

# 美洛昔康 PLA 缓释微球的制备及性能研究

可方远 郑 婷 张月红 尚 青

(河北科技大学化学与制药工程学院 河北 石家庄 050018)

**摘要:** 以生物可降解材料聚乳酸(PLA)作为载体,聚乙烯醇为分散剂,二氯甲烷为溶剂,采用乳化-溶剂挥发法制备美洛昔康(Meloxicam)聚乳酸缓释微球。用生物显微镜和扫描电子显微镜观察微球形态,用傅里叶红外光谱仪检测美洛昔康是否已存在于微球中,用紫外-可见分光光度计测定了微球的包封率、载药量及其体外释药特性。结果表明:美洛昔康聚乳酸缓释微球光滑圆整,聚乳酸和美洛昔康能够有机地结合为一体,微球载药量为 12.72%,包封率为 89.04%,美洛昔康/PLA 微球体外释放 80 h 后累积释药率达 70% 以上,具有显著的缓释作用。

**关键词:** 美洛昔康; 溶剂挥发法; 聚乳酸; 缓释微球

中图分类号:TB332

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2011)S1-0232-04

## Preparation and performance of meloxicam loaded PLA sustained-release microspheres

KE Fang-yuan, ZHENG Ting, ZHANG Yue-hong, SHANG Qing

(College of Chemistry and Pharmaceutics Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

**Abstract:** The meloxicam/PLA (polylactic acid) microspheres are prepared by the solvent evaporation method, choosing the methylene chloride as a good solvent and the polyvinyl alcohol (PVA) as a dispersed agent, and the biodegradable material-poly-lactic acid (PLA) as a drug carrier. The morphology of microspheres are analyzed through biological microscope and scanning electron microscope and the microspheres are analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy to examine that whether the meloxicam exist in the microspheres. The drug loading and encapsulation efficiency of microspheres are researched using UV, and the in vitro release properties are tested. The results show that the meloxicam/PLA microspheres are smooth pherical and poly-lactic acid integrate into meloxicam. The drug loading and encapsulation efficiency of the microspheres are 12.72% and 89.04%. The cumulative rate of drug-release over 80 hours is over 70%, which illustrate satisfactory sustained-release of the meloxicam encapsulated PLA microspheres.

**Key words:** meloxicam; solvent evaporation method; PLA; sustained-release microspheres

Meloxicam 是一种新型的非甾体类抗炎药 (NSAIDs), 可选择性抑制环氧化酶-2, 与传统 NSAIDs 相比具有较强的抗炎活性以及较小的不良反应<sup>[1]</sup>。临床上美洛昔康主要用于治疗人、畜类风湿性关节炎、骨关节炎等疾病, 是一种新型、安全的抗炎药物<sup>[2]</sup>。目前美洛昔康药品的剂型多为速释型, 注射剂存在物理稳定性差, 对光较为敏感等问题, 现选用经 FDA 批准可用于人体的可生物降解的聚乳酸作为载体材料将其制成具有缓释作用的微球来解决上述问题。聚乳酸生物相容性好, 在体内降解为 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O, 无毒、无刺激性, 另外, 微球可使药物缓慢释放, 减少给药次数, 同时也可以提高药物的稳定性。本文中采用 O/W 溶剂挥发法<sup>[3]</sup> 制备了美洛昔康聚乳酸缓释微球, 观察了微球的形貌, 分析了微球的载药量和包封率, 探讨了载药微球的体外释放行为, 为方便动物给药, 治疗牲畜的慢性风湿性关节炎奠定了基础。

## 1 实验部分

### 1.1 主要原料及仪器

聚乳酸(相对分子质量 20 000, 山东岱罡生物技术有限公司), 美洛昔康(药用规格, 中国药物生物制品检定所), 聚乙烯醇(P-1763, Sigma 公司), 透析袋(截流分子质量 14 000, 美国), PBS(磷酸盐缓冲溶液), 其他试剂均为分析纯。

BA210 生物显微镜(麦克奥迪医疗诊断系统有限公司); S-3400N 扫描电子显微镜(日本日立公司); FTS-135 傅里叶红外光谱仪(美国 BIO-RAD); UV-2501 PC 紫外-可见分光光度计(日本岛津); LG10-2.4A 型高速离心机(北京医用离心机厂); SHZ-82 水浴恒温振荡器(江苏省金坛市医疗仪器厂)。

### 1.2 实验方法

采用溶剂挥发法(O/W) 制备美洛昔康聚乳酸

收稿日期:2010-12-08

作者简介:可方远(1982-) 男, 硕士生, 主要从事新型药物制剂的研究, 通讯联系人, kefangyuan123@sohu.com; 尚青(1962-) 女, 硕士, 教授, 研究方向为 DDS 新型药物制剂, 0311-88632240, shangqing@hebestu.edu.cn.

微球,以聚乳酸 PLA 为载体,将二氯甲烷和丙酮混合(体积比 9:1)作为有机溶剂,聚乙烯醇(PVA)作为分散剂。精确称取一定量的聚乳酸,使其溶解于二氯甲烷和丙酮的混合溶剂中,再精确称取一定量的美洛昔康加入到溶液中,搅拌溶解,形成油相。在磁力搅拌状态下,用医用注射器将油相匀速滴加到聚乙烯醇水溶液中,常温挥发有机溶剂 4 h 左右使微球固化。将得到的微球混悬液在 4 000 r/min 下离心 0.5 h,水洗、离心 3 次。离心后的微球冷冻干燥 48 h,即可得到美洛昔康聚乳酸微球粉末,于 4℃ 下保存微球。

### 1.3 分析与表征

利用生物显微镜、扫描电镜观察微球的形貌特征,并拍照。红外分析:将待测样品与 KBr 混合,研磨均匀,置于模具中,用油压机压成透明的薄片。测量前标准品、微球和 KBr 都需进行干燥处理,以降低游离水对样品的干扰。采用紫外分光光度计对美洛昔康聚乳酸缓释微球的释药性能进行探讨。

### 1.4 微球包封率与载药量的测定

称取适量干燥微球,精密定溶于 5 mL 0.1 mol/mL 的氢氧化钠溶液中,放入 120 r/min、37℃ 恒温摇床中震荡 2 天<sup>[4]</sup>,然后离心,取上清液,用紫外-可见分光光度计在  $\lambda = 362$  nm 处(美洛昔康在此波长有最大吸收)测量美洛昔康的含量。

绘制标准曲线的方法是配置不同浓度的美洛昔康标准溶液,测定其在  $\lambda = 362$  nm 处的吸光度,数据用统计分析软件得回归方程:  $A = 0.0519C + 1.45 \times 10^{-3}$ ,相关系数  $r^2 = 0.9991$ 。

计算公式如下:

$$\text{载药量} = (\text{微球中的含药量} / \text{载体材料质量}) \times 100\%$$

$$\text{包封率} = (\text{微球的含药量} / \text{体系中投入药物总量}) \times 100\%$$

### 1.5 正交设计美洛昔康聚乳酸微球制备实验

在制备过程中,对影响美洛昔康聚乳酸微球包封率和释放行为的因素进行初筛,最后选择了 3 个对载药微球影响较大的因素,即 PVA 浓度按 1%、2% 和 3% 设计实验,PLA 质量浓度按 0.04、0.05 g/mL 和 0.06 g/mL 设计实验,美洛昔康与 PLA 质量比按 1:4、1:5 和 1:6 设计实验,每个因素取 3 个水平按照 L9(3<sup>4</sup>) 正交表进行实验。

### 1.6 体外药物释放率的测定

称取适量干燥微球(60 mg)放入透析袋,再移取 3 mL 的磷酸盐缓冲溶液(PBS,100 mmol/L 磷酸盐缓冲液,pH = 7.4)于透析袋内,将透析袋两端系紧,然后放入盛有 100 mL 该缓冲溶液的锥形瓶中,

放入 120 r/min、37℃ 的水浴恒温振荡器中<sup>[5]</sup>。每隔一定时间从锥形瓶中取出 3 mL 溶液,在  $\lambda = 362$  nm 下测定其吸光度,同时再补充 3 mL 新鲜的 PBS 缓冲溶液于释药介质中。根据美洛昔康在 PBS 中的标准曲线方程:  $A = 0.05296C + 2.7753 \times 10^{-3}$ ,相关系数  $r^2 = 0.9911$ ,计算微球的累积释药百分率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微球的形态分析

本实验采用 O/W 乳化溶剂挥发法制备的微球再分散性良好,再分散后形成白色乳状混悬液。制备微球的影响因素主要有搅拌速度、PLA 的浓度、PVA 浓度、投药量。因此,可通过调控各项因素制备不同粒径大小的载药微球。在制备过程中,用生物显微镜跟踪微球的形态。如图 1 所示,微球为单分散球体,基本没有粘连现象。

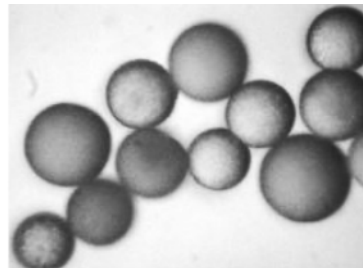


图 1 美洛昔康聚乳酸微球的生物显微镜照片

扫描电镜下微球球形良好,表面光滑,无破损、塌陷等现象。大部分微球中有非均匀分散的黑色不透光区,可能是药物以微晶形式存在于 PLA 微球骨架中。微球的表面有皱折和纤维状条纹,横切面见实心球内有白色的药物微晶。如图 2(a) 所示,微球粒径在 25  $\mu\text{m}$  左右。由图 2(b) 所示,单个微球的外观圆整,基本没有形体缺陷。由图 2(c) 可以发现,微球的表面有纤维状条纹,而且结构致密。对这种微球作释药度研究得知,微球释放速度缓慢,正是因为微球的表面结构致密,药物不易从载体中析出,从而使释放速度减慢。

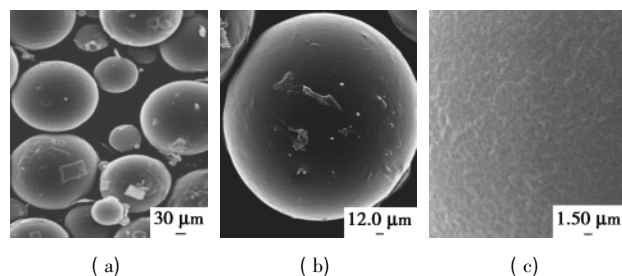


图 2 微球的扫描电镜图片

### 2.2 载药微球的红外表征

FT-IR 常用于定性和定量地研究聚合物共混体的相容性 2 种组分之间的相容性取决于分子或基团的相互作用。当分子水平上的混合导致了分子偶极矩的变化或产生氢键作用,此时混合物的光谱中相应的作用基团与纯组分相比将会呈现谱带的迁移和变宽。空白微球、载药微球红外光谱图如图 3、图 4 所示。

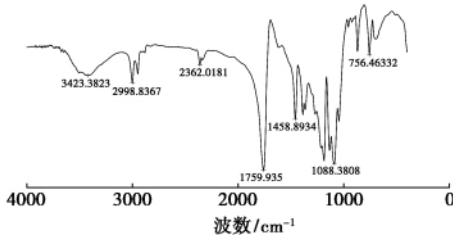


图 3 聚乳酸的红外光谱图

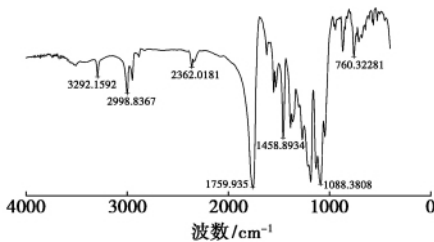


图 4 载药微球的红外光谱

从分子结构上看,药物中的 O—H 键和聚合物的羰基可能存在氢键的作用。与美洛昔康纯品相比,聚合物微球中药物的特征峰有轻微的移动。美洛昔康标准品的 O—H 键伸缩振动的吸收峰在 3 291 cm<sup>-1</sup>处,在微球中则迁移到 3 224 cm<sup>-1</sup>处,但美洛昔康的特征峰还是存在的。对比 2 个图可知,聚乳酸在 3 200 cm<sup>-1</sup>处没有特征吸收峰,而载药微球在该处出现了美洛昔康的特征峰,2 图在趋势上很接近,但是,后者相对前者明显增加了许多特征峰而且部分峰强度有所增加,这说明药物的确载负到了微球中。

### 2.3 微球载药量和包封率结果

根据线性回归方程中吸光度 A 与美洛昔康的 PBS 溶液 C (mg/mL) 的关系:  $A = 0.0519C + 0.00145$ ,可以求得微球中美洛昔康的含量,进而求得微球的载药量与包封率。按照 L9(3<sup>4</sup>) 正交表进行实验,制备 9 批微球,各批微球的载药量和包封率结果见表 1。其中包封率约为 80% 的微球工艺比较适合美洛昔康聚乳酸微球的制备,具体条件为美洛昔康与聚乳酸的质量比例为 1:6,聚乳酸浓度为

0.05 g/mL,聚乙烯醇浓度为 2%。

表 1 正交试验结果

试验号	载药量/%	包封率/%
1	14.34	71.68
2	12.27	73.62
3	10.73	75.14
4	13.85	69.25
5	11.87	71.22
6	12.31	86.16
7	13.45	67.25
8	14.42	62.47
9	10.06	70.44

由于微球制备时,载药量、包封率等指标共同决定微球的质量,所以本实验采用了正交设计法。选择影响制备工艺最重要的几个因素,忽略掉后期容易改进的工艺参数,针对多个指标综合评价美洛昔康聚乳酸微球制备的最佳工艺。在微球制备中改进了传统实验方法,采用多种手段,调节微球的制备参数。选用优化后的工艺条件制备了 3 批微球,载药量和包封率检测结果见表 2,其平均载药量为 12.72%,平均包封率约为 89.04%,所得微球载药量和包封率较为理想。

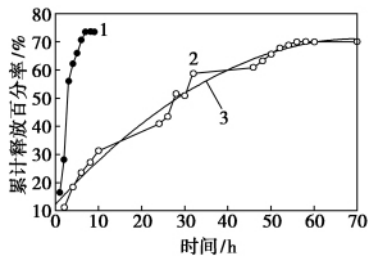
表 2 载药微球的载药量和包封率

批号	载药量/%	包封率/%
1	12.81	89.67
2	12.71	88.97
3	12.65	88.55
平均值	12.72	89.04

### 2.4 体外释放

对于扩散控释系统,即使药物完全释放,载体通常仍能够保持结构的完整。一般影响扩散速率的因素主要包括:药物在周围介质中的溶解度、传递系统内外相的浓度梯度、载药量、空隙率、曲折度、表面积、药物是否和聚合物间产生化学相互作用等,这些因素和微球的释放度密切相关。含药微球静态释放过程主要分为 3 步<sup>[6]</sup>: ①药物分子在原位溶于扩散介质; ②药物分子从原位通过聚合物的骨架扩散到微球的表面; ③药物分子穿过液膜进入溶液中。这 3 个过程都会影响药物的释放速率。

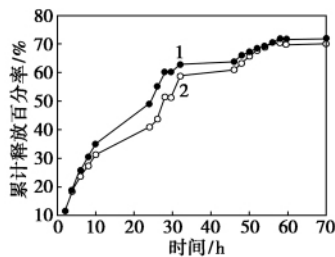
根据美洛昔康在 PBS(pH = 7.4) 溶液中的回归方程  $A = 0.05296C + 2.7753 \times 10^{-3}$  来计算 PBS 溶液中药物组分的浓度,进而计算累计释放量,按时间间隔和累积释放百分比进行拟合,得到药物的释放曲线如图 5。由图 5 可以看出:在相同的时间间隔内,



1—美洛昔康标准品; 2—美洛昔康微球; 3—拟合曲线

图5 美洛昔康以及载药微球的释放曲线

原药美洛昔康累积释放量明显高于载药微球的累积释放量,说明美洛昔康聚乳酸缓释微球具有缓释性能。通过对比美洛昔康/聚乳酸微球与美洛昔康标准品,可以清楚的看到优化工艺制备的微球释放曲线比较平缓,持续时间较长,缓释效果较明显。另外发现,微球释药前期存在突释,说明微球表面或表层存在与微球结合不牢固的药物。微球初始释药速率变化较大,以后趋于平稳。这是因为起初微球膜内外药物的浓度差较大,初始释放速率较快且会产生一些孔道,内部药物更易通孔道释放出来,使载药微球在起初一段时间表现为持续而快速的释药<sup>[7]</sup>。



1—pH=9.0; 2—pH=7.4

图6 不同 pH 下微球的释放曲线

图6研究了释放介质的 pH 对美洛昔康聚乳酸微球释药的影响。结果表明,释放初期,不同 pH 下的释药速度区别不大,微球具有相同的突释量,但是随着时间的延长,微球释药速率加快。这是因为 pH 的升高加快了美洛昔康从微球的骨架结构中的溶

出,使释放速度加快。但是微球释药速度的加快并没有改变微球的释药机制,突释、零级释放和停滞释放机制三相依然存在,这种保持机制不变的加速条件更有利于获得良好的实验相关性。

### 3 结论

以可生物降解材料聚乳酸(PLA)为载体,采用 O/W 溶剂挥发法制备了美洛昔康聚乳酸载药微球。以 UV 和 FT-IR 为测试手段研究了药物的包裹行为,并通过优化制备工艺获得了载药量为 12.72%,包封率为 89.04% 的美洛昔康 PLA 缓释微球。微球分散效果较好,载药量、包封率等各项特性指标符合药物载体的要求,实验还证明,微球释药时间达到 80 h 以上,具有较好的缓释效果。将美洛昔康制成缓释微球解决了美洛昔康生物半衰期短、频繁给药的缺点,对于治疗生物体尤其是动物风湿性关节炎、骨关节炎具有潜在的应用价值。

### 参考文献

- [1] 王彩霞,张宏武,王荣端,等.美洛昔康贴片抗炎作用实验研究[J].实用药物与临床,2006,9(1):20-22.
- [2] 段晓颖.美洛昔康滴丸成型工艺研究[J].中国现代应用药学杂志,2009,26(1):50-51.
- [3] 王哲,倪宏哲,张明耀,等.聚乳酸微球制备工艺的研究[J].高分子材料科学与工程,2007,23(6):207-210.
- [4] SIVAKUMAR M, PANDURANGA RAO K. Preparation characterization and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-gelatin composite microspheres [J]. Biomaterials, 2002, 23(15): 66-67.
- [5] LEE W K, PARK J Y, YANG E H *et al.* Investigation of the factors influencing the release rates of cyclosporine A-loaded micro- and nanoparticles prepared by high-pressure homogenizer [J]. Control Release, 2002, 84(3): 115-123.
- [6] 李玉新,敖聪聪.微胶囊化技术及农药微胶囊剂[J].农药,1998,37(7):4-7.
- [7] 徐岩,陈仲清,余让辉.罗哌卡因-醋酸地塞米松 PLGA 微球的制备及体外释药特性研究[J].医药导报,2009,28(11):1427-1431. ■

### 一种高性能聚丙烯复合材料及其制备方法

本发明公开了一种高性能聚丙烯复合材料及其制备方法,它是由聚丙烯、云母和马来酸酐接枝聚丙烯制备而成,本发明通过配方的优选来提高云母与聚丙烯的相容性,将云母的添加量提高到复合材料总量的 56% 甚至以上,所得到的复合材料具有高强度、高模量的特点,所制备的样条有很高的力学性能,最佳配比的复合材料的抗拉强度达到

50.48 MPa,与 PP 相比提高率达到 45.5%;弹性模量达到 1.215 GPa,提高率达到 74.3%,由于增加了云母的添加量,这样可以在提高云母/聚丙烯复合材料力学性能的同时大幅度降低了复合体系的成本,使得复合体系在工业生产上有更广泛的应用。