

多西环素牙周缓释凝胶的配方筛选研究

郑怀宇^a, 谢静忠^b, 彭彩秀^a (浙江舟山医院, a. 药剂科, b. 口腔科, 浙江 舟山 316004)

摘要:目的 探索一种牙周缓释凝胶的最佳配方。方法 将聚乳酸-乙醇酸共聚物 (PLGA) 浓度、溶剂配比和多西环素浓度按三个水平作正交设计, 进行体外释放度试验, 以第 6 天的释放百分率和凝结时间的综合分为指标, 计算极差。结果 按极差大小, PLGA 浓度 > 溶剂配比 > 多西环素浓度, 最佳配方为 PLGA 浓度 15%, 1MP:GTA = 7:3, 多西环素浓度为 6%。结论 用正交设计进行配方筛选是一种较好的试验方法。

关键词:缓释凝胶; 聚乳酸-乙醇酸共聚物; 多西环素; 正交设计

中图分类号: R945; R944.9 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)06-0484-03

Formula Screening Study on Periodontal Sustained-release Gel with Doxycycline

ZHENG Huai-yu^a, XIE Jing-zhong^b, PENG Cai-xiu^a (a. Department of Pharmacy, b. Department of Stomatology, Zhoushan Hospital, Zhoushan 316004, China)

作者简介: 郑怀宇, 女, 主管药师 Tel: (0580) 2558421 E-mail: zhxy2@yzhoo.com.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore a best formula of sustained-released gel. **METHODS** Made an orthogonal design at 3 levels of 3 factors(concentration of PLGA, portion of solvent and concentration of doxycycline) to measure the concentration of doxycycline *in vitro*, calculated the range using the releasing rate on the sixth day and score of coagulate time as parameter. **RESULTS** According to the range, PLGA's concentration > solvent's portion > doxycycline's concentration, the best formula was: the concentration of PLGA80 : 20 = 15% (w/w), 1MP: GTA = 7: 3 and doxycycline concentration = 6 % (w/w). **CONCLUSION** It is a good screening method to find out the best formula by orthogonal design.

KEY WORDS: sustained-released gel; PLGA; doxycycline; orthogonal design

牙周炎是口腔临床上常见的疾病之一。多西环素能抑制基质金属蛋白酶的活性,对牙周炎有较好的治疗作用^[1-2],但全身用药不良反应较大,药物浓度持续时间短,缓释制剂能有效地解决这个问题。随着缓释制剂的降解,复合在其中的有效药物逐步释放,时间持续 7~10 d。本研究以聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)为缓释辅料,1-甲基-2-吡咯烷酮(1MP)和三乙酸甘油酯(GTA)为溶剂,多西环素为有效治疗药物,制备缓释凝胶^[3-4],并应用正交设计的方法,试图筛选出一种较佳配方。

1 仪器与试剂

UV754N紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)80:20(平均分子量 2.5 万左右,浙江医学科学院药物研究所合成室合成,批号:20020426);1-甲基-2-吡咯烷酮(1MP,国药化试上海有限公司批号:040226 CP);三乙酸甘油酯(GTA,上海永华精细化学品公司,批号:040613 CP);多西环素标准品(中国生物制品检定所批号:0485-9901含多西环素 86.0%)。

2 方法与结果

2.1 紫外分光光度测定多西环素浓度

2.1.1 波长选择 将多西环素标准品用蒸馏水配成浓度为 $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,以蒸馏水作空白对照,于 250~350 nm 的波长范围测定其吸收值,多西环素的最大吸收波长是 275 nm。

2.1.2 辅料干扰试验 取空白凝胶约 0.2 g 注入蒸馏水中,定容至 10 mL,以蒸馏水为空白对照,在 275 nm 波长下测定其吸收值,结果无吸收,选定 275 nm 为测定波长。

2.1.3 标准曲线的制备 精密称取多西环素标准品分别配成浓度分别为 4, 8, 12, 16, 20, 24 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的多西环素溶液,用紫外分光光度仪在 275 nm 波长下测定吸收值 A,得线性回归方程 $C = 32.6926A - 0.1601$,相关系数 $r = 0.9986$,线性范围 4~24 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.4 精密度的试验 精密称取多西环素标准品 40 mg,用蒸馏水配成浓度为 4, 12 和 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,以蒸馏水空白对照,于 275 nm 波长下测定吸收度,分别测定 6 次, RSD 分别为 0.18%, 0.17% 和 0.17%。

2.1.5 回收率试验 按高中低三个浓度水平制备 9%, 12% 和 15% PLGA 80:20 的空白凝胶,溶剂配比 1MP:GTA = 7:3,取空白凝胶约 240 mg,加入前精确计量,加入多西环素原料约 18 mg,置小烧杯中,加入 5 mL 三氯甲烷溶解,转至 25 mL 分液漏斗,加入 10 mL 蒸馏水萃取 4 次,取上层液体,置 50

mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,震荡,静置,取 2 mL 至 50 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释定容,依上法测定吸收度,连续测定 10 次,并根据回归方程计算回收率,平均回收率分别为 99.52%, 99.64% 和 99.12%。RSD 为 0.48%, 0.47% 和 0.51%。

2.2 凝胶剂制备及正交设计

2.2.1 凝胶的制备 取 1MP 和 GTA 按一定的配比如成混合溶剂,加入按不同浓度称重的 PLGA,静置,待完全溶解后加入多西环素,搅拌,漩涡震荡,避光保存,静置 24 h 后备用。

2.2.2 正交试验 采用 $L_3(3^3)$ 正交表,按正交试验表各处方量称定所需的 PLGA, 1MP, GTA 和多西环素量,制备 9 种制剂,取约 0.2 g 凝胶注入含有 10 mL 蒸馏水的烧杯中,测定凝胶凝结的时间,加盖,置 37 °C 恒温水浴箱中,定时搅拌,进行体外释放度试验,分别于注入后 2, 8 h, 1, 2, 3, 4, 5, 6 d 取溶液,蒸馏水稀释至合适浓度,用紫外分光光度法测定吸收度,根据回归方程计算该时间点的浓度,并计算释放率和累计释放率。将溶液全部倒尽,补充 10 mL 蒸馏水,放回水浴箱。以第 6 天的释放百分率和凝结时间为指标,将凝结时间进行量表转换,根据公式(综合分 = 释放分 \times 1 + 凝结分 \times 0.2)计算综合分^[5],计算极差的大小,筛选出最佳配方,结果见表 1, 2, 3。

表 1 PLGA80:20 的正交试验因素水平表

水平	A(PLGA 浓度)	B(1MP:GTA)	C(多西环素浓度)
1	9	6:4	6
2	12	7:3	9
3	15	8:2	12

表 2 PLGA80:20 凝胶在水中的凝结情况及转换表

Table 2 The coagulative time of PLGA gel in water and its transition value

试验号	凝结时间 /s	凝结分
1	30	5
2	11	3
3	9	2
4	5	1
5	20	4
6	11	3
7	48	1
8	45	2
9	40	3

表 3 PLGA80:20 凝胶的正交试验表

Tab 3 Release results of orthogonal test by PLGA80:20

实验号	A	B	C	累计释 放率 /%	释 放 率 / %	凝 结 分	综合 分
1	1	1	1	93.96	3.46	5	4.46
2	1	2	2	94.16	2.12	3	2.72
3	1	3	3	98.31	2.07	2	2.47
4	2	1	2	90.20	3.86	1	4.06
5	2	2	3	93.72	4.41	4	5.21
6	2	3	1	94.08	2.42	3	3.02
7	3	1	3	79.14	4.26	1	4.46
8	3	2	1	86.31	5.12	2	5.42
9	3	3	2	90.66	4.66	3	5.26
K1	9.65	12.98	12.90				
K2	12.29	13.35	12.04				
K3	15.14	10.75	12.14				
R	5.49	2.60	0.86				

最优处方为 $A_3B_2C_1$, 即 PLGA 浓度为 15%, 溶剂配比为 1MP:GTA=7:3, 多西环素浓度为 6%。

2.3 验证试验

按最优处方, 制备凝胶制剂 3 批, 分别取约 0.2 g 凝胶 6 份, 按对其进行体外释放大度试验, 结果 3 批凝胶的平均凝结时间和平均累计释放百分率分别为 42.3 s 和 86.06%, 见表 4。

表 4 多西环素缓释凝胶的体外释放大度表

Tab 4 Release of sustained-release-gel *in vitro*

时间 /h	平均释放大率 /%	时间 /h	平均释放大率 /%
2	37.11	72	7.12
8	10.35	96	6.32
24	8.33	120	4.88
48	6.67	144	5.28

3 讨论

正交试验是一种筛选制剂配方的较好的方法, 能有效地减少实验的次数而不影响结果, 通过对 PLGA80:20 凝胶的正交试验, 作者发现: 极差最大是 PLGA 浓度, 是影响制剂释放的最大因素, 其次是溶剂的配比, 影响最小的是多西环素浓度, 各 k 值基本相等, 说明多西环素的浓度对凝胶的释放影响很小, 第 6 天最低药物浓度为 $29.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 大大高于最低抑菌浓度 (MIC) $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[6], 所有制剂的累计释放百分率均超过 80%, 有的已几乎完全释放, 说明该制剂的释

药时间一般持续 7 d 以上。

本实验显示: PLGA 浓度和混合溶剂的配比对制剂的体外释放大度影响较大, 这是由于 PLGA 影响凝结后的骨架疏松程度, 浓度制成的凝胶遇水凝结后, 得到的骨架比较致密, 骨架内孔道较少, 不利于水的进入, 阻碍了有效药物的释放, 因此药物释放较慢^[4,7]。GTA 起到一种增塑剂的作用, 比重比较大, 它能够增加凝胶的黏稠度, 当遇水时, 凝胶收缩、凝聚, 使药物不易释放。而多西环素浓度对释放的影响不大^[8]。

REFERENCES

- [1] KIM T S, BURKLIN T, SCHACHER B, *et al*. Pharmacokinetic profile of a locally administered doxycycline gel in crevicular fluid, blood, and saliva [J]. J Periodontol, 2002, 73 (11): 1285-1291.
- [2] JOHNSON L R, STOLLER N H, POLSON A, *et al*. The effects of subgingival calculus on the clinical outcomes of locally-delivered controlled-release doxycycline compared to scaling and root planing [J]. J Clin Periodontol, 2002, 29 (2): 87-91.
- [3] ZHANG G D, YANG J Y, FENG X D, *et al*. Progress in study of polylactides [J]. Prog Chem (化学进展), 2000, 12 (1): 89-102.
- [4] ZHANG S, TAN Z Y, CHENG J M, *et al*. Evaluation of the *in vitro* release rate of doxycycline hyclate in the injectable gel delivery system [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2003, 12 (9): 731-734.
- [5] NI Y X. Discuss between Multiindex test formula and integrate compare [J]. Chin J Appl Prob Stat (应用概率统计), 1988, 4 (1): 85-88.
- [6] GONG Z, ZHOU S C, MA Y L, *et al*. Clinical usage of antibiotics (抗生素的临床应用) [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1985: 3, 125.
- [7] GRAYSON A C, VOSKERICIAN G, LYNN A, *et al*. Differential degradation rates *in vivo* and *in vitro* of biocompatible poly(lactic acid) and poly(glycolic acid) homo- and co-polymers for a polymeric drug-delivery microchip [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2004, 15 (10): 1281-304.
- [8] TRACY M A, WARD K L, FIROUZABADIAN L, *et al*. Factors affecting the degradation rate of poly(lactide-co-glycolide) microspheres *in vivo* and *in vitro* [J]. Biomaterials, 1999, 20 (11): 1057-1062.