

# 茶碱 $\beta$ -环糊精聚合物微球的制备与缓释性能

杨黎燕<sup>1\*</sup>, 杨威<sup>2</sup>, 尤静<sup>1</sup>, 张静姝<sup>1</sup>

(1. 西安医学院药学院, 西安 710021; 2. 陕西科技大学化学与化工学院,  
教育部轻工助剂化学与技术重点实验室, 西安 710021)

**[摘要]** 目的:以  $\beta$ -环糊精为原料,采用共沉淀法制备茶碱  $\beta$ -环糊精聚合物(CDP)微球。方法:通过  $L_9(3^4)$  正交试验设计对制备工艺进行了优化,并采用体外动态释药法评价其释药特征。分别用激光粒度分布仪、红外光谱仪、综合热分析仪、X 射线衍射仪对茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球进行表征。结果:最佳工艺条件是  $\beta$ -CDP 微球 1 g、茶碱 0.02 g、蒸馏水 30 mL、反应时间 3 h、温度 60  $^{\circ}\text{C}$ 。合成的载药微球形态良好,平均粒径为 162.35  $\mu\text{m}$ ,载药量为 1.79%,包封率为 89.50%。茶碱  $\beta$ -CDP 微球体外释药规律符合一级释放方程和 Korsmeyer-Peppas 模型方程。结论:茶碱载药微球具有一定缓释效果,其制备方法合理可行。

**[关键词]**  $\beta$ -环糊精聚合物微球;茶碱;回归分析法;体外释药

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0008-05

## Preparation and Sustained Release of Theophylline $\beta$ -Cyclodextrin Polymer Microspheres Inclusion Compound

YANG Li-yan<sup>1\*</sup>, YANG Wei<sup>2</sup>, YOU Jing<sup>1</sup>, ZHANG Jing-shu<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacy, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China; 2. Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry, Ministry of Education, Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

**[Abstract]** **Objective:** Theophylline  $\beta$ -cyclodextrin polymer( $\beta$ -CDP) microspheres inclusion compound was

**[收稿日期]** 20101117(006)

**[基金项目]** 陕西省教育厅科研计划项目(11JK0694);西安医学院校级科研基金项目(10FC021)

**[通讯作者]** \* 杨黎燕, 硕士, 从事医用高分子材料方面的研究, Tel:029-86177477, E-mail: yangliyan923@163.com



1. 吴茱萸碱; 2. 吴茱萸次碱; 3. 疏毛吴茱萸药材;  
4. 减压干燥; 5. 冷冻干燥; 6. 微波干燥

图 2 疏毛吴茱萸标准品、药材和提取物不同干燥方法所得浸膏的 TLC 特征图谱对比

种不同干燥方法水提物 TLC 图各成分含量有所减少,这与 HPLC 特征图谱的结果一致。

### 3 讨论

采用 3 种干燥方法所得浸膏中吴茱萸总碱的含量基本相同,进一步对 3 种干燥方法的浸膏之间 HPLC 特征图谱对比研究发现,3 种不同干燥的浸膏其特征图谱的峰数和峰面积无显著差异,由中药指纹图谱相似度计算软件计算得到 3 种干燥方法的浸膏相似度系数均在 0.95 以上,可认为干燥方式不同,基本不影响吴茱萸醇提物的质量。

### [参考文献]

- [1] 中国药典,一部[S].2005:118.
- [2] 于静华,刘春禹,吕小丹,等.吴茱萸药理研究进展[J].吉林中医药,2005,25(2):53.
- [3] 罗君,张丽艳,杨玉琴,等.贵州余庆栽培吴茱萸的质量对比研究[J].时珍国医国药,2008,19(12):3001.

[责任编辑 全燕]

prepared with  $\beta$ -cyclodextrin as material by coprecipitation method. **Method:** The preparation process was optimized through the  $L_9(3^4)$  orthogonal experimental design and theophylline release from theophylline  $\beta$ -cyclodextrin polymer microspheres was evaluated *in vitro*. Theophylline  $\beta$ -cyclodextrin polymer microspheres was characterized by laser particle analyzer, FT-IR spectroscopy, thermogravimetric analysis (TGA) and X-ray diffraction (XRD). **Result:** The optimal procedure was  $\beta$ -CDP microspheres 1 g, theophylline 0.02 g, water 30 mL, time 3 h, and inclusion temperature 60 °C. Average diameter of optimized products was 162.35  $\mu\text{m}$  and the drug loading and drug encapsulation efficiency were 1.79% and 89.50% respectively. The drug release profile could be described by first-order release equation and Korsmeyer-Peppas equation. **Conclusion:** The sustained release microspheres had determinate effects be observed and this preparation method was reasonable and feasible.

[**Key words**]  $\beta$ -cyclodextrin polymer microspheres; theophylline; regression analysis; drug release *in vitro*

茶碱(theophylline)是从茶叶中提取的甲基嘌呤类药物<sup>[1]</sup>,是一种平滑肌松弛药,具有利尿、强心、扩张冠状动脉、松弛支气管平滑肌和兴奋中枢神经系统等作用,主要作为支气管扩张药而应用于临床<sup>[2]</sup>。但茶碱治疗时频繁给药使体内血药浓度呈现明显的峰谷现象,容易致使一系列不良反应的发生,因此临床上常使用缓释给药<sup>[3]</sup>。

$\beta$ -环糊精聚合物( $\beta$ -CDP)微球是近年来发展的一种无毒、生物相容性好的新型载体<sup>[4-5]</sup>,既保留了 $\beta$ -CD自身的分子结构特点,又具有空间三维网络结构<sup>[6]</sup>。在性能上不仅保持了 $\beta$ -CD包结、缓控释、催化和识别的能力,还具有高聚物良好的机械强度、较好的稳定性和化学可调性等,是近代生物制药及剂型研究的重要功能材料之一<sup>[7-8]</sup>,作为药物载体,可用效地应用于药物控制释放<sup>[9]</sup>。

本实验采用共沉淀法<sup>[10]</sup>制得茶碱 $\beta$ -CDP载药微球,同时进行相关的体外释放研究,为研制一种缓释性能优良、临床应用安全的茶碱缓释剂提供理论基础。

## 1 材料

KYKY1000B型扫描电子显微镜(中科院仪器厂),BT-9300Z型激光粒度分布仪(丹东百特科技有限公司),VECTOR-22型傅立叶红外光谱仪(德国BRUKER公司),TGA Q500型热重分析仪(美国TA公司),D/max-2200pcX型射线衍射仪(日本理学公司)。

$\beta$ -CDP微球(自制),茶碱(上海晶纯试剂有限公司,药典BP级,批号8439),无水乙醇等均为分析纯试剂,水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 茶碱 $\beta$ -CDP微球的制备

**2.1.1 空白 $\beta$ -CDP聚合物微球的制备<sup>[11]</sup>** 向带有机械搅拌的三口瓶中加入质量浓度为40%的氢氧化钠溶液10 mL和 $\beta$ -CD 6 g,使其完全溶解。在30 °C、恒速搅拌(800  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )条件下,缓慢滴加ECH 7.34 g,交联1.5 h。再加入含有乳化剂(Span80-Tween20 3:1)的煤油0.8 g,10 min后降低搅拌速度至700  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,升温至反应温度,合成微球。依次用稀盐酸、乙醇、蒸馏水、丙酮充分洗涤,除去各种杂质,真空干燥箱于60 °C下干燥至恒重。

**2.1.2 共沉淀法载药** 定量称取茶碱溶解于盛有一定量积水的烧杯中,然后加入空白 $\beta$ -CDP微球1 g,70 °C下磁力搅拌(200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )3 h,反应结束后静置冷却至室温,并在冰箱中冷藏24 h,过滤,充分洗涤,60 °C真空干燥至恒重。

**2.2 茶碱 $\beta$ -CDP微球的扫描电镜** 取一定量的茶碱 $\beta$ -CDP载药微球真空干燥后喷金制样,在扫描电子显微镜下观测微球形貌及表面形态。扫描电镜图片分析表明,载药微球表面比较光滑圆整,但也出现“空洞”状。见图1。

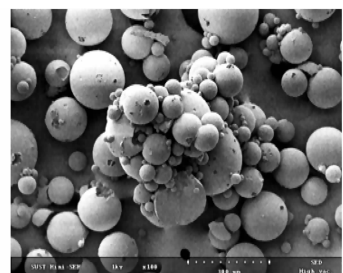


图1 茶碱 $\beta$ -CDP微球的电镜扫描

**2.3 茶碱 $\beta$ -CDP微球的粒径分布** 于激光粒度分布仪样品槽中加入一定量的 $\beta$ -CDP载药微球直至遮光率为15%左右,经激光粒度分布仪测得载药微球的中位径( $D_{50}$ )为146.25  $\mu\text{m}$ , $D_{97}$ 为365.94  $\mu\text{m}$ ,平

均粒径为 162.35 μm, 粒径呈现正态分布, 跨距为 1.56, 粒径分布如图 2 所示。

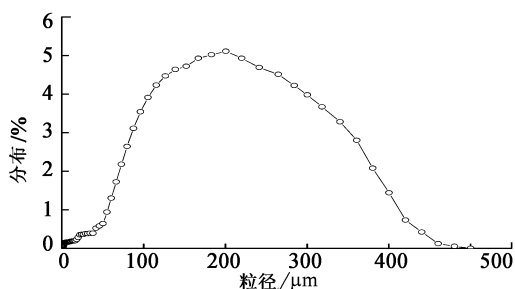


图 2 茶碱 β-CDP 微球的粒径分布

**2.4 茶碱标准曲线的绘制** 精密称取 0.161 2 g 茶碱加入到 250 mL 的量瓶中定容, 分别取标准溶液 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 mL 于 100 mL 量瓶中, 用蒸馏水定容至 100 mL, 摇匀, 用 UV75-18PC 型紫外-可见分光光度计于最大吸收波长 271 nm 处测吸光度, 绘出标准曲线。茶碱的标准曲线回归方程为  $Y = 15.754X (R^2 = 0.9980)$ , 线性范围 6.5 ~ 32 μg。

**2.5 评价指标** 取载药微球 0.5 g, α-淀粉酶 0.01 g, 加入蒸馏水 100 mL, 在 60 °C 下充分降解, 然后取滤液稀释到一定浓度范围, 用紫外-可见分光光度计检测其浓度。计算茶碱载药量 ( $Y_1$ ) 和包封率 ( $Y_2$ )。

$$Y_1 = \frac{\text{微球中的含药量}}{\text{微球质量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$Y_2 = \frac{\text{微球中的含药量}}{\text{体系中投入药物质量}} \times 100\% \quad (2)$$

**2.6 因素水平确定** 根据单因素考察结果, 选定茶碱和 β-CDP 微球的投料比 (A)、药的质量浓度 (B)、载药时间 (C)、(D) 为影响因素, 每因素 3 水平, 见表 1。

表 1 茶碱 β-CDP 微球制备工艺因素水平

水平	A 投料比 /g·g <sup>-1</sup>	B 质量浓度 /g·mL <sup>-1</sup>	C 载药时间 /h	D 载药温度/ °C
1	0.01	1:20	3	60
2	0.02	1:30	4	70
3	0.03	1:40	5	80

**2.7 正交试验结果** 以载药量 ( $Y_1$ ) 和包封率 ( $Y_2$ ) 为指标, 综合考虑各项指标的优劣及重要程度排序, 最高的记为 10 分, 最低记为 1 分, 其他按照比例关系计算出得分, 然后相加载药量得分和包封率得分, 得出每号试验结果的经验得分  $Y_3$ 。然后把它作为因变量, 将各指标经验得分分别作为自变量  $Y_1, Y_2$ , 求出回归线性方程式:  $Y = 12.021Y_1 + 0.204Y_2 - 9.578$ 。再把各号试验的指标实测值代入线性回归

方程式计算即得该号试验结果的线性回归综合得分, 并对其进行直观分析, 结果见表 2。线性回归法结果的方差分析见表 3。

表 2 茶碱 β-CDP 微球制备工艺正交试验

No.	A	B	C	D	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$	Y
1	1	1	1	1	0.63	62.75	6.9	6.95
2	1	2	2	2	0.61	61.01	6.5	6.47
3	1	3	3	3	0.44	43.88	2.0	2.02
4	2	1	2	3	1.09	54.50	8.1	8.15
5	2	2	3	1	1.55	77.33	15.3	15.33
6	2	3	1	2	1.77	87.88	18.8	18.81
7	3	1	3	2	1.38	45.98	8.1	8.10
8	3	2	1	3	1.94	64.58	15.2	15.26
9	3	3	2	1	1.68	56.16	12.0	11.98
$K_1$	5.15	7.73	13.67	11.42				
$K_2$	14.09	12.35	8.87	11.13				
$K_3$	11.78	10.94	8.48	8.48				
R	8.95	4.62	5.19	2.94				

注:  $m(\beta\text{-CDP}) = 1 \text{ g}$ 。

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F
A	129.47	2	64.735	8.209
B	33.613	2	16.807	2.131
C	50.187	2	25.094	3.182
D(误差)	15.77	2	7.885	1.000

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.000$ 。

以极差最小的 D 因素为误差项的方差分析可以看出 β-CDP 微球与茶碱投料比、载药时间、β-CDP 微球与水之比综合评分总结果均无显著影响。因素主要为 β-CDP 微球和茶碱投料比、载药时间、β-CDP 微球与水之比、载药温度, 经验证最佳工艺下制得茶碱 β-CDP 载药微球的载药量为 1.79%, 包封率为 89.50%, 综合评分 Y 的平均值为 19.43, 在理论预测值范围内, 因此确定最优工艺方案为  $A_2B_2C_1D_1$ , 即 β-CDP 微球 1 g、茶碱 0.02 g、蒸馏水 30 mL、反应时间 3 h、温度 60 °C。

**2.8 载药微球的 IR** 图 3 中 a 线是茶碱的红外谱线, b 线是 β-CD 的红外谱线, c 线是 β-CDP 微球的红外谱线, d 线是 β-CDP 微球包载茶碱之后的红外谱线。在 3 400 ~ 3 300  $\text{cm}^{-1}$  处 b, c, d 都出现强的 -OH 伸缩振动吸收峰, 但 β-CDP 微球中 -OH 峰较

$\beta$ -CD 明显减弱。在  $1\ 300 \sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  处是醚键的特征峰,聚合后的峰较宽较强,进一步证明了  $\beta$ -CD 与交联剂有明显的交联。图中 c, d 两线可以看出茶碱被  $\beta$ -CDP 微球包载后,在  $3\ 100\ \text{cm}^{-1}$  (a 线所示) 处酰胺基特征峰消失,可能是因为茶碱被包埋到聚合物微球的空腔内;其他特征峰的位置没有发生太大的变化,可能是 2 种单体发生了结合,但并没有产生新的基团。

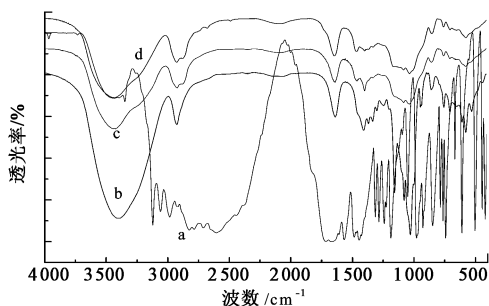
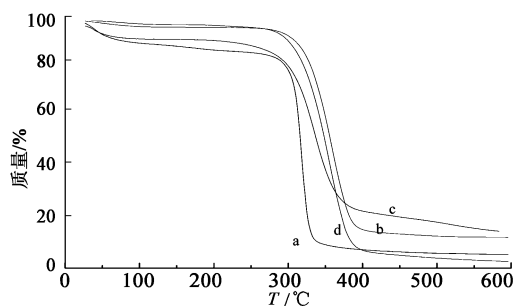


图 3 茶碱、 $\beta$ -CD、 $\beta$ -CDP 微球及茶碱  $\beta$ -CDP 微球的红外图谱

**2.9 TG 分析** 图 4 中 a, b, c, d 分别为  $\beta$ -CD、 $\beta$ -CDP 微球、 $\beta$ -CDP 载药微球、茶碱  $\beta$ -CDP 微球物理混合的 TG 曲线。由图中 a, b 两线可知,  $\beta$ -CD 和  $\beta$ -CDP 微球的热分解过程均为 2 个阶段。第一阶段为  $30 \sim 100\ ^\circ\text{C}$ ,  $\beta$ -CD 和  $\beta$ -CDP 微球失重率分别约为 9% 和 2%, 此阶段失重的主要原因是失水。第二阶段为  $100 \sim 400\ ^\circ\text{C}$ ,  $\beta$ -CD 和  $\beta$ -CDP 微球失重率分别为 80.3% 和 84.5%, 此阶段  $\beta$ -CDP 微球失重率与  $\beta$ -CD 相比呈增大趋势且较为平缓, 此阶段的失重主要是由于交联键的断裂以及  $\beta$ -CD 葡萄糖单元的分解, 在此之后基本不再随温度的升高而变化。图中 b, c 线可知, 载茶碱后第一阶段和第二阶段失重率分别为 8.1% 和 73.2%, 载药微球  $251.7\ ^\circ\text{C}$  才开始分解, 且整个图中不存在茶碱的熔融峰, 这些表明药物以无定形的状态分散在聚合物载体中, 茶碱与  $\beta$ -CDP 微球之间存在着较强的相互作用, 并具有良好的热稳定性。图中 c, d 线可知, 茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球及茶碱  $\beta$ -CDP 微球物理混合的 TG 曲线明显不同, 说明茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球不是茶碱跟  $\beta$ -CDP 微球的简单的物理混合。

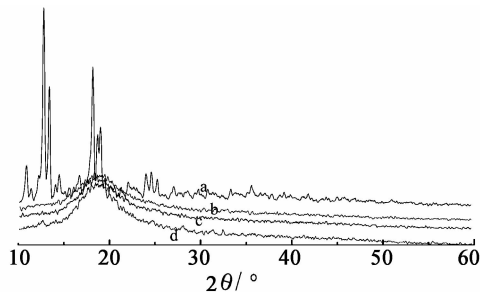
**2.10 XRD 分析** 图 5 中 a, b, c, d 分别为  $\beta$ -CD、 $\beta$ -CDP 微球、 $\beta$ -CDP 载药微球、茶碱  $\beta$ -CDP 微球物理混合的 XRD 图谱。 $\beta$ -CD 在  $2\theta$  为  $11^\circ, 13^\circ, 18^\circ, 22^\circ, 25^\circ$  附近存在明显的特征衍射峰, 而  $\beta$ -CDP 只在  $18^\circ$  附近有衍射峰且强度明显降低。b, c 两线可以看



a.  $\beta$ -CD; b.  $\beta$ -CDP 微球; c. 茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球; d. 茶碱  $\beta$ -CDP 微球物理混合

图 4 微球 TG 曲线

出, 在包载茶碱后, 衍射峰与  $\beta$ -CDP 微球相比几乎没变化, 是因为茶碱进入到  $\beta$ -CDP 微球中  $\beta$ -CD 分子的内部, 对晶型和结晶度不会造成影响, 进一步证明茶碱分子可以进入  $\beta$ -CD 分子的疏水空腔中, 且与孔径大小较为匹配。图中 c, d 线可知, d 在  $12.5^\circ, 24.8^\circ, 28^\circ, 32.5^\circ$  处与 c 明显不同, 说明茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球不是茶碱跟  $\beta$ -CDP 微球的简单的物理混合。



a.  $\beta$ -CD; b.  $\beta$ -CDP 微球; c. 茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球; d. 茶碱  $\beta$ -CDP 微球物理混合

图 5 微球 X 射线衍射

**2.11 体外释药特征** 采用动态透析法考察茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球的体外释药。精密称取 3 批载药微球各适量, 加入到已经处理好的透析袋中用, 再加 5 mL 磷酸盐缓冲液 (pbs), 夹紧两端, 置于装有 200 mL pbs 的烧杯中, 在  $37\ ^\circ\text{C}$  下磁力搅拌, 分别在第 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 42, 66 h 取样 5 mL 稀释一定的倍率用紫外-可见分光光度计检测浓度, 并在烧杯中补加 5 mL pbs。测定 3 批样品的释药特征, 绘制累积释药曲线, 药物体外释药曲线见图 6, 茶碱呈持续缓慢释放的趋势。将图 6 中累积释放曲线分别用零级、一级、Higuchi<sup>[12]</sup> 和 Korsmeyer-Peppas 模型方程拟合得回归方程, 结果见表 4。

由表 4 可知累积释放曲线与一级释放方程和

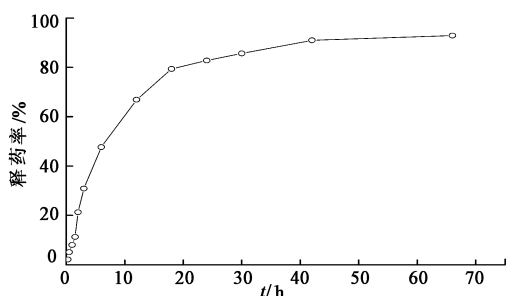


图 6 茶碱  $\beta$ -CDP 载药微球的释药曲线

Korsmeyer-Peppas 模型方程拟合较好,  $n$  值为 0.886 9 ( $0.45 < n < 0.89$ ), 表明茶碱从  $\beta$ -CDP 微球网状结构中的释放以单纯扩散为主, 骨架溶蚀为辅<sup>[13]</sup>。

表 4 茶碱  $\beta$ -CDP 微球的体外累积释药曲线拟合结果

模型	回归方程	$R^2$
零级	$\frac{M_t}{M_\infty} = 0.061 2t + 0.261 1$	0.694 6
一级	$\ln(1 - \frac{M_t}{M_\infty}) = -0.089 9t - 0.067 1$	0.991 1
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = -0.15t^{1/2} + 0.036 1$	0.894 1
Korsmeyer-Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = 0.970 4 - 0.973 5t^{0.886 9}$	0.996 2

### 3 结论

IR, TGA, XRD 分析表明茶碱进入到  $\beta$ -CDP 微球中的内部, 且以无定形的状态分散在聚合物载体中, 并具有良好的热稳定性。累积释放曲线与一级释放方程和 Korsmeyer-Peppas 模型方程较好拟合, 载药微球具有一定的缓释作用, 茶碱从  $\beta$ -CDP 微球网状结构中的释放以单纯扩散为主, 骨架溶蚀为辅。

### [参考文献]

[1] 马福家. 茶碱缓释片的制备及其初步稳定性考察[J]. 药学服务与研究, 2009, 9(2): 111.  
[2] 中国药典. 一部[S]. 2005: 附录 DX.

[3] 楼永海, 胡大平, 孙渊, 等. 口服单剂量茶碱缓释片的人体生物等效性评价[J]. 中国药业, 2004, 13(6): 30.  
[4] Yotaro A, Shigeru K, Fumiyoshi Y, et al. Effect of low-molecular-weight  $\beta$ -cyclodextrin polymer on release of drugs from mucoadhesive buccal film dosage forms[J]. Bio Pharm Bull, 2005, 28(9): 1679.  
[5] 菅凌燕, 杨跃辉, 徐英宏, 等. 2-羟丙基- $\beta$ -环糊精对丹皮酚的作用[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(15): 1154.  
[6] Xiao L W, Yong X S, Zeng L B, et al. Imaging of activity of horseradish peroxidase at  $\beta$ -cyclodextrin polymer by scanning electrochemical microscopy[J]. Chinese Chem Letters, 2004, 15(2): 214.  
[7] Ruebner A. Synthesis of a linear polymer with pendent gamma-cyclodextrins[J]. Macromol Chem Phys, 2000, 201: 1185.  
[8] 吴文娟, 郑敦胜, 蔡诗填, 等.  $\beta$ -环糊精聚合物微球的合成及药物控释行为的研究[J]. 中药材, 2007, 30(3): 329  
[9] Liu Y Y. Release of chlorambucil from poly (N-isopropylacrylamide) hydrogels with beta-cyclodextrin moieties. Macromolecular Bioscience, 2004, 4: 729.  
[10] 伍三兰, 黄建耿, 李高. 氟尿嘧啶白蛋白磁亚微球的制备及释药特性[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(7): 522.  
[11] 李仲谨, 杨威, 王培霖, 等.  $\beta$ -环糊精聚合物微球的合成与表征[J]. 精细化工, 2010, 27(7): 692.  
[12] John W S, Martin V M, Cynthia N, et al. Qualitative evaluation of the mechanism of release of matrix sustained release dosage forms by measurement of polymer release [J]. J Controlled Release, 1993, (27): 227.  
[13] 曹新志, 金征宇. 环糊精包合物的制备方法[J]. 食品工业科技, 2003, 24(10): 157.

[责任编辑 全燕]