:0411-86110323。E-mail:859133790@qq.com
- #通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:药物制剂。电话:0411-83635963-7079。E-mail:13840805901@139.com
- (收稿日期:2014-06-16 修回日期:2014-09-12)
(编辑:邹丽娟)

青藤碱(Sinomenine, SIN)是从中药青风藤中提取的一种生物碱类的单体化合物,具有明显的抗炎、镇痛、抗免疫等药理作用。陈伟毅等^[1]认为,青藤碱对多种恶性肿瘤细胞的生长均有较强的抑制作用。但由于青藤碱生物半衰期短,一般需长期口服,而且用剂量较大,国内用于临床的主要有盐酸青藤碱片等^[2]。其可引起胃肠道等不良反应,又由于其结构中具有酚羟基,容易氧化,对光、热均不稳定,使其临床应用受到了限制。

鉴于青藤碱对肝癌细胞 HepG2 的抑制作用较好^[3],本研究采用药物靶向治疗中常用的纳米技术及对肝细胞有特异性识别作用的材料聚乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素 E [Poly (lactic-co-glycolic acid)/D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate, PLGA-TPGS] 为载体,将青藤碱制成青藤碱 PLGA-TPGS 纳米粒(SPTN)。由于材料的包载作用,既可增加药物的体外稳定性,又可通过控制纳米粒的粒径大小、表面电荷^[4]及载体材料的特殊性质^[5-6],控制药物的靶点,延长药物在靶部位的作用时间而进一步提高疗效。

为了证明自制 SPTN 体外具有更好的性质,本研究将分别以药剂学教研室自制 PLGA-TPGS 和市售 PLGA 为载体,采用超声乳化-溶剂挥发法^[6]分别制备 SPTN 和青藤碱 PLGA 纳米粒(SPN),并用激光粒度仪测定 2 种纳米粒的粒径和 Zate 电位进行对比;同时采用高效液相色谱法测定其药物含量,计算二者的载药量、包封率、体外释放度及稳定性,以确定用自制材料制备的 SPTN 是否具有比 SPN 更好的质量,为制备青藤碱新制剂提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);JY92-II N 超声波细胞粉碎机(宁波新艺科技股份有限公司);NanoZS90 激光粒度仪(英国 Marvern 公司);JEM-2000EX 型透射电子显微镜(日本电子公司);RW20 数显电动搅拌机(德国 IKA 公司);SCPTOH 型离心机(日本 Hitachi 公司,离心半径:13.5 cm);FD-1C 冷冻干燥机(北京德天佑科技发展有限公司);MS105DU 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司,精度:0.01 mg);HZQ-X100 恒温震荡培养箱(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);YB-2 澄明度检测仪(天津大学精密仪器厂)。

1.2 药品与试剂

青藤碱原料药(陕西森弗生物技术有限公司,批号:20130120,纯度:98%);青藤碱对照品(美国 Sigma 公司,批号:608-05-1,纯度:99%);PLGA-TPGS(大连医科大学药剂学教研室自制,批号:20121018);TPGS(美国 Eastman 化学公司,批号:20120910,纯度:99%);PLGA(山东省医疗器械研究所,批号:12030911,分子质量:50 000);甲醇(美国 Tedia 公司,批号:907900,色谱纯);其余辅料均为药用级,所用试剂均为分析纯。

透析袋(经科宏达生物科技有限公司,批号:130220,分子质量:1 000)。

2 方法与结果

2.1 纳米粒的制备^[6]

精密称取青藤碱原料药适量,用 2 ml 纯化水溶解,再精密称取 PLGA-TPGS 100 mg,用 8 ml 乙酸乙酯溶解,200 W 超声条件下将青藤碱水溶液滴加到 PLGA-TPGS 乙酸乙酯溶液中,形成 W/O 型一级乳;再在 200 W 超声条件下将上述乳液滴加

到 200 ml 0.06% TPGS 水溶液中,继续超声 6 min,形成 W/O/W 型二级乳;电动搅拌 12 h 充分挥发乙酸乙酯后,20 000 r/min 高速离心 15 min,去离子水洗 3 次,每次 20 000 r/min 离心 15 min,将离心后的沉淀物用适量去离子水分散均匀,冷冻干燥 24 h,得 SPTN,分别制备 3 批 SPTN,批号记为 20130301、20130302、20130303。另同法用市售 PLGA 为载体代替 PLGA-TPGS 制得 SPN,批号记为 20130301a。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Hypersil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为甲醇-10 mmol/L 磷酸二氢钠(38:62, V/V),流速为 1.0 ml/min;检测波长为 262 nm^[7];柱温为 30 $^{\circ}$ C;进样量为 20 μ l。精密称取青藤碱对照品适量,用甲醇溶解制备成质量浓度为 40 μ g/ml 的溶液;再分别精密称取 SPTN、SPN 适量,用丙酮溶解后减压回收丙酮,残渣加入流动相涡旋使溶解,制备成质量浓度约为 40 μ g/ml 的溶液,分别进样测定。结果,青藤碱的保留时间约为 5.9 min,理论板数以青藤碱计不低于 3 000,分离度符合要求。色谱图见图 1。

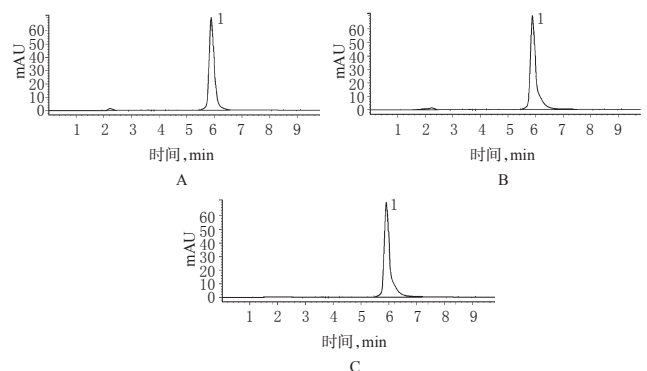


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品;B. SPTN;C. SPN;1. 青藤碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. SPTN; C. SPN; 1. SIN

2.3 表现形态观察

取 SPTN(批号:20130301)和 SPN(批号:20130301a)适量,加至 4 ml 去离子水中,超声分散后形成纳米粒混悬液,分别放入覆有支撑网的铜网,沉淀 2~3 min,吸掉多余液体,用 2.5% 磷钨酸溶液染色 5 min,再吸干染色液,干燥,置于透射电镜下观察,结果见图 2。

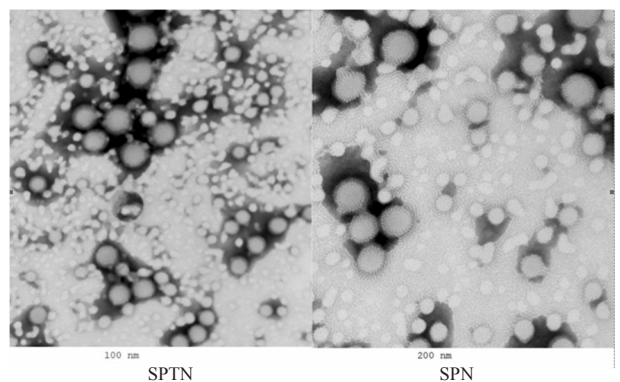


图 2 2 种纳米粒的透射电镜图($\times 100\ 000$)

Fig 2 TEM images of 2 kinds of nanoparticles($\times 100\ 000$)

由图 2 可见,SPTN 和 SPN 的纳米粒大小均匀,呈圆整的球形,SPTN 的粒径比 SPN 更小。

2.4 粒径、Zeta电位的测定

取SPTN(批号:20130301)和SPN(批号:20130301a)适量,加至4 ml去离子水中,超声分散后形成纳米粒混悬液。用激光粒度仪测定其粒径、粒径分布和Zeta电位,结果见表1,粒径分布见图3。

表1 2种纳米粒的粒径和Zeta电位比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Comparison of particle size and Zeta potential of 2 kinds of nanoparticles($\bar{x} \pm s, n=3$)

纳米粒	粒径, nm	多分散系数	Zeta电位, mV
SPTN	194.6 ± 2.8	0.046	-21.3 ± 1.7
SPN	382.4 ± 3.2	0.082	-13.9 ± 2.3

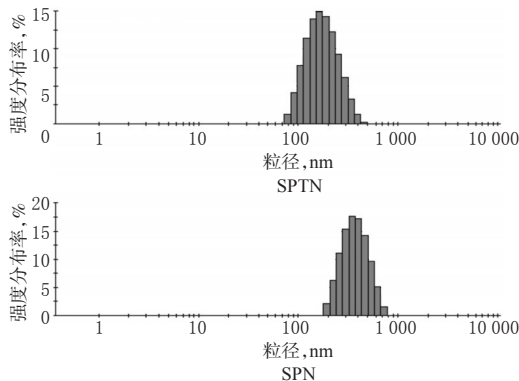


图3 2种纳米粒的粒径分布图

Fig 3 Distribution of particle size of 2 kinds of nanoparticles

由表1和图3结果显示,SPTN的粒径比SPN更小、分布更均匀(多分散系数越小,表示样品粒径分布越均匀),并且当Zeta电位在 $\pm 20 \sim 25$ mV范围内时微粒分散体系更稳定^[4],2种纳米粒中SPTN的Zeta电位为 (-21.3 ± 1.7) mV,说明SPTN作为微粒分散体系相对更加稳定。

2.5 含量测定方法学考察^[8]

青藤碱检测质量浓度在 $5 \sim 320$ $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积呈良好线性关系,峰面积(A)与质量浓度(c)的回归方程为 $A = 15.88c - 0.5818$ ($r = 0.9999, n = 7$);检测限为 0.2 $\mu\text{g/ml}$,定量限为 0.6 $\mu\text{g/ml}$;平均回收率为 100.1% (RSD为 $1.0\%, n = 9$);日内RSD分别为 $1.0\% \sim 1.2\%$ ($n = 5$),日间RSD分别为 $1.2\% \sim 1.4\%$ ($n = 5$);重复性试验的RSD为 0.8% ($n = 5$)。

2.6 载药量与包封率的测定

分别精密称取SPTN(批号:20130301、20130302、20130303)4.20 mg和SPN(批号:20130301a)6.40 mg,各6份,按照“2.2”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积,代入回归方程计算青藤碱的含量。根据公式分别计算青藤碱的载药量和包封率:载药量($\%$) = 纳米粒中的药物质量/纳米粒质量(即取样量) $\times 100\%$,包封率($\%$) = 纳米粒中的药物质量/制备时的投药质量 $\times 100\%$ 。结果显示,SPTN和SPN的载药量分别为 $(9.5 \pm 0.7)\%$ 、 $(6.2 \pm 0.8)\%$ ($n = 6$),包封率分别为 $(41.3 \pm 1.6)\%$ 、 $(32.8 \pm 1.8)\%$ ($n = 6$),表明SPTN比SPN具有更高的载药量和包封率。

2.7 体外释放度的测定

分别精密称取青藤碱原料药2.00 mg和分别含有相同青藤碱量的SPTN(批号:20130301)21.00 mg、SPN(批号:20130301a)32.20 mg,各6份,分别溶解或均匀分散在磷酸盐缓冲液(PBS,取磷酸二氢钾1.36 g,加 0.1 mol/L氢氧化钠溶液79 ml,用纯化水稀释至200 ml, pH 7.4)5 ml中,再分别置于透

析袋中,放入盛有PBS 25 ml的烧杯中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下于 120 r/min摇床中放置。分别于0、0.25、1、2、3、4、5、7、9、12、15、18、21、24、27、30 d精密吸取透析液15 ml,同时补充加入同温度同体积的PBS。将吸取的透析液减压蒸干后用适量流动相复溶,按照“2.2”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积,分别计算二者的累积释放度,绘制青藤碱释放曲线,结果见图4。

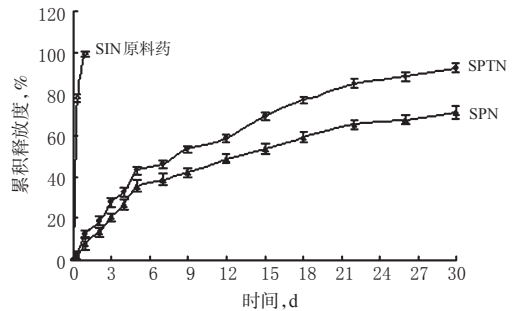


图4 青藤碱原料药及其2种纳米粒的体外释放曲线

Fig 4 Release curves *in vitro* of SIN material drug and 2 kinds of nanoparticles

由图4可见,青藤碱原料药在1 d时即已经释放完全。与青藤碱原料药比较,2种纳米粒在PBS中均具有显著的缓释作用。SPTN和SPN的体外释放曲线均表现为两相释放,即1 d时为突释阶段,二者的累积释放度分别为 12.3% 和 7.8% ,均小于 15% ;紧接着为扩散阶段,9 d时二者的累积释放度分别为 53.7% 和 42.3% ;9 d后二者的释放速率趋近于平衡;30 d时SPTN的累积释放度达到 92.8% ,而SPN的累积释放度只有 71.3% ,表明SPTN的累积释放度明显高于SPN,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

分别以缓释剂体外释放模型Higuchi方程、一级动力学方程、Niebergull方程、零级动力学方程对SPTN和SPN的体外释药数据进行拟合, Q 为累积释放度, t 为释放时间,得回归方程见表3。

表3 2种纳米粒的释药模型拟合方程

Tab 3 Fitting equations of drug release behaviors of 2 kinds of nanoparticles

纳米粒	模型	拟合方程	r
SPTN	Higuchi方程	$Q = 18.394t^{1/2} + 3.4762$	0.9909
	一级动力学方程	$\ln(100 - Q) = -0.0835t + 4.5769$	0.9831
	Niebergull方程	$(1 - Q)^{1/2} = 0.0004t + 0.9769$	0.9732
SPN	零级动力学方程	$Q = 3.0305t + 16.0964$	0.9061
	Higuchi方程	$Q = 14.237t^{1/2} + 2.3958$	0.9827
	一级动力学方程	$\ln(100 - Q) = -0.0415t + 4.4954$	0.9652
	Niebergull方程	$(1 - Q)^{1/2} = 0.0002t + 0.9773$	0.9648
	零级动力学方程	$Q = 2.3231t + 12.984$	0.8815

由表3结果可见,2种纳米粒的体外释药行为最符合Higuchi方程, Q 和 $t^{1/2}$ 用Higuchi方程描述拟合优度较好,而SPTN的相关系数更大、拟合优度更好。

2.8 SPTN的稳定性考察试验

2.8.1 影响因素试验 根据2010年版《中国药典》(二部)附录药物稳定性考察指导原则的有关规定^[9],再结合纳米粒的性质,本试验分别考察高温、高湿、强光照射对SPTN稳定性的影响。检测指标为外观性状、粒径、载药量,每份样品测定3次。试验条件分别为:①高温试验。称取同一批号的SPTN(批号:20130301)3份,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 高温条件下放置,于第0、5、10天取样。②强光试验。称取同一批号的SPTN(批号:20130301)3份,在

(4 500 ± 500) lx光照条件下放置,于第0、5、10天取样。③高湿试验。称取同一批号的SPTN(批号:20130301)3份,在25℃时相对湿度为(90 ± 5)%的条件下放置,于第0、5、10天取样。结果显示,SPTN在高温、高湿和强光照射条件下放置10 d后,其外观性状、粒径及载药量均无明显变化,表明SPTN在上述条件下稳定。SPTN的影响因素试验结果见表4。

表4 SPTN的影响因素试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

影响因素	时间,d	外观性状	粒径,nm	载药量,%
高温	0	白色粉末	198.5 ± 1.9	9.3 ± 0.3
	5	白色粉末	194.8 ± 1.1	9.4 ± 0.5
	10	白色粉末	197.5 ± 1.7	9.2 ± 0.4
强光	0	白色粉末	189.7 ± 1.5	9.3 ± 0.5
	5	白色粉末	196.4 ± 1.8	9.3 ± 0.4
	10	白色粉末	200.7 ± 2.1	9.2 ± 0.5
高湿	0	白色粉末	192.4 ± 2.0	9.6 ± 0.4
	5	白色粉末	199.4 ± 1.3	9.5 ± 0.6
	10	白色粉末	202.1 ± 1.4	9.4 ± 0.5

2.8.2 加速试验 称取3批SPTN适量,每批各3份,在温度(40 ± 2)℃、相对湿度(75 ± 5)%的条件下放置6个月,分别放置1、2、3、6个月时取样,观察SPTN的外观性状,测定其粒径和载药量。结果显示,SPTN在加速试验规定的条件下放置6个月其外观性状、粒径和载药量均无明显变化,表明SPTN在上述条件下稳定。SPTN的加速试验结果见表5。

表5 SPTN的加速试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	时间,月	外观性状	平均粒径,nm	载药量,%
20130301	1	白色粉末	192.6 ± 1.2	9.1 ± 0.3
	2	白色粉末	198.9 ± 1.7	9.0 ± 0.5
	3	白色粉末	196.8 ± 1.2	9.0 ± 0.4
	6	白色粉末	200.4 ± 1.5	8.9 ± 0.7
20130302	1	白色粉末	195.4 ± 1.2	9.4 ± 0.8
	2	白色粉末	197.4 ± 1.6	9.4 ± 0.9
	3	白色粉末	189.6 ± 1.8	9.3 ± 0.4
	6	白色粉末	199.3 ± 1.3	9.2 ± 0.3
20130303	1	白色粉末	201.4 ± 1.5	9.5 ± 0.8
	2	白色粉末	197.2 ± 2.0	9.5 ± 0.5
	3	白色粉末	196.1 ± 1.4	9.3 ± 0.4
	6	白色粉末	198.3 ± 1.8	9.2 ± 0.3

2.8.3 长期试验 称取3批SPTN适量,每批各3份,在温度(25 ± 2)℃、相对湿度(60 ± 5)%的条件下放置12个月,分别于0、3、6、9、12个月时取样,观察纳米粒的外观性状,测定其粒径和载药量。结果显示,SPTN在长期试验规定的条件下放置12个月其外观性状、粒径和载药量均无明显变化,表明SPTN在上述条件下稳定。SPTN的长期试验结果见表6。

3 讨论

SPTN具有比SPN更小的粒径、更大的Zeta电位(绝对值)、更高的载药量和包封率,主要是因为PLGA-TPGS中连接有亲水性较强的TPGS,作为W/O/W型复乳中的一级乳化剂,亲水性相对更强,更容易使溶有青藤碱的内水相以小液滴的形式分散在外相乙酸乙酯中,使制得的SPTN粒径更小、更均匀;同时由于TPGS是维生素E的琥珀酸盐而带负电荷,使微粒负电荷增多,绝对值变大。而纳米粒的大小、分布及表面电荷对药物的靶向性具有非常重要的影响,尤其是肝脏靶向制剂的粒径越小、比表面积越大,就越容易被肝癌细胞摄取以成功通过细胞屏障。同时,带负电荷的微粒易被肝细胞摄取,微

表6 SPTN的长期试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 6 Results of long-term test of SPTN($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	时间,月	外观性状	平均粒径,nm	载药量,%
20130301	0	白色粉末	194.4 ± 1.8	9.1 ± 0.6
	3	白色粉末	195.4 ± 1.6	9.3 ± 0.7
	6	白色粉末	200.1 ± 1.5	9.0 ± 0.4
	9	白色粉末	201.5 ± 2.1	9.3 ± 0.8
	12	白色粉末	198.4 ± 1.4	9.2 ± 0.6
20130302	0	白色粉末	202.7 ± 1.5	9.5 ± 0.4
	3	白色粉末	205.1 ± 1.3	9.3 ± 0.5
	6	白色粉末	204.5 ± 1.4	9.4 ± 0.4
	9	白色粉末	204.2 ± 1.5	9.6 ± 0.5
	12	白色粉末	203.6 ± 1.7	9.2 ± 0.6
20130303	0	白色粉末	194.8 ± 1.4	9.1 ± 0.8
	3	白色粉末	198.3 ± 1.3	9.3 ± 0.5
	6	白色粉末	191.9 ± 1.2	9.5 ± 0.5
	9	白色粉末	200.7 ± 1.1	9.2 ± 0.4
	12	白色粉末	205.2 ± 1.0	9.4 ± 0.7

粒Zeta电位的绝对值越大,注射后越易被肝脏的单核-吞噬细胞系统摄取而靶向于肝部^[4]。载药量和包封率是评价纳米粒质量的2个重要指标,纳米粒制剂中所含的药物量应能满足临床治疗的需要,含量过低则不具备实用性。SPTN的载药量越高,包载同样量青藤碱所需载体材料的量就越少;包封率越高,制备时包载进纳米粒中的青藤碱比例就越大、产率越高,越有利于实际应用。

体外释放试验中,2种纳米粒的突释现象不明显,这是因为SPTN和SPN都属于由W/O/W型复乳形成的纳米囊型的微粒,在复乳中由于一级乳化剂PLGA-TPGS(或PLGA)和二级乳化剂TPGS的包裹作用,表面分布的药物较少,大部分青藤碱分布在纳米粒内部,在载体骨架的影响下释放缓慢。故与青藤碱原料药相比,SPTN和SPN均具有明显的缓释作用。又由于自制材料PLGA-TPGS中连接有亲水性较强的TPGS,使PLGA-TPGS比市售材料PLGA更易被水润湿^[5],相应在水性释放介质中溶解得更快、更完全,故SPTN的体外累积释放度比SPN更大,30 d时青藤碱释放更完全($P < 0.05$)。

SPTN属于纳米囊型的微粒,药物被完全包封在载体材料PLGA-TPGS和乳化剂TPGS里面,受外界因素影响小,在影响因素试验、加速试验、长期试验条件下均表现出良好的稳定性,为新制剂生产提供了试验依据。

参考文献

- [1] 陈伟毅,秦春宏,银晓刚.青藤碱抗肿瘤作用研究进展[J].中国药师,2013,16(12):1902.
- [2] 李乐,张彩玲,宋必卫.青藤碱药理研究与临床应用[J].中药新药与临床药理,2006,17(4):310.
- [3] Hong Y, Yang J, Shen X, et al. Sinomenine hydrochloride enhancement of the inhibitory effects of anti-transferrin receptor antibody-dependent on the COX-2 pathway in human hepatoma cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013,62(3):447.
- [4] 方晓玲.药剂学[M].北京:人民卫生出版社,2007:370-371.
- [5] Ma YD, Huang LQ, Song CX, et al. Nanoparticle formulation of poly(3-caprolactone-co-lactide)-d- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cervical cancer treatment[J]. *Polymer*, 2010, 51(25): 5952.

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)