

孕二烯酮生物可降解缓释植入剂的制备及体外药物释放

张 巍, 杨立群*, 孟 舒, 李建新, 金 瑛, 易东旭

(辽宁省计划生育科学研究院, 沈阳 110031)

摘要:以聚己内酯(PCL)为载体材料,采用双螺杆挤出工艺制备了孕二烯酮缓释植入剂。采用凝胶渗透色谱仪(GPC)测定分子量,扫描电镜(SEM)观察结构,红外光谱分析(FT-IR)分析药物载体状态,紫外分光光度法(UV)测定植入剂的载药量和药物释放情况。结果表明:挤出后载体分子量无明显变化;挤出工艺对载药植入剂成形性好,表面无药物析出;药物与载体以物理混合方式存在;该植入剂在体外可长效释药,趋于一级药物释放模式($r^2=0.9948$)。

关键词:孕二烯酮;聚己内酯;缓释植入剂;体外药物释放

引言

目前,以硅橡胶为载体的长效抗生育埋植剂已经在临床上得到广泛的应用^[1,2],但是硅橡胶本身不能降解,药物用尽后必须手术取出,增加了不必要的手术和痛苦,因此近年来开始了以可生物降解高分子材料替代硅橡胶成为载体的研究^[3,4]。聚己内酯[p(ϵ -caprolactone), PCL]是生物可降解高分子,降解速度较慢,具有良好的生物相容性和力学性能,对大多数甾体药物有较好的透过性,是美国 FDA 认可的一类生物医用材料^[5~7]。第三代孕激素孕二烯酮(gestodene, GES)为合成孕激素,是迄今孕激素类药物中作用最强、使用剂量最低而不良反应最小的一种甾体激素。

本文以 PCL 为载体与 GES 采用双螺杆挤出工艺制成缓释植入剂,避免了传统模压成型对材料的浪费,提高了工艺稳定性和产出效率。同时对缓释植入剂的载药量、载体与药物的结合状态、体外释药特性以及释药前后的形态进行了研究,对避孕或其它植入剂的制备具有一定的指导作用。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

孕二烯酮原料药(GES,北京紫竹药业);聚己内酯(PCL,自制, $M_n=69480$);其他试剂(分析纯,市售)。

1.2 实验设备与仪器

哈克微量混合流变仪(HAAKE MiniLab II);凝胶渗透色谱仪(Waters, 1515);扫描电子显微镜(FEI, Philips XL-30E);傅里叶红外光谱仪(BRUKER, IFS-55);紫外分光光度计(PE, Bio-20)。

1.3 空白与载药植入剂的制备

空白植入剂是直接将聚己内酯在微量混合流变仪适宜的温度、转速和口模下挤出成型;载药植入剂则需要称取适量的材料聚己内酯溶解在氯仿中,然后按照载体与药物的重量比为 1:1 加入孕二烯酮,磁力搅拌均匀后,浇铸在聚四氟培养皿中,待氯仿完全挥发后揭下药膜,然后在微量混合流变仪中挤出直径为 1.5 mm 载药棒,裁剪成 30 mm 的长度,挤出后聚合物材料的分子量无明显变化。

10.14028/j.cnki.1003-3726.2016.07.010

收稿:2015-12-03;修回:2016-03-15;

基金项目:国家自然科学基金(No. 51503093);辽宁省科学事业公益研究基金(No. 2015001007);辽宁省博士科研启动基金(No. 201501116);沈阳市科技攻关项目(F16-205-1-37);

作者简介:张巍,女,硕士,从事生物医药高分子材料研究,E-mail:zhangwei@lnszjk.com.cn;

* 通讯联系人,E-mail:yanglq@lnszjk.com.cn.

1.4 空白与载药植入剂的表征

扫描电镜(SEM)观察空白植入剂与载药植入剂释药前后的表面和内部截面结构;红外光谱(FT-IR)分析原料药物、空白植入剂与载药植入剂的分子结构特征;紫外分光光度法(UV)测定载药植入剂的载药量;载药植入剂精密称取 100mg 样品,置于 25mL 容量瓶中,吸取 0.5mL 氯仿使样品溶解,然后缓慢加入一定量甲醇,加塞涡旋,甲醇定容。精密移取 0.1mL 溶液于 25mL 容量瓶中,甲醇定容,在波长 240nm 处测定此溶液的吸收度,代入标准曲线计算实际载药量。

1.5 载药植入剂的体外释放度测定

取植入剂 1 支为一组,共 3 组作为 3 个平行样品,以空白植入剂作为空白对照,分别用 30mL 蒸馏水浸泡,置于(37±1)℃恒温空气浴中振摇,振幅为 65 次/min,每 24h 更换一次蒸馏水,在波长 240nm 处测定释放液的吸收度 A,由标准曲线方程计算药物浓度,求出累积释药百分率。

2 结果与讨论

2.1 载药植入剂的表征

在波长 240nm 处,孕二烯酮浓度标准曲线的线性回归方程为: $A=0.0533C-0.0071$ (A 为吸光度值,C 为孕二烯酮的溶液浓度,相关系数 $r=0.9998$),孕二烯酮在 1.4~14μg/mL 范围内线性关系良好;高、中、低三种浓度的平均回收率为 99.9%,RSD=1.70%;精密度 RSD=0.14%($n=6$);溶液稳定性 RSD=0.88%($n=5$),溶液在 8h 内保持稳定。载药植入剂含量 3 批测定结果均值为 96.05%。

图 1 是原料药物、空白植入剂与载药植入剂的红外光谱图。其中,载药植入剂的谱图与原料药物和空白植入剂各自的谱图相比较,特征峰没有出现明显的变化以及峰位迁移,由此可见,药物与载体分子没有发生相互作用,而是以物理混合物的形式存在。

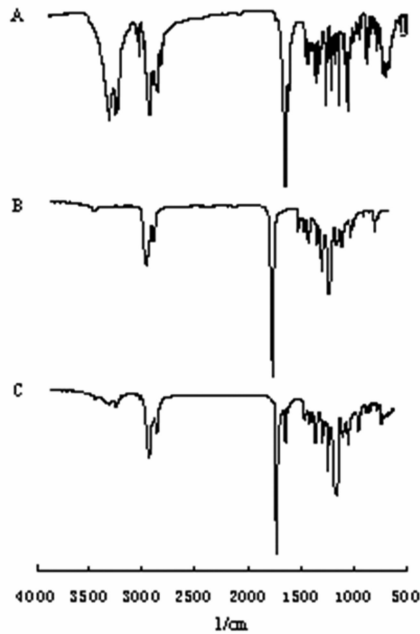


图 1 孕二烯酮(A)、空白植入剂(B)和载药植入剂(C)的红外光谱扫描图
Figure 1 FTIR spectrograms of(A)Gestodene;(B)blank implants;(C)drug loaded implants

对植入剂的表面和断面形态进行表征,电镜照片见图 2。空白植入剂的表面光滑,内部致密;载药植入剂的表面有细小的起伏,偶尔分布有微小的凹坑,但是没有发现药物析出;释药后,载药植入剂表面出现了大小不一的凹坑和孔洞,应该是植入剂长期浸泡在蒸馏水中引起的载体材料表面降解剥落以及内部

药物向外释放时所形成的通道。通过载药植入剂的断面形态可以看出,其内部比较疏松,药物晶体分散其中;而释药后的载药植入剂较容易脆裂,断面遍布边缘光滑的凹坑和孔洞。

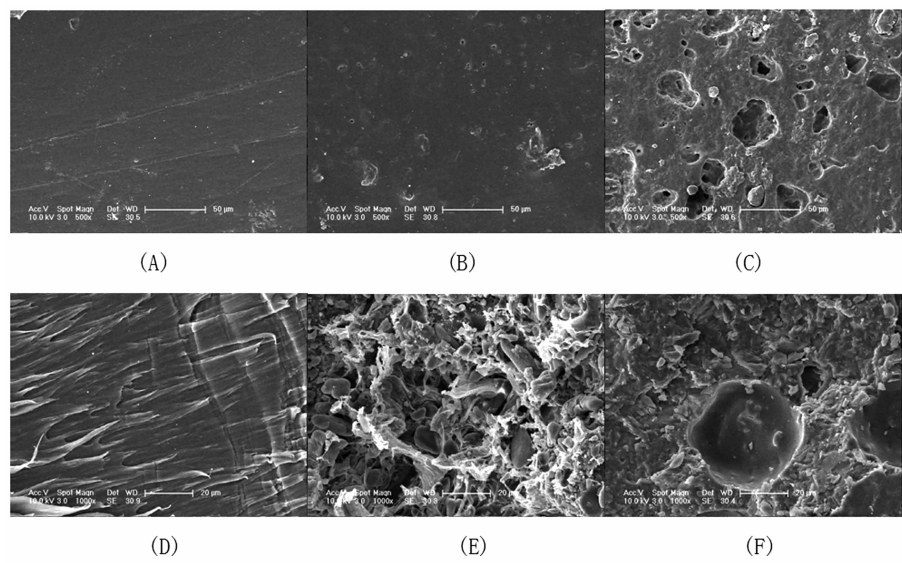


图 2 扫描电镜下空白植入剂和载药植入剂的形态
(A)空白植入剂的表面形态;(B)载药植入剂的表面形态;(C)载药植入剂释药 248 天的表面形态;
(D)空白植入剂的断面形态;(E)载药植入剂的断面形态;(F)载药植入剂释药 248 天的断面形态
Figure 2 Morphology of blank implants and drug loaded implants observed under scanning electron microscope
(A) surface morphology of blank implants; (B) surface morphology of drug loaded implants;
(C) surface morphology of drug loaded implants at 248d after drug release; (D) cross-section morphology of
blank implants; (E) cross-section morphology of drug loaded implants; (F) cross-section morphology of
drug loaded implants at 248d after drug release

2.2 载药植入剂的体外释药性能

GES 植入剂的体外释放曲线见图 3。释放实验共考察了 248 天,载药植入剂共累积释放了 54.2% 的药物,释放曲线回归方程为: $y = -0.0035t + 4.5744 (r^2 = 0.9948)$,药物释放趋于一级释放模式。

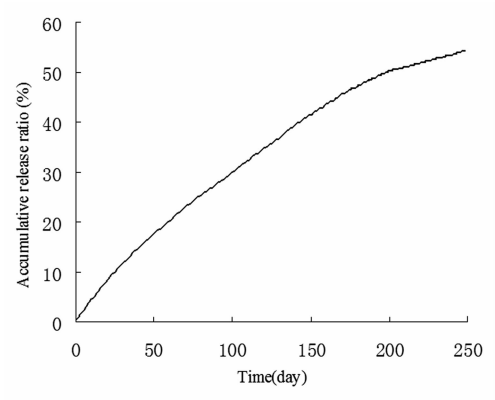


图 3 载药植入剂的药物累积释放率曲线
Figure 3 The accumulative release ratio of gestodene from drug loaded implants

3 结论

热熔挤出技术(hot melt extrusion technique,HME)是近年来欧美日等国大力开发的一种新制剂技

术,主要用于提高难溶性药物的溶出度,制备缓控释制剂及局部给药制剂^[8~10]。以聚己内酯为载体的孕二烯酮缓释植入剂挤出温度为 70℃,远低于孕二烯酮的熔点 190℃,而且聚己内酯的加工性能比较稳定,所以挤出过程并未造成载体或药物的分解,这点通过 GPC 与红外检测都可以确认。电镜观察结果表明,挤出后的载药植入剂表面有偶尔会有细小孔洞,可能是挤出机的熔程较短,材料熔融不充分所致,所以植入剂在释药前期会有药物的突释现象,可以通过延长材料的熔融时间改善。红外光谱扫描分析显示在植入剂中载体与药物以物理混合方式存在,在电镜结果中也得到了证明。

植入剂体外释药实验持续了 248 天,在将近 200 天时日均释药量开始有小幅度的减少,这是因为聚己内酯在水中的降解速度非常慢^[11],而且是本体降解^[12],即在降解过程中只是载体的分子链发生水解断裂而植入剂的外观不会发生变化,并且降解的发生会导致聚己内酯的结晶度提高,分子链有序紧密的排列,使得水分子较缓慢的进入到材料本体内部,内部的药物晶体向外扩散量必然会减少。所以,调整载体材料的降解速度使之与药物的释放速度相匹配就能达到预期的效果。

综上所述,采用双螺杆挤出技术制备孕二烯酮的生物可降解缓释植入剂是可行的,并且植入剂的载药效率较高。通过调整载体材料的成分、投药量、挤出工艺参数、甚至添加致孔剂可以调控释药速度,以满足实际应用的不同需求。

参考文献:

[1] Kovalevsky G, Barnhart K. Clin Obstet Gynecol, 2001,44(1):92~100.
[2] Chikamata DM, Miller S. Contraception, 2002,65(1):97~106.
[3] Sun HF, Mei L, Song CX, et al. Biomaterials, 2006,27(9):1735~1740.
[4] Darney PD, Klaisle CM, Monroe SE, et al. Fertil Steril, 1992,58(1):137~143.
[5] Kammerer M, Fabritius M, Carvalho C, et al. Pharmazie, 2011,66(7):511~516.
[6] Elomaa L, Teixeira S, Hakala R, et al. Acta Biomater, 2011,7(11):3850~3856.
[7] Valmikinathan CM, Defroda S, Yu X. Biomacromolecules, 2009,10(5): 1084~1089.
[8] 杨睿,唐星,黄惠锋. 中国新药杂志,2007,16(4):279~284.
[9] Crowley MM, Schroeder B, Fredercdorf A, et al. Int J Pharmac, 2004,269(2):509~522.
[10] Young CR, Koleng JJ, McGinity JW. Int J Pharmac, 2002,242(1/2):87~92.
[11] 陈建海,马安德,来永毅等. 生物医学工程学杂志,1997,14(4):334~337.
[12] 何天白,胡汉杰. 功能高分子与新技术. 北京:化学工业出版社,1998.

Preparation of Biodegradable Gestodene Sustained-release
Implants and Drug Release in Vitro

ZHANG Wei, YANG Li-qun*, MENG Shu, LI Jian-xin, JIN Ying, YI Dong-xu
(Liaoning Research Institute of Family Planning, Shenyang 110031, China)

Abstract: The gestodene sustained-release implants were prepared by twin-screw extrusion process with poly(ε-caprolactone) as a carrier. The molecular weight was investigated by Gel permeation chromatography (GPC) and the structure of the implant was observed by Scanning electron microscopy (SEM) and the state of the drug dispersed in the poly(ε-caprolactone) was measured by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The drug loading content and the accumulative release ratio were determined by Ultraviolet spectrophotometry (UV). The results showed that the molecular weight had no obvious change after extrusion. The drug loaded implants were fabricated successfully and the drug did not precipitate on the surface of the drug loaded implants. The drug loaded implant was a physical mixture of drug and carrier. The drug release profile was long-term sustained and fit the first order equation well in vitro ($r^2=0.9948$).

Key words: Gestodene; Poly(ε-caprolactone); Sustained-release implants; Drug release in vitro