

灯盏花乙素缓释微球的制备及药剂学性能考察

薛雨晨, 苏菊, 姜丰, 吴朝花, 沈祥春*, 陶玲*

(贵州医科大学药学院, 天然药物优效利用重点实验室, 贵州省普通高等学校
天然药物药理与成药性评价重点实验室, 贵阳 550025)

[摘要] 目的: 优选灯盏花乙素缓释微球的处方和制备工艺并考察其药剂学性能。方法: 采用 S/O/W 型乳化溶剂挥发法制备灯盏花乙素微球, 以载药量、包封率及收率的综合评分为指标, 通过正交试验优选处方和制备工艺, 考察其体外释药性能。采用激光粒度分析仪、扫描电镜、傅里叶红外光谱和 X 射线衍射法对微球进行表征。结果: 最佳制备工艺为投药量 25 mg, 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 200 mg, 聚乙烯醇质量分数 1%, 二氯甲烷-丙酮(1.7:0.3), 搅拌转速 $1\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。灯盏花乙素微球载药量(6.18 ± 0.11)%, 包封率(50.79 ± 2.01)%, 收率(91.18 ± 2.19)%, 释放 30% 药物所需时间不低于 600 h, 粒径(126.0 ± 2.1) μm ; 表面圆整光滑, 无黏连; 微球内部含有大量灯盏花乙素晶体, 灯盏花乙素在高分子材料中未改变其晶体结构。结论: 该方法可有效制备灯盏花乙素缓释微球, 优选的制备工艺简单合理, 为灯盏花乙素制剂的开发提供了参考。

[关键词] 灯盏花乙素; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 微球; 溶剂挥发法; 聚乙烯醇; 载药量; 包封率

[中图分类号] R283.6; R284.1; R944.9; O434 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0007-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060007

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1148.040.html>

[网络出版时间] 2016-12-28 11:48

Preparation of Scutellarin Sustained-release Microspheres and Study on Its Pharmaceutical Properties

XUE Yu-chen, SU Ju, JIANG Feng, WU Chao-hua, SHEN Xiang-chun*, TAO Ling*

(High Educational Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Drugability of Guizhou Province, Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicinal Resources, School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To select the best formula and technology for the preparation of scutellarin sustained-release microspheres and study on its pharmaceutical properties. **Method:** S/O/W emulsification solvent evaporation method was adopted to prepare scutellarin sustained-release microspheres, taking composite score of drug loading, encapsulation efficiency and yield as index, orthogonal test was used to optimize preparation process of scutellarin sustained-release microspheres and its *in vitro* release was investigated. This microspheres was charaterized in some ways, such as laser particle size analyzer, scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray diffraction. **Result:** Optimum preparation process was as following: scutellarin dosage of 25 mg, poly (lactide-glycolide acid) (PLGA) amount of 200 mg, polyvinyl alcohol (PVA) amount of

[收稿日期] 20160711(005)

[基金项目] 贵州省科技厅国际合作项目(黔科合外 G 字[2012]7041 号); 贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2013]2039); 贵州省高层次人才项目(黔科合人才[2015]4029 号); 贵州省高等学校科技创新团队项目(黔教合人才团队[2014]31 号); 贵州省科技创新团队项目(黔科合人才团队[2015]4025 号)

[第一作者] 薛雨晨, 在读硕士, 从事药物新剂型和新技术研究, Tel: 13628503720, E-mail: 1412496128@qq.com

[通讯作者] * 沈祥春, 博士, 教授, 从事心血管药物药理、功能天然产物化学生物学研究, Tel: 0851-88416149, E-mail: shenxiangchun@126.com;

* 陶玲, 硕士, 教授, 从事药物新剂型和新技术、中药民族药新药开发研究, Tel: 0851-88416160, E-mail: 649511230@qq.com

1.0%, dichloromethane-acetone (1.7:0.3), stirring speed of 1 000 r·min⁻¹. The drug loading, encapsulation efficiency and yield were (6.18 ± 0.11)%, (50.79 ± 2.01)% and (91.18 ± 2.19)%, respectively; *in vitro* cumulative release of 30% needed ≥ 600 h, average particle size was (126.0 ± 2.10) μm. The surface of scutellarin sustained-release microspheres was round without adhesion. The internal of microspheres had some crystals of scutellarin. FT-IR and XRD indicated that scutellarin still existed in the form of crystals. **Conclusion:** Sustained-release microspheres of scutellarin is successfully prepared with emulsification solvent evaporation method. This optimized process is simple and reasonable, which is basis for further research of scutellarin preparations.

[Key words] scutellarin; poly (lactide-glycolide acid); microspheres; solvent evaporation method; polyvinyl alcohol; drug loading; encapsulation efficiency

灯盏花乙素又名野黄芩苷,为 5,6,4'-三羟基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷,是从菊科植物飞蓬属短葶飞蓬的干燥全草灯盏细辛中提取分离得到的黄酮类化合物。具有散寒解表、舒筋活络、活血化瘀等作用,临床上主要用于治疗缺血性心脑血管疾病,如脑栓塞、心绞痛和心肌梗死等^[1-3]。但是由于其水溶性和脂溶性均不佳,Beagle 犬口服生物利用度(0.40 ± 0.19)%^[4],理化性质和药动学性质严重限制了灯盏花乙素普通片剂、颗粒剂等血管外给药剂型的吸收,而注射剂、注射粉针剂又具有病人顺应性差的特性,使其临床疗效难以充分发挥。

微球是将药物溶解或分散在高分子材料基质中形成的微小球状实体,粒径一般在 1 ~ 250 μm^[5]。通过载体材料及制备技术的选择,使药物在体内几周或几个月内以一定速率缓慢释放,实现长效的目的。典型的醋酸亮丙瑞林微球将原来需每日 1 次的给药方式,改善为仅需 1 次/月,甚至 3 月 1 次和 6 月 1 次。左旋聚乳酸和聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 等聚酯类材料具有良好的生物相容性,不会引起明显炎症反应、免疫反应和细胞毒性反应,已被广泛用于新剂型的制备和生物医学组织工程,如用作医用手术缝合线和注射用微胶囊、微球及埋植剂等制剂的材料等^[6-7]。近年来,已有多种可用于注射等的 PLGA 微球制剂获批准上市,包括法国益普生公司的曲普瑞林微球、西安杨森的利培酮微球等,大幅提高了病人的顺应性。

鉴于心脑血管疾病大多数病程长,需要长期用药,因此,对需要长期给药的心脑血管疾病药物进行具有缓释性能的微球递送系统研究具有一定意义。本实验采用聚酯类材料进行临床疗效显著的心脑血管药物——灯盏花乙素微球的制备工艺研究,通过 X 射线衍射法考察药物在微球中的存在形式,利用冰冻切片技术研究微球内部结构,证实药物仍以微

粒形式存在于微球中,与多数文献报道的小分子药物以无定型形式存在于微球中有显著的不同^[8-10]。

1 材料

08-2G 型恒温磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司),XH-C 型旋涡混合器(金坛市白塔新宝仪器厂),BS223S 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),S-3400N 型扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司),UV-2401 型紫外-可见分光光度计(日本岛津仪器有限公司),Bettersize 2000 型激光粒度分布仪(丹东百特仪器有限公司),Nicolet 6700 型傅立叶变换红外光谱仪(美国 Themofisher 公司),D/Max-2200 型全自动 X 射线衍射仪(日本理学公司),MEV 型半自动冰冻切片机(上海天运实验器材有限公司)。

灯盏花乙素原料药(上海一基生物技术有限公司,质量分数 95%,批号 BN022201311251),灯盏花乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110842-201207),聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA,山东济南岱罡生物工程有限公司,相对分子质量 30 kDa,批号 2013060702),聚乙烯醇(PVA,北京国人逸康科技有限公司),透析袋 MD34(北京索莱宝科技有限公司),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 灯盏花乙素的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取灯盏花乙素对照品 10.0 mg,置于 50 mL 量瓶中,加磷酸盐缓冲液(PBS,pH 6.8,下同)稀释至刻度,摇匀,超声处理 10 min,取上层溶液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取灯盏花乙素微球 10.0 mg,置于 50 mL 量瓶中,加入二氯甲烷 1.0 mL,超声溶解微球,加入一定量 PBS,超声处理 10 min 至二氯甲烷挥发完全,高分子材料沉淀析出

完全,加 PBS 定容至刻度,取上层溶液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 检测波长的选择 精密吸取 0.008 g·L⁻¹ 灯盏花乙素对照品溶液,以 PBS 为空白溶剂,于 190 ~ 400 nm 扫描。结果表明灯盏花乙素在 334 nm 处有最大吸收,且空白溶剂在此波长处无干扰。按处方称取辅料同法制备阴性样品,结果辅料在 334 nm 处无干扰,故选择检测波长 334 nm。

2.1.4 标准曲线的建立 精密吸取对照品溶液 0.3,0.5,1.0,1.5,2.0,3.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加 PBS 定容至刻度,于 334 nm 处测定吸光度 A,以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 0.053X - 0.006$ ($r = 0.9997$),线性范围 2.4 ~ 24 mg·L⁻¹。

2.1.5 精密度的试验 精密吸取 0.008 g·L⁻¹ 灯盏花乙素对照品溶液,按 2.1.4 项下方法连续测定 6 次 A,计算 RSD 0.2%,表明仪器精密良好。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取高、中、低质量浓度 (0.012,0.008,0.004 g·L⁻¹,下同) 供试品溶液,分别于 0.5,1,2,4,5,6 h 在 334 nm 处测定 A,结果 RSD 分别为 0.5%,1.3%,1.1%,表明供试品溶液在 6 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 精密吸取高、中、低质量浓度供试品溶液各 3 份,按 2.1.4 项下方法连续测定 6 次 A,结果 RSD 分别为 0.4%,0.6%,0.9%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 回收率试验 精密吸取灯盏花乙素对照品溶液 3.0,2.0,1.0 mL ($n = 3$),分别加入空白微球 10 mg,置于 50 mL 量瓶中,按 2.1.2 项下自“加入二氯甲烷 1.0 mL”至“取续滤液”操作,于 334 nm 处测定 A,计算回收率 99.6% ~ 101.5%,平均回收率 100.8%,RSD 1.1%,表明该方法准确可行。

2.2 灯盏花乙素微球的制备 灯盏花乙素由秦皇岛市太极环纳米制品有限公司协助粉碎成平均粒径 100 nm 的微粉。称取适量灯盏花乙素分散在溶有高分子材料的二氯甲烷-丙酮混合溶剂中,超声处理 3 min,涡旋 3 min,混匀。冰浴条件下,于 1000 r·min⁻¹ 搅拌并加至一定浓度的 PVA 溶液中,一定时间后转至室温,800 r·min⁻¹ 搅拌 4 h 以挥发有机溶剂,至微球固化,静置沉淀,去除上清液,抽滤,加水洗涤微球表面多余 PVA,室温下干燥,即得。

2.3 正交试验优选 在预试验基础上,兼顾考虑高分子材料对灯盏花乙素微球体外释放性能的影响,选取高分子材料 PLGA 进行试验。选择 PLGA 用量,PVA 质量分数及二氯甲烷与丙酮的比例为考察因素;以微球的载药量、包封率、收率为综合评价指标,权重系数分别为 40%,40% 和 20%。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。结果由直观分析可知,各因素对灯盏花乙素微球质量的影响顺序为 $A > C > B$,且均具有统计学意义。选择最佳处方工艺为 $A_2B_2C_2$,即 PLGA 用量 200 mg,二氯甲烷-丙酮 (1.7:0.3),PVA 质量分数 1%。

表 1 灯盏花乙素微球处方工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of formulation process of scutellarin sustained-release microspheres

No.	A PLGA 用量/mg	B PVA 质量分数/%	C 二氯甲烷-丙酮	D(空白)	载药量/%	包封率/%	收率/%	综合评分
1	150	0.5	1.3:0.7	1	2.97	18.03	86.86	47.16
2	150	1.0	1.7:0.3	2	6.24	38.70	88.57	80.58
3	150	1.5	2.0:0	3	2.90	29.94	87.43	55.29
4	200	0.5	1.7:0.3	3	7.08	56.64	88.89	98.06
5	200	1.0	2.0:0	1	6.06	49.95	91.56	88.11
6	200	1.5	1.3:0.7	2	5.01	40.67	90.22	75.35
7	300	0.5	2.0:0	2	1.58	19.29	93.85	41.61
8	300	1.0	1.3:0.7	3	1.79	22.77	98.46	46.19
9	300	1.5	1.7:0.3	1	3.42	41.01	92.31	67.03

注:载药量 = (单位微球中灯盏花乙素的质量/单位微球的质量) × 100%,包封率 = (微球中药物的实际质量/投药量) × 100%,收率 = (微球的质量/投药量) × 100%。

进一步选取投药量、有机溶剂体积、搅拌转速为考察因素,评价指标及其他条件均同上,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。结果各因素的影响顺

序为 $A > B > C$,方差分析表明因素 A 对制备工艺的影响具有极显著性意义,其他因素则无显著性影响。综合考虑,选择投药量 25 mg,有机溶剂用量 2 mL,

表 2 处方工艺方差分析

Table 2 Variance analysis of formulation process

方差来源	SS	MS	F	P
A	6 112. 25	3 056. 13	534. 80	<0. 01
B	400. 27	200. 14	35. 02	<0. 05
C	3 289. 45	1 644. 73	287. 81	<0. 01
D(误差)	11. 42	5. 71		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19, F_{0.01}(2, 2) = 99$ 。

表 3 灯盏花乙素微球制备工艺正交试验安排

Table 3 Orthogonal test analysis of preparation process of scutellarin sustained-release microspheres

No.	A 投药量/mg	B 有机溶剂 体积/mL	C 搅拌速 度/ $r \cdot \min^{-1}$	D(空白)	载药量/%	包封率/%	收率/%	综合评分
1	25. 0	1. 0	1 000	1	5. 57	51. 55	84. 10	99. 93
2	25. 0	1. 5	1 200	2	5. 58	51. 08	83. 18	99. 42
3	25. 0	2. 0	1 400	3	5. 42	46. 64	78. 18	93. 64
4	27. 5	1. 0	1 200	3	3. 80	24. 89	79. 12	65. 37
5	27. 5	1. 5	1 400	1	4. 40	28. 46	78. 24	72. 23
6	27. 5	2. 0	1 000	2	5. 18	33. 33	77. 80	81. 50
7	30. 0	1. 0	1 400	2	5. 50	31. 10	82. 98	83. 29
8	30. 0	1. 5	1 000	3	4. 84	26. 27	80. 85	74. 31
9	30. 0	2. 0	1 200	1	5. 32	29. 64	82. 99	80. 87

表 4 制备工艺方差分析

Table 4 Variance analysis of preparation process

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2 935. 14	2	1 467. 57	14. 77	<0. 01
B	54. 30	2	27. 14	0. 27	>0. 05
C	52. 32	2	26. 16	0. 26	>0. 05
D(误差)	489. 40	2	244. 70		
B + C + D(总误差)	596. 02	6	99. 34		

注: $F_{0.05}(2, 6) = 5. 14, F_{0.01}(2, 6) = 10. 92$ 。

及其分布。结果粒径 (126.0 ± 2.1) μm , 跨度 0.908。

2.4.2 形态观察 取少量灯盏花乙素微球, 在扫描电子显微镜 (SEM) 下观察微球外观形态。结果表明微球外观形态为球形, 球形度良好, 表面圆整, 表面有肉眼可见微粒存在, 见图 1。将微球混悬于明胶溶液中, 固化于 1 mL 注射器中。切片前样本以 OCT 包埋液作为包埋剂包埋于冷冻切片机上, 于 $-30\text{ }^\circ\text{C}$ 下用预冷的手术刀进行切片, 切片厚度 $20\text{ }\mu\text{m}$, 脱水后在扫描电镜下观察结构^[11]。内部也有肉眼可见微粒的存在, 因此推测药物可能仍以纳米粒形式存在在微球中。见图 2。

2.4.3 傅立叶变换红外光谱扫描 (FT-IR) 分别取灯盏花乙素, PLGA, 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物, 灯盏花乙素微球进行 FT-IR。扫描范围 $400 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$, 分辨率 0.09 cm^{-1} , 波数精度 0.09 cm^{-1} , 检测器 DTGS/MCT/A 和 InGaAs, 分束器

搅拌速度 $1\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。按优选的处方和工艺制备 3 批灯盏花乙素微球, 结果载药量 (6.18 ± 0.11)%, 包封率 (50.79 ± 2.01)%, 收率 (91.18 ± 2.19)%, 说明优选的工艺稳定可行。

2.4 灯盏花乙素微球的表征

2.4.1 粒径测定 室温条件下取灯盏花乙素微球混悬液适量, 利用激光粒度分析仪测定微球的粒径

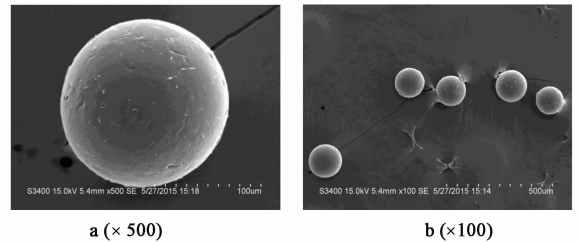


图 1 灯盏花乙素微球的 SEM

Fig. 1 SEM photographs of scutellarin sustained-release microspheres

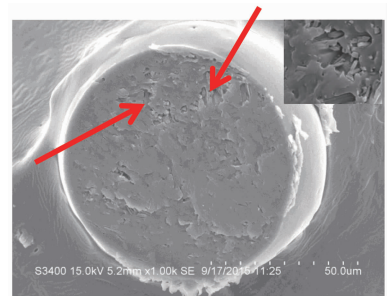


图 2 灯盏花乙素微球的横截面 SEM ($\times 1\,000$)

Fig. 2 SEM photographs of cross-section of scutellarin sustained-release microspheres ($\times 1\,000$)

KBr 和 CaF, 采用 KBr 压片 (用量 2 g)。结果表明微球在 $3\,030 \sim 2\,800, 1\,600, 1\,400 \sim 1\,000, 700\text{ cm}^{-1}$ 处出现了吸收峰及苯环上芳氢的伸缩振动, 苯环的骨架伸缩振动, 以及单取代苯的 C-H 面外弯曲振动。但是其峰强度与物理混合物相比明显减弱, 推测原因是由于微球的载药量较低, 导致其特征峰并不明

显。同时在 1700 cm^{-1} 出现了灯盏花乙素的羰基的伸缩振动特征吸收峰,可见微球制备过程中,灯盏花乙素并未与 PLGA 发生化学反应。见图 3。

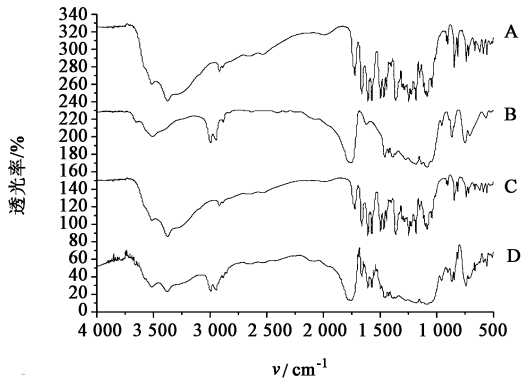


图 3 灯盏花乙素(A), PLGA(B), 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物(C), 灯盏花乙素微球(D)的 FT-IR

Fig. 3 FT-IR spectra of scutellarin (A), PLGA (B), mixture of scutellarin and PLGA (C), scutellarin sustained-release microspheres (D)

2.4.4 X 射线衍射法(XRD) 分别取灯盏花乙素, PLGA, 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物(灯盏花乙素质量分数 50%), 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物(灯盏花乙素质量分数 6%)和灯盏花乙素微球, 采用 XRD 考察药物在材料中的分散情况。测试条件为 Cu 靶, 管电压 40 kV, 电流 30 mA, 扫描速度 4 度/min, 扫描范围 0 ~ 80 °。结果显示灯盏花乙素在 25.642 度($d = 3.4711$)附近存在 1 个明显的特征衍射峰, PLGA 为无定型物, 成 1 个离散型的隆峰, 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物为二者特征峰型叠加, 在制备成微球后, 灯盏花乙素微球与两者物理混合物(灯盏花乙素质量分数 6%)峰型一致。表明灯盏花乙素与 PLGA 是简单的物理混合, 只是因微球的载药量较低, 导致其特征衍射峰并不明显[与灯盏花乙素和 PLGA 的物理混合物(灯盏花乙素质量分数 50%)对比可知], 证明灯盏花乙素在微球中其晶体结构未发生改变。见图 4。

2.5 微球体外释放度的测定 精密称取灯盏花乙素微球 23.0 mg 置入透析袋中, 加入 PBS 1 mL (pH 6.8, 含 0.02% 叠氮钠)。将透析袋放入 50 mL 离心管中, 加入 PBS (pH 6.8, 下同) 34 mL, 在恒温水浴振荡器中 ($37.0\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$, 转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 振荡, 在指定不同时间点取出 34 mL, 同时加入新鲜的 PBS 34 mL, 取续滤液于 334 nm 处测定 A, 计算累积释放率(Q), 绘制体外释放曲线。结果表明灯盏花乙素微球在体外释放试验中, $Q_{12\text{ h}}$ 仅 16.5%, $Q = 30\%$ 所需时间不低於 600 h; 而灯盏花乙素原料药在

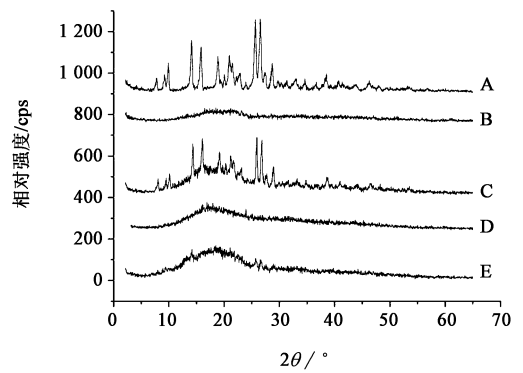


图 4 灯盏花乙素(A), PLGA(B), 50% 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物(C), 6% 灯盏花乙素与 PLGA 的物理混合物(D), 灯盏花乙素微球(E)的 XRD

Fig. 4 X-ray diffraction diagrams of scutellarin (A), PLGA (B), mixture of scutellarin (accounted for 50%) and PLGA (C), mixture of scutellarin (accounted for 6%) and PLGA (D), scutellarin sustained-release microspheres (E)

同一条件下, 12 h 释放基本完全, 说明该微球具备了缓释性能。见图 5。

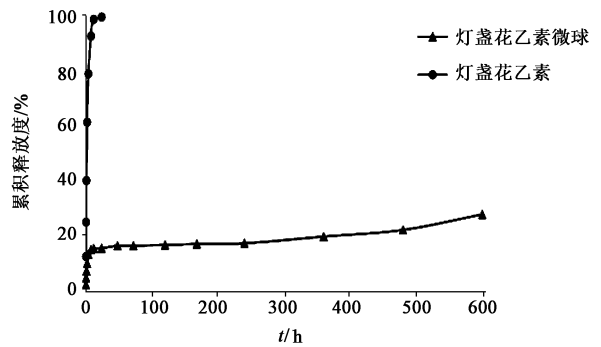


图 5 灯盏花乙素及灯盏花乙素微球的体外释放曲线
Fig. 5 *In vitro* release profiles of scutellarin and scutellarin sustained-release microspheres

采用零级和一级动力学模型, Higuchi 模型, Ritger-peppas 模型分别对灯盏花乙素微球进行体外释放曲线拟合, 结果分别为 $Q = 0.0286t + 11.066$ ($R^2 = 0.8588$), $\ln(1 - Q) = -0.0003t + 0.8882$ ($R^2 = 0.8588$), $Q = 0.8205t^{1/2} + 8.1985$ ($R^2 = 0.8858$), $\ln Q = 0.2351\ln t + 1.839$ ($R^2 = 0.8472$)。相关系数 r 越接近 1 表示拟合效果越好, 表明灯盏花乙素微球的体外释药性能较符合 Higuchi 释药模型。

3 讨论

由于药物理化性质不同, 在不同材料中的亲和力不同。前期针对灯盏花乙素水溶性和脂溶性均不好的情况, 笔者选取 6 种不同疏水性的高分子材料进行微球制备材料筛选, 结果表明外消旋聚乳酸 (PDLLA) 与 PLGA 制备的微球的载药量、包封率和

收率均较高,但考虑到 PDLLA 的降解时间一般为 3~6 个月,降解时间过长^[12],同时从载药量和包封率的结果显示,PLGA 也可以达到相近的效果,并且降解时间更快,故选用 PLGA,采用复乳法(S/O/W)制备灯盏花乙素微球,得到包封率相对较高的微球,具有一定的理论及应用意义。

文献研究表明有机溶剂的极性和沸点对微球的包封率及成球性具有明显的影响^[8,13]。选用低极性的有机溶剂时,有机溶剂从微球中萃取到外水相的速度较慢,PLGA 固化的速度较慢,药物容易从微球中扩散到外水相中,从而导致载药量减小。故本文选择沸点较低的二氯甲烷和具有一定水溶性的丙酮作为混合有机相,在预试验基础上对这 2 种有机溶剂的比例进行考察。结果表明各种有机溶剂比例对灯盏花乙素微球的质量影响有统计学意义,当丙酮含量过高时,载药量和包封率反而降低,可能是溶剂萃取到外水相速度过大而使得大量药物泄露所致。

本文研究结果表明 PVA 质量分数和 PLGA 用量对微球的制备均有显著性差异,可能是因为不同质量分数的 PVA 会对药物向第二相转移造成影响。PVA 的质量分数应该控制在一定范围内,因为高质量分数 PVA 有利于形成更稳定的乳剂,形成的微球结构更加致密,阻碍了药物向第二相的转移,减少药物的损失;但是当质量分数过高时,PVA 可能会在微球形成过程中,较早地吸附在微球表面,导致包封率降低,并且对抽滤造成了一定困难。故根据方差分析结果,选择 1% PVA。PLGA 用量对微球的载药量和包封率有一定的影响,随着用量的增加,PLGA 浓度增加,微球固化加快,一定程度降低了药物向外水相扩散趋势,减少了药物的损失,导致载药量、包封率较高;但用量过高时,虽然产生粘滞度更大的有机相,但搅拌时剪切力相对减小,外水相对其乳化作用相对减弱,故载药量和包封率仍会下降。而 PLGA 浓度适当、乳滴大小适中时,可得载药量和包封率较高的微球。

提高聚合物和药物的比例可有效阻止微球制备过程中药物向外相的渗漏,从而获得高包封率。故本实验在确定 PLGA 用量为 200 mg 后,对投药量进行了考察。研究发现投药量对制备工艺有极显著性影响,若药物过多,包封率反而下降,这可能是过多的药物不能完全被材料包封,从而造成药物的损失,使得包封率降低。值得注意的是,本实验通过冰冻切片的方法,观察到微球内部有明显药物微粒,同时 XRD 测定结果表明药物仍以晶体形式存在。文献

研究表明药物与载体材料形成氢键缔合后会改变药物在材料中的分散状态^[10,14]。本研究推测灯盏花乙素在有机溶剂和水中溶解度均较低,其与载体材料之间没有相应的结合点,使得其与材料相容性小,所以保留了其晶型特征。

[参考文献]

- [1] 张慧颖,李学明,陈国广,等.灯盏花素包合物冻干粉针的制备及安全性初步考察[J].中国药学杂志,2007,42(6):457-460.
- [2] 康宇红,石迪,段瑞刚,等.灯盏花素注射液和吡拉西坦注射液在大鼠体内药动学相互影响[J].中国医院药学杂志,2013,33(15):1247-1250.
- [3] 武莉,马倩倩,张轩萍,等.灯盏花素对大鼠 2 型糖尿病胰岛素抵抗的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(16):152-155.
- [4] Matsumoto K, Kitazawa T, Murata J, et al. A novel preparation method for PLGA micro-spheres using non-halogenated solvents[J]. J Control Release, 2008, 129(3): 223-227.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:通则 370.
- [6] Tomic I, Vidis-Millward A, Mueller-Zsigmondy M, et al. Setting accelerated dissolution test for PLGA microspheres containing peptide, investigation of critical parameters affecting drug release rate and mechanism[J]. Int J Pharm, 2016, 505(1/2):42-51.
- [7] ZHANG Y T, ZHANG Y Q, GUO S G, et al. Tyrosine kinase inhibitor loaded PCL microspheres prepared by S/O/W technique using ethanol as pre-treatment agent[J]. Int J Pharm, 2009, 369(1/2):19-23.
- [8] 周雪,贺智勇,陶玲,等.葛根素缓释微球的高分子材料考察及制备工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(9):14-18.
- [9] 王岩,王晶,张向荣,等.氟比洛芬肠溶微球的制备与影响因素考察[J].中国药剂学杂志,2012,10(3):50-55.
- [10] 陈德,刘意,杨帆,等.姜黄素微球中药物存在形式与释药行为的关系研究[J].药学学报,2016,51(1):140-146.
- [11] XIAO C D, SHEN X C, TAO L. Modified emulsion solvent evaporation method for fabricating core-shell microspheres[J]. Int J Pharm, 2013, 452(1/2):227-232.
- [12] 庞迪,叶京兵,李庆,等.PLLA 和 PLGA 体内早期降解的对比研究[J].生物医学工程杂志,2010,27(6):1298-1302.
- [13] 孙美丽,班俊峰,黄思玉,等.PLGA 微球载药量和包封率的影响因素及控制[J].广东药学院学报,2011,27(6):643-648.
- [14] XU H L, ZHONG H J, LIU M M, et al. Lappaconitine-loaded microspheres for parenteral sustained release effects of formulation variables and *in vitro* characterization[J]. Pharmazie, 2011, 66(9):645-661.

[责任编辑 刘德文]