

青蒿琥酯肠溶纤维的制备及体外释放研究

赵力赤, 蒋志敏, 梁能堂, 谭海新, 黎勇玲, 李迎迎* (桂林医学院药学院, 广西 桂林 541199)

摘要: 目的 制备青蒿琥酯肠溶纤维, 考察其体外释放行为。方法 以尤特奇 S100 和 L100-55 为聚合物基质, 添加一定量的青蒿琥酯, 通过静电纺丝方法制备得到一系列载有青蒿琥酯的尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART。以紫外-可见分光光度法测定青蒿琥酯含量, 计算 S100/ART 和 L100-55/ART 纤维的载药量和包封率, 用扫描电子显微镜、热重分析仪对其形貌、热稳定性进行表征, 用傅立叶变换红外光谱仪对药物在纤维载体中的状态进行表征, 用溶出度测定仪以桨法测定其体外药物释放度。结果 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 结构均一, 热稳定性良好, 载药量可控, 包封率高, 药物以非晶态分散在纤维中; 在 pH 1.2 人工胃液中释放的药物量较少, 而在 pH 6.8 人工肠液中释放出大部分药物。在 pH 1.2 环境下 S100/ART 比 L100-55/ART 释放出更少的青蒿琥酯, 在 pH 6.8 时释放出更多的青蒿琥酯。S100/ART 和 L100-55/ART 亦具有一定的青蒿琥酯缓释作用。结论 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 可以用作青蒿琥酯肠溶制剂, 作为青蒿琥酯肠溶纤维, S100/ART 比 L100-55/ART 效果更好。制备得到的青蒿琥酯肠溶纤维, 可以用于青蒿琥酯的肠道靶向递送和释放, 有望提高青蒿琥酯的口服生物利用度。

关键词: 青蒿琥酯; 肠溶纤维; 静电纺丝; 体外释放

中图分类号: R944.2+7

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)17-2049-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.17.001

引用本文: 赵力赤, 蒋志敏, 梁能堂, 等. 青蒿琥酯肠溶纤维的制备及体外释放研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(17): 2049-2056.

Study on Preparation and *in Vitro* Release of Artesunate-loaded Enteric Fibers

ZHAO Lichi, JIANG Zhimin, LIANG Nengtang, TAN Haixin, LI Yongling, LI Yingying* (School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare artesunate-loaded enteric fibers and investigate their release behavior *in vitro*. **METHODS** A series of artesunate-loaded Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART were prepared by electrospinning, with Eudragit S100 and L100-55 as the polymer matrix and adding artesunate. The content of artesunate was determined by UV-Vis spectrophotometry, and the drug loading and entrapment efficiency of fibers S100/ART and L100-55/ART were calculated. The morphology and thermal stability of the fibers were characterized by SEM and TG, respectively. The physical status of artesunate in fibers was determined by FTIR. The *in vitro* drug release of the fibers was investigated by the paddle method using a dissolution tester. **RESULTS** The drug-loaded Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART had uniform structures, good thermal stability, controllable drug loading, and high entrapment efficiency. Artesunate was dispersed in fibers in amorphous state. Small amount of the drug were released from these fibers in the simulated gastric fluid of pH 1.2, while in the simulated intestinal fluid of pH 6.8 most of the drug were released. Moreover, S100/ART released less artesunate at pH 1.2 and more at pH 6.8 than L100-55/ART. S100/ART and L100-55/ART could also achieve the sustained release of artesunate. **CONCLUSION** The drug-loaded Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART can be used as enteric formulations of artesunate, and the artesunate-loaded enteric fiber S100/ART has better performance than L100-55/ART. The fabricated artesunate-loaded enteric fibers can be applied to achieve intestinal-targeted delivery and release of artesunate, and hopefully improve the oral bioavailability of artesunate.

KEYWORDS: artesunate; enteric fibers; electrospinning; *in vitro* release

青蒿琥酯(artesunate, ART)是我国自主开发研制的具有倍半萜结构的青蒿素类抗疟特效药, 近年研究发现其对白血病、直肠结肠癌、口腔癌、

肺癌、胰腺癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、中枢神经系统肿瘤及肾癌细胞等都具有较强的抑制作用^[1-4], 美国国家癌症研究所已把其

基金项目: 国家自然科学基金项目(21563008)

作者简介: 赵力赤, 男, 硕士生 Tel: (0773)2303432

E-mail: 492419876@qq.com

*通信作者: 李迎迎, 女, 博士, 副教授

Tel:

(0773)2303432 E-mail: liyy1@163.com

纳入抗肿瘤药物筛选与抗肿瘤活性研究计划中。虽然 ART 的临床疗效确切、药理作用广泛,但由于水溶性差、半衰期短(30 min)^[5]、口服吸收差、结构不稳定(过氧键在体内易被破坏)^[6],且具有明显的首过效应和肝药酶诱导作用,导致其生物利用度低,需频繁给药,从而大大影响和限制了 ART 的临床应用。

为了增加水溶性,提高生物利用度,研究人员将 ART 制备成多种新剂型,如 ART 缓释固体分散体^[7]、ART 纳米粒^[8-10]、ART 聚乳酸微球^[11]、ART 纳米乳^[12]、ART 纳米脂质体^[13-14]、ART 脂质体粉雾剂^[15]、ART 自微乳^[16-17]等。这些制剂大多具有一定的缓释作用,能够在一定程度上改善 ART 的溶解性,延长药物的半衰期。然而,很多纳米载体在胃肠道中不稳定,例如唾液腺、胰腺会分泌脂肪酶水解脂质载体,使得部分药物提前释放造成泄漏,或对胃肠道造成伤害;胃液的酸性环境使得纳米载体容易聚集沉淀,影响黏膜对纳米载体的摄取和药物到达目标位置的释放^[18-19]。肠溶制剂可以很好地解决这一问题。肠溶载体在低 pH 值的环境中不溶或难溶,在高 pH 值的环境下溶解,能够避免或减少胃内酶类和胃酸对药物的破坏,减少药物对胃黏膜的刺激,将药物传递至肠道内指定部位,实现药物的靶向递送和释放,因此已成为药物制剂研究的热点之一。目前,常用的肠溶载体包括一系列对 pH 敏感的聚合物,如海藻酸钠、壳聚糖、甲基丙烯酸共聚物和甲基丙烯酸酯共聚物等。其中,尤特奇是一种甲基丙烯酸聚合物,已广泛应用于口服剂型的制备,包括作为片剂涂层或片剂基质以及制备用于胃肠道药物控释的微球和纳米粒^[20-23]。尤特奇 L100、L100-55 和 S100 专门设计用于靶向胃肠道下部,这些聚合物在低 pH 下不溶,分别仅在 pH 6.0、5.5 或 7.0 下溶解。

静电纺丝是利用聚合物制备纳米纤维的一种简便易行的技术。静电纺纳米纤维直径小、表面积大、孔隙率高,可以模拟天然的细胞外基质结构和生物功能,在生物医学领域引起了研究者的持续关注,在药物控释、创伤修复、生物组织工程等方面有很好的应用前景。静电纺尤特奇纳米纤维结合静电纺纳米纤维的优势和尤特奇的特点,可以作为肠溶纳米制剂的优良载体。近 10 年来,国内外学者采用静电纺丝技术,已成功得到了

负载双氯芬酸钠^[24-25]、酮洛芬^[26-27]、豆腐果苷^[28]、盐酸美贝维林^[29]、紫杉醇^[30]、硝苯地平^[31]、吡哆美辛^[32]、盐酸莫西沙星^[33]、扑尔敏^[34]等药物的尤特奇纳米纤维。这些静电纺载药尤特奇纳米纤维,能够使得相应药物在低 pH 时释放得很少,在高 pH 时持续、完全释放,从而可能实现药物的肠道靶向递送和释放。本研究中分别以尤特奇 L100-55 和尤特奇 S100 为聚合物基质,通过静电纺丝制备了一系列载有 ART 的尤特奇纤维-ART 肠溶纤维,对它们的载药量、包封率、形貌、热稳定性和药物在纤维载体中状态进行了测试和表征,并研究了它们的体外释放行为。

1 材料与方法

1.1 材料

甲基丙烯酸共聚物 B 型——尤特奇 S100 (Evonik Rohm GmbH, 批号: B160605004); 甲基丙烯酸共聚物 C 型——尤特奇 L100-55 (Evonik Rohm GmbH, 批号: B160803018); ART(含量: 98%; 上海阿拉丁试剂有限公司, 批号: G1524086); 甲醇(西陇化学试剂, 批号: 1901041)、无水乙醇(成都市科隆化学品有限公司, 批号: 1904272)、*N,N*-二甲基乙酰胺(广东省化学试剂工程技术研发中心, 批号: 180617)、磷酸氢二钾(上海阿拉丁试剂有限公司, 批号: 150609)、磷酸二氢钾(上海阿拉丁试剂有限公司, 批号: 140516)、浓盐酸(成都市科隆化学品有限公司, 批号: 1711291)和氢氧化钠(上海阿拉丁试剂有限公司批号: 171008)均为分析纯。

1.2 仪器

微孔滤膜(0.45 μm , 天津市津滕实验设备有限公司); UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津); S-4800 扫描电子显微镜(日本日立); IRPrestige-21 傅立叶变换红外光谱仪(FTIR, 日本岛津); STA 449 F1 热重分析仪(TG, 德国耐驰); SY-3D 溶出度测定仪(上海黄海药检仪器有限公司); SHZ-B 摇床(上海博迅实业有限公司); TG16-WS 高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 高压直流电源 DW-P303-1ACFO(天津东文高压电源股份有限公司); LSP01-1 注射泵(保定兰格恒流泵有限公司); BT224S 分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); DHG-9140A 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.3 ART 肠溶纤维的制备

将尤特奇 S100 溶于乙醇/*N,N*-二甲基乙酰胺 (5:1) 的混合有机溶剂中, 配成 15% 的溶液, 再向其中加入占总质量 8% 的 ART, 搅拌溶解制得纺丝液。纺丝液超声脱气 10 min 后进行静电纺丝, 在锡箔纸上收集纤维。静电纺丝条件如下: 直流电源电压 15 kV, 注射泵针头与收集板之间的距离为 15 cm, 供料速度 $1.2 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1}$, 针头内径 0.60 mm, 温度 30°C , 相对湿度 50%。将收集到的纤维, 于 30°C 真空干燥 48 h, 得到含 8% ART 的尤特奇 S100 纤维样品, 简称为 S100/ART8。改变 ART 的含量和尤特奇型号, 按照上述方法依次制备得到载药尤特奇纤维 S100/ART15、S100/ART25、L100-55/ART8、L100-55/ART15 和 L100-55/ART25。

1.4 ART 肠溶纤维的载药量和包封率的测定

1.4.1 ART 含量测定 精密称取一定量的 ART 对照品溶于甲醇, 配制成 $0.15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 ART 对照品溶液。分别精密量取 ART 对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6, 1.8, 2.0 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 挥干溶剂, 加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液稀释至刻度。将这些溶液于 83°C 水浴加热 1 h, 冷却后用紫外分光光度计测定, 记录最大吸收波长 238 nm 处的吸光度^[35]。以吸光度对浓度进行线性回归, 得回归方程为 $A=21.242C-0.0007$, 相关系数 $r=0.9998$, 浓度在 $0.003\sim 0.060 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

1.4.2 载药量和包封率的测定 取 2 mg 纤维膜, 加入 10 mL 无水乙醇, 超声溶解直至溶液澄清透明, 取 1 mL 上述溶液加 PBS 缓冲溶液稀释到一定倍数, 采用“1.4.1”项下方法测定 ART 含量, 计算各纤维的载药量和包封率。

1.5 ART 肠溶纤维的形貌表征

所有载药尤特奇纤维样品在真空下喷射镀金, 用扫描电子显微镜观察形貌, 以 15 kV 的激发电压拍摄照片。从电镜照片中随机选取 100 条纤维, 利用 Photoshop CS5 软件计算纤维直径, 取平均值即为载药纤维的直径。

1.6 ART 肠溶纤维的红外光谱表征

ART 采用 KBr 压片法, 尤特奇和载药尤特奇纤维样品取纤维膜, 用傅立叶变换红外光谱仪测定样品的红外光谱。

1.7 ART 肠溶纤维的热稳定性

用热重分析仪考察 ART、尤特奇 S100、尤特

奇 L100-55 和所有载药尤特奇纤维样品的热分解过程。升温速率 $10 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$, 温度范围 $30\sim 600^\circ\text{C}$ 。

1.8 药物体外释放研究

取一定量的载药纤维样品, 按中国药典 2015 年版通则 0931 溶出度与释放度测定法第二法浆法, 以 900 mL 人工胃液 (pH 1.2 的盐酸溶液) 或人工肠液 (pH 6.8 的磷酸盐缓冲溶液) 为释放介质, 温度 37°C , 转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 用溶出度测定仪进行药物体外释放试验。按照预定的时间间隔, 取出 2 mL 释放液并补充同体积同温度新鲜介质。取出的溶液通过微孔滤膜过滤后, 采用“1.4.1”项下方法测定 ART 含量, 计算累积释放百分率, 绘制药物流放曲线。所有测量试验平行进行 3 次, 取平均值为实验结果。

模拟人体环境中的药物释放: 取一定量样品放入 10 mL 离心管中, 加入 8 mL pH 1.2 的释放介质, 于摇床中振摇 2 h, 然后将释放介质更换为 pH 6.8 的 PBS 缓冲溶液, 继续振摇 5 h, 温度 37°C , 转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在预定时间点, 将离心管在高速离心机中 $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min, 沉淀未溶解的样品。从离心管中取出 2 mL 上清液, 补充 2 mL 新鲜释放介质。所取上清液用微孔滤膜过滤后按“1.4.1”项下方法测定 ART 含量, 计算累积释放百分率, 绘制药物流放曲线。所有测量试验平行进行 3 次, 取平均值为结果。

2 结果与讨论

2.1 ART 肠溶纤维的制备

利用静电纺丝技术制备载药纤维的关键因素是选择合适的溶剂, 所选溶剂要能够易于溶解药物, 并保证聚合物溶液有一定的导电性和可纺性。当使用乙醇作为溶剂时, 尤特奇和 ART 都可以溶解, 溶液可以被静电纺丝成纤维, 然而由于乙醇的蒸汽压力高, 静电纺丝得到的纤维总是具有相对较大的直径、不均一的结构和不平整的表面^[36]。加入适量高沸点溶剂 *N,N*-二甲基乙酰胺, 会使静电纺丝过程中射流保持较长时间的流体状态, 在电场下经受较长的拉伸时间, 从而得到直径小、结构更加均一的纤维。实验中经过多次尝试, 选用乙醇/*N,N*-二甲基乙酰胺 (5:1) 作为纺丝液溶剂。

2.2 ART 肠溶纤维的载药量和包封率

测定尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 的载药量和包封率, 结果见表 1。数据显示, 采用静电纺丝方法制备的尤特奇纤维 S100/ART 和

L100-55/ART, 其载药量均接近纺丝液中的药物含量, 都具有非常高的包封率, 说明药物在静电纺丝过程中损失较少, 基本被包裹和负载于纤维中。L100-55/ART 的载药量和包封率略优于 S100/ART, 说明静电纺 L100-55 纤维对 ART 的包裹效果更好, 这可能是聚合物分子质量不同导致的。尤特奇 L100-55 的分子量($\sim 320\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)比尤特奇 S100 的分子量($\sim 125\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)大近 2 倍, 聚合物分子质量越大, 高分子的链长越长, 链长的高分子与药物之间相互作用更强。随着 ART 添加量的增加, 尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-5/ART 的包封率有轻微下降, 这可能由于随着纺丝液中药物含量增加, 静电纺过程中会有少量药物提前析出, 这一点从高载药量纤维表面有少量药物聚集(图 1)也可以间接得到证实。

表 1 尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 的载药量和包封率

Tab. 1 Drug loading and entrapment efficiency of Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART

制剂	载药量/%	包封率/%
S100/ART8	7.5 $\pm$ 0.3	93.8
S100/ART15	13.8 $\pm$ 0.6	92.0
S100/ART25	21.1 $\pm$ 0.4	84.4
L100-55/ART8	7.7 $\pm$ 0.4	96.3
L100-55/ART15	14.2 $\pm$ 0.6	94.7
L100-55/ART25	22.5 $\pm$ 1.1	90.0

2.3 ART 肠溶纤维的形貌表征

使用尤特奇 S100 或尤特奇 L100-55 作为聚合物基质, ART 含量为 8%, 15%, 25% 时, 均得到了结构较为均一的纤维。所有载药纤维表面均比较光滑, 且纤维间无明显黏连, 但随着载药量增加, 含有 15%ART 的 L100-55/ART15 纤维表面有极少量的药物析出, 含有 25%ART 的 S100/ART25 和 L100-55/RT25 纤维表面观察到明显的药物析

出, 说明载药量较大时 ART 在尤特奇聚合物纤维中分散不均匀, 有聚集现象, 提示利用静电纺丝制备以尤特奇 S100 和 L100-55 为聚合物基质的 ART 肠溶纤维时, 最大载药量应 $<25\%$ 。载药尤特奇纤维 S100/ART8、S100/ART15、S100/ART25 以及 L100-55/ART8、L100-55/ART15、L100-55/RT25 的直径依次为 (2.14 ± 0.64) μm , (2.46 ± 0.55) μm , (2.32 ± 0.43) μm 和 (470 ± 166) nm , (431 ± 147) nm , (478 ± 162) nm 。S100/ART 纤维直径较大, 属于微米纤维, 而 L100-55/ART 纤维直径较小。L100-55/ART 纤维尺寸明显小于 S100/ART 纤维, 这是因为尤特奇 L100-55 的分子量较大, 高分子的链长较长, 容易缠结, 溶液黏度较大, 而相同静电纺丝条件下, 溶液黏度大, 得到的丝较细, 结果见图 1。

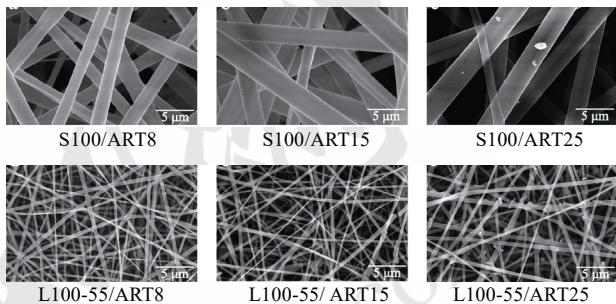


图 1 含有 ART 的尤特奇纤维电镜图

Fig. 1 SEM images of artesunate-loaded Eudragit fibers

2.4 ART 肠溶纤维的红外光谱表征

为了进一步分析 ART 在尤特奇聚合物纤维中的存在状态, 对所有载药尤特奇纤维样品进行红外光谱表征, 结果见图 2。ART 的红外特征吸收峰为 $1\,757\text{ cm}^{-1}$ (C=O)、 $1\,149\text{ cm}^{-1}$ (酯 C-O-C)和 $1\,006\text{ cm}^{-1}$ (醚 C-O-C); 尤特奇 S100 和尤特奇 L100-55 的红外特征吸收峰分别为 $1\,724\text{ cm}^{-1}$ (C=O)和 $1\,151\text{ cm}^{-1}$ (酯 C-O-C)、 $1\,728\text{ cm}^{-1}$ (C=O)和

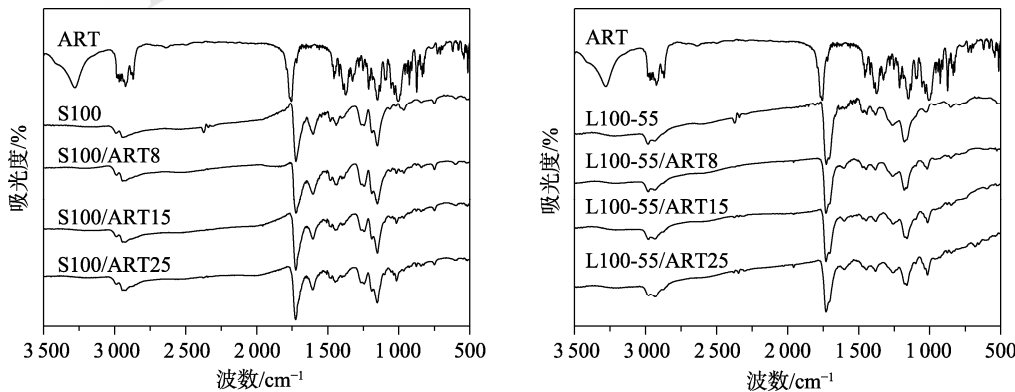


图 2 ART、尤特奇 S100、尤特奇 L100-55 和所有载药尤特奇纤维样品的红外光谱

Fig. 2 IR spectra of artesunate, Eudragit S100, Eudragit L100-55 and all drug-loaded Eudragit fibers

1 178 cm^{-1} (酯 C-O-C)。从图 2 可以看到, 含有 ART 的尤特奇纤维 S100/ART8、S100/ART15、S100/ART25、L100-55/ART8、L100-55/ART15 和 L100-55/ART25 样品的红外光谱中均未见明显的 ART 特征吸收峰, 说明 ART 以非晶态分散在尤特奇聚合物纤维中。

2.5 ART 肠溶纤维的热稳定性

ART、尤特奇 S100、尤特奇 L100-55 和所有载药尤特奇纤维样品的热重曲线见图 3。在 170 $^{\circ}\text{C}$ 之前, ART 的热重曲线基本为 1 条直线, 几乎没有发生任何失重变化, 之后开始分解。尤特奇 S100 的热重曲线有较为明显的 2 个失重过程: 第 1 个过程从 60 $^{\circ}\text{C}$ ~100 $^{\circ}\text{C}$, 是由脱水造成的少量失重(<5%); 第 2 个过程在 390~470 $^{\circ}\text{C}$ 之间, 是聚合物分解对应的失重, 约为 85%。尤特奇 L100-55 的热分解过程与尤特奇 S100 类似, 70~105 $^{\circ}\text{C}$ 为脱水失重, 260~450 $^{\circ}\text{C}$ 是主要的链分解过程。这些数据与文献报道的基本一致^[37-38]。载药尤特奇纤维 S100/ART 的热重曲线显示出 3 个明显变化的阶段: 60~95 $^{\circ}\text{C}$, 180~310 $^{\circ}\text{C}$ 和 380~470 $^{\circ}\text{C}$ 。与 ART 和尤特奇 S100 的热重曲线比较可以得知, 第 1 阶段和第 3 阶段对应为尤特奇 S100 的脱水和分解, 第 2 阶段随着 ART 含量增加愈发明显, 属于 ART 的热分解过程。载药尤特奇纤维 L100-55/ART 的热重曲线也有相似的 3 个阶段, 第 1 阶段和第 3 阶段表现为尤特奇 L100-55 的热分解特征, 第 2 阶段是 ART 的热分解。载药尤特奇纤维样品的失重数据表明, 所有 ART 肠溶纤维都具有良好的热稳定性, 相比之下, S100/ART 的热稳定性更好。

2.6 药物体外释放

以 pH 1.2 的盐酸溶液模拟人工胃液, 对载药

尤特奇纤维的药物释放进行了研究, 绘制了释放曲线, 结果见图 4a、4b。载药尤特奇纤维的 ART 释放曲线均经历早期短时间内(30~40 min)的突释和后期较长时间的缓慢释放, 最终到达平台。6 h 时, 载药尤特奇纤维 S100/ART8、S100/ART15 和 S100/ART25 的 ART 累积释放量(百分比)分别为 17.0%, 19.2%和 21.3%, L100-55/ART8、L100-55/ART15 和 L100-55/ART25 的 ART 累积释放量(百分比)分别为 42.2%, 45.7%和 47.4%, ART 释放百分比均随着载药量增加而略有升高。释放数据显示, 在尤特奇 S100 和 L100-55 均不溶解的 pH 1.2 酸性溶液中, 仍有少量药物从静电纺聚合物纤维中释放出来, 这种现象文献中已有报道^[39], 原因可能有 2 个方面。第一, 当载药尤特奇纤维与溶液接触时, 纤维表面的药物会快速溶解(突释); 第二, 聚合物溶胀和水渗透进入纤维内部, 导致少量内部药物溶出(缓慢释放)。L100-55/ART 纤维的 ART 释放百分比是 S100/ART 纤维的 2 倍以上, 这是因为前者纤维更细, 比表面积更大, 纤维表面的药物含量更高。

载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 在 pH 6.8 人工肠液中的药物释放曲线也表现为 1 个较短时间内的突释过程和 1 个较长时间的缓慢释放过程, 结果见图 4c、4d。短时间内的 ART 突释来自 2 个方面: 纤维表面药物的快速溶解和尤特奇载体溶解引起内部药物的释放; 缓慢释放源于尤特奇载体和药物的溶解。与在 pH 1.2 酸性溶液中的释放行为不同的是, 由于尤特奇 S100 和 L100-55 在 pH 6.8 溶液中溶解, ART 在 6 h 内释放量(百分比)显著增加, 结果见表 2, 25%载药量的纤维 S100/ART25 和 L100-55/ART25, 药物累积释放量接近 100%。

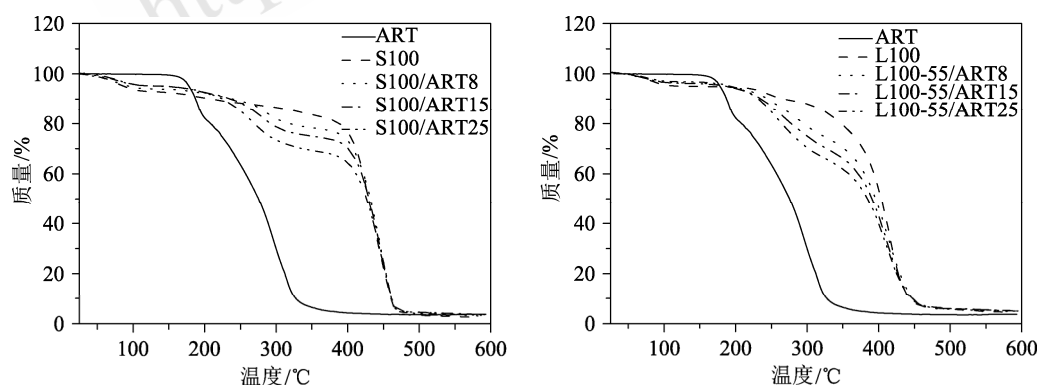


图 3 ART、尤特奇 S100、尤特奇 L100-55 和所有载药尤特奇纤维样品的热重曲线

Fig. 3 Thermogravimetric curves of artesunate, Eudragit S100, Eudragit L100-55 and all drug-loaded Eudragit fibers

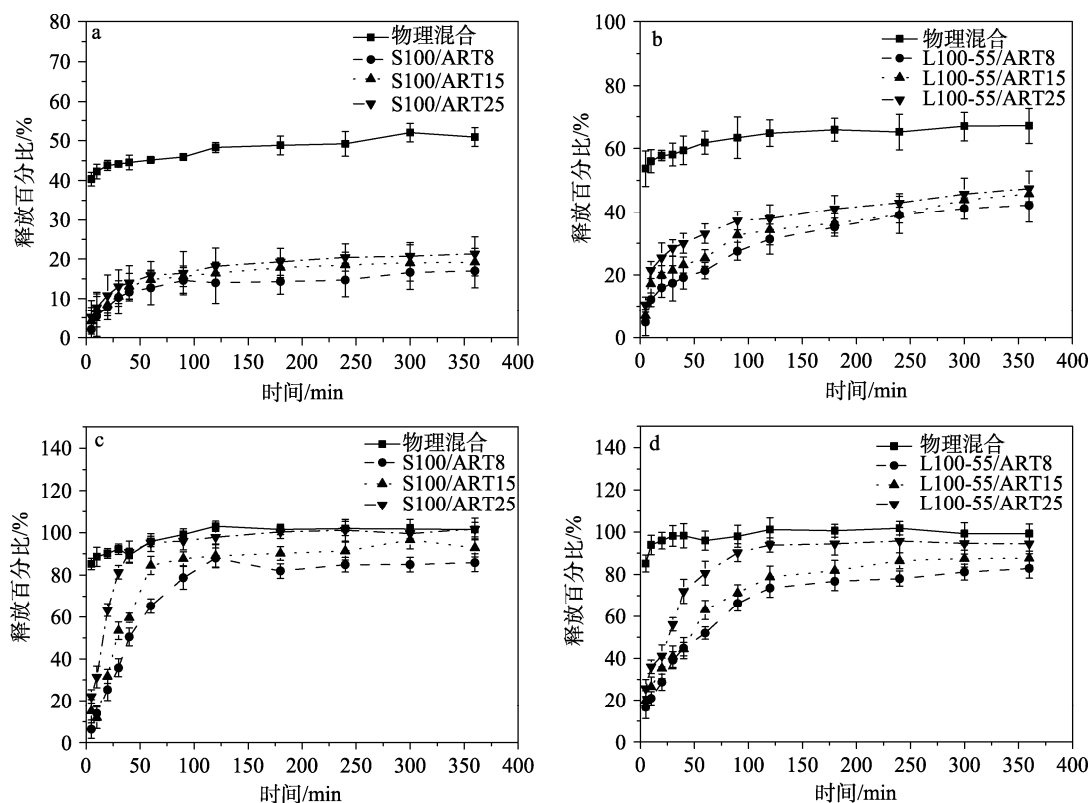


图4 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART, 以及物理混合物(15%ART)在 pH 1.2 和 pH 6.8 溶液中的药物释放曲线
a, b-pH 1.2; c, d-pH 6.8。

Fig. 4 Cumulative drug release profiles of drug-loaded Eudragit fibers S100/ART, L100-55/ART and the physical mixtures (15% artesunate) in solutions of pH 1.2 and pH 6.8
a, b-pH 1.2; c, d-pH 6.8.

表2 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 的 ART 释放量(6 h)

Tab. 2 Release amount of artesunate(6 h) from drug-loaded Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART

制剂	释放量/%	
	pH 1.2	pH 6.8
S100/ART8	17.0	85.8
S100/ART15	19.2	92.8
S100/ART25	21.3	101.9
L100-55/ART8	42.2	82.8
L100-55/ART15	45.7	87.6
L100-55/ART25	47.4	94.4

ART 与尤特奇 S100、L100-55 的物理混合物 (ART 含量为 15%) 的药物释放曲线见图 4。在人工胃液和人工肠液中, 2 个物理混合物的药物释放均在短时间(10 min)内到达平台。在 pH 1.2 的溶液中, 2 个物理混合物的 ART 释放量均远高于相应载药纤维(S100/ART15 和 L100-55/ART15); 在 pH 6.8 的溶液中, 物理混合物的药物释放量仍然高于相应载药纤维, 但二者的差距不是很大。同时, 从释放曲线也可以看出, S100/ART 和 L100-55/ART 具有一定的 ART 缓释作用。上述药物释放结果表

明, 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 可以用作肠溶缓释制剂, 实现 ART 的肠道靶向递送和释放, 提高 ART 的口服生物利用度。

口服给药时药物先经过胃再到肠道, 因此本研究测定了载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 依次在 pH 1.2 和 pH 6.8 溶液中的 ART 释放, 以模拟人体环境中的药物释放过程, 相应的释放曲线见图 5。载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 在 pH 1.2 溶液中均有少量药物释放, 之后在 pH 6.8 溶液中药物释放量因载体溶解而迅速增加。对比图 5 中载药纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 的药物释放曲线可以看出, S100/ART 在 pH 1.2 溶液中 2 h 内 ART 释放量比 L100-55/ART 少, 在 pH 6.8 溶液中的时间段内 ART 释放量则比 L100-55/ART 多, 表明 S100/ART 作为 ART 肠溶纤维效果更好, 能够实现 ART 在胃液环境中释放量很少(<12.7%), 大部分都在肠液环境中释放。

本研究也考察了在 pH 1.2 溶液中浸泡 2 h 后载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 的形貌变化。载药量 15% 的纤维样品 S100/ART15 和

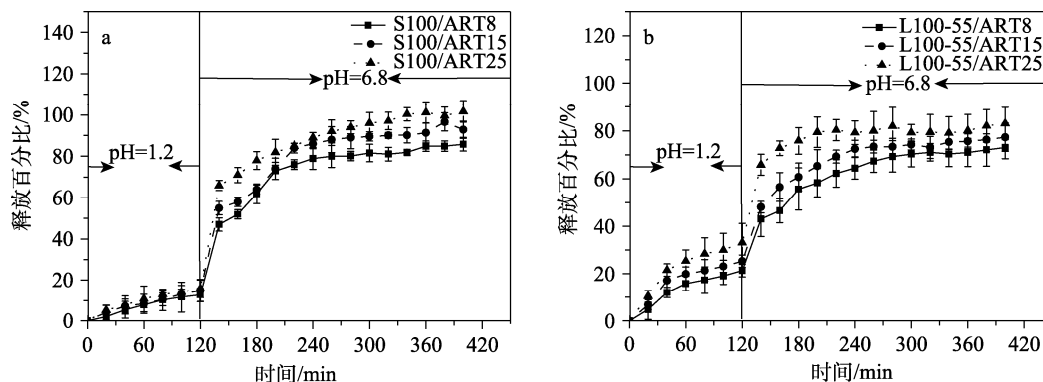


图5 载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 在模拟人体环境中的药物释放曲线

a-S100/ART; b-L100-55/ART.

Fig. 5 Cumulative drug release profiles of drug-loaded Eudragit fibers S100/ART and L100-55/ART in the case of simulated human body environment

a-S100/ART; b-L100-55/ART.

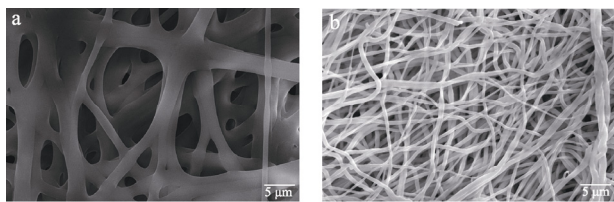


图6 载药尤特奇纤维 S100/ART15 和 L100-55/ART15 在 pH 1.2 溶液中浸泡 2 h 后的电镜照片

a-S100/ART15; b-L100-55/ART15.

Fig. 6 SEM images of drug-loaded Eudragit fibers S100/ART15 and L100-55/ART15 after immersed in the solution of pH 1.2 for 2 h

a-S100/ART15; b-L100-55/ART15.

L100-55/ART15 在酸性溶液中浸泡 2 h 后的电镜照片见图 6。可以看出,在酸性溶液中浸泡 2 h 后样品的微观形貌基本保持不变,仍然呈现为微米纤维 (S100/ART15) 和纳米纤维 (L100-55/ART15),只是纤维尺寸略有增加,纤维间有黏连,这是高分子溶胀造成的。这些结果进一步表明,载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 可作 ART 肠溶制剂,实现药物的肠道靶向递送和释放。

3 结论

利用静电纺丝技术,以尤特奇 S100 和 L100-55 为聚合物基质,制备了含有 ART 的载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART。这些载药纤维结构均一,纤维表面光滑,纤维间无明显黏连,热稳定性良好,载药量可控,包封率高,ART 以非晶态分散在纤维中。体外释放数据显示,载药尤特奇纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 在 pH 1.2 溶液中药物释放量较少,在 pH 6.8 溶液中药物释放量显著增加,大部分药物释放出来,表明静电纺纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 可以用作 ART 肠溶

制剂,实现 ART 的肠道靶向递送和释放。模拟人体环境中的药物释放研究表明,S100/ART 用作 ART 肠溶纤维,效果更佳。肠溶纤维 S100/ART 和 L100-55/ART 亦具有一定的药物缓释作用,有望提高 ART 的口服生物利用度。

REFERENCES

- [1] EFFERTH T, SAUERBREY A, OLBRICH A, et al. Molecular modes of action of artesunate in tumor cell lines [J]. Mol Pharmacol, 2003, 64(2): 382-394.
- [2] JIN M H, SHEN X S, ZHAO C X, et al. Anti-hepatoma effect of artesunate nano-liposomes and the relationship with the drug content in the liver [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2012, 23(7): 1647-1649.
- [3] YANG X P, PAN Q C, LIANG Y J, et al. Study on antitumor effect of sodium artesunate [J]. Chin J Cancer(癌症), 1997, 16(3): 186-187.
- [4] MAO Q F, WANG H, CHEN H L, et al. Artesunate enhances the anti-tumor effect of gemcitabine on pancreatic cancer [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(8): 924-929.
- [5] SHEN X S, WANG T, JIN M H, et al. Microcalorimetric studies of the effects of artesunate liposomes on the metabolism of *Escherichia coli* during growth [J]. J Therm Anal Calorim, 2012, 107(3): 1307-1313.
- [6] CHINAEKE E E, CHIME S A, OGBONNA J D N, et al. Evaluation of dika wax-soybean oil-based artesunate-loaded lipospheres: *In vitro-in vivo* correlation studies [J]. J Microencapsul, 2014, 31(8): 796-804.
- [7] 黄兰芷, 赵志强, 衡林森, 等. 青蒿琥酯缓释固体分散体的制备及体外溶出度研究 [J]. 中成药, 2010, 32(10): 1702-1704.
- [8] XING Z J, LI X, TAO T. Preparation of artesunate nanoparticles and its *in vitro* cell inhibition test [J]. China Pharm(中国药房), 2011, 22(25): 2357-2360.
- [9] CHEN Z G, KANG X X, WU Y X, et al. A mitochondria targeting artesunate prodrug-loaded nanoparticle exerting anticancer activity via iron-mediated generation of the reactive oxygen species [J]. Chem Commun, 2019, 55(33): 4781-4784.

- [10] MASIIWA W L, GADAGA L L. Intestinal permeability of artesunate-loaded solid lipid nanoparticles using the everted gut method [J]. *J Drug Deliv*, 2018(2018): 3021738.
- [11] PAN X W, ZHUANG R X, SHAO Y D, et al. Preparation and characteristics study of artesunate polylactic acid microspheres [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊)*, 2014, 32(7): 1760-1762.
- [12] 胡宏伟, 刘根新, 王婧, 等. 青蒿琥酯纳米乳注射液的研制与质量安全性评价[J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(20): 1780-1782.
- [13] 沈雪松, 徐伟, 金美华, 等. 青蒿素类纳米脂质体在大鼠体内的药动学研究[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(2): 384-386.
- [14] HU C, LIANG K, AN R, et al. The characterization, pharmacokinetic, and tissue distribution studies of TPGS-modified artesunate liposome in rats [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2018, 44(9): 1528-1535.
- [15] HU Y Z, LI M, ZHANG T T, et al. Preparation of liposomal artesunate dry powder inhalers and the effect on the acute lung injury of rats [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2016, 51(12): 1906-1912.
- [16] XI J J, ZHANG J K, PAN X W, et al. Pharmacokinetics of artesunate self-microemulsion in rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2017, 34(3): 385-389.
- [17] PAN J M, XI J J, ZHANG J K, et al. Protective effect and mechanism of artesunate self-microemulsions on NAFLD rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2018, 35(11): 1680-1683.
- [18] THANKI K, GANGWAL R P, SANGAMWAR A T, et al. Oral delivery of anticancer drugs: Challenges and opportunities [J]. *J Control Release*, 2013, 170(1): 15-40.
- [19] FATHI H A, ALLAM A, ELSABAHY M, et al. Nanostructured lipid carriers for improved oral delivery and prolonged antihyperlipidemic effect of simvastatin [J]. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 2018(162): 236-245.
- [20] KRISHNAIAH Y S R, SATYANARAYANA V, DINESH KUMAR B, et al. *In vitro* drug release studies on guar gum-based colon targeted oral drug delivery systems of 5-fluorouracil [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2002, 16(3): 185-192.
- [21] MOMOH M A, KENECHUKWU F C, NNAMANI P O, et al. Influence of magnesium stearate on the physicochemical and pharmacodynamic characteristics of insulin-loaded Eudragit entrapped mucoadhesive microspheres [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(6): 837-848.
- [22] VARSHOSAZ J, MINAIYAN M, KHALEGHI N. Eudragit nanoparticles loaded with silybin: A detailed study of preparation, freeze-drying condition and *in vitro/in vivo* evaluation [J]. *J Microencapsul*, 2015, 32(3): 211-223.
- [23] DAI J D, WANG X Q, ZHANG T, et al. Preparation of cyclosporine A pH sensitive nanoparticles and oral pharmacokinetics in rats [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2004, 39(12): 1023-1027.
- [24] SHEN X X, YU D G, ZHU L M, et al. Electrospun diclofenac sodium loaded Eudragit® L100-55 nanofibers for colon-targeted drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2011, 408(1/2): 200-207.
- [25] YU D G, XU Y, LI Z, et al. Coaxial electrospinning with mixed solvents: From flat to round eudragit L100 nanofibers for better colon-targeted sustained drug release profiles [J]. *J Nanomater*, 2014(2014): 1-8.
- [26] YU D, WILLIAMS G R, WANG X, et al. Dual drug release nanocomposites prepared using a combination of electrospraying and electrospinning [J]. *RSC Adv*, 2013, 3(14): 4652-4658.
- [27] REDA R I, WEN M M, EL-KAMEL A H. Ketoprofen-loaded Eudragit electrospun nanofibers for the treatment of oral mucositis [J]. *Int J Nanomed*, 2017(12): 2335-2351.
- [28] YU D, LIU F, CUI L, et al. Coaxial electrospinning using a concentric Teflon spinneret to prepare biphasic-release nanofibers of helcid [J]. *RSC Adv*, 2013, 3(39): 17775-17783.
- [29] ILLANGAKOON U E, NAZIR T, WILLIAMS G R, et al. Mebeverine-loaded electrospun nanofibers: Physicochemical characterization and dissolution studies [J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103(1): 283-292.
- [30] AGUILAR L E, UNNITHAN A R, AMARJARGAL A, et al. Electrospun polyurethane/Eudragit® L100-55 composite mats for the pH dependent release of paclitaxel on duodenal stent cover application [J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(1): 1-8.
- [31] HAMORI M, YOSHIMATSU S, HUKUCHI Y, et al. Preparation and pharmaceutical evaluation of nano-fiber matrix supported drug delivery system using the solvent-based electrospinning method [J]. *Int J Pharm*, 2014, 464(1/2): 243-251.
- [32] JIA D, GAO Y S, WILLIAMS G R. Core/shell poly(ethylene oxide)/Eudragit fibers for site-specific release [J]. *Int J Pharm*, 2017, 523(1): 376-385.
- [33] GIRAM P S, SHITOLE A, NANDE S S, et al. Fast dissolving moxifloxacin hydrochloride antibiotic drug from electrospun Eudragit L-100 nonwoven nanofibrous Mats [J]. *Mater Sci Eng: C*, 2018(92): 526-539.
- [34] ABDELHAKIM H E, COUPE A, TULEU C, et al. Electrospinning optimization of eudragit E PO with and without chlorpheniramine maleate using a design of experiment approach [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(6): 2557-2568.
- [35] HOU H X, ZHOU L L, LI R. Studies of ultraviolet assay for artesunate [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理)*, 2000, 11(2): 113-115.
- [36] PORNOPONE V, SUPAPHOL P, RANGKUPAN R, et al. Electrospinning of methacrylate-based copolymers: Effects of solution concentration and applied electrical potential on morphological appearance of as-spun fibers [J]. *Polym Eng Sci*, 2005, 45(8): 1073-1080.
- [37] SILVA A E, OLIVEIRA E E, GOMES M C, et al. Producing xylan/eudragit(r) s100-based microparticles by chemical and physico-mechanical approaches as carriers for 5-aminosalicylic acid [J]. *J Microencapsul*, 2013, 30(8): 787-795.
- [38] DINUNZIO J C, BROUGH C, MILLER D A, et al. Applications of KinetiSol® Dispersing for the production of plasticizer free amorphous solid dispersions [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 40(3): 179-187.
- [39] ILLANGAKOON U E, YU D G, AHMAD B S, et al. 5-Fluorouracil loaded eudragit fibers prepared by electrospinning [J]. *Int J Pharm*, 2015, 495(2): 895-902.

收稿日期: 2019-11-22
(本文责编: 蔡珊珊)