

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 中国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊

- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 中国药学会系列期刊

本期导读：

铂类抗肿瘤药物纳米递送系统研究进展

孙飘，丁杨，周建平

罗米地辛潜在杂质的分离与鉴定

熊磊，闵涛玲，陈昌发，胡海峰



微信号 : cjph-cjph



主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

12

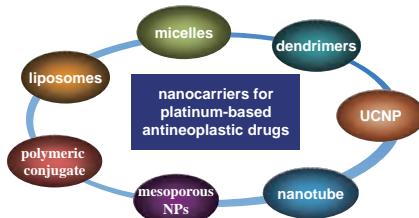
2019年12月

第50卷

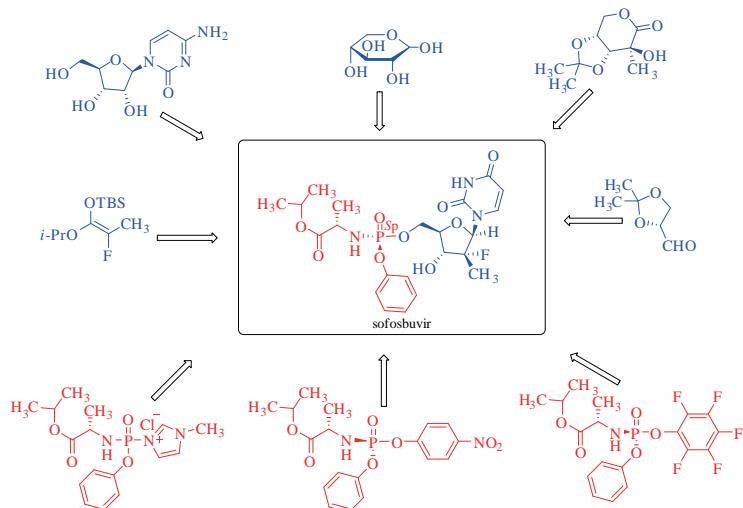
Vol.50 No.12

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

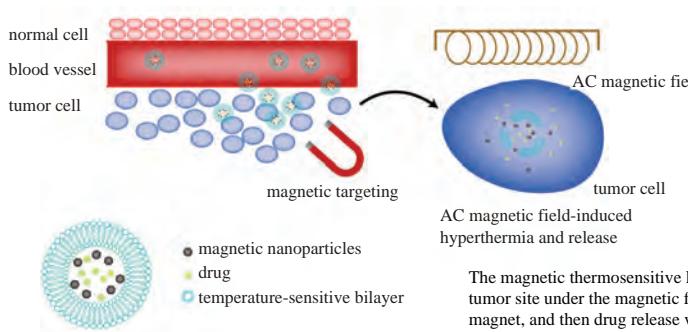
- 1383 铂类抗肿瘤药物纳米递送系统研究进展········孙 飘, 丁 杨, 周建平*
 Recent Progress in Drug Delivery Systems for Platinum Antineoplastic Agents········SUN P, DING Y, ZHOU J P*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.001



- 1393 索非布韦合成研究进展········韩美振, 秦晋晶, 谭志勇, 李振华*
 Progress in the Synthesis of Sofosbuvir········HAN M Z, QIN J J, TAN Z Y, LI Z H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.002

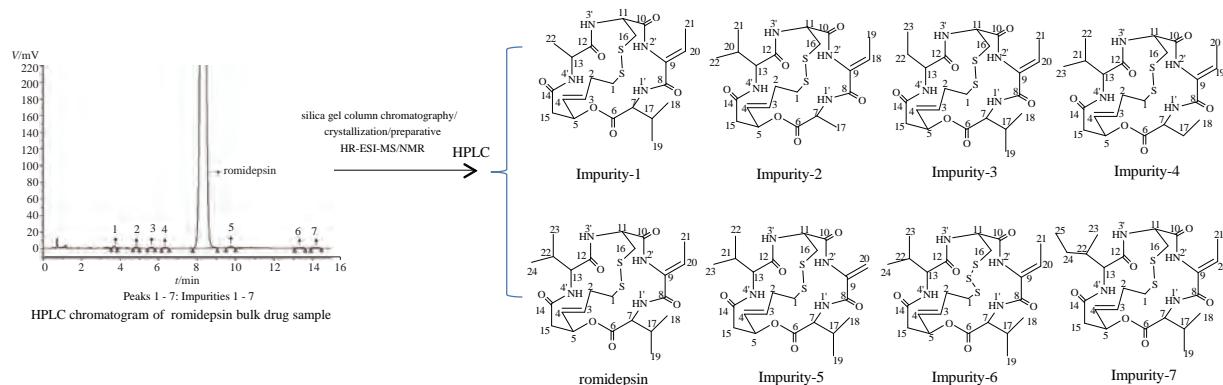


- 1405 磁靶向热敏脂质体在抗肿瘤靶向治疗中的新进展········马秋燕, 林华庆*, 张 静, 蒋 鸿, 鲁泊宏
 New Research Progress of Magnetic Thermosensitive Liposomes in Tumor Targeting Therapy········MA Q Y, LIN H Q*, ZHANG J, JIANG H, LU B H
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.003

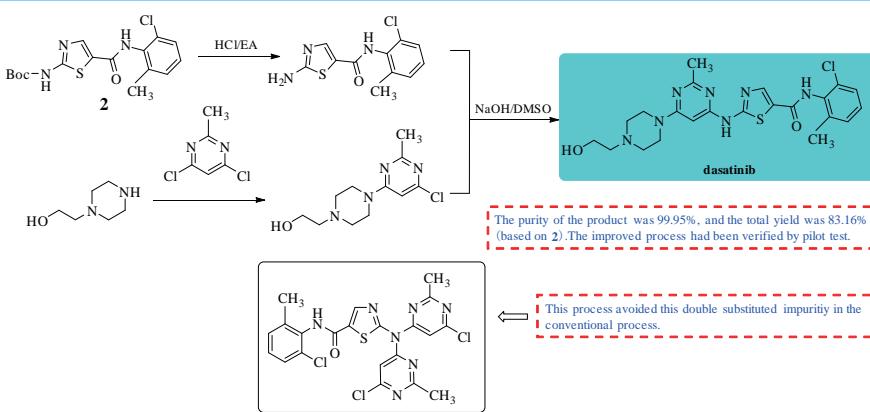


The magnetic thermosensitive liposomes can be targeted to the tumor site under the magnetic force generated by the horseshoe magnet, and then drug release will be triggered by hyperthermia upon local application of an AC magnetic field on the tumor tissue.

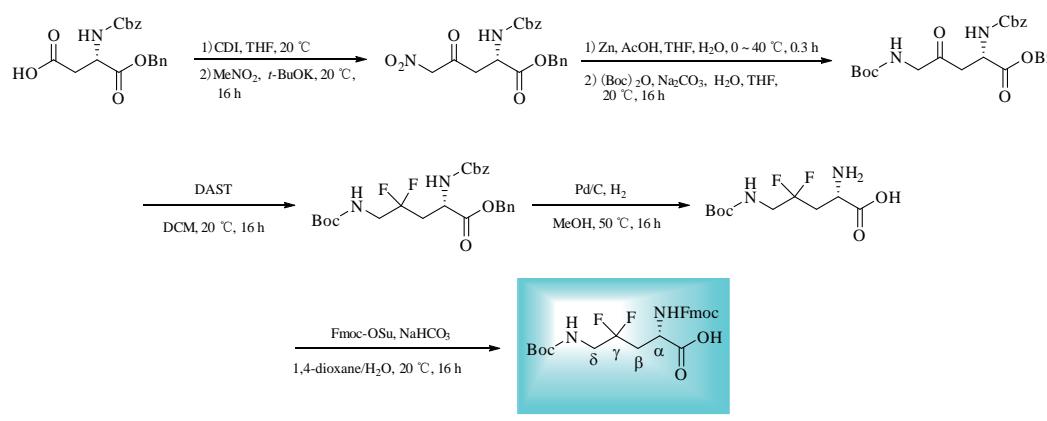
- 1413 罗米地辛潜在杂质的分离与鉴定.....熊磊, 闵涛玲, 陈昌发, 胡海峰*
 Isolation and Identification of Potential Impurities of Romidepsin.....XIONG L, MIN T L, CHEN C F, HU H F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.004



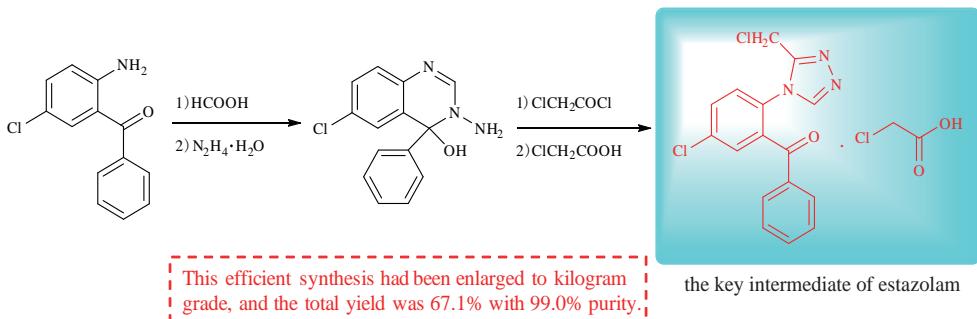
- 1423 达沙替尼的合成工艺优化.....王洪刚, 费凡, 张乃华, 潘高峰, 张贵民*
 Improved Synthetic Process of Dasatinib.....WANG H G, FEI F, ZHANG N H, PAN G F, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.005



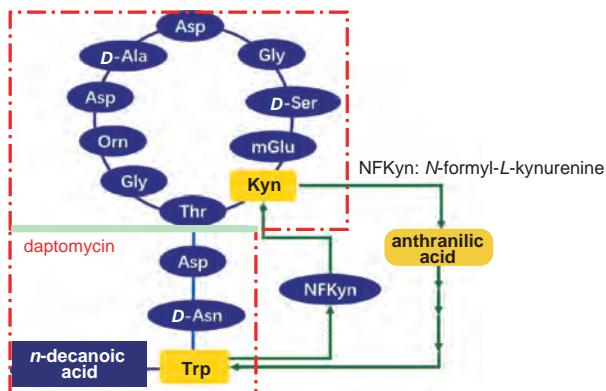
- 1427 (S)-2-[(芴甲氧羰基)氨基]-5-[(叔丁氧羰基)氨基]-4,4-二氟戊酸的合成.....王迪, 刘海侠, 傅磊*
 Synthesis of (S)-2-[(Fluorenylmethoxycarbonyl) amino]-5-[(tert-butoxycarbonyl) amino]-4,4-difluoropentanoic acid.....WANG D, LIU H X, FU L*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.006



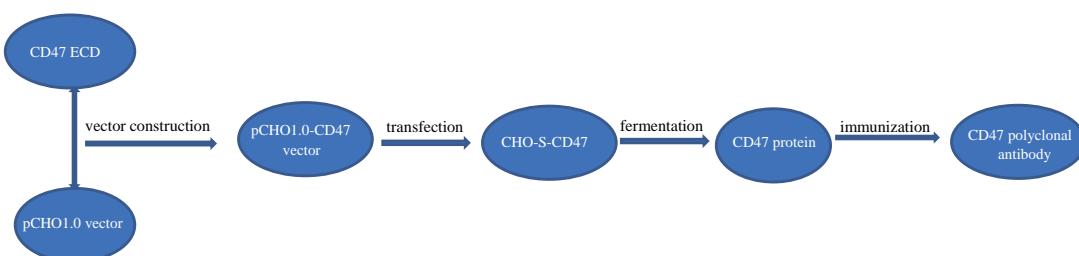
1431 5-氯-2-(3-氯甲基-1,2,4-三唑-4-基)二苯酮氯乙酸盐的合成.....范 钢, 仲 慧, 高浩凌, 卢时湧, 钱秀萍*
 Synthesis of 5-Chloro-2-(3-chloromethyl-1,2,4-triazol-4-yl)dibenzophenone Chloroacetate.....FAN G, ZHONG H, GAO H L, LU S Y, QIAN X P*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.007



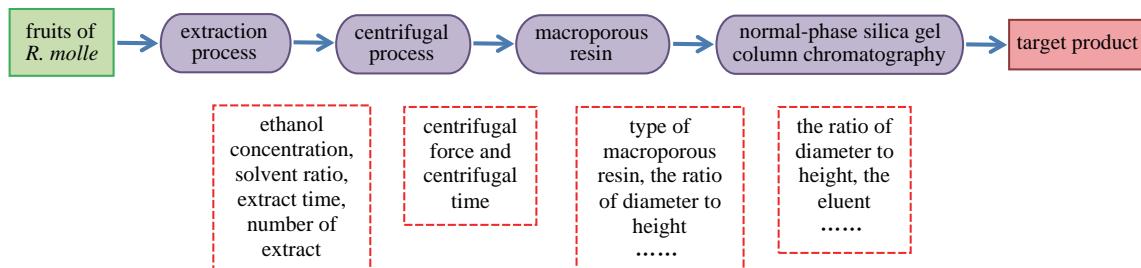
1434 邻氨基苯甲酸对达托霉素发酵的影响.....徐 鲁, 卢雪欢, 张建斌, 李继安, 林惠敏*
 Effect of Anthranilic Acid on Fermentation of Daptomycin.....XU L, LU X H, ZHANG J B, LI J A, LIN H M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.008



1439 CD47 胞外区蛋白的真核表达与多克隆抗体的制备.....朱中松, 赵丽丽, 王玲玲, 张贵民, 刘 忠*
 Eukaryotic Expression of CD47 Extracellular Domain Protein and Preparation of Polyclonal Antibody.....ZHU Z S, ZHAO L L, WANG L L, ZHANG G M, LIU Z*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.009

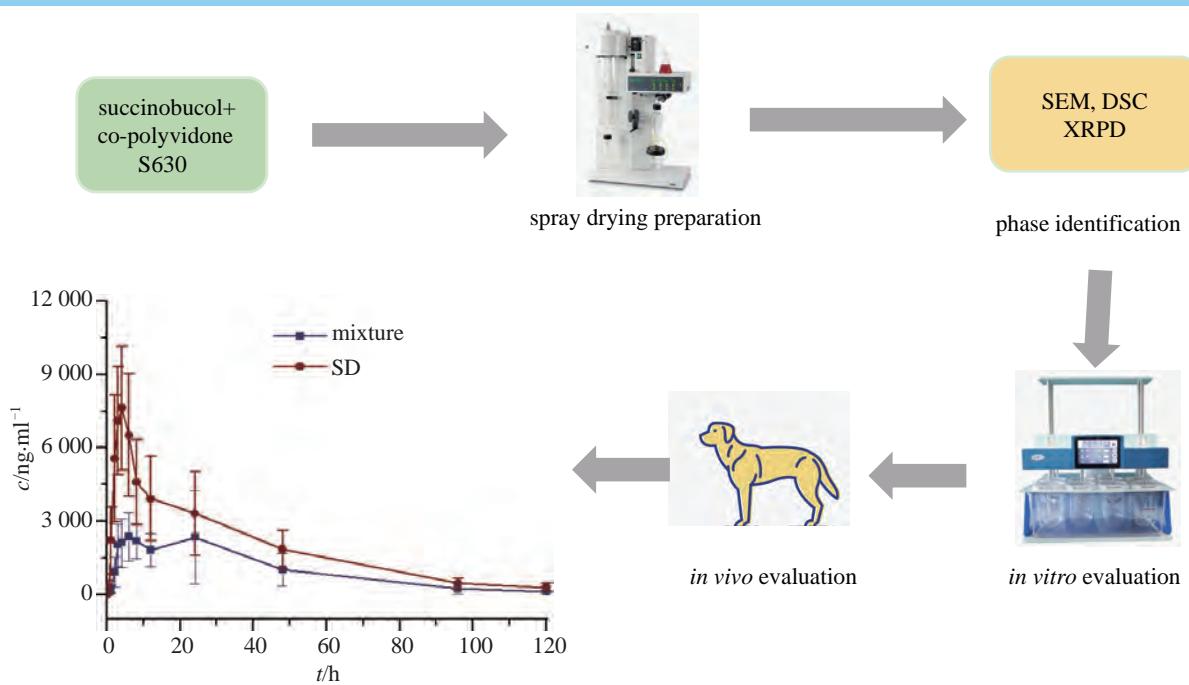


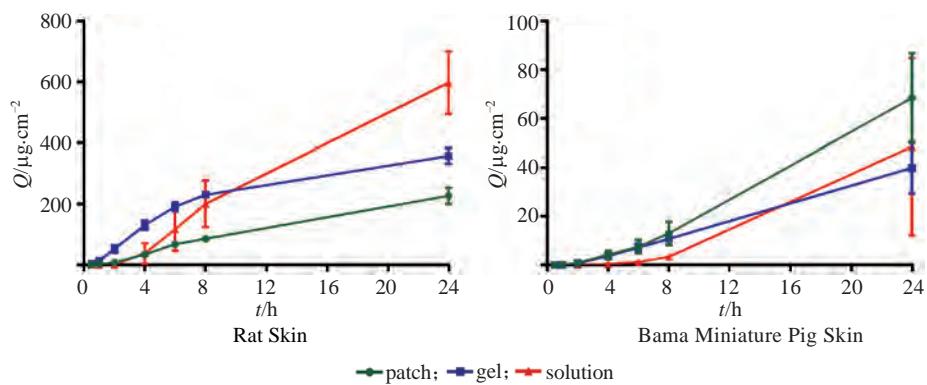
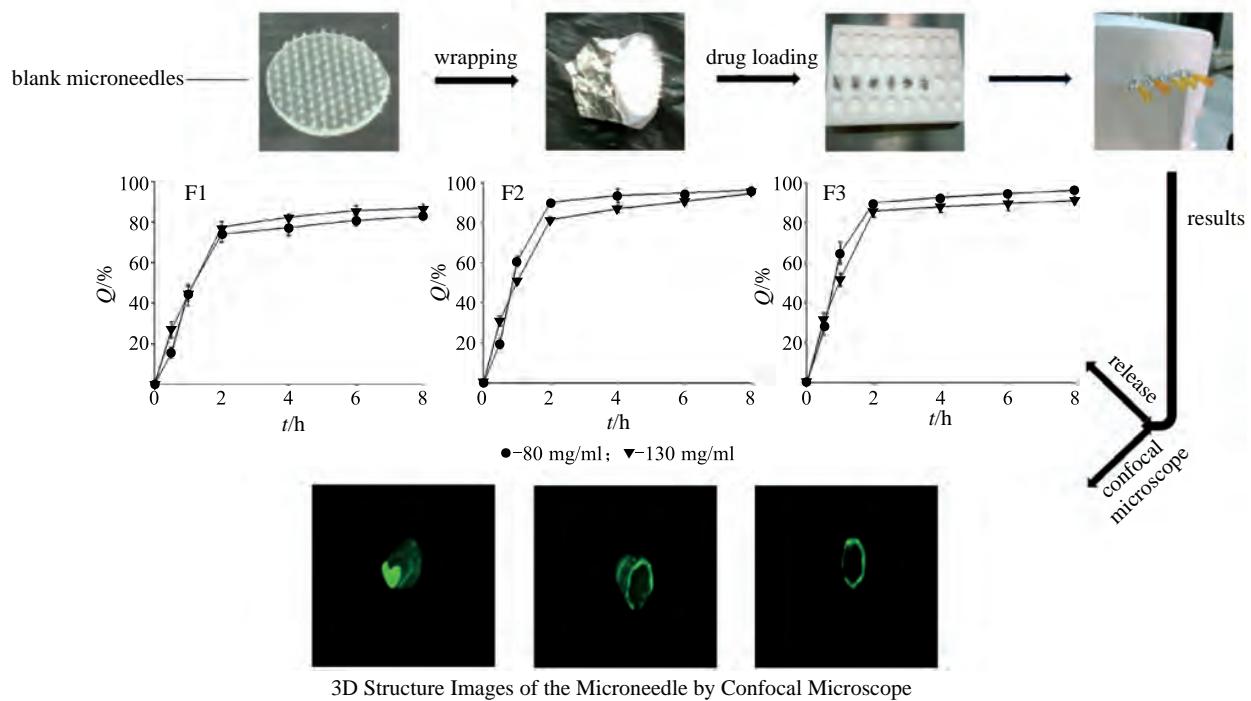
1444 大孔树脂-正相硅胶柱色谱法制备闹羊花二萜有效部位.....姚禹民, 房 鑫, 张继全, 阮克锋, 梁 爽*
 Preparation of Diterpenoid Fraction from Fruits of *Rhododendron molle* G. Don by Macroporous Resin Combined with Normal-phase Silica Gel Column Chromatography.....YAO Y M, FANG X, ZHANG J Q, RUAN K F, LIANG S*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.010

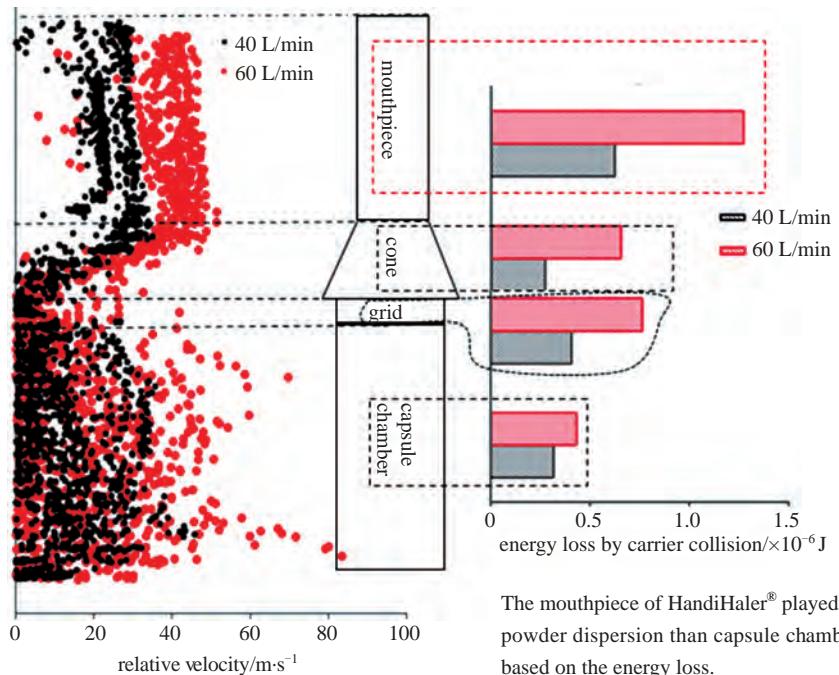


It is the first time to report the preparation process of diterpenoid fraction from fruits of *Rhododendron molle* G. Don which takes rhodojaponin III & IV as the indexes with purity no less than 50%.

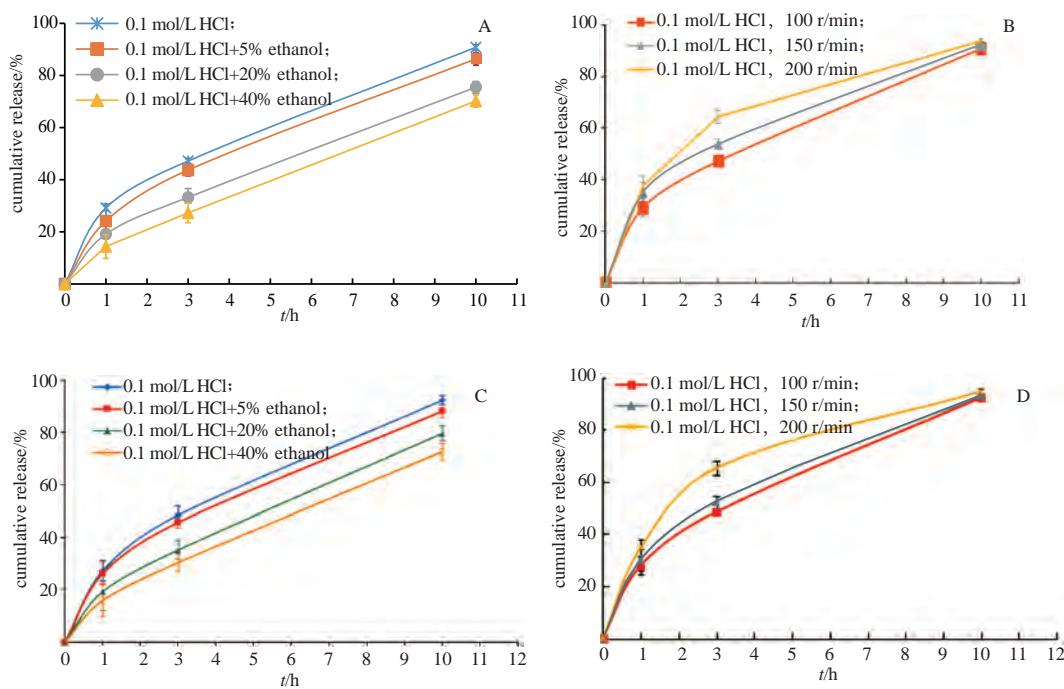
1450 琥珀布考固体分散体的制备及其Beagle犬体内药物动力学研究.....王 菁, 王 瑶, 张 磊, 张志文, 李又欣*
 Preparation of Succinobucol Solid Dispersion and Its Pharmacokinetics in Beagle Dogs.....WANG J, WANG Y, ZHANG L, ZHANG Z W, LI Y X*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.011





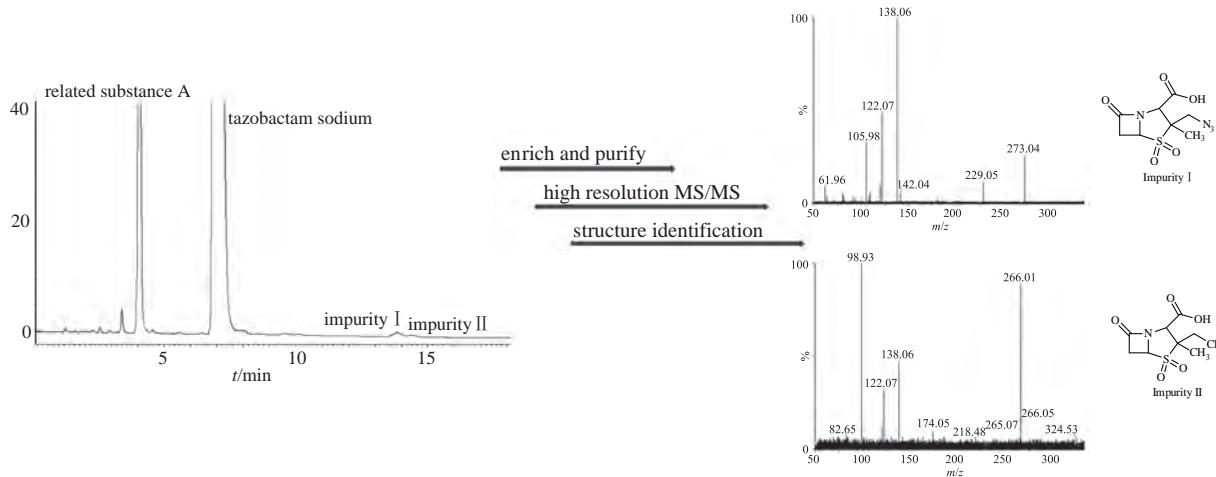


The mouthpiece of HandiHaler® played more impacts on powder dispersion than capsule chamber, cone and grid based on the energy loss.

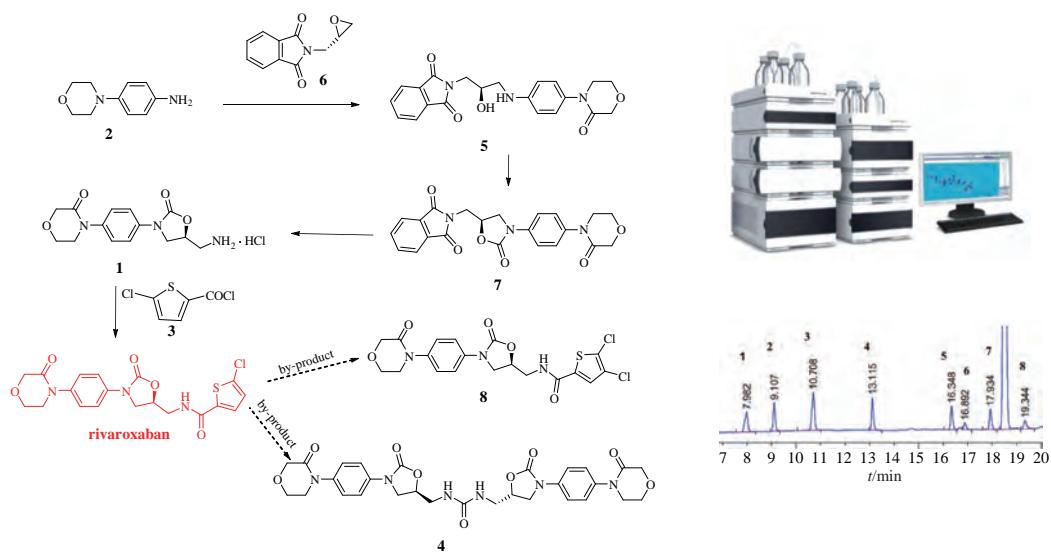


Release Profiles of Metformin Hydrochloride from the Commercial Tablets (A, B) and the Self-made Tablets (C, D)

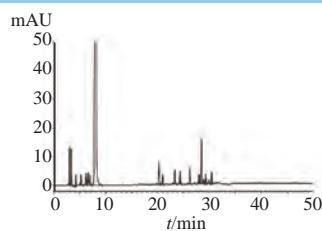
1482 他唑巴坦钠原料药中未知杂质的质谱结构研究.....陆 静, 蔡鹏俊, 李 悅*, 刘秀兰
 Structure Study of Unknown Impurities by Mass Spectrometry in Tazobactam Sodium Bulk DrugLU J, CAI P J, LI Y*, LIU X L
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.016



1487 利伐沙班有关物质的HPLC 测定.....尹秀娥, 胡小燕, 侯德粉, 张嘉月, 董 乔
 Determination of the Related Substances in Rivaroxaban by HPLC.....YIN X E, HU X Y, HOU D F, ZHANG J Y, DONG Q
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.017

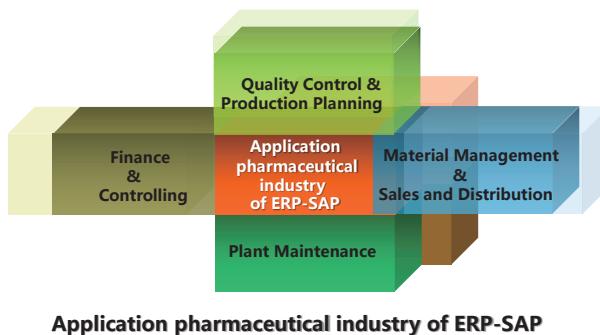


1492 阿莫西林胶囊有关物质的HPLC 法测定.....王 玮, 邓淑渊, 李翠芬, 邢 盛, 王健松
 Determination of Related Substances of Amoxicillin Capsules by HPLC.....WANG W, DENG S Y, LI C F, XING S S, WANG J S
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.018



A new HPLC method was established for simultaneous determination of amoxicillin and its 14 related substances.

- 1498 ERP+CSV在制药企业中的实施应用.....陆振宇,徐秀卉,徐蓉,沈忱*,章欢明
Implementation and Application of ERP&CSV in Pharmaceutical Manufacturers.....
.....LU Z Y, XU X H, XU R, SHEN C*, ZHANG H M
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.019



· 药学管理与信息(Pharmaceutical Management & Information) ·

- 1509 我国医药产业供给侧结构性改革的对策分析.....丁一磊
Countermeasure Analysis of Supply-side Structural Reform of Chinese Pharmaceutical Industry.....
.....DING Y L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.020

- 1514 典型发达国家药品上市价值评估的分析及应用.....颜建周,雷璐倩,邵蓉*
Analysis and Application of Drug Market Value Assessment in Typical Developed Countries.....
.....YAN J Z, LEI L Q, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.021

- 1519 分析国家药品集中采购和使用试点政策对我国仿制药企业的影响.....王成
Analysis of the Impact of National Pilot Policies on Centralized Drug Procurement and Use on
Generic Pharmaceutical Enterprises in China.....WANG C
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.022

- 1524 CAR-T疗法的研发现状与展望.....杜璇
Development Status and Prospects of Chimeric Antigen Receptor T Cell (CAR-T) Therapy...DU X
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.023

- 1530 2019 年前三季度我国医药工业经济运行情况分析.....郭文,钟一鸣,周斌*
Economic Operation of Chinese Pharmaceutical Industry from January to September 2019.....
.....GUO W, ZHONG Y M, ZHOU B*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.024

· 其他 ·

《中国医药工业杂志》2018 年度索引(1537)

广告索引(1426)

《中国医药工业杂志》向审稿专家致谢(1404)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第12期 12月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.12 December 10, 2019

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协 办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	王 盈, 刘玲玲	Executive Editor	WANG Ying, LIU Lingling
出 版 单 位	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 件	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人; 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*170*zh*P*20.00* *24*2019-12

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255
CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205
国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

《中国医药工业杂志》第十六届编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》

(以姓名拼音为序)

名誉主编(HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫*(SANG Guowei)

主任编委(EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿*(CHEN Fener)

顾问(CONSULTANT)

白 骥(BAI Hua)

蒋建东(JIANG Jiandong)

王广基*(WANG Guangji)

副主任编委(ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (^常务副副主任编委)

陈 兵(CHEN Bing)

李明华(LI Minghua)

王 浩(^WANG Hao)

张贵民(ZHANG Guimin)

周 斌(ZHOU Bin)

编委(MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳(CAI Zhengyan)

程卯生(CHENG Maosheng)

范代娣(FAN Daidi)

甘 勇(GAN Yong)

何 军(HE Jun)

胡又佳(HU Youjia)

李范珠(LI Fanzhu)

刘玲玲(LIU Lingling)

龙亚秋(LONG Yaqiu)

罗国强(LUO Guoqiang)

潘红娟(PAN Hongjuan)

沈 琦(SHEN Qi)

孙小强(SUN Xiaoqiang)

涂家生(TU Jiasheng)

王 健(WANG Jian)

王玉成(WANG Yucheng)

吴 勇(WU Yong)

杨苏蓓(YANG Subei)

张福利(ZHANG Fuli)

张卫东(ZHANG Weidong)

赵文杰(ZHAO Wenjie)

钟为慧(ZHONG Weihui)

朱建英(ZHU Jianying)

陈凯先*(CHEN Kaixian)

孔德云(KONG Deyun)

吴晓明(WU Xiaoming)

丁 健*(DING Jian)

李绍顺(LI Shaoshun)

杨胜利*(YANG Shengli)

侯惠民*(HOU Huimin)

沈竞康(SHEN Jingkang)

朱宝泉(ZHU Baoquan)

陈桂良(CHEN Gui liang)

林剑秋(LIN Jianqiu)

王军志*(WANG Junzhi)

张 霖(ZHANG Ji)

周伟澄^(ZHOU Weicheng)

潘广成(PAN Guangcheng)

魏宝康(WEI Baokang)

张万斌(ZHANG Wanbin)

朱建伟(ZHU Jianwei)

胡文浩(HU Wenhao)

唐 岳(TANG Yue)

杨 超(YANG Chao)

张绪穆(ZHANG Xumu)

常 艳(CHANG Yan)

邓卫平(DENG Weiping)

方 浩(FANG Hao)

干荣富(GAN Rongfu)

何 菱(HE Ling)

黄则度(HUANG Zedu)

李建其(LI Jianqi)

刘新泳(LIU Xinyong)

卢 懿(LU Yi)

罗一斌(LUO Yibin)

潘卫三(PAN Weisan)

宋秋玲(SONG Qiuling)

孙 逊(SUN Xun)

涂 涛(TU Tao)

王 昱(WANG Min)

吴传斌(WU Chuanbin)

吴勇琪(WU Yongqi)

杨玉社(YANG Yushe)

张启明(ZHANG Qiming)

张英俊(ZHANG Yingjun)

郑高伟(ZHENG Gaowei)

周虎臣(ZHOU Huchen)

朱雪焱(ZHU Xueyan)

陈少欣(CHEN Shaoxin)

丁锦希(DING Jinxi)

冯 军(FENG Jun)

古双喜(GU Shuangxi)

何严萍(HE Yanping)

黄志红(HUANG Zhihong)

李三鸣(LI Sanming)

刘 忠(LIU Zhong)

陆伟根(LU Weigen)

吕 扬(LÜ Yang)

朴虎日(PIAO Huri)

苏为科(SU Weike)

汤 磊(TANG Lei)

屠永锐(TU Yongrui)

王全瑞(WANG Quanrui)

吴 彤(WU Tong)

杨立荣(YANG Lirong)

殷 明(YIN Ming)

张庆伟(ZHANG Qingwei)

张志荣(ZHANG Zhirong)

郑起平(ZHENG Qiping)

周建平(ZHOU Jianping)

庄春林(ZHUANG Chunlin)

陈笑艳(CHEN Xiaoyan)

董 琳(DONG Lin)

傅 磊(FU Lei)

郭 文(GUO Wen)

胡海峰(HU Haifeng)

金 拓(JIN Tuo)

刘东飞(LIU Dongfei)

柳 红(LIU Hong)

陆伟跃(LU Weiyue)

马 璞(MA Jing)

邵 蓉(SHAO Rong)

孙会敏(SUN Huimin)

陶 涛(TAO Tao)

王建新(WANG Jianxin)

王 彦(WANG Yan)

吴 伟(WU Wei)

杨 明(YANG Ming)

尤启冬(YOU Qidong)

张庆文(ZHANG Qingwen)

赵临襄(ZHAO Linxiang)

钟大放(ZHONG Dafang)

周一萌(ZHOU Yimeng)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员(EDITORIAL STAFF)

总编辑(Managing Editor): 周伟澄(ZHOU Weicheng)

副总编辑(Associate Managing Editor): 黄志红(HUANG Zhihong), 刘玲玲(LIU Lingling)

责任编辑(Editor): 刘玲玲(LIU Lingling)(兼), 王 盈(WANG Ying), 许文倩(XU Wenqian)

美术编辑(Art Editor): 沈建成(SHEN Jiancheng), 陆燕玲(LU Yanling), 钱苗苗(QIAN Miaomiao)

编辑助理(Editorial Assistant): 韦旭华(WEI Xuhua)

广告、发行负责(Avertisement Manager): 刘敬岩(LIU Jingyan), 金 雷(JIN Lei), 欧阳怡(OUYANG Yi)

蛋白药物相转化微针的浸泡吸附制备法

董晓陶, 吴 飞, 尹 荆, 金 拓*

(上海交通大学药学院, 上海 200240)

摘要: 微针透皮贴片已被证实是目前最有可能实现生物药高效非注射给药的在制剂。目前多采用预载药物的方式制备微针, 但由于存在于微针根部及中心部分的药物的扩散距离要大于位于尖端及外侧的药物, 会造成释放延迟, 甚至相对分子质量较大的蛋白难以通过微针的水凝胶网状基质而被释放出来。针对这一难题, 本研究拟采用浸泡吸附法担载蛋白药物。处方设计上, 为兼顾微针强度和溶胀释药的要求, 以聚乙烯醇作为微针的主体材料, 并添加羧甲纤维素钠和葡聚糖作为辅料。之后用封口膜和铝箔对相转化水凝胶微针贴片进行包裹并使针尖露出。分别以猪胰岛素和异硫氰酸荧光素标记牛血清白蛋白为模型药物, 将包裹后的微针贴片浸入药液中, 通过分析猪胰岛素的载入量和体外释放情况, 证明了这一方法用于微针担载蛋白药物的可行性。结果表明, 在释放初期($0 \sim 2$ h), 70%~90%的猪胰岛素被很快释出, 最终90%~95%的药物得以释出。通过分析共聚焦显微镜拍摄的荧光照片可见, 经由浸泡吸附法担载的药物可充分进入微针的针尖处, 随着接近背衬层针体直径的加粗, 大部分药物则分布于针体表层和浅表处。

关键词: 相转化水凝胶微针; 贴片; 浸泡吸附法; 猪胰岛素; 蛋白药物

中图分类号: R944.9 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)12-1457-06

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.012

Phase-transition Microneedle Patches Loaded with Protein Drugs via Impregnation

DONG Xiaotao, WU Fei, YIN Qin, JIN Tuo*

(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

ABSTRACT: Microneedle patches have proven to be the most developed agents for non-injectable delivery system in recent years. Currently, most drugs are suspended in polymer solution during microneedle preparation, while some drugs are kept in the root and the central part of the microneedles, whose diffusion distances are farther than those at the tip and surface, leading to the delay in release. And proteins with high molecular weight are difficult to pass the hydrogel network. Therefore, this study aimed to utilize impregnation method for drug loading. In formulation design, since both the mechanical straight and swelling ratio should be taken into account, we decided to use polyvinyl alcohol (PVA) to form the matrix, with sodium carboxymethylcellulose (CMC-Na) and dextran being added. The microneedle patches were then wrapped with Parafilm and aluminum foil, and each microneedle tip was exposed. For test, we chose porcine insulin and bovine serum albumin fluorescein (BSA-FITC) as model drugs. The wrapped microneedle patches were then immersed in drug solution, followed by drying method. After analyzing the loading amount and the *in vitro* release curves of porcine insulin, the feasibility of impregnation was proved. The results also showed that most of the loaded porcine insulin (70% - 90%) could be released quickly in the early stage ($0 - 2$ h) of release, and 90% - 95% of the drug can be released finally. By observing the images obtained by confocal microscope, we could get the conclusion that drug loaded by impregnation method could fully enter the microneedle tip. While the diameter of the needle close to the backing layer was thickened, most drugs were distributed at the surface.

Key Words: phase-transition microneedle; patch; impregnation; porcine insulin; protein drug

近年来,微针透皮贴剂作为一种能高效输送蛋白药物并且提高生物利用度的技术得到了广泛的研究。除了目前文献中报道的几类微针:实心固态微针、空心微针和生物可降解微针^[1-3],相转化水凝胶微针这一新型微针技术获得了广泛的关注^[4]。相转化水凝胶微针以具有优良生物相容性和化学惰性的聚乙烯醇(PVA)为基质,然后通过模具浇铸法进行制备,再经过冷冻-解冻形成交联。干燥后的微针具有足够的强度刺入皮肤,吸收体液后可以由玻璃态转变为凝胶态,从而释放药物^[5]。已有试验显示,将以猪胰岛素(porcine insulin, 1)为模型药物制备的相转化水凝胶微针用于糖尿病小猪模型,其透皮生物利用度可超过20%^[4]。这一结果有力地证明了相转化水凝胶微针作为蛋白药物输送系统的可行性和有效性,具有进一步研究的基础和价值。

目前,将药物载入微针的方法大多采用预混法,即将药物混合在针尖层聚合物溶液中,之后再进行浇铸,从而使药物分散在整根针体中。但由于存在于微针根部及中心部分的药物的扩散距离要大于位于尖端及外侧的药物,会造成释放延迟,甚至相对分子质量较大的蛋白难以通过微针的水凝胶网状基质被释放出来,使得生物利用度降低。因此本试验采用浸泡吸附法将药物载入微针针体中,从而使其尽可能地分布在微针的浅表外层,便于使用时药物能快速扩散释出。

本试验中,首先选择PVA作为主体材料制备相转化水凝胶微针,同时在兼顾针体强度和交联程度要求的基础上,添加了不同用量的羧甲纤维素钠(CMC-Na)和葡聚糖(dextran)2种常用的药用辅料。之后分别用制备好的微针贴片担载1和异硫氰酸荧光素标记牛血清白蛋白(BSA-FITC),通过载药量、

体外释放试验的测定,以及共聚焦显微镜的观察结果,确认了浸泡吸附法用于相转化微针担载蛋白药物的可行性。

1 仪器与试药

1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);Purist型超纯水仪(上海乐枫生物科技有限公司);共聚焦显微镜(德国Leica公司);Parafilm封口膜(美国Bemis公司)。

1(徐州万邦金桥制药有限公司);BSA-FITC[北京索莱宝科技有限公司,溶液为pH 7.2的0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS),蛋白浓度为5.12 mg/ml, FITC浓度为30~45 μg/ml];乙腈(色谱纯)、盐酸和PVA(型号AH-26)(国药集团化学试剂有限公司);CMC-Na(低黏度)和葡聚糖(相对分子质量6 000)(美国Sigma-Aldrich试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 相转化微针贴片的制备

2.1.1 针尖PVA溶液的配制

PVA溶液:照表1称取一定量的PVA粉末和超纯水,加至茄形瓶内,溶胀过夜。之后用沸水浴加热并缓慢搅拌至PVA充分溶解,随后在室温下自然冷却,至溶液澄清透明、无气泡。

辅料溶液:照表1称取一定量的辅料粉末和超纯水,加至烧杯,缓慢搅拌,至溶液澄清透明、无气泡。

将上述配制的PVA溶液和辅料溶液照表1处方进行混合,即得到均一稳定的针尖PVA溶液。

2.1.2 黏连层溶液的制备

照“2.1.1”项下PVA溶液的制备方法,配制18%的PVA溶液,即为黏连层溶液。

2.1.3 背衬层的制备

照“2.1.1”项下PVA溶液的制备方法,配制32%的PVA溶液,平铺于玻璃板(预热至约40 °C,防止PVA溶液遇冷凝结)。经-20 °C冷冻8 h、4 °C解冻4 h,重复3次,即得到具备一定韧性和硬度的背衬层。

2.1.4 相转化微针贴片的制备

根据前期研究的处方摸索范围^[4],制备表1中3种处方的微针。所选择的材料包括PVA、CMC-

收稿日期: 2019-04-01

作者简介: 董晓陶(1993—),女,硕士研究生,专业方向: 担载蛋白药物的相转化水凝胶微针。

Tel: 13262680980

E-mail: dongxiaotao@sjtu.edu.cn

通信联系人: 金拓(1953—),男,教授,博士,从事生物大分子递药系统的研究。

Tel: 021-34204695

E-mail: tomtjin@126.com

Na 以及葡聚糖。PVA 是微针的主体材料，具备较好的生物相容性，不会对人体造成危害。CMC-Na 和葡聚糖是常用的药用辅料，可用来改善 PVA 交联后的密度，进而增加药物扩散的通道、增强微针的溶胀性能等。

表 1 相转化微针贴片的不同处方 /%

Tab.1 Different Formulations for Phase-transition

Microneedle Patches/%

处方编号	PVA	CMC-Na	葡聚糖	水
F1	13	3	2.7	81.3
F2	14	3	2.7	80.3
F3	15	3	2.7	79.3

具体操作步骤为，取“2.1.1”项下的针尖 PVA 溶液浇铸于聚四氟乙烯微孔阵列模具（本实验室自主设计，并由上海沪陆精密机械设备有限公司加工），底部抽真空使得 PVA 溶液被吸入模具微孔中，即得针尖层。取“2.1.2”项下的黏连层溶液均匀平铺于针尖层上方，抽真空，即得黏连层。保持抽真空，取“2.1.3”项下的背衬层覆盖于黏连层上方，除去与模具间气泡。之后用玻璃板和夹子固定，经 -20 °C 冷冻 8 h、4 °C 解冻 4 h，重复 3 次。待回到室温，将微针从模具上揭离，室温下自然干燥。用冲模将微针敲成直径为 12 mm 的圆形贴片，待用。

2.2 1 盐酸溶液的制备

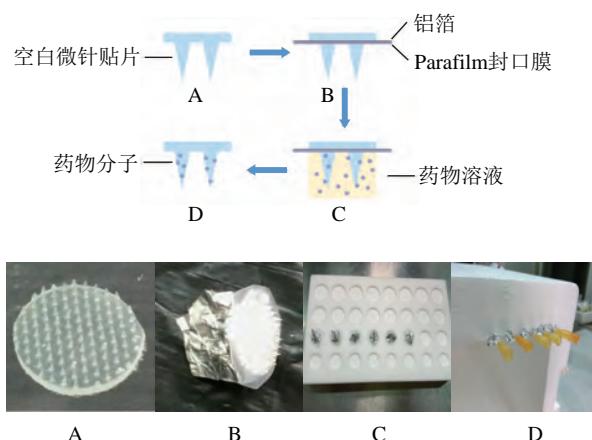
根据《中华人民共和国药典》(ChP) 2015 年版二部收载的胰岛素信息所示，胰岛素为白色或类白色的结晶性粉末，在水、乙醇中几乎不溶，在无机酸或氢氧化钠溶液中易溶。鉴于此，本试验首先将 1 溶于盐酸制成溶液。具体操作如下。

分别称取 1 粉末 400 和 650 mg 置样品瓶中，各加入 pH 2 的盐酸 5 ml，搅拌溶解，呈均一澄清状态。所得溶液终浓度为 80 和 130 mg/ml，待用。

2.3 浸泡吸附法担载蛋白药物

取“2.1.4”项下所得微针贴片，依次用 Parafilm 封口膜和铝箔纸进行包裹，以防药物扩散进入黏连层和背衬层造成浪费，并使针尖露出。取“2.2”项下制备的 1 盐酸溶液 100 μl，置定制的聚四氟乙烯模具上，将包裹好的微针贴片浸泡于其中，

使针尖完全浸入，浸泡时间分别为 10、15、20 和 25 min。将微针贴片取出后，用针头插入上方的铝箔纸，固定于泡沫箱上，使微针悬垂自然干燥 10 h，取下后进行后续测定。操作流程和照片见图 1。



上图为流程示意图，下图为现场照片

A：相转化微针贴片，B：用 Parafilm 封口膜和铝箔纸包裹后的相转化微针，C：微针于药液中浸泡，D：将担载药物后的微针贴片悬垂自然干燥

图 1 浸泡吸附法担载药物过程

Fig.1 Drug Loading Process via Impregnation

2.4 1 的含量测定

采用 ChP 2015 年版二部收载的胰岛素含量的 HPLC 测定法。

色谱条件：色谱柱 Grace Vydac 218TP C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相 0.2 mol/L 硫酸盐缓冲液 (pH 2.3)：乙腈 (74 : 26)；检测波长 214 nm；柱温 40 °C；流速 1.2 ml/min；进样量 20 μl。

本色谱条件下，1 峰形完整，分离度较好，保留时间 5.0 min。1 浓度 c 在 0 ~ 300 μg/ml 范围内与峰面积 A 线性关系良好，标准曲线方程为 A=17.364c-55.125, R²=0.999 7。

2.5 微针贴片中 1 载入量的测定

将干燥后的经由浸泡吸附法制备得到的载 1 微针贴片取下，拆除包裹的封口膜和铝箔，将微针贴片置 50 ml 离心管中，加入 pH 2 盐酸 10 ml，放入恒温振荡培养箱，于 37 °C、100 r/min 振荡 3 h。完

毕后取样，照“2.4”项下方法测定**1**含量。

2.6 不同药液浓度与药物载入量关系的考察

将处方F1～F3的微针贴片分别浸于80和130 mg/ml的**1**盐酸溶液中，照“2.3”项下方法担载蛋白药物，并照“2.5”项下方法测定**1**的载入量。由于每个微针贴片上的针体数目并不始终固定，因此首先计算微针贴片上的针体数目。取制备的微针贴片，计量得到针体数目为 99 ± 3.91 (n=40)。据此计算每根针体上的药物载入量，结果见表2。

表2 不同处方的微针贴片上每根针体的载药量测定结果 / μ g ($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab.2 Results of Drug Loading of Each Needle of Patches Prepared by Different Formulations / μ g
($\bar{x}\pm s$, n=3)

处方编号	浸泡液	
	80 mg/ml	130 mg/ml
F1	12.1±1.1	2.4±0.9
F2	13.2±1.2	2.6±0.4
F3	14.1±1.8	0.8±0.3

分析以上3组数据可知：浸泡液浓度较高时载药量反而呈下降。这是由于PVA的孔洞比较致密，水分子比**1**更易扩散进入微针。当**1**浓度较高时，由于**1**本身是疏水的，虽然是处于溶解状态，但浓度越高、**1**分子之间的疏水作用也就越强，使得**1**更加难以扩散进入微针，载药量反而会降低。这一现象在高浓度PVA处方组(F3)表现更为明显，这是因为该组制备得到的微针其空隙更小，**1**扩散进入更加困难，因而载药量差异相对明显。而当**1**浓度较低时，**1**之间的疏水作用也较弱，更易通过扩散作用进入微针针尖深处，因此载药量较高。

2.7 不同浸泡时间与载药量关系的考察

选取F2微针贴片，浸泡于80 mg/ml的**1**盐酸溶液中，分别于10、15、20、25 min取出微针贴片，干燥后进行载药量的测定。结果每根微针上**1**的载药量分别为(10.9±0.5)、(11.8±0.6)、(10.3±1.5)和(9.4±0.2) μ g(n=3)。

分析以上数据可知：当浸泡时间在10～15 min时，载药量呈现上升趋势。随着浸泡时间的进一步

增加，载药量并没有显著升高，反而会略微下降。这是由于浸泡吸附载药是个动态扩散过程，会随着时间推移发生扩散量的变化。在15 min内，**1**扩散进入针体表层，在尚未达到饱和时会呈现逐渐增加的趋势，而当继续延长浸泡时间，已扩散进入表层的**1**和水分子之间存在的动态扩散会导致在表层的**1**重新扩散回到溶液中，从而使载药量有所下降。并且当扩散进入的药物分布在每根针体表面，达到饱和以后多余的**1**便无法进入，载药量也就不会继续增加。

2.8 体外释放试验

取照处方F1～F3制备的微针贴片，依次用封口膜和铝箔纸包裹，使针尖露出。分别浸于80和130 mg/ml的**1**盐酸溶液中，经浸泡吸附法担载药物，将微针贴片自然干燥后进行体外释放测定。具体操作概述如下。

在24孔板的每个孔内加入PBS(pH 7.4)2 ml，将已载药的微针贴片置于孔内，使露出的针尖浸没于释放液中。盖好孔板盖子，放入恒温振荡培养箱内，于37 °C、100 r/min条件下试验。分别于0.5、1、2、4、6、8 h取样。每次取样后，将24孔板中的液体全部更换为新的PBS 2 ml。释放液照“2.4”项下色谱条件测定**1**的含量，并绘制不同处方微针贴片的体外释放曲线。结果见图2。

分析上述曲线可知：当释放时间在0～2 h内，各组的释放量呈现显著上升趋势，2 h时累积释放率可达70%～90%；2～8 h释放速度减缓，最终90%～95%的药物可被释出。

由于浸泡吸附法担载的**1**大多通过扩散作用分布于针体表面及浅表处，因此在释放初期会因为扩散路径较短而被快速释出。之后，分布于针体内部的**1**也逐渐释放出来。

对比上述曲线可知：当PVA浓度一定时(即同一处方组)，高浓度**1**组的释放量在0.5 h均高于低浓度**1**组。这是由于高浓度的**1**较难扩散进入微针，从而分布在针体浅表处，也就可以更快释出。而在之后的2～8 h内，分布于针体内部的**1**将逐渐释出，由于低浓度**1**组的药物更多扩散进入针体

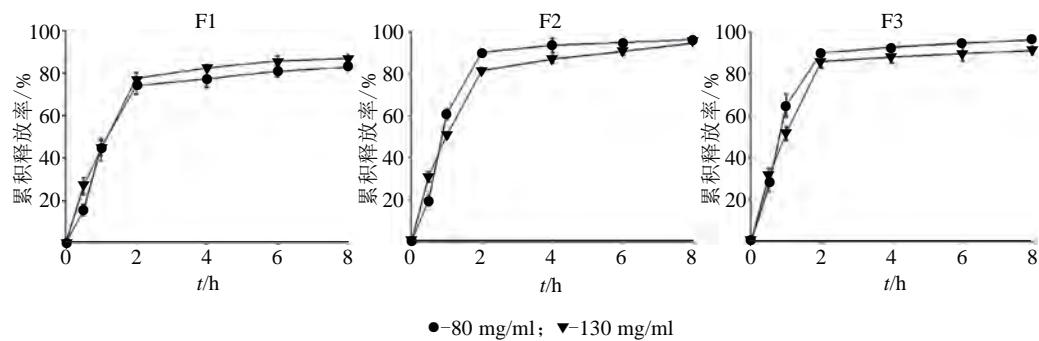


图 2 处方 F1 ~ F3 微针贴片在不同浓度的药液中担载药物后的释放曲线 ($n=3$)
Fig.2 In vitro Release Curves of Formulations F1 - F3 Immersed in Different Concentrations of 1 Solution for Drug Loading ($n=3$)

内部，因此释放量超过高浓度 1 组，这一现象在高浓度 PVA 处方组（即 F2、F3）较为明显。而低浓度 PVA 处方组（即 F1）由于微针针体的内部孔洞几何尺寸较大，易于 1 扩散进入，因此受药物浓度影响较大，当 1 浓度增加，扩散进入针体和释出的药物也就越多，故高浓度 1 组的释放量要高于低浓度 1 组。

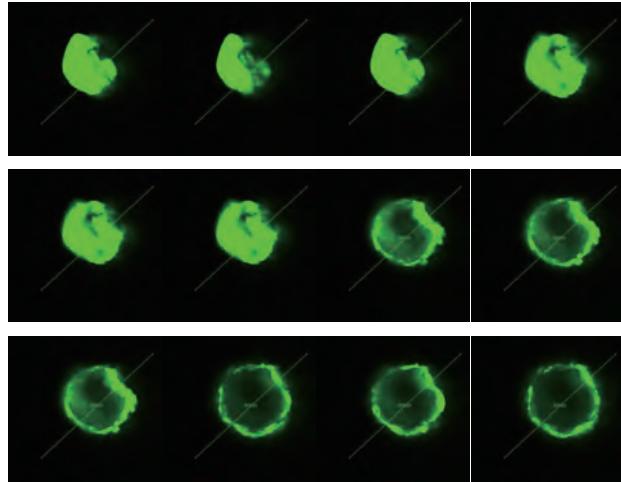
2.9 浸泡吸附法担载 BSA-FITC

选取处方 F2 制备得到的微针贴片，按“2.3”项下方法担载蛋白药物 BSA-FITC。将微针贴片用封口膜和铝箔包裹后浸泡于 BSA-FITC 溶液 100 μ l 中 10 min，悬垂自然干燥后拆除封口膜和铝箔，置共聚焦显微镜下观察，通过荧光分析进一步验证经由浸泡吸附法扩散进入的蛋白药物在微针针体内的分布。结果见图 3。

图 3 是在激光共聚焦显微镜下，通过改变调焦深度，由针尖的焦平面成像上升到接近背衬层的焦平面成像。图 3 中第一排均能看见绿色的实心圆光圈，第二排和第三排荧光逐渐变暗，呈空心状。

这一结果表明 BSA 能经由浸泡吸附法扩散进入微针，针尖处分布量较高，因此亮度明显。随着逐渐靠近背衬层，针体逐渐加粗，药物便不能完全扩散进入针体，只能扩散至表层，亮度也随之减弱。

图 4 是将图 3 拍得的各照片逐层叠加后得到的 3D 立体图像，并通过改变观测角度，以清晰呈现出荧光在微针针体内的分布。图 4A 可看出在针尖处，荧光呈实心分布，表明扩散进入的蛋白药物



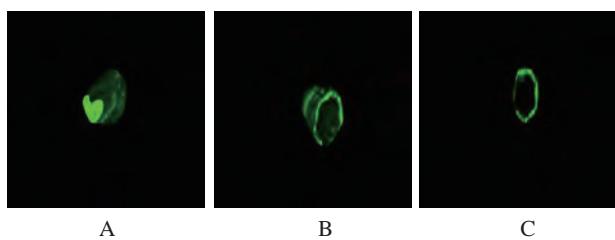
第一排从左到右截距分别为 2.2、11.8、26.2 和 35.9 μ m；
第二排从左到右截距分别为 50.3、52.8、55.2 和 67.2 μ m；
第三排从左到右截距分别为 70.0、86.5、96.1 和 100.9 μ m

图 3 针体的不同焦平面成像
Fig.3 Images of the Microneedle in Different Heights

较多。图 4B 中，随着靠近背衬层，荧光逐渐减弱，大多分布在微针的外表层。图 4C 中，荧光只分布在最外圈，呈空心状，说明蛋白药物未在靠近背衬层处，并未完全扩散进入针体内部。

3 讨论

本试验首先选择主体材料 PVA，并添加了 CMC-Na 和葡聚糖这 2 种常见药用辅料制备了 3 种处方的相转化水凝胶微针。之后用封口膜和铝箔进行包裹并使针尖露出，目的是防止后续载入的药液扩散进入微针背衬层造成浪费。



A、B、C 表示不同的观测角度

图 4 针体的三维立体图

Fig.4 3D Structure Images of the Microneedle

之后以 **1** 和 BSA-FITC 为模型药物, 将包裹后的微针贴片浸入药液中, 经由浸泡吸附法使得药物扩散进入相转化水凝胶微针。通过分析 **1** 的载入量和体外释放情况, 以及通过观察共聚焦显微镜得到的荧光图, 证明了这一方法用于微针担载蛋白药物的可行性。此外, 还可得出结论, 经由浸泡吸附法担载的药物可充分进入微针的针尖处, 随着接近背衬层针体直径的加粗, 大多药物则分布于针体表层和浅表处。并且通过体外释放试验可看出, 在释放初期, 大部分载入的 **1** 可被很快释出, 因此有理由

认为, 此方法制备的载药体系有潜力用于大分子微针表面载药的研究, 适用于需要迅速释药的情况。

参考文献:

- [1] GUPTA J, GILL H S, ANDREWS S N, et al. Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects [J]. *J Controlled Release*, 2011, **154**(2): 148-155.
- [2] DAVIS S P, MARTANTO W, ALLEN M G, et al. Hollow metal microneedles for insulin delivery to diabetic rats [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2005, **52**(5): 909-915.
- [3] YE Y, YU J, WEN D, et al. Polymeric microneedles for transdermal protein delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, **127**: 106-118.
- [4] YANG S X, WU F, LIU J G, et al. Phase - transition microneedle patches for efficient and accurate transdermal delivery of insulin [J]. *Adv Funct Mater*, 2015, **25**(29): 4633-4641.
- [5] 朱嗣文, 刘 锋, 吴 飞, 等. 艾塞那肽相转化微针的制备及处方优化[J]. 中国医药工业杂志, 2018, **49**(11): 1541-1547.