

# 微球给药系统的工艺优化研究

徐希明 张钧寿(南京 210009 中国药科大学药剂教研室)

**摘要** 目的:阐述微球制备工艺中的优化技术。方法:检索近年来国内外文献并进行整理和归纳。结果:单因素设计、正交设计、均匀设计、因子设计是目前微球工艺中常用的优化方法。结论:通过上述方法优化微球的制备工艺,可在一定条件下达到经济、高效的目的,更理想的优化技术尚有待研究。

**关键词** 微球给药系统;制备工艺;实验设计;优化

## Optimization of the preparation of microsphere drug delivery system

Xu Ximing( Xu XM), Zhang Junshou( Zhang JS) ( Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To illustrate the optimized technique applied to microspheres preparation. **METHOD:** Recent literature were looked up, collated and summarized. **RESULTS:** Single factor design, orthogonal design, uniform design and factorial design are widely used for the optimization purpose. **CONCLUSION:** The formulation procedure of microspheres will be established efficiently by the experimental design methods, but further studies seems to be needed.

**KEY WORDS** microsphere drug delivery system, preparation technology, experimental design, optimization

微球剂(microspheres)是一种将药物分散或包埋得多聚物中,形成粒径为微米级的球状载体给药系统。粒径小于 $1\mu\text{m}$ ,可称为毫微球(nanospheres),这类剂型的研究与开发,对于发展控释与靶向给药系统具有重要意义。肝动脉栓塞术是目前治疗中晚期肝癌的首选疗法,抗癌药物制成微球进行动脉栓塞,可起到阻断肝癌血供及局部缓慢释药的双重作用,从而发挥显著疗效<sup>[1]</sup>。控制微球的大小,静脉给药后,可以实现药物的肺部靶向<sup>[2]</sup>、肝靶向等。微球除可实现药物的靶向传输外,还可用来提高生物利用度,调节释药速度等,从而满足多种实际需要,因而成为近年来新剂型研究的热点。

依据所选材料、作用途径及药物性质等的不同,微球可以有不同的制备工艺。微球的制备影响因素多,筛选工作费时费力,而且工艺的重现性较差。为此,人们力图通过巧妙的实验设计来优化制备工艺,以达到经济、高效的目的。本文拟对微球制备工艺中的优化技术作一介绍。

### 1 单因素设计(single factor design)

单因素设计,顾名思义,就是固定其它因素,仅改

变某一因素并考察其影响。实际上是一个逐步寻优的过程,即每一步实验都是在上一步最佳水平的基础上进行的,直至达到最佳目的。与其它实验设计方法相比,单因素设计可不预先确定实验次数,所以,称之为序贯设计(sequential design)也未尝不可。喷雾干燥制备微球,具有工艺条件温和,利于工业化生产等优点。温和的工艺条件尤其适合包封蛋白、多肽类药物。Clarke等应用该技术成功地制备了聚乳酸(PLA)和聚乳酸-聚乙醇共聚物(PLGA)微球,同时考察了聚合物的类别、分子量、浓度和粘度对微球性能的影响<sup>[3]</sup>。有关的研究示例还可见文献<sup>[4]</sup>。

单因素实验方法简便、易行,可为其它实验设计提供初选信息。缺点是不能综合反映各种因素、水平间的交互作用,优化结果可能是局部优化,未必是最佳结果。

### 2 正交设计(orthogonal design)

正交设计是一种多因素多水平的科学实验安排方法。它是利用一套规格化的正交表合理安排实验,进而通过对实验结果的分析来获取有用信息。正交设计已在药学及其它领域的实验优化中得以广泛应用。

Muller 等采用正交中间组分设计优选出了交联固化白蛋白的制备工艺,以白蛋白含量、水相体积比、乳化时间、戊二醛用量和药物量作为工艺参数,考察它们对毫微球粒径、多分散性和得率三项指标的影响。五个因素中,白蛋白含量及水相体积比对三项指标有显著的影响。该工艺可用于制备球形的、表面光滑、粒径小于 200nm 的毫微球,而且工艺重现性好<sup>[5]</sup>。国内有人<sup>[6]</sup>选择壳聚糖为载体材料,用乳化学交联技术制备顺铂壳聚糖微球,在研究了影响微球制备的因素后,选定 7 个因素,每个因素取 3 个水平,用正交实验设计表  $L_{27}(3^{13})$  来安排实验。具体见表 1。

表 1 正交设计因素、水平表

因 素	水 平		
	1	2	3
A 壳聚糖浓度(%, W/V)	1	2	3
B W/O 体积比	1:1	1:20	1:40
C 乳化速度(r/min)	1200	900	700
D 顺铂/壳聚糖(W/W)	1:9	1:4	1:1.5
E 油相类型	棉籽油	橄榄油	液体石蜡
F 壳聚糖种类(脱乙酰度%)	74	77	85
G 固化时间(h)	1	2	3

参照文献<sup>[4,7]</sup>介绍的统计方法,以 50~120 $\mu\text{m}$  粒子分布的百分数、微球的含药量、药物包封率为指标,对微球的制备工艺进行综合考察,其处理公式为:

$$d_i = \frac{Y_i - Y_{\min}}{Y_{\max} - Y_{\min}}$$

$$DF = (d_1 \cdot d_2 \cdot d_3)^{1/3}$$

式中  $Y_i$  为三项指标的实验测得值; $Y_{\max}$ 、 $Y_{\min}$  为可接受的  $Y_i$  的最大值、最小值,可根据以往的研究结果或经验设定; $d_i$  为单个指标的优化指数,当  $Y_i < Y_{\min}$ ,  $d_i$  计作 0,  $Y_i > Y_{\max}$ ,  $d_i$  计作 1; DF 为三项指标的总优化指数。

表 3 均匀设计实验安排

试验号	因 素					
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$
1	22.6242	0.0250	0.4	20	1.44	50
2	22.6242	0.0167	3.0	10	0.80	45
3	22.6242	0.0167	0.6	25	0.16	30
4	73.9130	0.0125	4.0	15	2.61	15
5	73.9130	0.0100	1.0	10	0.95	60
6	73.9130	0.0100	5.0	20	0.19	45
7	59.3123	0.0250	0	15	2.16	30
8	59.3123	0.0250	1.2	25	1.44	15
9	59.3123	0.0167	0	20	0.16	60
10	585.7242	0.0125	2.4	10	2.61	45
11	585.7242	0.0125	0	25	1.74	30
12	585.7242	0.0100	3.0	15	0.95	15

由每次实验测得的  $Y_i$  及设定的  $Y_{\max}$ 、 $Y_{\min}$  可计算出  $d_i$ , 进而求得 DF。三项指标可接受的最大、最小值见表 2。

表 2 三项指标可接受的最大、最小值

指 标	$Y_{\max}$	$Y_{\min}$
50~120 $\mu\text{m}$ 粒子分布的百分数(%)	60	10
微球含药量(%,质量:质量)	30	1.0
药物包封率(%)	95	30

优选出的制备工艺为  $A_3 B_2 C_1 D_3 E_1 F_1 G_3$ , 具体方法是:取 60mg 顺铂微粉,加入 3ml 3.0%(M/V)的壳聚糖(脱乙酰度为 74%)溶液中,振荡混合均匀,滴入 60ml 含 5% Span 85 及 0.5% Tween 20 的棉籽油中,以 1200r/min 速度乳化 15min,滴加 25%戊二醛 2ml,固化 3h,洗涤、干燥后即得。由于考察的是多个指标的综合优化,与单一指标的优化结果相比,具有更高的科学性、可信性。依此工艺制备了 6 批微球样品,平均粒径为  $74.8 \pm 3.1 \mu\text{m}$ ,微球微铂含量为  $20.8\% \pm 0.4\%$ ,包封率为  $77.5\% \pm 1.5\%$ ,工艺稳定,重现性好。

### 3 均匀设计(uniform design)

均匀设计是我国数学家王元和方开泰于 70 年代初发明的一种新型实验设计方法。与正交设计相比,均匀设计抛开了正交设计“整齐可比”的特点,只考虑试验点的“均匀分散”性,即寻找一些散布均匀的点集,利用这些点集来安排实验,从而使实验次数大为减少。同正交设计利用正交表一样,均匀设计也须借助均匀实验设计表来完成。程宇慧等运用均匀设计优选了白蛋白微球的制备工艺<sup>[8]</sup>,经预试和总结文献资料,选取对微球的成形、外观、大小及分布有影响的 6 个因素,即油相类型  $X_1$  (以粘度表示)、W/O 体积比  $X_2$ 、Span 80 用量  $X_3$  (ml)、超声均化时间  $X_4$  (min)、甲醛用量  $X_5$  (ml)、固化时间  $X_6$  (min),每个因素选 12 个水平,按  $U_{12}(12^6)$  表安排试验,见表 3。

对各种条件下制得的微球,根据其外观、色泽、疏松程度、水中分散的难易程度及微球成形的好坏、大小及均匀程度进行综合打分,数据经多元逐步回归处理,得回归方程  $y = 0.4455 + 0.1793X_1 - 0.1437X_3 - 0.1134X_4 - 0.0941X_5 - 0.0924X_6$

结合实验观察的范围,优化出白蛋白微球最佳制备工艺: $X_1 = 585.7$ (蓖麻油), $X_2 = 0.01$ (O/W=1/100), $X_3 = 0$ (不加 Span 80), $X_4 = 10$ (超声匀化 10min), $X_5 = 0.19$ (甲醛 0.19ml), $X_6 = 15$ (固化 15min)。以优化工艺安排实验,制得的微球得分在理论预报范围内。

均匀设计法用于微球制备工艺筛选,计算机辅助数据处理,可使优化的工艺科学性强、可信度高、重现性好。但在进行制备条件的初选时,既要考虑影响因素,又要顾及各因素的水平,应用均匀设计则不方便,此时宜先进行单因素试验,初选主要因素后,再依均匀设计安排试验<sup>[9]</sup>。

#### 4 因子设计 (factorial design)

因子设计将每个因素的所有水平都互相组合在一起,总的实验数是各因素水平数的乘积,例如,若为 3 个因素,每个因素取 2 个水平,实验总数为  $2 \times 2 \times 2 = 2^3 = 8$ ;如每个因素取 3 个水平,实验总数为  $3^3 = 27$ 。对于多因素不同水平的因子设计,总的实验数仍是各因素水平数的乘积,例如,因素为 3,其中一个因素为 3 水平,另两个因素为 2 水平,则实验总数为  $3 \times 2 \times 2 = 12$ 。可见,因子设计的水平不宜过多,一般取 2 或 3。国外应用因子设计进行微球工艺优化的报导较多<sup>[10-12]</sup>,国内则未见报导。为了考察搅拌速度、CaCl<sub>2</sub> 浓度以及分散介质的组成对茶碱微球特性的影响,Gohel 等以药物溶出 90%( $t_{90}$ ) 为指标,应用 3<sup>3</sup> 因子设计优化制备工艺<sup>[11]</sup>,选择的因素及水平见表 4。基本工艺为:1g 茶碱混悬于 10ml 20%(W/V) 藻酸钠溶液中(50℃),小心加入 50ml 重、轻质液体石蜡混合的介质中,分散介质内含 40mg 丁二酸二辛酯磺酸钠(dioctylsulphosuccinate sodium)。搅拌 5min 成 W/O 乳,加入 10ml CaCl<sub>2</sub> 溶液,继续搅拌 5min,过滤、洗涤、干燥后装入硬胶囊。

表 4 3<sup>3</sup> 因子设计因素水平表

因 素	水 平		
	低	中	高
搅拌速度 $X_1$ (r/min)	500	1000	1500
CaCl <sub>2</sub> 浓度 $X_2$ (% W/V)	5	10	15
重质石蜡用量 (% V/V)	0	25	50
水平赋值	-1	0	1

按照 USP XXII 转蓝法测定微球的体外释药性能,结果见表 5。转速:50r/min,溶出介质:蒸馏水,37 ±

0.5℃。数据经计算机处理,并考虑  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  间交互作用,回归方程为: $t_{90} = 426.0 - 36.0X_1 + 86.0X_2 + 19.6X_3 + 4.66X_1X_2 + 0.166X_1X_3 - 6.75X_2X_3 + 6.5X_1X_2X_3$

忽略  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  间的交互作用,所得结果经方差分析, $F = 0.62 < F_{(4,19)} = 2.90, P > 0.05$ ,即此时交互作用的影响不显著。相应的回归方程变为: $t_{90} = 426.0 - 36.0X_1 + 86.0X_2 + 19.6X_3$

由上式可看出,选择低水平  $X_1$  和高水平的  $X_2$ 、 $X_3$ ,有益于茶碱的缓释。以  $X_1 = 0, X_2 = 0.4, X_3 = -0.091$  进行预测,实际测得值与预测值能够很好地吻合。

表 5 3<sup>3</sup> 因子设计试验安排

试验号	因 素			$t_{90}$ (min)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	-1	-1	-1	336
2	-1	-1	0	351
3	-1	-1	1	418
4	-1	0	-1	456
5	-1	0	0	496
6	-1	0	1	497
7	-1	1	-1	507
8	-1	1	0	532
9	-1	1	1	530
10	0	-1	-1	330
11	0	-1	0	320
12	0	-1	1	363
13	0	0	-1	429
14	0	0	0	447
15	0	0	1	437
16	0	1	-1	509
17	0	1	0	542
18	0	1	1	527
19	1	-1	-1	276
20	1	-1	0	279
21	1	-1	1	345
22	1	0	-1	377
23	1	0	0	384
24	1	0	1	394
25	1	1	-1	448
26	1	1	0	462
27	1	1	1	510

有趣的是,Gohel 等人又报导了另一研究结果<sup>[12]</sup>。他们以磷酸缓冲液(pH=7.2)为溶出介质,测定了双氯芬酸钠(dioclofenal sodium)微球的体外溶出  $t_{80}$ ,所得结果经回归处理,方差分析,最终得回归方程为: $t_{80} = 426.$

$296 - 51.22X_1 + 58.28X_2 + 27.22X_3 + 13.08X_1X_2 + 11.92X_2X_3$

提示  $X_1$ 、 $X_2$  之间,  $X_2$ 、 $X_3$  之间存在交互作用, 说明搅拌速度( $X_1$ )、分散介质的组成( $X_3$ )都会影响  $\text{CaCl}_2$ ( $X_2$ )与藻酸钠的交联, 从而影响双氯芬酸钠的溶出。

可见, 因子设计与正交设计、均匀设计一样, 除利于多因素多水平的实验设计外, 同样适合因素间交互作用的研究。因子设计的缺点是因素的水平数不宜大, 否则试验次数太多。

### 结语

正交设计、均匀设计、因子设计都是对已有的因素水平作出判断, 这些因素、水平一般通过单因素试验来初选。人们更多地希望通过较少的实验, 就能使所考察的指标达到最佳, 而此时的因素、水平并不一定包含在已做过的实验中, 即可能是预实验以外的因素、水平。球面对称设计有可能实现这一目标<sup>[13]</sup>。可以相信, 随着数学、计算机技术的飞速发展, 必将涌现更多更理想的优化技术, 从而为微球——这一新型药物载体发挥巨大作用带来契机。

### 参考文献

- 1 陈庆华. 肝动脉栓塞微球的动物药效学研究. 中国新药杂志, 1996, 5(6): 459.
- 2 张万国, 蒋雪涛, 朱才娟, 等. 肺靶向利福平聚乳酸微球的研究. 药学报, 1998, 33(1): 57.
- 3 Clarke N, Oconnor K, Ramtoola Z. Influence of formulation variables on the morphology of biodegradable microparticles prepared by spray dry. Drug Dev Ind Pharm, 1998, 24(2):

169.

- 4 兰传青, 刘正坤. 蛋白微球制备过程中影响因素的最佳水平的选择研究. 国外医药: 合成药、生化药、制剂分册, 1992, 13(2): 103.
- 5 Muller BG, Leuenberger H, Kissel T. Albumin nanospheres as carriers for passive drug targeting: an optimized manufacturing technique. Pharm Res, 1996, 13(1): 32.
- 6 Wang YM, Sato H, Adachi I, et al. Optimization of the formulation design of chitosan microspheres containing cisplatin. J Pharm Sci, 1996, 85(11): 1204.
- 7 Hassan EE, Parish RC, Gallo JM. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxanzazole. Pharm Res, 1992, 9: 390.
- 8 程宇慧, 廖工铁, 候世祥等. 白蛋白微球作为肝靶向给药载体的研究. 药学报, 1993, 28(1): 68.
- 9 张志荣, 廖工铁, 钱文璟, 等. 均匀设计法优选米托蒽醌微球的制备工艺. 中国医院药学杂志, 1994, 14(6): 246.
- 10 Acikgoz M, Kas HS, Orman M, et al. Chitosan microspheres of diclofenac sodium: I. application of factorial design and evaluation of release kinetics. J Microencapsulation, 1996, 13(2): 141.
- 11 Gohel MC, Jani GK, Amin AF, et al. Application of classical experimental design for the development of theophylline microspheres. J Controlled Release, 1997, 45: 265.
- 12 Gohel MC, Amin AF. Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design. J Controlled Release, 1998, 51: 115.
- 13 盛海林, 涂家生. 球面对称设计在药剂学上的应用. 中国药科大学学报, 1996, 27(4): 211.

收稿日期: 1998 - 05 - 11