

喷雾干燥法制备姜黄素磷脂复合物壳聚糖微球干粉吸入剂及其表征

李 纳, 汤丹丹, 王丽雯, 徐晓玉, 张继芬*

西南大学药学院, 重庆 400716

摘要: 目的 制备磷脂复合物-壳聚糖微球干粉吸入剂, 探讨其用于肺部吸入给药的可行性。方法 以姜黄素为模型药物, 采用喷雾干燥法制备磷脂复合物-壳聚糖微球。考察工艺因素对微球载药量、流动性、吸湿性、空气动力学径和体外沉积的影响, 利用扫描电子显微镜 (SEM) 观察、X 射线衍射分析 (XRD) 和差示扫描量热法 (DSC) 对微球进行表征。结果 磷脂与壳聚糖的比例对微球性质有很大影响。优化的姜黄素磷脂复合物-壳聚糖微球为表面光滑的完整球形, 载药量为 $(11.79 \pm 0.82)\%$, 空气动力学径为 $(3.93 \pm 0.53) \mu\text{m}$, 体外肺部沉积率可达 $(59.36 \pm 5.17)\%$, 排空率为 $(98.55 \pm 0.60)\%$ 。微球吸湿性小但流动性较差。DSC 和 XRD 显示, 姜黄素在磷脂复合物微球中的存在状态并非游离态而是保持了与磷脂的复合状态。结论 喷雾干燥法制备的磷脂复合物壳聚糖微球有望用于肺部吸入给药。

关键词: 干粉吸入剂; 磷脂复合物; 壳聚糖; 微球; 姜黄素

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)17-2475-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.17.010

Preparation of dry powder inhalation based on phytosomes-chitosan microspheres by spray-drying method and study on its characterization

LI Na, TANG Dan-dan, WANG Li-wen, XU Xiao-yu, ZHANG Ji-fen

College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Objective To prepare a dry powder inhalation based on phytosomes-chitosan microspheres and to investigate the possibility for pulmonary delivery. **Methods** Curcumin was selected to be model drug. The curcumin-phytosomes loaded chitosan microspheres (Cur-PS-CMs) were prepared by spray-drying method. The technology was optimized using drug loading, angle of repose, moisture uptake, theoretical aerodynamic diameter, and aerodynamic behavior *in vitro* as evaluation indexes. The optimized Cur-PS-CMs were characterized by SEM, DSC, and X-ray diffraction. **Results** The drug loading of optimized Cur-PS-CMs was $(11.79 \pm 0.82)\%$, and the theoretical aerodynamic diameter was $(3.93 \pm 0.53) \mu\text{m}$. The fine particle fraction and emitted dose were $(59.36 \pm 5.17)\%$ and $(98.55 \pm 0.60)\%$, respectively. The humidity uptake was less than 10% but the powder flowability was poor. SEM showed that Cur-PS-CMs were spherical with smooth surface. DSC and X-ray diffraction verified that Cur was not released from PS in CMs. **Conclusion** The PS-CMs prepared by spray-drying method may have a potential to be used as a dry powder inhalation for pulmonary delivery.

Key words: dry powder inhalation; phytosomes; chitosan; microspheres; curcumin

肺癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一, 靶向治疗是肺癌的理想治疗手段。早期的肺部靶向制剂多是将药物包载于十几到几十微米的微球中, 静脉注射后利用肺毛细血管床对粒径大于 $7 \mu\text{m}$ 的微粒的机械截留作用将药物靶向至肺部^[1]。然而, 微球粒径超过毛细血管径, 静脉注射可能堵塞血管,

带来隐患。因此, 有必要寻求一种新的肺靶向给药系统。

诸多研究^[2-5]证实, 干粉吸入剂能有效地将药物输送至肺部, 获得较高的肺部药物浓度, 降低药物在其他器官的分布, 减轻或避免药物的不良反应, 已被用于慢性阻塞性肺病、肺结核、肺炎等肺部疾

收稿日期: 2014-04-20

基金项目: 重庆市自然科学基金项目 (cstc2011jj10010); 西南大学博士基金项目 (SWU111065); 西南大学“国家大学生创新性实验计划”项目 (201310635016)

作者简介: 李 纳 (1991—), 女, 本科生, 研究方向为中药药剂。Tel: 18202311918 E-mail: 2572019172@qq.com

*通信作者 张继芬, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药新制剂与新型给药系统的研究。Tel: (023)68251225 E-mail: zhjf@swu.edu.cn

病的治疗。近年来,采用生物降解材料制备的微粒载药系统被广泛用于干粉吸入给药^[6-7]。在各种高分子聚合载体材料中,壳聚糖微球具有的独特的物理化学和生物学性质,使其尤其适用于肺部给药系统^[8-10]:(1)壳聚糖与呼吸道和肺泡上皮细胞的生物相容性好,且具有良好的生物降解性;(2)壳聚糖带正电荷,能与肺泡黏膜的负电荷相互作用,提高黏附性,降低清除率,延长肺部滞留时间;(3)具有溶胀性,微球在湿润的肺部沉积后即可吸水溶胀,体积增大,避免巨噬细胞的吞噬。

肺泡表面成分的70%~85%为磷脂类物质,以磷脂为主要材料的载体在肺部给药中具有生物相容性好、易吸收等独特优势。磷脂复合物是药物与磷脂按1:1或1:2的比例,以共价键结合而成的一种药物载体,能促进药物从亲水环境转移通过亲脂环境的上皮细胞膜进入细胞,最后到达血液。能否将磷脂复合物和壳聚糖微球结合成一个复合载体——磷脂复合物壳聚糖微球(PS-CMs),用于难溶性成分的肺部给药,利用壳聚糖微球的优势增加药物的肺部沉积量,避免肺部清除,利用磷脂复合物促进药物的肺泡吸收,进而增加肺部的药物浓度,提高疗效,成为有待探索的课题。

姜黄素(curcumin, Cur)是从姜科植物姜黄的根茎中提取的有效成分之一,可抑制肺癌A549细胞的增殖、转移并诱导其凋亡^[11-12],延长恶性转移瘤动物的存活期^[13]。为发挥Cur对肺癌的治疗作用,必须将其有效地输送至肺部并吸收。然而,Cur水溶性极低,限制了跨膜转运和吸收,口服生物利用度不足1%,注射给药则因大量增溶辅料的应用存在潜在的安全性问题。因此,有必要研究其治疗肺癌的新给药途径和给药系统。

研究采用喷雾干燥法制备Cur-PS-CMs,对其工艺进行了优化,制备出理论空气动力学径小于5 μm,体外肺部有效沉积率达到59%的Cur-PS-CMs,并对微球的性质、结构进行了表征。研究结果可为进一步探讨PS-CMs吸入给药的体内肺靶向性和吸收机制奠定基础,为研发吸入给药的肺靶向给药系统提供参考。

1 仪器与材料

D101—S型磁力搅拌器,江苏省金坛市荣华仪器有限公司;JY92—II DN超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;BT—100恒流泵,上海沪西分析仪器厂有限公司;梅特勒-托利多

EL2046型电子天平,上海精天电子仪器有限公司;BS—1E恒温振荡培养箱,金坛市精达仪器制造厂;Malvern Mastersizer2000型激光粒度仪,英国Malvern公司;ZS90纳米粒度及Zeta电位仪,马尔文公司;UV3100紫外,天美科技有限公司;S3000扫描电子显微镜(SEM),日本Hitachi;Veco Multimode原子力显微镜(AFM),美国Veco公司;200PC热分析仪,德国Netzsch;YC—015A微型实验室有机溶剂喷雾干燥机,上海雅程仪器设备有限公司;MSAL XD—3型X射线衍射仪,北京普析通用仪器有限责任公司;两级玻璃撞击器(按《中国药典》2010年版附录XH的规格,自制);药粉吸入器,泰安凯瑞特高分子有限公司。

Cur(批号120513,质量分数>95%),杭州绿天生物科技有限公司;大豆磷脂(PC,批号120819,质量分数>90%),上海太伟药业有限公司;壳聚糖(CS,脱乙酰度93.2%,黏度112 mPa·s),金湖甲壳制品有限公司;3号空心胶囊,新仓县亚利大药丸有限公司;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 Cur的测定

参考文献方法^[14],采用分光光度法于420 nm处测定Cur的量。精密称取Cur 7.5 mg,甲醇定容至100 mL,得质量浓度为75 μg/mL的储备液。精密吸取1.0、0.5、0.25、0.1、0.05 mL储备液,用甲醇-0.1 mol/L盐酸(1:1)定容至10 mL,得不同质量浓度的Cur对照品溶液,420 nm处测定吸光度(A)值,计算回归方程。结果在0.375~7.5 μg/mL的范围内,Cur在420 nm的A值与质量浓度呈线性关系,回归方程为 $A=0.1599C+0.0087$, $r=0.9999$ 。

2.2 Cur磷脂复合物(Cur-PS)水分散液的制备及性质

参照文献方法^[15]制备Cur-PS水分散液并进行表征。将0.5 g Cur、1.0 g大豆磷脂溶于50 mL无水乙醇中,50℃水浴搅拌(1 000 r/min)5 h后匀速注入到2 000 mL纯水中,继续搅拌(1 000 r/min)30 min,即得。另取等量Cur,用50 mL无水乙醇溶解,匀速注入到2 000 mL纯水中,继续搅拌30 min,得Cur水分散液(作对照)。

分别取Cur-PS水分散液和Cur水分散液少许,点于云母片上,自然干燥后用AFM观察形态。将水分散液稀释后直接用纳米粒度及Zeta电位仪测定粒径和Zeta电位。4℃,30 000 r/min离心2 h,

取上清液测定游离药物量 (W_F)；另精密量取适量水分散液，甲醇稀释后测定药物总量 (W_T)。按下式计算复合率：复合率 = $(W_T - W_F) / W_T$ 。

Cur-PS 水分散液呈淡黄色乳光，室温放置 7 d 后外观无明显变化；Cur 水分散液放置 12 h 已有明

显的絮状物和沉淀生成。AFM 下 Cur-PS 呈良好的球形，分散均匀，而 Cur 水分散液可见大量杂物（图 1）。Cur-PS 的平均粒径为 (42.51 ± 8.05) nm ($n=3$)，平均 Zeta 电位为 (-13.37 ± 1.94) mV ($n=3$)，平均复合率为 $(90.27 \pm 2.04)\%$ ($n=3$)。

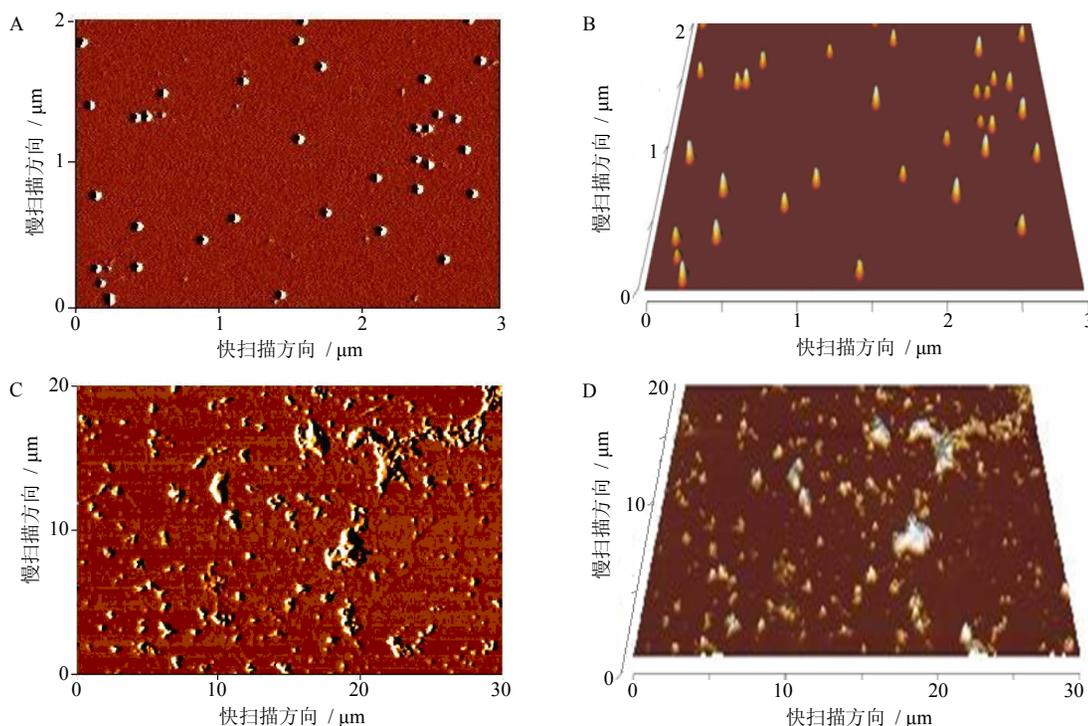


图 1 Cur-PS 分散液 (2 d, A; 3 d, B) 和 Cur 水分散液 (2 d, C; 3 d, D) 的 AFM 电镜图

Fig. 1 AFM electron micrographs of Cur-PS dispersion (2 d, A; 3 d, B) and Cur dispersion (2 d, C; 3 d, D)

2.3 Cur-PS-CMs 的制备

称取一定量的壳聚糖，用 200 mL 1% 的醋酸水溶液溶解，加入到 2 000 mL Cur-PS 水分散液中，混合均匀，搅拌条件下 (2 000 r/min) 以 1 mL/min 的速率滴加三聚磷酸钠 (TPP) 溶液，静置过夜，弃上清液后喷雾干燥，条件如下：进口温度为 140 °C，喷雾压力为 0.3 MPa，供液速度为 3 mL/min，风机频率为 20 Hz。工艺条件见表 1。

用 2 000 mL 同质量浓度的 Cur 水分散液代替 Cur-PS 水分散液，其余条件同 F7，同法制备 Cur-壳聚糖微球 (Cur-CMs)。

2.4 微球的评价

2.4.1 载药量 (DL) 取微球适量，精密称定质量 (W)，加混合溶剂 (甲醇-0.1 mol/L 盐酸 1 : 1) 30 mL，探头超声后用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，稀释一定倍数后于 420 nm 测定 A 值，计算 Cur 质量浓度 (ρ)，按下式计算 DL：DL = $\rho \times 30 \times$ 稀释倍数 / W 。

2.4.2 吸湿性 取一定量微球，精密称定质量 (W_0)，

表 1 Cur-PS-CMs 的工艺条件

Table 1 Technology of Cur-PS-CMs

处方编号	PC 与 CS 质量比	CS 与 TPP 质量比	TPP 的质量分数 / %
F1	1 : 1	1 : 1	3.0
F2	1 : 2	1 : 1	3.0
F3	1 : 3	1 : 1	3.0
F4	1 : 4	1 : 1	3.0
F5	1 : 5	1 : 1	3.0
F6	1 : 3	1 : 1	1.0
F7	1 : 3	2 : 1	1.0
F8	1 : 3	2 : 1	0.2
F9	1 : 3	2 : 1	3.0

放置于 25 °C、相对湿度为 75% 的饱和 NaCl 溶液中，平衡 7 d 后取出，精密称定微球质量 (W_1)，按下式计算吸湿率：吸湿率 = $(W_1 - W_0) / W_0$ 。

2.4.3 流动性 将微球粉末通过下孔径为 5 mm 的玻璃漏斗，从 6 cm 的高度缓慢、均匀地落入平板上，

形成圆锥体。测量圆锥体的高度 (h) 和基底的直径 (d), 按下式计算休止角 (θ): $\tan\theta=2 h/d^{[16]}$ 。

2.4.4 振实密度 (ρ_{tap}) 精密称取一定质量 (W) 微球置于封底的 1 mL 塑料注射器筒中, 将注射器从 5 cm 高度落下, 反复振实 500 次, 读取微球体积 (V), 按下式计算 ρ_{tap} : $\rho_{\text{tap}}=W/V^{[16-17]}$ 。

2.4.5 粒径及分布 激光粒度测定仪测定微球的平均体积径 (D_v)、 $d_{0.1}$ 、 $d_{0.5}$ 和 $d_{0.9}$, 按下式计算跨距 (span): $\text{span}=(d_{0.9}-d_{0.1})/d_{0.5}^{[18]}$ 。

2.4.6 理论的空气动力学径 按下式计算理论空气动力学粒径 (D_a): $D_a=(\rho_{\text{tap}}/\rho_0)^{1/2}\cdot D_v$, 其中 $\rho_0=1 \text{ g/cm}^3^{[16,18]}$ 。

2.4.7 体外沉积性质 按照《中国药典》2010 年版二部附录 XH 的方法进行。在一级沉积瓶 D 中, 加 7 mL 无水乙醇作为吸收液, 在二级沉积瓶 H 中加入 30 mL 无水乙醇作为吸收液。取胶囊 1 粒 (装药

20 mg 微球, 精密称定质量), 置吸入装置内, 吸入装置用适宜橡胶接口与模拟喉部 B 呈水平紧密相接, 用手指按压装置两侧按钮, 将胶囊刺破, 开启真空泵, 调节流量使其达到 60 L/min, 10 s 后取下吸入器。取出胶囊, 收集胶囊内的残留药物, 用甲醇-0.1 mol/L 盐酸 (1:1) 溶解并定容至一定体积, 测定 Cur 的量。用甲醇-0.1 mol/L 盐酸 (1:1) 分别淋洗吸入装置、模拟喉部、模拟颈部、1 级分布瓶和 2 级分布瓶 (包括导管内、外壁及垫片凸出物的表面), 洗液分别收集于一定体积的量瓶中, 超声并定容至刻度, 测定 Cur 的量。按下式计算有效部位沉积率 (FF) 和排空率 (ED): $\text{FF}=2 \text{ 级分布瓶的剂量/胶囊中的总药量}$, $\text{ED}=1-\text{胶囊中剩余的药量/胶囊中的总药量}^{[19]}$ 。

不同工艺条件制备的微球的性质考察见表 2, 体外沉积结果见表 3。由表 2、3 可知, 壳聚糖与磷

表 2 不同工艺条件制备的微球的性质 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Characteristic of microspheres prepared with different technologies ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	DL / %	吸湿率 / %	$\theta / (^{\circ})$	$\rho_{\text{tap}} / (\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$D_v / \mu\text{m}$	span	$D_a / \mu\text{m}$
F1	19.43±0.39	4.20±1.13	23.63±3.74	0.30±0.02	14.33±1.28	1.86±0.05	7.84±0.79
F2	13.10±0.15	6.19±0.45	35.22±3.74	0.44±0.03	8.88±1.21	1.92±0.09	5.89±1.11
F3	10.35±0.45	9.19±0.77	43.41±1.40	0.53±0.02	5.65±0.66	1.84±0.02	4.11±0.67
F4	6.83±0.05	19.33±1.54	43.03±3.91	0.59±0.02	5.84±0.80	2.08±0.12	4.48±1.06
F5	5.25±0.15	20.91±1.78	42.27±2.26	0.62±0.01	6.39±1.06	2.08±0.01	5.03±1.03
F6	11.43±0.75	10.48±0.97	42.61±2.94	0.49±0.03	5.80±1.02	2.04±0.08	4.06±0.78
F7	11.79±0.82	9.32±0.88	46.85±0.49	0.50±0.02	5.51±0.77	1.86±0.13	3.89±0.53
F8	11.85±1.74	9.49±0.64	48.09±3.41	0.50±0.01	6.19±0.75	2.47±0.11	4.37±0.83
F9	11.36±1.08	9.14±0.93	48.01±2.42	0.50±0.04	5.80±0.90	2.18±0.17	4.10±1.12
Cur-CMs	14.79±0.45	10.16±1.08	48.72±0.99	0.51±0.04	5.19±0.40	1.75±0.03	3.71±0.57

表 3 不同工艺条件制备的微球的体外沉积 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Deposition *in vitro* of microspheres prepared with different technologies ($\bar{x} \pm s, n=6$)

编号	2 级分布瓶 / mg	1 级分布瓶 / mg	模拟颈部 / mg	模拟喉部 / mg	吸入器和适配器 / mg	吸入后的胶囊 / mg	有效沉积率 / %	排空率 / %
F1	0.412 7±0.027 2	1.924 6±0.098 0	0.290 6±0.017 8	1.156 2±0.108 8	0.339 0±0.026 4	0.059 0±0.000 5	9.87±0.55	98.76±0.72
F2	0.699 0±0.058 1	0.487 0±0.035 0	0.185 0±0.029 9	0.532 2±0.010 0	0.635 0±0.054 6	0.090 3±0.000 8	26.59±1.74	97.11±0.97
F3	1.115 4±0.120 9	0.415 0±0.010 1	0.051 1±0.004 9	0.476 1±0.057 2	0.468 8±0.068 2	0.035 0±0.000 3	43.55±3.81	98.87±0.34
F4	0.485 1±0.003 1	0.165 2±0.023 6	0.064 1±0.001 9	0.173 8±0.014 1	0.317 3±0.043 5	0.014 3±0.000 1	39.77±0.31	98.76±0.24
F5	0.256 6±0.018 4	0.128 5±0.021 0	0.053 7±0.001 0	0.297 1±0.019 3	0.152 2±0.017 3	0.004 8±0.000 1	28.73±2.06	99.55±0.19
F6	1.492 7±0.113 2	0.272 0±0.007 5	0.034 8±0.001 6	0.149 6±0.004 6	0.847 1±0.044 5	0.116 8±0.001 0	51.24±3.48	95.57±0.76
F7	1.605 1±0.145 7	0.130 3±0.012 1	0.031 0±0.001 9	0.157 5±0.014 1	0.738 6±0.087 1	0.041 6±0.000 4	59.36±5.17	98.55±0.60
F8	1.306 2±0.120 7	0.295 0±0.010 5	0.020 5±0.006 0	0.128 3±0.015 7	0.924 8±0.074 7	0.151 5±0.001 7	46.21±3.73	95.52±1.16
F9	1.292 3±0.116 7	0.340 2±0.014 7	0.049 7±0.021 5	0.153 6±0.047 1	0.808 3±0.091 6	0.119 7±0.000 8	46.76±4.15	96.55±0.68
Cur-CMs	1.434 7±0.130 0	0.304 1±0.005 5	0.023 1±0.001 2	0.138 4±0.030 7	0.744 4±0.061 9	0.133 2±0.000 3	51.65±4.19	96.26±0.22

脂的比例对 Cur-PS-CMs 的性质有很大影响：增加壳聚糖的用量，DL 降低，吸湿性增强，流动性变差，平均体积径减小但振实密度增大，使理论空气动力学径先降后升。壳聚糖-磷脂为 3:1 时，理论空气动力学径最小，体外有效沉积率和有效沉积量最大。壳聚糖与 TPP 的质量比和 TPP 的浓度对 Cur-PS-CMs 的影响较小。不同工艺制备的微球排空率无明显差异，几乎都能全部从胶囊中排出。

2.5 微球的结构表征

2.5.1 差示扫描量热法 (DSC) 分析 分别对 Cur、空白磷脂复合物-壳聚糖微球 (PS-CMs)、Cur 原料药与空白磷脂复合物-壳聚糖微球的机械混合物 (Cur+PS-CMs)、Cur-PS-CMs (F7) 和 Cur-CMs 进行测试。工作条件：升温范围为 40~240 °C；升温速率为 10 °C/min；参比物为空铝坩埚；气氛为氮气 (质量分数为 99.99%)。结果见图 2。Cur 在 171.6 °C 时有明显的吸热峰，PS-CMs 在 90.9 °C 有 1 个宽峰；Cur+PS-CMs 图谱中，微球的宽峰移至 86.2 °C，Cur 的吸热峰移至 167.9 °C；Cur-CMs 分别在 89.4 °C 和 175.1 °C 显示出微球和 Cur 的吸热峰，说明 Cur 的存在状态与原料药相同；Cur-PS-CMs 无 Cur 的吸热峰，微球的宽峰迁移至 79.9 °C，说明，在 Cur-PS-CMs 中 Cur 仍以磷脂复合物的形式存在。

2.5.2 X 射线衍射 (XRD) 分析 测试样品同“2.5.1”项。工作条件：Cu 靶/石墨单色器，管压为 36V，

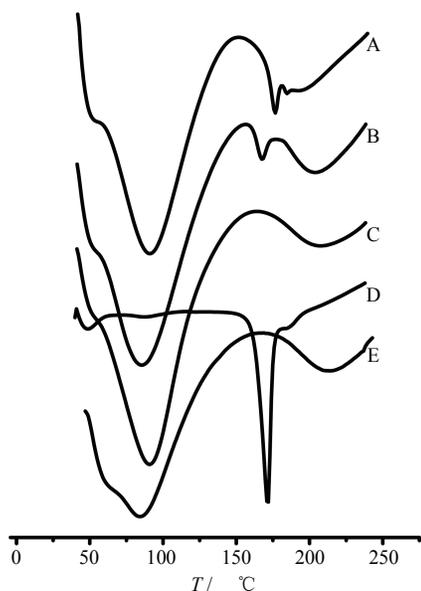


图 2 Cur-CMs (A)、Cur+PS-CMs (B)、PS-CMs (C)、Cur (D) 和 Cur-PS-CMs (E) 样品的 DSC 图谱
Fig. 2 DSC of Cur-CMs (A), Cur + PS-CMs (B), PS-CMs (C), curcumin (D), and Cur-PS-CMs (E)

管流为 20 mA，步宽为 0.01°，扫描速度为 2°/min，采样时间为 1 s，扫描范围为 5°~40°。各样品的 XRD 图谱见图 3。图 3 显示，Cur 在 8.9°、14.3°、17.3° 等处有多个特异性的结晶衍射峰；PS-CMs 和 Cur-PS-CMs 的 XRD 图谱无明显的晶型峰；Cur 与 PS-CMs 物理混合物的峰形为 2 种物质的叠加，Cur 在 8.9° 和 17.3° 的特征峰明显；Cur-CMs 也显示出 Cur 的多个特征衍射峰。可见，在 Cur-CMs 中，Cur 以原始的微晶形式存在；在 Cur-PS-CMs 中，Cur 仍与磷脂复合，未从复合物中解离出来。结果与 DSC 一致。

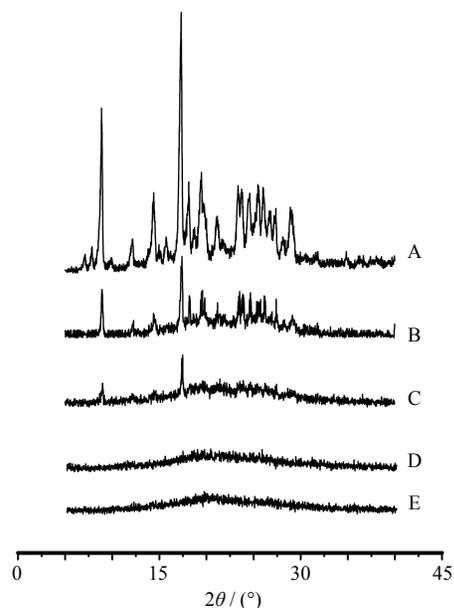


图 3 Cur (A)、Cur-CMs (B)、Cur+PS-CMs (C)、Cur-PS-CMs (D) 和 PS-CMs (E) 样品的 XRD 图谱
Fig. 3 XRD spectra of Cur (A), Cur-CMs (B), Cur + PS-CMs (C), Cur-PS-CMs (D), and PS-CMs (E)

2.5.3 扫描电子显微镜 (SEM) 观察 采用 SEM 观察 Cur-PS-CMs (F7) 和 Cur-CMs 的形态。结果可见，Cur-PS-CMs 为外形饱满，表面较光滑的球形，大小均匀；Cur-CMs 球形差，表面多褶皱、凹陷多 (图 4)。

3 讨论

本课题组前期已采用离子凝聚法 (滴入法、注入法) 和乳化交联法制备 Cur-PS-CMs，其粒径分别为 (1.11±0.08) mm、(16.19±4.91) μm 和 (77.48±19.37) μm^[13]，均不符合肺部给药的需求。本研究利用喷雾干燥法将磷脂复合物 (PS) 包载于壳聚糖微球 (CMs) 中，最终制备出了可用于吸入给药，将药物递送至肺部的干粉吸入剂。工艺研究发现，

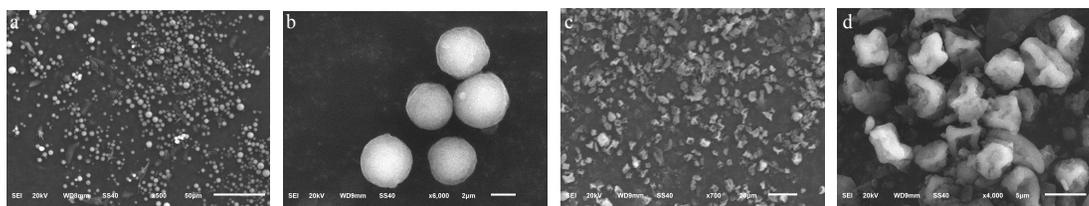


图4 Cur-PS-CMs ($\times 500$, a; $\times 6\,000$, b) 和 Cur-CMs ($\times 700$, c; $\times 4\,000$, d) 微球的 SEM 图

Fig. 4 SEM figures of Cur-PS-CMs ($\times 500$, a; $\times 6\,000$, b) and Cur-CMs ($\times 700$, c; $\times 4\,000$, d)

壳聚糖与磷脂的质量比是影响微球性质的主要因素。当壳聚糖-磷脂小于 1:1 时,壳聚糖太少,无法克服磷脂的半固体性质,因此收集瓶中难以收得干燥的细粉,样品均黏附于干燥塔壁上。当壳聚糖-磷脂为 1:1 时,收集瓶壁上有较多细粉出现,但用刷子收集时易聚集黏结成细小颗粒,使得测得的体积径较大,振实体积大而密度小,休止角小而流动性好。随着壳聚糖用量的增加,磷脂复合物壳聚糖微球 (PS-CMs) 的粉末性增强,体积径减小但振实密度增大,休止角增大,吸湿性增强。当壳聚糖-磷脂为 3:1 时, Cur-PS-CMs 具有较佳的载药量、吸湿性和理论的空气动力学径。

本研究采用《中国药典》2010 年版收载的 2 级玻璃撞击器对微球进行了初步的体外肺部沉积考察。研究结果显示,壳聚糖与磷脂的比例显著影响有效沉积率,3:1 时的有效沉积率明显高于其他比例,与理论空气动力学径的结果一致。此外,交联剂 TPP 的浓度也是影响体外沉积的一个重要因素,TPP 浓度过高或过低,都会导致有效沉积率降低。实验过程中发现,TPP 浓度为 3% 时,喷雾干燥前的 Cur-PS-CMs 粒径大,3 h 的沉降体积比约为 75%;浓度为 0.2% 时,沉降减慢,12 h 的沉降体积比仍高于 80%,说明喷干前的 2 种 Cur-PS-CMs 粒径差异明显。而粒度分析仪测得的 2 种 Cur-PS-CMs 粉末粒径差异却不大。分析原因,可能是由于用 0.2% 的 TPP 交联后制得 Cur-PS-CMs 粉末经过旋风分离器时,只有达到一定大小的粒子才能沉降于收集瓶中,其余粒径很小的粒子则随气流带走,这也与实验中观察到的收集瓶中产品明显减少的现象一致。

对比 Cur-CMs 和 Cur-PS-CMs 的性质发现,两者在吸湿性、休止角、振实密度方面无明显差异, Cur-CMs 的有效沉积率略小于 Cur-PS-CMs。分析其原因,可能与微球的形态有关。扫描电镜观察到 Cur-PS-CMs 具有良好的球形,表面光滑,而 Cur-CMs 表面多皱缩凹陷,球形差。良好的球形结构使其更

容易随气流分散,因而具有较好的沉积性。

欲达到利用磷脂复合物促进药物吸收的目的,磷脂复合物需从壳聚糖微球中完整的释放出来。DSC 和 XRD 证实,在 Cur-PS-CMs 中 Cur 不以原始的结晶形式存在,提示 Cur-PS 未发生解离,仍保持了复合状态,为复合物的完整释放提供了前提。本实验仅对 Cur-PS-CMs 的制备和体外沉积进行了研究, Cur-PS-CMs 的释药过程和机制,体内肺部沉积和吸收,肺靶向性评价等试验正在进行,将另文发表。

PS-CMs 成功构建的关键在于药物-磷脂复合物水分散液的制备。研究过程中,曾用冬凌草甲素做过比较。冬凌草甲素与磷脂在乙醇中可成功复合,但注入水中后复合物即发生解离。这是因为冬凌草甲素的羟基为醇羟基,与磷脂形成的分子间连接并不紧密,遇到较高介电常数的水迅速被隔开。Cur 的羟基为酚羟基,与磷脂产生的分子间氢键作用强,遇水后仍能稳定存在。PS-CMs 的成功构建有望为具有酚羟基或羧基等基团与磷脂紧密结合的、治疗肺部疾病的难溶性药物提供一种新的药物载体。

参考文献

- [1] 阎洲,裴元英. 紫杉醇肺靶向微球的制备及体内外评价 [J]. 中国临床药理学杂志, 2006, 15(4): 226-229.
- [2] Stegemann S, Kopp S, Borchard G, *et al.* Developing and advancing dry powder inhalation towards enhanced therapeutics [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 48(1/2): 181-194.
- [3] Roa W H, Azarmi S, Al-Hallak M H D K, *et al.* Inhalable nanoparticles, a non-invasive approach to treat lung cancer in a mouse model [J]. *J Control Rel*, 2011, 150(1): 49-55.
- [4] Zhang Y, Wang X L, Lin X, *et al.* High azithromycin loading powders for inhalation and their *in vivo* evaluation in rats [J]. *Int J Pharmaceut*, 2010, 395(1/2): 205-214.
- [5] 王守斌,王博,孙歆慧,等. 吸入制剂的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(2): 232-235.

- [6] Hirota K, Kawamoto T, Nakajima T, *et al.* Distribution and deposition of respirable PLGA microspheres in lung alveoli [J]. *Colloid Surf B: Biointerfaces*, 2013, 105C: 92-97.
- [7] Alipour S, Montaseri H, Tafaghodi M. Preparation and characterization of biodegradable paclitaxel loaded alginate microparticles for pulmonary delivery [J]. *Colloid Surf B: Biointerfaces*, 2010, 81(2): 521-529.
- [8] Jafarinejad S, Gilani K, Moazeni E, *et al.* Development of chitosan-based nanoparticles for pulmonary delivery of itraconazole as dry powder formulation [J]. *Powder Technol*, 2012, 222: 65-70.
- [9] Al-Qadi S, Grenha A, Remuñán-López C. Microspheres loaded with polysaccharide nanoparticles for pulmonary delivery: Preparation, structure and surface analysis [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 86(1): 25-34.
- [10] 周闻舞, 顾海铮. 壳聚糖微/纳米粒在定向给药系统中的应用研究 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(4): 290-295.
- [11] 岳秀, 蒋幼凡, 刘晓, 等. 姜黄素通过 Wnt 信号转导通路抑制肺癌细胞 A549 增殖的研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2008, 33(12): 1454-1457.
- [12] Shei L S, Lai K C, Hsu S C, *et al.* Curcumin inhibits the migration and invasion of human A549 lung cancer cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor (EGF) [J]. *Cancer Lett*, 2009, 285(2): 127-133.
- [13] Kunnumakkara A B, Anand P, Aggarwal B B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins [J]. *Cancer Lett*, 2008, 269(2): 199-225.
- [14] 唐勤, 孙晓辉, 陈豪, 等. 制备方法和工艺对姜黄素-磷脂复合物-壳聚糖微球体外性质的影响 [J]. *中草药*, 2012, 43(12): 2377-2385.
- [15] 张继芬, 唐勤, 莫婷, 等. 姜黄素磷脂载体的表征及肠吸收研究 [J]. *中国药学杂志*, 2012, 47(21): 1736-1740.
- [16] Nolan L M, Li J H, Tajber L, *et al.* Particle engineering of materials for oral inhalation by dry powder inhalers. II-sodium cromoglicate [J]. *Int J Pharm*, 2011, 405(1/2): 36-46.
- [17] Le V N P, Robins E, Flament M P. Agglomerate behaviour of fluticasone propionate within dry powder inhaler formulations [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 80(3): 596-603.
- [18] Kho K, Hadinoto K. Dry powder inhaler delivery of amorphous drug nanoparticles: Effects of the lactose carrier particle shape and size [J]. *Powder Technol*, 2013(233): 303-311.
- [19] 严翠霞, 江文明, 陈桂良, 等. 吸入粉雾剂粒径测定方法的评价: 3种撞击器的比较 [J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(7): 1296-1299.