

# · 研究论文 ·

## 不同方法制备可吸入乳糖颗粒的评价

陈芳<sup>①</sup> 邹红霞<sup>②</sup> 程洪亮<sup>②</sup> 李京京<sup>②</sup> 刘秋焕<sup>②</sup> 王静<sup>②</sup> 陆兵<sup>②</sup>

**[摘要]** 目的 筛选确定可吸入乳糖颗粒的制备方法和工艺。方法 采用筛分法、研磨法、重结晶法、冷冻干燥法、喷雾干燥法制备乳糖颗粒,以所制得颗粒的粒径大小和形态以及含水量为主要评价指标,考察处方和工艺因素对颗粒特性的影响,筛选出可吸入颗粒的制备方法和工艺。结果 采用优化的喷雾干燥法可获得平均粒径 5.0  $\mu\text{m}$  以下的球形颗粒,适合于吸入给药;其他方法所获得颗粒平均粒径大、形状不规则,用于吸入给药需要进一步处理。结论 喷雾干燥法的优化工艺可用于制备理想的可吸入颗粒。

**[关键词]** 可吸入颗粒;制备;喷雾干燥

**[中图分类号]** R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2012)01-006-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1008-9926.2012.01.02

### Evaluation of Inhalable Lactose Particles Prepared by Different Methods

CHEN Fang<sup>①</sup> ZOU Hong-xia<sup>②</sup> CHENG Hong-liang<sup>②</sup> LI Jing-jing<sup>②</sup> LIU Qiu-huan<sup>②</sup> WANG Jing<sup>②</sup> LU Bing<sup>②</sup>

<sup>①</sup>Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

<sup>②</sup>Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

**[Abstract]** **Objective** To select and establish a method and process of preparing inhalable particles. **Methods** The lactose particles were prepared by such methods as sieving, grinding, re-crystallization, freeze drying, spray drying. The particle size and morphology and water content were chosen as the main evaluation indexes to investigate the effect of formulation and process. **Results** The particles prepared by optimized spray drying process were spherical with an average particle size less than 5.0  $\mu\text{m}$ , which were suitable for inhalation. All the other methods prepared irregular particles of a larger average size, which had to be further processed for inhalation. **Conclusion** The optimized spray drying method can be used for preparation of ideal inhalable particles.

**[Key words]** inhalable particles; preparation; spray drying

干粉吸入剂(dry powder inhalation, DPI)最早是用于肺部疾病如哮喘、肺部感染性疾病和慢性阻塞性肺病等的治疗,已经得到市场的广泛接受<sup>[1-3]</sup>。近年来,DPI用于肺结核、糖尿病、病毒性感冒、肺部感染和骨质疏松等全身性治疗的报道越来越多,递送的药物也由化学药扩展到生物药物(肽和蛋白质)<sup>[4,5]</sup>。作为干粉吸入剂,颗粒的大小及形态是影响肺部吸入给药的关键,大于 8  $\mu\text{m}$  的颗粒会因惯

性撞击沉积于口咽部,小于 0.5  $\mu\text{m}$  的颗粒则可能随气体呼出。只有空气动力学直径( $D_{ae}$ )为 1 ~ 5  $\mu\text{m}$  的药物颗粒可有效沉积在深层肺部从而发挥药效<sup>[6,7]</sup>,也有不同的文献将直径为 1.0 ~ 6.0  $\mu\text{m}$ 、小于 7  $\mu\text{m}$  以及 0.5 ~ 8.0  $\mu\text{m}$  的颗粒定义为“可吸入粒子”<sup>[8]</sup>。总之,DPI 中药物粒子的大小应控制在 10  $\mu\text{m}$  以下,其中大多数应在 5  $\mu\text{m}$  以下<sup>[9]</sup>。颗粒因微粉化技术不同、原料不同,形态各异,有球形、针形、枝状、多角形和片状等,常常不规则。粒子形态不规则或偏离球形较远时会显著影响气流动力学行为,一般认为球形的粒子气雾性最佳<sup>[10]</sup>。

乳糖对呼吸道刺激性小,肺部不良反应较少,含水量低,价格低廉,是最为常用的一种吸入给药制剂载体<sup>[11]</sup>。本文以乳糖为原料,采用筛分法、手工研磨法、机械粉碎法、重结晶法、冷冻干燥法、喷雾干燥法等不同方法来制备颗粒物,以颗粒大小、形态和含

基金项目:“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”“十一五”科技重大专项资助, No. 2008ZX10003-016 “重大新药创制”“十一五”科技重大专项资助, No. 2009ZX09301-002

作者简介:陈芳,硕士。研究方向:药物新剂型研究。Tel: (010) 66948885; E-mail: lvxianingmeng@163.com

作者单位:① 530021 广西南宁 广西医科大学;② 100071 北京,军事医学科学院生物工程研究所

通讯作者:陆兵, Tel: (010) 66948891; E-mail: lubing1025@gmail.com

水量等颗粒特性为指标对各制备方法进行优化,筛选可吸入颗粒的制备方法。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器** 3400N 扫描电子显微镜(日本日立株式会社); B-90 纳米级喷雾干燥仪(瑞士 Büchi Labortechnik AG); BS150S、BS110S 电子天平(德国 Sartorius AG); CX-750 超声波清洗机(北京医疗设备二厂); DGX-9003 鼓风干燥箱(上海福玛实验设备有限公司); FW200 高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司); LS908(A) 激光粒度分析仪(珠海欧美克仪器有限公司); SH-4 双显双控恒温加热磁力搅拌器(北京金北德工贸有限公司); VIRTIS-BT2KES 冻干仪(美国 SP Industries, Inc); XSJ-2 光学显微镜(重庆光学仪器厂); ZMQS50001 超纯水器(美国 Millipore Corporation); 国家统一标准筛(浙江上虞市分析仪器厂)。

**1.2 试药** 乳糖(德国 Molkerei MEGGLE Wasserburg GmbH & Co. KG, 一水合物)、蒸馏水经 Millipore 超纯水器制得去离子水,其他试剂为分析纯。

**1.3 筛分法** 取乳糖 10~15 g,置于 200 目标准筛上,上下左右摇晃 20 min 后于光镜和电镜下观察过筛颗粒的大小及形态,见图 1A。

**1.4 手工研磨法** 取乳糖 10~15 g,于研钵中研磨,每 10 min 光学显微镜下观察粒子大小的变化,直到光镜下观察颗粒粒径不再变化为止,见图 1B。

**1.5 机械粉碎法** 取乳糖约 50 g,采用高速万能粉碎机粉碎,每次运行 30 s,粉碎后取少量乳糖在显微镜下观察其粒径变化,直到颗粒粒径不再变化为止,见图 1C。

**1.6 重结晶法** 以去离子水为溶剂,称取一定质量乳糖,使其完全溶解;将此溶液倒入乳糖的难溶性溶剂无水乙醇(即反溶剂)中(溶剂与反溶剂比为 1:20~1:5)搅拌,得到白色颗粒,此过程控制体系温度在 20~30℃、磁力搅拌速度为 400 r/min,反应时间为 10~60 min,滤过、收集固体颗粒,最后 50~60℃鼓风干燥得到产品。

**1.7 冷冻干燥法** 精密称取一定量乳糖,加水配制成 10%、5%、1%、0.5% 的溶液,置于 100 ml 烧杯中(溶液在烧杯中的高度不超过 1 cm),先于 -20℃放置冰冻,然后冷冻干燥。

**1.8 喷雾干燥法** 称取一定量乳糖,加水配制成适当浓度的溶液。B-90 纳米级喷雾干燥仪的参数设定:入口温度 80~120℃、气流速度 90~150 L/min、

喷雾速率 40%~100%,喷头盖大小选择两种: 5.5 和 4.0  $\mu\text{m}$ 。喷雾干燥后,收集喷干颗粒。

**1.9 电镜测定** 将样品均匀地铺在样品托上,用离子溅射仪喷金后,扫描电镜下观察、照相。

**1.10 粒谱测定** 按照激光粒度分析仪操作规程进行:(1)在静态样品池中加入约 6~10 ml 介质(油酸乙酯或其他适宜介质),放入仪器测量系统中,待仪器自动对中、清零后,仪器进入待测状态;(2)采用分散介质(油酸乙酯或其他适宜介质)将待测颗粒制成约 1~10 mg/ml 的均匀悬液后,取约 2~5 滴悬液加入到静态样品池的介质中,吹散均匀,放入仪器测量系统中,待光柱稳定后,即可进行粒谱测定。

## 2 结果

### 2.1 重结晶法条件优化

**2.1.1 反溶剂的选择** 乳糖为白色的结晶性颗粒或粉末,在水中易溶解,质量浓度在 0.19 g/ml 左右;而在乙醇、乙醚、氯仿中则不溶解。反溶剂的选取要满足两个条件:(1)对溶质的溶解性差;(2)与溶解溶质的溶剂能够互溶。乳糖在水中易溶,在乙醇、氯仿或乙醚中不溶。本文选用与水能够混溶的无水乙醇为反溶剂。

**2.1.2 加料方法的影响** 反溶剂重结晶法的操作方式有正加法和反加法两种,将反溶剂加入到溶液中即为正加法;而将溶液加入到反溶剂中即为反加法。由结晶动力学方程可知,晶体生长速率和成核速率均是过饱和度  $\Delta C$  的函数。过饱和度增加,两者均增大,但只要过饱和度控制得足够大,成核速率会远大于晶体生长速率,有利于细小颗粒的制备。而采用正加法,要达到较大的过饱和度,需要一个过程,该过程中既有晶核的生成,又有晶体的生长,晶体产品中一部分晶体就要长大;采用反加法始终都保持一个较大的过饱和度,使得晶体成核速率远大于生长速率,结晶产品粒度就较小。经对这两种方式的对比实验结果表明:反加法生成的颗粒粒径较小,因此本文采用反加法。

**2.1.3 溶剂与反溶剂体积比的影响** 反溶剂的加入是为了降低原溶剂的溶解能力,使溶质过饱和而沉淀析出,通常随着反溶剂量增加,溶质重结晶析出的量会增加,但达到一定程度后,再增加反溶剂用量,由于总溶剂量增大,重结晶收率反而会降低。表 1 为不同反溶剂用量时重结晶颗粒的回收率。

由表 1 可知 3 种不同体积比重结晶颗粒的回

表 1 溶剂与反溶剂体积比对颗粒回收率的影响

体积比(V:V)	回收率(%)
1:5	92.09 ± 2.30
1:10	95.49 ± 6.28
1:20	94.05 ± 3.37

收率都达到 90% 以上; 而体积比为 1:5 和 1:10 时 获得重结晶颗粒的时间短 颗粒粒径稳定且较易分散; 体积比为 1:20 时所得颗粒聚集严重。综合收率、颗粒特性和成本等因素考虑 经优化的体积比为 1:10。

**2.1.4 搅拌速度的影响** 搅拌速度也是影响颗粒大小的重要因素。转速越大, 物料混合得越均匀。高速搅拌能加强物质的微观混合; 此外, 在高速搅拌下颗粒之间的团聚被一定程度的破坏, 所以高转速下制备的产品颗粒粒径小并且具有更好的分散性<sup>[12]</sup>。本实验在转速为 300 ~ 400 r/min 时, 可见产品颗粒的粒径逐渐减小。

**2.1.5 重结晶颗粒特征** 通过对不同加料方式、溶剂与反溶剂的体积比、搅拌速度的对比试验以及对反溶剂和温度的选择, 电镜下观察所得固体物为针状结晶组成的团状物, 完整团状物的直径

在 20 ~ 50  $\mu\text{m}$  居多, 也有少量散布的针状物, 见图 1D。经研磨可得到 10  $\mu\text{m}$  以下块状、片状结晶, 见图 1F。

**2.2 冷冻干燥法** 相比较而言 乳糖溶液的浓度在 1% 时 粒子较均匀 粒径较小, 见表 2。

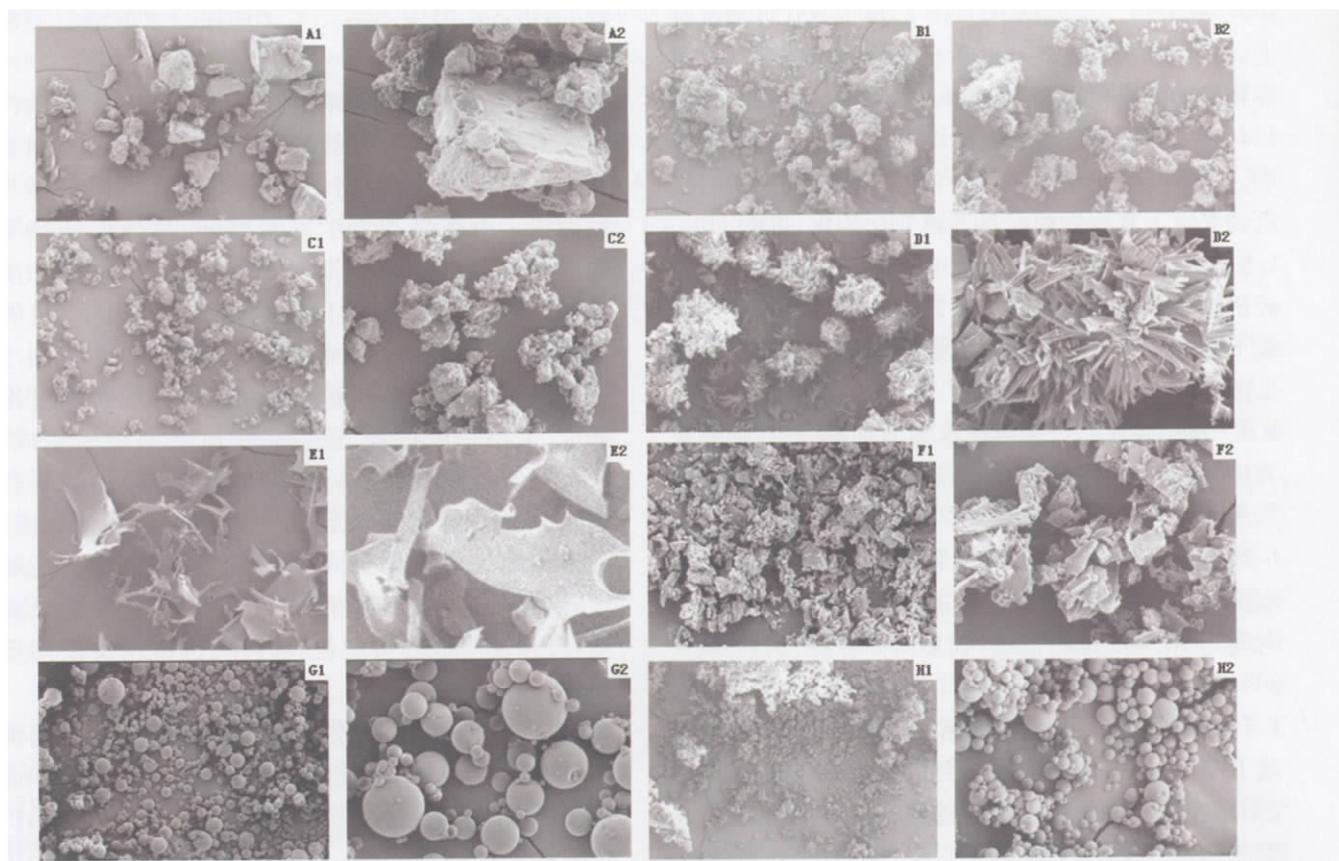
**2.2.1 不同浓度冻干的影响** 见表 2。

表 2 不同乳糖浓度下冻干品乳糖显微观察结果

乳糖浓度(%)	显微观察结果
10	粒径大小不一 均在 200 $\mu\text{m}$ 以下 片状
5	粒径大小不一 均在 100 $\mu\text{m}$ 以下 片状 不规则形
1	粒径大小不一, 95% 以上在 50 $\mu\text{m}$ 以下, 偶见 100 $\mu\text{m}$ 以上 片状(见图 1E)
0.5	粒径大小不一 均在 200 $\mu\text{m}$ 以下 片状

**2.2.2 冻干品研磨后颗粒** 冻干品研磨后颗粒粒径减小, 电镜下观察 95% 以上颗粒在 10  $\mu\text{m}$  以下, 呈不规则形状, 见图 1F。

**2.3 喷雾干燥法** 影响喷雾干燥所获得颗粒特性的因素包括: 入口温度、气流速度、喷雾速率、喷头盖大小以及溶液的组分及浓度, 喷雾干燥的优化工艺



注: 图 A1 ~ E1、G1、H1(×400); A2 ~ H2、F1(×2000)

A: 筛分法; B: 手工研磨法; C: 机械粉碎法; D: 重结晶法; E: 冷冻干燥法; F: 重结晶和冷冻干燥颗粒研磨后;

G: 喷雾干燥 5.5 $\mu\text{m}$  喷头帽; H: 喷雾干燥 4.0  $\mu\text{m}$  喷头帽

图 1 不同方法制备颗粒的电镜图

主要采用单因素多水平的方法来考察各因素对颗粒特性的影响。经优化后,喷头盖直径为 5.5 μm 时,收率为 (82.12 ± 7.03)%,含水量为 (2.43 ± 0.30)%,颗粒为圆整的球形,电镜下观察 95% 以上颗粒的粒径在 10 μm 以下,见图 1G。喷头盖直径为 4.0 μm 时,收率为 (73.31 ± 0.22)%,含水量为 (1.97 ± 0.33)%,粒子为均匀的圆整球形,电镜下观察粒径均小于 10 μm,见图 1H。采用激光粒度分析仪测得不同喷头盖制备颗粒的粒径特征参数见表 3 其中跨度( span) 的计算公式为:

$$\text{Span} = (D_{90} - D_{10}) / D_{50}$$

$D_{10}$ 、 $D_{50}$ 、 $D_{90}$  分别为体积分数累积到 10%、50% 和 90% 的体积径,  $D$  为平均体积径。

表 3 不同大小喷头盖制备颗粒的粒径特征参数

喷头盖直径 (μm)	颗粒粒径(μm)				span
	$D_{10}$	$D_{50}$	$D_{90}$	$D$	
5.5	2.74 ± 0.03	6.88 ± 0.16	14.17 ± 0.68	7.59 ± 0.38	1.66 ± 0.07
4.0	2.52 ± 0.27	2.95 ± 0.07	3.51 ± 0.38	3.04 ± 0.15	0.34 ± 0.25

可见采用 4.0 μm 喷头盖所得颗粒大小均匀(跨度仅为 0.34),体积平均粒径为 3 μm,80% 的颗粒粒径在 2.5 ~ 3.5 μm,更适合吸入给药。

### 3 讨论

本文所使用的原料乳糖颗粒,经显微观察是大小不均匀的块状颗粒,筛分法获得通过 200 目的小粒子,显微观察粒径为数十微米,离散性大;通过手工研磨法、机械粉碎法所获得的粒子性质相近,电镜下观察粒子为不规则形状,分布较均匀,95% 以上为 5 ~ 10 μm,但表面不光滑,且粘连较严重。经反溶剂重结晶法,得到的是 2 ~ 10 μm 的块状结晶所构成的团簇状颗粒,团簇状颗粒在 20 ~ 80 μm,经研磨可得到 0.5 ~ 5 μm 的片状结晶。在采用冷冻干燥法制备颗粒时,仅对溶液的溶度进行控制,并未对冻干工艺进行系统深入的研究。本文所采用的冷冻干燥法制备获得的颗粒电镜下呈片状,堆密度极小,研磨后可获得 95% 以上粒径在 10 μm 以下的不规则片状颗粒。喷雾干燥法是一种工艺相对复杂,但操作简单的颗粒物制备方法,通过工艺参数的调整可以比较容易获得 10 μm 以下的颗粒,经进一步优化,可以获得 95% 以上粒径在 0.5 ~ 5 μm 的球形颗粒,即通常意义的“可吸入颗粒”。

与其他几种方法相比,喷雾干燥法(特别是采用纳米级喷雾干燥仪)制备可吸入颗粒的优势在于:

将液态物直接干燥获得固态颗粒,不需经传统工艺所需要的蒸发、结晶、分离、干燥、粉碎等操作,只要改变工艺条件就可调整所获得颗粒的粒径、含水量、流动性等;干燥迅速,特别适合对温度敏感的赋形剂和药物;制备的颗粒粒径分布范围窄,粒子均匀,呈球形,收率高;整个过程在密闭容器中进行,能有效避免与环境的相互污染<sup>[13]</sup>。

本文所制备的颗粒均为空白颗粒,作者采用相同工艺条件制备的噬菌体 D29 颗粒,添加不同保护剂时,颗粒表面会有不同程度的凹陷或褶皱,但影响吸入沉积效率的关键指标粒径的变化不大,因此表明,喷雾干燥法可望用于可吸入药物颗粒的规模化制备。

### [参考文献]

- [1] Tamura G, Ohta K. Adherence to treatment by patients with asthma or COPD: Comparison between inhaled drugs and transdermal patch [J]. *Respir Med*, 2007, 101(9): 1895-1902
- [2] Pilcer G, Amighi K. Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2010, 392(1-2): 1-49
- [3] Virchow JC, Crompton GK. Importance of inhaler devices in the management of airway disease [J]. *Respir Med*, 2008, 102(1): 10-19
- [4] Shoyele SA, Slowey A. Prospects of formulating proteins/peptides as aerosols for pulmonary drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2006, 314(1): 1-8
- [5] Siekmeier R, Scheuch G. Treatment of systemic diseases by inhalation of biomolecule aerosols [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2009, 60(5): 15-26
- [6] Suarez S, Hickey AJ. Drug properties affecting aerosol behavior [J]. *Respir Care*, 2000, 45(6): 652-666
- [7] Atkins PJ. Dry powder inhalers: an overview [J]. *Respir Care*, 2005, 50(10): 1304-1312
- [8] 李凤前, 胡晋红, 朱全刚. 干粉吸入给药系统 [J]. 国外医学药学分册 2001, 28(3): 167-170
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 附录 11-14
- [10] 赵磊磊, 霍务贞, 龚炜, 等. 吸入粉雾剂的研究进展 [J]. 中国药学杂志 2006, 41(20): 1529-1532
- [11] 江荣高, 王立青, 王春龙, 等. 影响吸入粉雾剂分散性能的制剂因素 [J]. 中国医药工业杂志 2006, 37(1): 50-53
- [12] 胡婷婷, 乐园, 降立川, 等. 反溶剂重结晶法制备布地奈德超细颗粒及其肺部给药体外评价 [J]. 高校化学工程学报, 2009, 23(1): 99-100
- [13] Schmid K, Arpagaus C, Friess W. Evaluation of the Nano Spray Dryer B-90 for pharmaceutical applications [J]. *Pharmaceut Dev Technol* 2011, 16(4): 287-294

(收稿日期: 2011-08-30; 修回日期: 2011-10-17)

(本文编辑 金杨红)