

# 丹皮酚聚乳酸羟基乙酸微球的制备及体外释药考察<sup>Δ</sup>

张海龙\*(齐鲁师范学院生物系, 济南 250200)

中图分类号 R9449;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1765-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.13

**摘要** 目的:制备丹皮酚聚乳酸羟基乙酸(PLGA)微球,考察其体外释药过程。方法:以丹皮酚为芯材,以PLGA为载体,采用乳化溶剂挥发法制备丹皮酚PLGA微球;以聚乙烯醇质量分数、PLGA质量浓度、药物与PLGA质量比及水油相体积比为考察因素,以包封率和载药量的综合评分为评价指标,采用正交试验优选制备工艺;扫描电镜和光学显微镜观察微球的外观和粒径,并测定其体外释药过程。结果:优选的工艺为聚乙烯醇质量分数0.9%、PLGA质量浓度60 g/L、药物与PLGA质量比1:3、水油相体积比1:10。制得的微球球型规则,表面平滑,平均粒径为 $(31.75 \pm 0.13) \mu\text{m}$ 。微球的载药量为 $(21.16 \pm 0.51)\%$ ,包封率为 $(66.91 \pm 1.62)\%$ ,8 h体外累积释药量为37%。结论:所选工艺可用于制备丹皮酚PLGA微球,可为缓释药物传递系统的开发提供参考。

**关键词** 丹皮酚;聚乳酸羟基乙酸;微球;制备;体外释药

## Preparation and *in vitro* Release Behavior of Paeonol PLGA Microspheres

ZHANG Hai-long(Dept. of Biology, Qilu Normal University, Jinan 250200, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Paeonol PLGA microspheres, and to investigate the process of drug release. METHODS: PLGA microspheres loaded with paeonol were prepared by emulsion/solvent evaporation method using paeonol as core materials and PLGA as wall materials. The preparation technology was optimized by orthogonal test with mass fraction of PVA, mass concentration of PLGA, ratio of drug to PLGA, volume ratio of water to oil as factors using encapsulation rate and drug-loading amount as index. The surface morphology and structure and drug release behavior were all observed. RESULTS: The optimized technology was as follows: mass fraction of PVA was 0.9%, mass concentration of PLGA was 60 g/L, ratio of drug to PLGA was 1:3, volume ratio of water to oil was 1:10. Prepared microspheres was regular spherical in shape, smooth in appearance. Average particle size was  $(31.75 \pm 0.13) \mu\text{m}$ , drug-loading amount was  $(21.16 \pm 0.51)\%$ , encapsulation rate was  $(66.91 \pm 1.62)\%$ , and accumulative release amount was 37% in 8 h. CONCLUSIONS: The technology be used for the preparation of Paeonol PLGA microspheres and can provide reference for the development of sustained-release drug delivery system.

**KEY WORDS** Paeonol; PLGA; Microspheres; Preparation; Drug release *in vitro*

生物可降解材料聚乳酸羟基乙酸(Copolymers of poly(lactic and polyglycolic acids, PLGA)具有良好的生物相容性和安全性,可以通过改变自身共聚物中乳酸与羟基乙酸的比例改变其理化性质,从而更好的控制其降解速率<sup>[1]</sup>,使其降解时间满足所包埋药物的要求,故其是目前研究和应用最广泛的药

物载体材料之一。丹皮酚(Paeonol, Pae)是常用中药牡丹皮、徐长卿、芍药等的主要有效成分,具有抑菌、抗炎、抗肿瘤、解热、镇痛、抗脂质过氧化、免疫调节等多重药理作用,在肠道各部位均有吸收<sup>[2]</sup>,临床上主要用于治疗风湿痛、胃痛、湿疹、过敏性皮炎等,具有较好的疗效<sup>[3]</sup>。但Pae难溶于水,易挥发,

颗粒适量含水,有利于压制成有足够硬度的片剂。颗粒中的水分在冲模对颗粒进行压缩时被挤压到颗粒的表面形成薄膜,可起润滑、改善压力的传递作用,从而增加片剂的硬度。完全干燥的颗粒弹性大、塑性小,难以压成片。适量水分的存在能够增加脆碎粒子的塑性变形,减少弹性,增强片剂硬度。但如果颗粒的含水量太高,在压片过程既容易黏冲,也影响颗粒的流动性,从而影响片剂质量的控制。每一种片剂其中间体颗粒的含水量必须控制在适宜范围。

其次是压片力的影响,理论上压力愈大,粒子间距离愈近,结合力愈强。中药原粉的弹性较大,压力超过弹性限度后产生塑性变形,使粒子间接触面积增大,结合力增大。所以在一般情况下,结合力愈大,片剂的硬度愈大。

除上述六项影响因素外,片剂质量还受制剂设备、环境温

度、环境湿度等方面的影响,生产中必须重视各项因素的影响,严密控制产品质量。本试验系采用实验用压片机,是在试验条件范围内得到的结果,在放大生产过程中还有待进一步验证。本试验结果表明,对压片工艺的影响因素进行量化控制,可以得到质量合格的中药片剂。

笔者用本试验最佳压片工艺制得的素片进行了初步薄膜包衣试验,所得薄膜衣片片光亮、完整、色泽一致,崩解时限、重量差异等指标均符合规定,包衣合格率在95%以上。

## 参考文献

- [1] 张源,周琴妹.甲花片处方及流化床制粒工艺研究[J].中国药房,2012,23(27):2 519.
- [2] 王志,魏莉,陈挺,等.银黄口腔崩解片的制备工艺研究[J].中草药,2008,39(4):516.
- [3] 赵晓宏,陈迪华,斯建勇,等.多指标综合评分法研究中药新药片剂成型处方[J].中成药,2002,24(8):579.

(收稿日期:2012-05-09 修回日期:2012-09-24)

<sup>Δ</sup> 基金项目:齐鲁师范学院青年教师科研基金资助(No.20091716)

\* 副教授,硕士。研究方向:生物高分子材料应用。电话:0531-66778038。E-mail:dragon9603@163.com

生物利用度低,故适宜设计成缓释制剂。本研究用PLGA作载体材料,采用乳化溶剂挥发法<sup>[1]</sup>制备Pae-PLGA微球,并对其体外释药行为进行考察。

## 1 材料

### 1.1 仪器

TV-1800spc型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);SHE-III A循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);Biofuge stratos台式高速冷冻离心机(上海科峻仪器公司);XSZ-4G生物显微镜(重庆光电仪器有限公司);SDE-100VER2.1数码显微目镜(上海海鸥照相相机有限公司);JSM-6700F扫描电子显微镜(日本Jeol电子株式会社);HZS-H水浴振荡器(哈尔滨市东明医疗仪器厂)。

### 1.2 药材与试剂

徐长卿(市售,经齐鲁师范学院生物系王玢教授鉴定为真品);PLGA(济南岱罡生物科技有限公司,*m*(聚乳酸):*m*(聚羟基乙酸)=75/25,相对分子质量:2.0×10<sup>4</sup>);Pae对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110708-200505);聚乙烯醇(PVA,天津市科密欧化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 徐长卿中Pae的提取工艺流程

徐长卿根部(粉碎)→加水→加氯化钠→温浸→水蒸气蒸馏→冷藏蒸馏液→离心收集结晶→在滤液中加入氯化钠→重蒸馏→冷藏重蒸馏液→离心收集结晶→合并结晶物→抽真空、干燥→得Pae。

### 2.2 正交试验优选Pae-PLGA微球的制备工艺

2.2.1 制备工艺设计 采用乳化溶剂挥发法制备。将一定量的Pae和PLGA溶于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,作为油相,高速搅拌下将油相逐滴滴加到含有乳化剂PVA的水相中,降低转速,室温下持续搅拌4h,挥尽CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,离心收集微球并用蒸馏水洗涤3次,抽真空、干燥,得白色粉末状固体Pae-PLGA微球。

2.2.2 正交试验设计 根据笔者经验和药物性质,选取对微球质量有较大影响的PVA质量分数(A)、PLGA质量浓度(B)、药物与PLGA质量比(C)、水油相体积比(D)为考察因素,每个因素选择3个水平,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验表优选制备工艺。因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, %	B, g/L	C(m/m)	D(V/V)
1	0.5	40	1:1	1:10
2	0.7	60	1:2	1:20
3	0.9	80	1:3	1:30

2.2.3 评价指标的测定 以紫外分光光度法测定Pae含量。在200~400 nm波长范围内对Pae的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液作光谱扫描,结果Pae在274 nm波长处有最大吸收,而PLGA空白微球在此波长处无吸收,故确定最佳检测波长为274 nm。以吸光度(A)对Pae质量浓度(c, μg/ml)进行线性回归,回归方程为A=0.066 4c+0.024 5(r=0.998 9,线性范围为5.80~34.80 μg/ml),并计算Pae含量。根据下式计算包封率和载药量:包封率=(Pae-PLGA微球中Pae含量/投药质量)×100%;载药量=(Pae-PLGA微球中Pae含量/Pae-PLGA微球总质量)×100%。

2.2.4 正交试验结果和分析 按表1安排进行试验,照“2.2.3”

项下方法测定各Pae-PLGA微球的包封率和载药量,并计算综合评分:综合评分=包封率×50%+载药量×50%。正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal experiments

试验号	A	B	C	D	包封率, %	载药量, %	综合评分
1	1	1	1	1	21.81	5.90	13.86
2	1	2	2	2	66.33	15.97	41.15
3	1	3	3	3	68.54	13.06	40.80
4	2	1	2	3	51.62	5.34	28.48
5	2	2	3	1	68.95	20.06	44.51
6	2	3	1	2	29.41	2.12	15.77
7	3	1	3	2	53.32	22.41	37.87
8	3	2	1	3	36.80	5.41	21.11
9	3	3	2	1	59.41	14.41	36.91
k <sub>1</sub>	31.94	26.73	16.91	31.76			
k <sub>2</sub>	29.58	35.59	35.51	31.59			
k <sub>3</sub>	31.96	31.16	41.06	30.13			
R	2.38	8.86	24.15	1.63			

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	1.25	2	0.63	0.42	
B	16.04	2	8.02	5.31	
C	106.67	2	53.34	35.32	<0.05
D	0.54	2	0.20	0.13	

注: F<sub>0.05</sub>(2, 2)=19.00

note: F<sub>0.05</sub>(2, 2)=19.00

由表2、表3可知,各因素对工艺影响程度的大小顺序为药物与PLGA质量比>PLGA质量浓度>PVA质量分数>水油相体积比。其中,药物与PLGA质量比对工艺有显著性影响(P<0.05)。最终确定最佳工艺为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,即PVA质量分数为0.9%,PLGA质量浓度为60 g/L,药物与PLGA质量比为1:3,水油相体积比为1:10。

### 2.3 工艺验证试验

按上述最佳工艺条件制备3批Pae-PLGA微球样品,测定包封率、载药量和平均粒径。结果,制得的Pae-PLGA微球的包封率为(66.91±1.62)%,载药量为(21.16±0.51)%,平均粒径为(31.75±0.13) μm,且粒径分布较均匀。

### 2.4 Pae-PLGA微球的形态观察及粒径分布

用扫描电子显微镜观察微球表面形态和结构。结果,Pae-PLGA微球呈白色粉末状,分散性好,圆整度较好,球体表面致密,有的表面有突起和凹陷,无微孔或裂缝。

### 2.5 体外释药试验

按2010年版《中国药典》(二部)附录XC项下第一法转篮法进行试验。精确称取Pae-PLGA微球100 mg,放入透析袋中,将透析袋置于50 ml pH7.4的磷酸盐缓冲液中,温度为(37±5) °C,转速为100 r/min。在规定的时间内取样,每次取5 ml,同时更换同体积同温度的新鲜释放介质。按“2.2.3”项下方法测定,计算Pae累积释放度,并绘制其体外释放曲线,见图1。

由图1可知,Pae-PLGA微球中的药物释放明显呈两相释放模式。即第一阶段,在释放过程初期,药物出现突释现象,在8 h内快速释药37%,这可能是Pae-PLGA微球表面和浅层

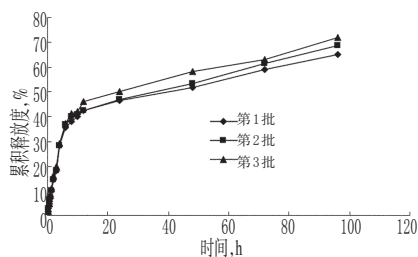


图1 Pae-PLGA微球体外释放曲线

Fig 1 In vitro release curves of Pae-PLGA microspheres

内的药物释放,适当的突释可以在治疗部位短时间内达到有效浓度;第二阶段,药物进入缓释阶段,随着PLGA材料在缓冲介质中的溶蚀,Pae-PLGA微球表面产生了一些微孔道,里层的药物通过这些微孔道释放出来。体外释药结果对药物体内释放具有一定的参考价值,对于药物在体内释放是否遵循相同规律还需要进一步的研究。

### 3 讨论

本试验以PLGA作为载体通过乳化溶剂挥发法成功制备了Pae-PLGA微球缓释制剂。研究表明,投料比和PLGA质量浓度是影响微球质量的两个主要因素。当投料比大于1:1时,所制微球表面形态较差,这可能是药物无法充分分散到PLGA

中,发生聚集结晶造成的。随着投料比的减小,微球的载药量下降,但包封率明显增加。选择投料比为1:2:1:3(m/m)时,所制微球形态良好,载药量和包封率都较高。随着PLGA浓度的增加,有机相黏度增加,沉降速度减慢,微球的粒径、载药量和包封率都会增加。但PLGA质量浓度过高,会导致PLGA质量在分散介质中析出,黏结成团,因此在适宜的PLGA质量浓度下,应考虑采取其他途径来提高载药量和包封率。预先用药物饱和连续相,可以阻止药物向连续相扩散,从而提高载药量和包封率。

### 参考文献

- [1] Gabler F, Frauenschun S, Ringe J, *et al.* Emulsion-based synthesis of PLGA-microspheres for the in vitro expansion of porcine chondrocytes[J]. *Biomol Eng*, 2007, 24(5):515.
- [2] 汤继辉,胡容峰,常宫. 丹皮酚在体小肠吸收动力学研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2006, 12(7):35.
- [3] 胡春弟,张杰. 丹皮酚的药理作用及合成研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(8):16.
- [4] 刘国磊,王帅,王静,等. 长春西汀聚乳酸-聚乙醇酸缓释微球的研制[J]. *中国药房*, 2012, 23(13):1 203.

(收稿日期:2012-05-04 修回日期:2012-07-11)

## 第四届中医药现代化国际科技大会学术征文通知

中医药是世界医学的重要组成部分,数千年来为人类健康和世界文明作出了不可磨灭的贡献。中国政府长期致力于推动中医药学的继承、创新与发展,在成功举办前三届中医药现代化国际科技大会的基础上,由中华人民共和国科技部、卫生和计划生育委员会、国家中医药管理局、国家食品药品监督管理总局等15个部委和四川省人民政府共同主办的“第四届中医药现代化国际科技大会”,将于2013年9月26-27日在四川成都召开。现将有关征文等事项通知如下:

### 一、征文内容

1、分会一 中医药国际协作与发展政府论坛(投稿专用邮箱:icetcm\_1@163.com)

①中医药政府间立法与监管合作;②中医药标准;③中药产品注册准入。

2、分会二 中医理论传承与发展(投稿专用邮箱:icetcmcd@163.com)

①中医藏象理论及生物学基础研究;②中医病因、病机与治则治法研究;③中药药性(功效)理论研究;④中药复方配伍规律与作用机制研究;⑤中医传承研究的新技术、新方法。

3、分会三 中医药临床评价与伦理评估(投稿专用邮箱:clinic.icetcm@gmail.com或llscwyh@163.com)

①中医药防治重大疾病临床研究;②中医临床评价及方法学;③中医特色诊疗技术的评价与应用;④中医药临床协同创新与转化医学;⑤中医药伦理审查的特色与对策;⑥中医药伦理审查平台建设评估标准的国际互认;⑦中医药临床研究中的受试者保护与伦理审查。

4、分会四 针灸研究与国际化(投稿专用邮箱:jennyangjie@126.com)

①针灸理论及针灸机制研究;②针灸临床应用与评价研究;③针灸临床指南与标准化研究;④针灸研究方法学、流派与传承研究;⑤针灸研究的国际合作与针灸国际化。

5、分会五 中药资源系统研究与开发利用(投稿专用邮箱:529598319@qq.com)

①中药材质量标准研究及体系建立;②濒危中药资源的研究和保护;③中药材大品种的综合开发;④地道药材协同创新与产业化。

6、分会六 中药创新药物研究与产业化(投稿专用邮箱:tcm028@126.com)

①创新中药研发模式及关键共性问题;②中药新制剂或给药系统的关键共性技术研究;③中药大品种技术改造或二次开发的关键共性问题;④有毒中药的评价与开发及中药安全性研究;⑤中药现代化开发的协同创新。

7、分会七 中医治未病与中医药养生产业(投稿专用邮箱:zdxkbgs@163.com)

①中医治未病的理论及实践;②中医预防保健技术及产品研发;③中医药养生产业化研究;④亚健康学科建设及产业发展。

8、分会八 民族医药的发展与产业化(投稿专用邮箱:gujiancd@163.com)

①民族医药古籍(经验)的发掘、整理与保护研究;②民族医药优势病种基础研究与临床评价;③民族医药新药、保健食品研发与产业发展研究;④民族医药标准与知识产权保护研究。

### 二、联系人

学术委员会办公室(成都中医药大学科技处)王浩中,电话:86-28-61800107, E-mail:fourthicetcm@126.com

### 三、其他

详细征文要求及更多会议信息请关注大会网站(<http://www.icetcm.org>)。

第四届中医药现代化国际科技大会学术委员会