

· 工艺与制剂 ·

玻璃-硅胶缓释管动物体内释药性研究

汤莉¹, 刘琴¹, 丁宁¹, 杨超¹, 王爱国^{2*}

(1. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622; 2. 大连医科大学实验动物中心, 辽宁 大连 116044)

[摘要] 目的:探索一种简易、有效、稳定的小鼠体内药物缓释新方法。方法:用孕酮作为缓释试验药物,对新研制的玻璃-硅胶缓释管在体外和体内的缓释性能进行检测。结果:玻璃-硅胶缓释管在体外具有匀速稳定缓释药物的性能,在体内可在长时间内有效维持药物在体内的稳定释放。结论:玻璃-硅胶缓释管为释放速率较快的药物在体内长期和稳定的缓释提供了简易有效的解决方法。

[关键词] 药物缓释;玻璃-硅胶缓释管;孕酮

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0001-03

Sustained Drug Release of Glass-Silicone Drug Delivery Device in Mice

TANG Li¹, LIU Qin¹, DING Ning¹, YANG Chao¹, WANG Ai-guo^{2*}

(1. College of Medical, Dalian University, Dalian 116622, China;

2. Laboratory Animal Center, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a simple, effective and stable new method for sustained drug release in mice. **Method:** A novel drug delivery device (glass-silicone drug delivery device, GSDD) was constructed and drug delivery characteristics of the GSDD was investigated *in vivo* and *in vitro* by using progesterone. **Result:** *In vitro* experiments showed that GSDD has uniform and stable performance of sustained-release drug. *In vivo* experiments indicated that GSDD could be effective in a long time to maintain stability of release of drug in mice. **Conclusion:** GSDD provided a simple and effective method for release quickly drug to release long-time and stable in mice.

[Key words] drug delivery; glass-silicone drug delivery device; progesterone

缓释给药具有方法简便、操作次数少、体内药物稳定等优点,是目前体内药效研究的重要方法之一^[1-4]。现有商业缓释制剂具有价格昂贵、种类少、特殊定制常需进口等诸多不便,不能满足大量新药的研发需求。自制的硅胶缓释胶囊释放速率快,药物储存能力差,不能进行长期稳定的缓释。我们探索了一种可长期有效进行体内药物缓释的玻璃-硅

胶缓释管,为药物缓释实验提供了一种简易有效的方法。

1 材料

昆明种小鼠,雄性,6~8周龄,体重(30±2)g。购于大连医科大学 SPF 级实验动物中心,动物合格证号 00000772。

Type A 硅胶黏合剂(道康宁公司),孕酮,氯化钠(沈阳试剂厂),维生素 E(武汉百思图精细化工有限公司),玻璃管(内径 2.0 mm,外径 3.2 mm,合肥奇晶电子有限公司),硅胶条(直径 2.4 mm,厚 2.0 mm)、硅胶管(内径 1.5 mm,外径 2.4 mm,济南晨生硅橡胶有限公司),15 mL 的 polypropylene 离心管(浙江拱东医用塑料厂),TU-1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用公司),Cobas e411 型全自动

[收稿日期] 20110326(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30872950-C171002);辽宁省教育厅基金(2008031)

[第一作者] 汤莉,博士,副教授, Tel: 0411-87403540, E-mail: tangli@dlu.edu.cn

[通讯作者] *王爱国,博士,教授,从事细胞分子生物学研究, E-mail: wangaiquol@hotmail.com

电化学发光免疫分析仪 (ROCHE 公司), 性激素电
化学发光检测试剂盒 (ROCHE 公司)。

2 方法与结果

2.1 孕酮体内注射试验 选取小鼠 24 只, 随机分
成 6 组, 分别为皮下注射维生素 E 溶液组 (对照组)
和皮下注射维生素 E 溶液 + 孕酮组 (分别于注射后
2, 4 h, 1, 3, 6 d 通过眼部取血, 离心得到血清样品, 4
℃ 保存)。孕酮注射剂量为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。观察注射
给药后体内孕酮水平的变化规律 (图 1)。结果发现
注射孕酮药物后, 小鼠体内血清中孕酮水平在短时间
内快速达到峰值, 之后逐渐下降, 1 d 后下降到峰值的
50% 以下, 到第 6 天恢复正常水平。说明一次性注射
给药不能有效维持孕酮在体内的稳定水平。

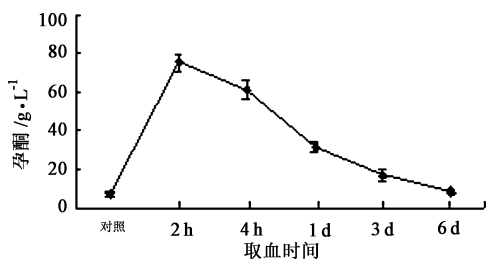
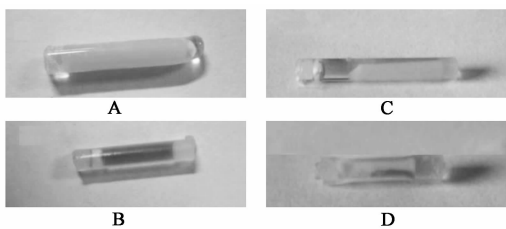


图 1 孕酮一次性注射给药在小鼠血清中质量浓度的变化

2.2 玻璃-硅胶缓释管的制作 将长 11 mm 的玻璃
管一端用火灼烧封闭, 向管内填充维生素 E 溶解的
过饱和孕酮溶液后, 另一端用硅胶条封堵, 封堵口表
面涂抹 Type A 硅胶黏合剂, 室温下放置 24 h, 晾干,
备用 (图 2 A)。



A. 玻璃-硅胶缓释管 (体外释放 20 d); B. 硅胶缓释管 (体外释
放 20 d); C. 玻璃-硅胶缓释管 (体外释放 20 d); D. 硅胶缓释管
(体内释放 20 d)

图 2 缓释管的构造及体内外缓释试验后的状态

2.3 硅胶缓释管的制作 取 11 mm 的硅胶管, 一端
先用 Type A 硅胶黏合剂封堵, 向管内填充维生素 E
溶解的过饱和孕酮溶液后, 用 Type A 硅胶黏合剂封
堵另一端, 室温下放置 24 h, 晾干, 备用 (图 2 B)。

2.4 体外释放试验 将制备好的缓释管用 75% 的
酒精浸泡 15 min, 再用 0.9% NaCl 无菌生理盐水反
复冲洗后, 放入装有 10 mL 0.9% NaCl 无菌生理盐

水溶液的密闭离心管中, 在 $(37 \pm 0.5) \text{ } ^\circ\text{C}$ 的恒温培
养摇床上, 以 $(75 \pm 5) \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的频率摇动进行缓
释。每 24 h 取样并更换新鲜生理盐水, 连续释放 30
d。所取样品置于 $4 \text{ } ^\circ\text{C}$ 保存待测。

2.5 体内释放试验 选取健康小鼠 20 只, 随机分
成 5 组, 分别包埋空缓释管 (对照组), 1 个玻璃-硅
胶缓释管, 2 个玻璃-硅胶缓释管, 3 个玻璃-硅胶缓释
管, 1 个硅胶缓释管。缓释管植入体内前, 先放在 10
mL 0.9% NaCl 生理盐水中释放, 每 24 h 取样并更
换新鲜介质, 连续释放 5 d, 并测定每天的释放量, 挑
选释放稳定的缓释管用于体内包埋。用 0.125% 的阿
弗丁以 $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 的量对小鼠进行腹腔注射麻醉。
在小鼠背部一侧皮下做一小切口, 将缓释管植入皮
下并缝合。20 d 后通过眼部取血, 离心得到血清样
品, $4 \text{ } ^\circ\text{C}$ 保存。同时从小鼠背部取出缓释管, 观察包
埋部位病理状况和缓释管释放情况。结果表明, 2
种缓释管都能有效地调控体内的孕酮水平 (表 1)。
在小鼠的皮下, 玻璃-硅胶缓释管和硅胶缓释管的表
面包裹了一层纤维结缔组织薄膜, 没有发现炎症反
应。缓释管状态表明, 玻璃-硅胶缓释管内硅胶条封
堵端的维生素溶液已由混浊状态转为透明状态 (图
2 C)。而硅胶缓释管大部分的维生素 E 液体已成透
明状态, 仅有少部分成混浊状态 (图 2 D)。这表明
孕酮已在体内进行了有效释放, 并且硅胶缓释管的
释放量比玻璃-硅胶缓释管的释放量大。

表 1 体内包埋孕酮缓释管对小鼠血清
孕酮质量浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

分组	孕酮 / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
对照	4.97 ± 1.82
1 个玻璃-硅胶缓释管	$11.19 \pm 0.97^{(1)}$
2 个玻璃-硅胶缓释管	$21.43 \pm 1.14^{(1)}$
3 个玻璃-硅胶缓释管	$32.09 \pm 1.65^{(1)}$
1 个硅胶缓释管	$54.36 \pm 2.86^{(1)}$

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.6 激素浓度的测定 体外实验中样品激素水平
的测定: 以 0.9% NaCl 生理盐水作为空白对照, 用紫
外分光光度计测定样品孕酮 (254 nm) 的吸收度
(A), 每个样品测定 3 次取平均值, 计算样品中激素
浓度。体内试验中血清样品激素水平的测定用电化
学发光专用试剂盒 Cobas e411 型全自动电化学发光
免疫分析系统进行孕酮和雌二醇浓度的检测分析。

2.7 统计学分析 用 SPSS 13.0 软件的 t 检验对实

验数据进行处理, $P < 0.05$ 为有显著性差异。用直线相关回归分析累积释放时间与累积释放量的关系。

2.8 玻璃-硅胶缓释管性能考察 Cohen 等研究表明填充非饱和药物溶液的硅胶缓释管仅能维持短期的稳定释放^[5]。为检测维生素 E 溶解的非饱和孕酮溶液能否进行长期稳定的缓释,我们用维生素 E 溶解的饱和及非饱和孕酮溶液填充硅胶缓释管,进行体外缓释实验。图 3 表明,随着释放时间的延长,非饱和孕酮溶液填充的硅胶缓释管释放量逐渐降低,不能长期有效地维持药物恒定的缓释速率。而饱和孕酮溶液填充的硅胶缓释管能够保持恒定的缓释速率,因此本试验均采用维生素 E 溶解的过饱和孕酮溶液作为缓释管的填充药物。

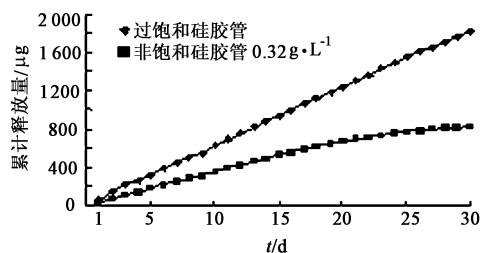


图 3 维生素 E 溶解的过饱和及非饱和孕酮溶液填充的硅胶缓释管的体外累积释放量

为了检测玻璃-硅胶缓释管对脂溶性药物缓释的稳定性,以硅胶缓释管为对照,我们对填充维生素 E 溶解的过饱和孕酮溶液的玻璃-硅胶缓释管进行了体外释放试验。结果表明,玻璃-硅胶缓释管与硅胶缓释管一样,能对脂溶性药物进行稳定和匀速的缓慢释放,累计释放量(μg)与累计释放时间 t 呈良好的线性关系(图 4)。但玻璃-硅胶缓释管的缓释速率远小于硅胶缓释管,是硅胶缓释管缓释速率的 1/10 左右。

3 讨论

药物的体内缓释试验是药效研究的重要方法。

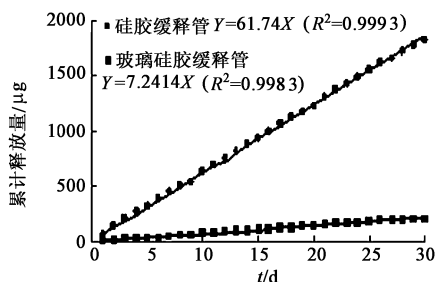


图 4 玻璃缓释管和硅胶缓释管体外累积释放量

能否在体内对药物进行稳定和长期的缓释是体内药效研究的关键。溶解脂溶性药物溶液的硅胶缓释管已有报道及应用^[1,5]。采用没有释放功能的惰性塑料薄膜包裹硅胶管来降低硅胶管的缓释速率和增加其药物储存性能,取得了一定的效果,但制作繁琐^[6]。

玻璃-硅胶缓释管具有以下几个特点① 由于玻璃管本身为惰性材料,不会对机体产生刺激作用,可用于体内埋植;② 维生素 E 作为药物的溶剂,可保证药物浓度并有效的到达硅胶条进行释放;③ 玻璃管口的硅胶条面积小,可有效的控制药物的释放速率;④ 可通过调节玻璃-硅胶缓释管的埋植数量,对药物的释放量进行有效调节;⑤ 制作简便。在制作过程中应注意:① 由于维生素 E 溶解的过饱和和药物溶液非常黏稠,需用注射器进行缓慢抽取和灌注,易于控制;② 灌注后,要进行 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 1 min 左右的离心,以排除溶液中可能存在的气泡;③ 用硅胶条封堵时要避免封口处出现气泡,如出现,可用细针沿管壁插入,同时推压硅胶条促使气泡排出;④ 体内包埋多个玻璃-硅胶缓释管时,各管之间要充分隔离,以免影响缓释效果。

【参考文献】

- [1] Strom J O, Theodorsson E, Theodorsson A. Order of magnitude differences between methods for maintaining physiological 17 boestradiol concentrations in ovariectomized rats [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2008, 68(8): 814.
- [2] 杨丹,邢青峰,王玲. 丙酸睾酮缓释硅胶囊植入去势大鼠体内后的雄激素水平及药效学研究 [J]. 中国男科学杂志, 2002, 16(2): 98.
- [3] 郑立卿,刘建华,韩伟轩,等. 蛇床子素缓释微囊的制备及体外释药 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 8.
- [4] 周方勇,马静,骆科回. 钩藤碱缓释滴丸的研制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 47.
- [5] Cohen P E, Milligan S R. Silastic implants for delivering physiological concentrations of progesterone to mice [J]. Reprod Fertil Delelop, 1994, 6(2): 235.
- [6] Zenteno J, Silva C, Cardenas H, et al. Effect of oestradiol delivered from a perioviducal device on ovum transport in mice [J]. J Reprod Fertil, 1989, 86(6): 545.

[责任编辑 全燕]