

PLGA-PEG 多孔载药微球的制备及超声波对其释药行为的影响研究

袁晓明*(宿州市食品药品检验所,安徽宿州 234000)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1834-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.33

摘要 目的:以伊文思蓝为被包封物制备聚乳酸(LA)-羟基乙酸(GA)-聚乙二醇(PEG)嵌段共聚物(PLGA-PEG, PLGE)多孔载药微球,并研究超声波对药物体外释放的影响。方法:以LA-GA-PEG(63.00:27.50:9.50, *m/m/m*)为原料制备PLGE;以二氯甲烷为有机相,采用复乳法制备PLGE包封的伊文思蓝多孔载药微球。采用扫描电子显微镜对载药微球的形态进行观察;采用紫外分光光度法测定伊文思蓝的载药量和包封率;考察低频率(20 kHz, 40 W)超声波对其药物累积释放度的影响。结果:所制备的多孔载药微球成球规整,彼此不粘连,表面孔隙均匀,载药量为0.38%,包封率为89.92%;15 min时的累积释放度在超声和未超声条件下分别为2.76、0.91 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。结论:PLGE可用作微球药物的载体,低频率超声波可促进微球内药物的释放。

关键词 聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物;多孔载药微球;制备;伊文思蓝;体外释放;超声

Study on the Preparation of PLGA-PEG Porous Drug-loaded Microsphere and the Effect of Ultrasound on Its Drug Release

YUAN Xiao-ming(Suzhou Institute for Food and Drug Control, Anhui Suzhou 234000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare the lactic acid (LA)-glycolic acid (GA)-polyethylene glycol (PEG) (PLGA-PEG, PLGE) porous drug-loaded microsphere with the encapsulation material of evans blue (EB) and research the effect of ultrasound on drug release *in vitro*. METHODS: PLGE was prepared with the raw material of LA-GA-PEG (63.00:27.50:9.50, *m/m/m*). With the organic phase of dichloromethane, multiple emulsion method was used to prepare EB porous drug-loaded microsphere encapsulated by PLGE. Scanning electron microscope was used to describe the microsphere forms and UV spectrophotometry was used to determine the drug loading, entrapment efficiency. The effects of low-frequency ultrasound (20 kHz, 40 W) on the cumulative drug release were studied. RESULTS: The prepared porous drug-loaded microsphere was regular and uniform in surface porosity without adhesion, the drug loading was 0.38% and the entrapment efficiency is 89.92%. The cumulative release in 15 min under the conditions of ultrasound and non-ultrasound were respectively 2.76 and 0.91 $\mu\text{g}/\text{mg}$. CONCLUSIONS: PLGE can be used as a carrier of microsphere and low-ultrasound can promote the drug release of microsphere.

KEYWORDS Lactic acid-glycolic acid-polyethylene glycol; Porous drug-loaded microsphere; Preparation; Evans blue; Release *in vitro*; Ultrasound

药物控制释放具有提高药物有效性、安全性和降低不良反应等优点^[1]。药物脉冲控释系统是指利用对药物或载体敏感的刺激信号如温度、pH、磁场、超声等,通过改变刺激信号改变载体的性质或结构,从而改变释药速率^[2-3]。目前报道较多的是热敏或者磁场影响药物的释放,利用超声波的研究尚不多见。超声触发放药是通过调整超声波的频率、功率和时间,调节药物释放速率和累积释放度。低频率超声波(16~23 kHz)在人体理疗范围内,对人体损伤小,组织穿透力强,绿色无污染,操作方便,可使药物局部释放而提高其药效,应用前景好^[4-5]。本文以伊文思蓝为被包封物,通过将亲水性链段聚乙二醇(PEG)加入至聚乳酸(LA)-羟基乙酸(GA)共聚物(PLGA)中,制备PLGA-PEG(PLGE)多孔载药微球,并研究超声波对药物释放行为的影响。

1 材料

1.1 仪器

* 主管药师,硕士。研究方向:生物医用高分子药物控制释放行为与功能高分子。E-mail: xiaoming915@126.com

Christ Alpha 1-2型冻干机(德国 Martin Christ 公司); RW 20 digital型机械式搅拌机(广州仪科实验室技术有限公司); UV-2550型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); 6700型扫描电子显微镜(日本 Jeol 公司); BILON92-II/JY92-II型超声波细胞粉碎机(上海比朗仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

伊文思蓝原料药(美国 Biofer 公司,批号: B31413/06,纯度: 95.0%); 乙交酯、L-丙交酯(荷兰 Purac 公司,批号分别为 PR31215703、PR31215715); PEG2000(以下简称 PEG)、二氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司,批号: 20130215、T20061204); 异辛酸亚锡(美国 Sigma 公司,批号: 30110-02)。本试验所用试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 多孔载药微球的制备与形态观察

经过本实验室大量前期研究发现,LA-GA-PEG的质量比为63.00:27.50:9.50时制备的载药微球多孔形貌均匀、规则,且载药量和包封率较高。故按LA-GA-PEG比例为63.00:

27.50:9.50 分别称取 LA 1.26 g、GA 0.55 g、PEG 0.19 g, 装入聚合管中, 加少许 0.05% 的异辛酸亚锡催化, 真空封管, 在 170~180 °C 下反应 24 h, 用氯仿溶解, 真空抽滤, 干燥至恒质量, 得白色 PLGE。

采用 W/O/W 复乳法, 精确称取伊文思蓝 0.017 0 g 溶解在 0.5 ml 水中, 称取 0.500 0 g 上述制备的 PLGE 溶解在 6.5 ml 二氯甲烷中。将伊文思蓝水溶液加入到 PLGE 的二氯甲烷溶液中, 通过超声均化得到初乳, 将初乳在搅拌速度 2 000 r/min 下逐渐滴加到含有聚乙烯醇和聚山梨酯 60(吐温 60) 的 40 °C 的大量外水相中, 形成 W/O/W 双乳液。降低搅拌速度至 200 r/min, 搅拌 3 h, 使有机溶剂充分挥发, 洗涤, 离心, 干燥, 得多孔载药微球。采用扫描电子显微镜观察所制备多孔载药微球的表面结构, 操作电压为 15 kV, 工作距离为 8.0 cm。

2.2 标准曲线的绘制

称取 10 mg 伊文思蓝, 溶于 100 ml 量瓶中, 用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)定容, 制备成质量浓度为 0.1 mg/ml 的标准溶液; 分别移取标准溶液 0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.80、1.00、1.20 ml, 用 PBS 稀释至 10 ml。以 PBS 为空白, 用紫外-可见分光光度仪于 609 nm 波长处测定吸光度。以质量浓度(c)为横坐标, 吸光度(A)为纵坐标, 进行回归分析, 得回归方程为 $A = 0.080 54c - 0.002 74$ ($r = 0.999 2$)。结果表明, 伊文思蓝检测质量浓度的线性范围为 0.001~0.12 mg/ml。

2.3 载药量和包封率的测定

称取 10 mg 多孔载药微球粉末, 溶解在 3 ml 二氯甲烷中, 在 37 °C、100 r/min 的恒温水浴中搅拌 30 min, 使聚合物完全溶解, 加入 7 ml PBS, 超声使两相充分混合, 2 000 r/min (离心半径: 5.5 cm, 下同) 离心 10 min。取上层水相按“2.2”项下方法于 609 nm 波长处测定吸光度, 代入回归方程计算药物质量; 按公式计算载药量和包封率^[6]: 载药量 = (实际载入的药物质量/聚合物微球质量) × 100%, 包封率 = (实际载入的药物质量/药物的加入质量) × 100%。

2.4 超声对多孔载药微球释放行为的影响

称量两组多孔载药微球, 各 20 mg, 分别加入 30 ml PBS。一组用细胞粉碎机释放超声波(20 kHz, 40 W, 9 s), 每隔 3 min 超声 1 次, 连续超声 5 次。每次超声后立即取 3 ml 溶液置于离心管中, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液测定吸光度, 每次取样后及时补充 3 ml PBS。另一组不超声, 其余操作同上。根据测得的吸光度代入回归方程计算药物累积释放度。

3 结果

3.1 形态

镜下观察, 多孔载药微球成球规整, 彼此不粘连, 表面孔隙规则均匀。这表明 PEG 亲水性强, 聚合物中 PEG 链段易于向周围的外水相靠拢, 富集在微粒体表面, 并吸附大量的水, 充分溶胀, 冷冻干燥后, 水分除去就形成了多孔结构。多孔载药微球的显微镜图见图 1。

3.2 载药量和包封率

所制备的多孔载药微球的载药量为 0.38%, 包封率为 89.92%。

3.3 体外释药行为

结果显示, 超声可加速药物的释放速度, 15 min 时多孔载

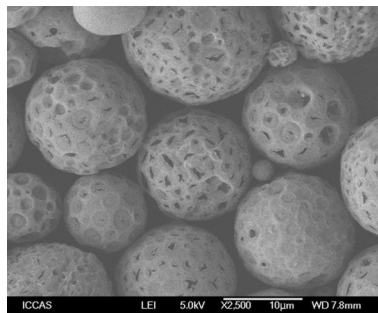


图 1 多孔载药微球的显微镜图(×2 500)

Fig 1 SEM picture of porous drug-loaded microsphere (× 2 500)

药微球的累积释放度在超声和未超声条件下分别为 2.76、0.91 μg/mg; 与未超声比较, 超声条件下多孔载药微球的累积释放度提高了约 3 倍。这表明一定功率的超声可促使微粒体内部的药物通过表面的小孔向外扩散。多孔载药微球在超声和未超声下的释药曲线见图 2。

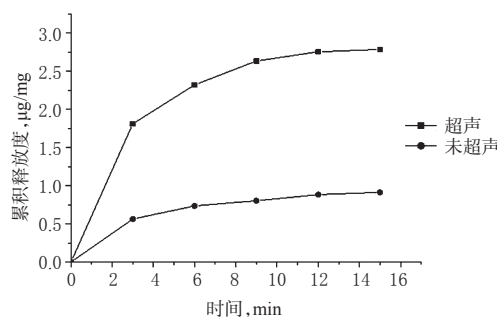


图 2 多孔载药微球在超声和未超声下的释药曲线

Fig 2 Drug release curve of porous drug-loaded microsphere under the conditions of ultrasound and non-ultrasound

4 讨论

本文按 LA-GA-PEG 比例为 63.00:27.50:9.50 合成 PLGE, 通过 W/O/W 复乳法制备出多孔载药微球。影响药物释放的因素很多, 但最终是通过影响微粒体的形貌结构和药物附着情况来实现的, 如微粒体表面孔隙越多则药物越容易释放出来^[7]。由于多孔结构可降低微球密度, 故通过调节微球粒径和空隙用于干粉吸入给药, 从而实现药物肺部递送, 也是近年研究的热点^[8]。

低频率超声波可深度穿透组织, 局部定位于病灶区, 使药物定时释放, 从而达到提高病灶区药物浓度、减少全身用药量、实现靶向控制释放的目的^[9-11]。本研究结果表明, PLGE 可用作微球药物的载体, 低频率超声波可加快药物通过微粒体表面的小孔释放, 提高药物释放速度和累积释放度, 从而达到控释的目的。

参考文献

- [1] 李乐道. 药物控释制剂载体的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(3): 229.
- [2] 陈晶, 王乐, 边虹铮, 等. 脉冲释药系统及相关制剂研究进展[J]. 中国药房, 2012, 23(36): 3 448.
- [3] 王建华, 霍佳丽. 药用高分子材料在脉冲释药系统中的应

葛根素胃黏附微丸的制备及其体外黏附性研究

李 静^{1,2*}, 卞 俊^{1#}(1.解放军第411医院药学科,上海 200434;2.江西中医药大学药学院,南昌 330004)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1836-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.34

摘要 目的:制备葛根素胃黏附微丸。方法:以体外累积释度为指标,对葛根素胃黏附微丸制备工艺中的包衣增质量、黏附材料羟丙甲基纤维素的型号、增塑剂种类及用量等进行考察,确定最优处方。以微丸胃滞留率为指标评价所制胃黏附微丸与未加入黏附材料的速释微丸的体外黏附性。结果:葛根素胃黏附型微丸的最优处方为采用1%的羟丙甲基纤维素K15M为黏附材料,包衣增质量为15%,增塑剂为相当于处方中葛根素量20%的柠檬酸三乙酯。所制3批胃黏附微丸6 h累积释度均在90%左右,胃滞留率约为87.67%,而速释微丸的胃滞留率约为35.33%。结论:建立的葛根素胃黏附微丸制备工艺简单、操作方便,所制微丸体外黏附性较好。

关键词 葛根素;胃黏附微丸;制备;处方;体外累积释度;体外黏附性

Study on the Preparation and Adhesiveness *in vitro* of Puerarin Gastric Adhesive Pellets

LI Jing^{1,2}, BIAN Jun¹(1.Dept. of Pharmacy, No.411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2.College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare puerarin gastric adhesive pellets (GAP). METHODS: With the index of cumulative release *in vitro*, the coating weight, the adhesion material hydroxyl propyl methyl cellulose (HPMC) and plasticizer species and amount in preparation process were surveyed to determine the optimal formulation; with the index of pellets gastroretentive rate, the adhesiveness *in vitro* of prepared GAP and immediate-release pellets without adhesive materials were evaluated. RESULTS: The optimal formulation of puerarin GAP was as follows as adhesive material of 1% HPMC K15M, coating weight of 15% and plasticizer of triethyl citrate, with amount of 20% of puerarin in formulation. The 6 h cumulative releases of 3 batches of prepared puerarin GAP were around 90%, the gastroretentive rate was about 87.67% and the gastroretentive rate of immediate-release pellets was 35.33%. CONCLUSIONS: The preparation process of puerarin GAP is simple and easy to operate with better adhesiveness *in vitro*.

KEYWORDS Puerarin; Gastric adhesive pellets; Preparation; Prescription; Cumulative release *in vitro*; Adhesiveness *in vitro*

葛根为豆科植物野葛或甘葛藤的块根,味甘辛,性平,是一种常用的药食同源的中药,应用历史悠久,具有解肌退热、生津、透疹、升阳止泻的功效^[1]。葛根素是从野葛干燥根中提取分离得到的一种白色至微黄色结晶性粉末,是中药葛根的主要有效成分,分子式为C₂₁H₂₀O₉^[2]。其目前在食品、医药、日用化工工业等方面都有重要的应用,如在医药上主要用于治

疗心脑血管系统疾病,包括冠心病、心绞痛、心肌梗死、心律失常等^[3-4]。目前已经上市的葛根素注射液疗效明确,但易发生过敏、溶血性黄疸、血管内溶血等不良反应^[5];另外,葛根素片疗效不佳、起效慢,临床应用有限,且随着给药剂量增加,副作用呈上升趋势^[6]。为了减少不良反应、提高药效,笔者以羟丙甲基纤维素(HPMC)为黏附性骨架材料,制备了葛根素胃黏附

- 用[J].材料导报,2010,24(12):121.
- [4] 徐彦芹.基于有序介孔材料MCM-41的超声触发释药体系的研究[D].重庆:重庆大学,2010:12-14.
- [5] 曲凤玉,朱广山,黄世英,等.水溶性药物巯基三甲膦酸/Si-MCM-41载药新体系的制备与缓释作用研究[J].高等学校化学学报,2004,25(12):2195.
- [6] 汪求精,孙新林,祝爱萍,等.PLGA/PEG缓释微球的制备与载药性能的研究[J].中华神经医学杂志,2009,8(7):674.
- [7] 龙娜,吕竹芬.微球缓释系统的突释现象及其影响因素[J].中国药师,2010,13(3):421.
- [8] 钦富华,胡英,高建青.多孔PLGA微球的应用研究进展[J].广东药学院学报,2012,28(3):351.
- [9] Cohn D, Lando G, Sosnik A, et al. PEO-PPO-PEO-based poly(ether ester urethane)s as degradable reverse thermo-responsive multiblock copolymers[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(9):1718.
- [10] 孙伟,段友容,刘卫东.超声控释载尿激酶缓释给药系统的体外实验[J].中国新药与临床杂志,2008,27(3):173.
- [11] 孟龙.超声操控微纳米颗粒的理论及声场设计研究[D].沈阳:东北大学,2009:6-7.

* 硕士研究生。研究方向:药物新技术与新剂型。E-mail: happylijing8886663@163.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:新药制剂开发与研究。电话:021-65280289

(收稿日期:2014-07-10 修回日期:2014-08-27)

(编辑:邹丽娟)