

医药·农药

PLGA 缓释微球的制备及其释药降解性能研究

吴玉彬 韩相恩 徐延良 屈琦超

(兰州交通大学化学与生物工程学院, 兰州 730070)

摘要: 以巴比妥为球心物质, 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为分散剂, 采用溶剂挥发法制备了聚(乳酸-羟基乙酸)共聚物 PLGA 载药微球。透射电镜、光学显微镜测试表明微球球型规则, 表面平滑, 分布均匀, 微球粒径在 400nm 左右, 包覆效果良好, 微球载药率 1.039%, 药物包封率 42.34%。红外(FT-IR)分析得知, 两种物质互相融为一体。以 PH=7.4 的 PBS 缓冲溶液为释放介质, 用紫外分光光度计(UV)对微球的体外释药过程进行了实验, 微球在前 10 天有明显的突释, 此后缓慢释药, 45 天后药物释药率在 80% 以上。实验结果表明: PLGA 是一种理想的控缓释材料。

关键词: PLGA; 微球; 缓释材料; 药物缓慢释放

中图分类号: TQ463.24

文献标识码: A

文章编号: 1672-8114(2008)12-0037-06

1 引言

生物可降解材料乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA(图 1)有良好的生物相容性和安全性^[1], 因其含有亲水性基团, 所以在体内降解为二氧化碳和水, 故常用于制备注射微球制剂。PLGA 可由乳酸和羟基乙酸聚合, 或用丙交酯和乙交酯经有机锡催化聚合。由于合成工艺不同, 制得的 PLGA 分子量、丙交酯-乙交酯摩尔比、光学活性、链末端结构不同, 可能影响药物释放。由于控缓释材料难于满足不同药物不同释放速率要求, 因此限制了药物控缓释材料的发展^[2]。但 PLGA 可以通过改变自身共聚物中乳酸 LA 与羟基乙酸 GA 的比例很容易地改变共聚物材料 PLGA 的物理化学性质^[3]。因而可以控制其降解速率, 使其降解时间满足所包埋药物的要求^[4]。



(R=H: 乙交酯, R=CH₃: 丙交酯)

图 1 PLGA 的分子结构式

巴比妥(barbitone, 图 2)分子式 C₈H₁₂N₂O₃, 白色

结晶粉末, 用作镇静和催眠药物, 适用于治疗神经过度兴奋引起的失眠症, 能引起安稳的睡眠。但不宜长期服用, 因其会引起全身无力、呕吐、头痛等副作用。巴比妥半衰期短, 释药快, 需长期给药, 故制备缓释微球可以维持药物在体内的平稳释放, 有效避免了药物突释对人体的副作用, 降低了毒性, 提高了药物的利用率。巴比妥的结构式如下:

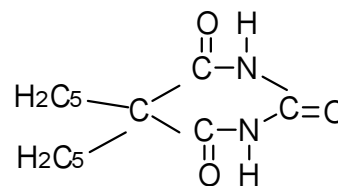


图 2 巴比妥的结构式

聚乙烯吡咯烷酮(PVP)是一种用途广泛的水溶性高分子聚合物, 具有优良的溶解性、生物相容性、生理惰性、成膜性、膜体保护能力和与多种有机、无机化合物复合的能力, 因此有着广泛的用途, 为国际倡导的三大药用新辅料之一, 常用作分散剂。

2 实验方法

2.1 实验材料

80-1 台式电动离心机(金坛晶玻实验仪器厂); UV-2100 紫外可见分光光度计(莱伯泰科有限公司); ECLIPSE 80i Nikon 显微镜(日本岛津);

作者简介: 吴玉彬(1984—), 男, 山东济南人, 硕士研究生, 主要从事高分子功能材料的研究。

* 通讯联系人

THZ-82 恒温振荡器 (江苏太仓医疗器械厂); (VERTEX-70) IR 红外光谱仪; 透射电子显微镜。巴比妥 (西安化学试剂厂); PLGA (山东岱罡生物技术有限公司); 聚乙烯吡咯烷酮 (天津市天新精细化工开发中心); 其它所用溶剂及试剂均为分析纯。

2.2 微球的制备

本论文采用溶剂蒸发法制备巴比妥微球:

(1) 0.25g PLGA 溶解于 8mL CH₂Cl₂ 中, 形成有机相。

(2) 0.5g 巴比妥溶解于丙酮中, 形成药物溶液。

(3) 准确称取 1g 聚乙烯吡咯烷酮, 烧杯中加水搅拌溶解, 将溶液移入 200mL 容量瓶中, 蒸馏水冲洗烧杯洗液全部倒入容量瓶中, 加水定容到刻度, 形成 0.5% 的 PVP 溶液。

(4) 将药物溶液倒入有机相中, 磁力搅拌, 并加入 3mL 0.5% 的 PVP 溶液高速乳化均匀。

(5) 用量 100mL 筒量量取 100mL 0.5% 的 PVP 溶液, 倒入均匀的溶液中, 再加入 3 滴乳化剂 Tween80, 高速搅拌, 乳化均匀。

(6) 将乳液室温下挥发溶剂, 待有微球析出且硬化。

(7) 抽滤得微球, 水洗三次, 室温干燥。

3 实验结果及讨论

3.1 巴比妥标准曲线的测定

3.1.1 PH=7.4 PBS 缓冲溶液的制备

蒸馏水中溶解 8g NaCl, 0.2g KCl, 1.44g Na₂HPO₄ 和 0.24g KH₂PO₄, 加水定容至 1000ml。

3.1.2 巴比妥最大吸收波长的测定

精密称取巴比妥样品, 加入缓冲溶液, 溶解配制 10ppm 溶液, 在 200-340nm 波长范围内扫描, 找出最大吸收峰, 即巴比妥最大吸收波长。经测定最大吸收波长为 238nm。

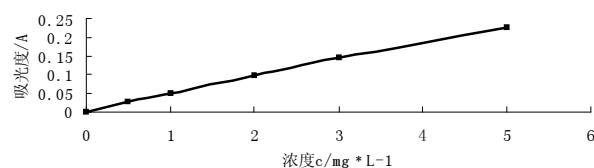
3.1.3 标准溶液的配制

从 10ppm 的溶液中分别吸取 0ml, 5ml, 10ml, 20ml, 30ml, 50ml 的溶液于 6 个 100ml 容量瓶中定容, 分别制得 0.0ppm, 0.5ppm, 1.0ppm, 2.0ppm, 3.0ppm, 5.0ppm 6 个浓度的标准巴比妥溶液, 另做一个空白溶液, 测其吸光度。

3.1.4 标准曲线的绘制

根据吸光度, 绘制 A—C 的标准曲线:

图3 巴比妥标准曲线



3.2 载药率包封率的测定

3.2.1 载药率的测定

称取 0.0815g 微球置于 100mL PBS 缓冲溶液中, 搅拌超声使所载药物充分释放溶解后离心分离, 取上层清液, 测其吸光度为 0.3896, 根据吸光度 A—C 浓度标准回归曲线 $y=0.0455x+0.0043$ ($R^2=0.9984$) 计算药物浓度为 8.4681ppm, 则 100ml 缓冲溶液中含药物 0.84681mg, 根据公式计算载药率。

$$\text{微球实际载药率} = \frac{\text{微球中药物总量}}{\text{微球质量}} \times 100\% =$$

$$\frac{0.8468 \times 10^{-3} \text{g}}{0.0815 \text{g}} \times 100\% = 1.039\%$$

3.2.2 包封率的测定

用微球中药物总量除以投药量即得:

$$\text{包封率} = \frac{\text{微球中药物总量}}{\text{投药量}} \times 100\% =$$

$$\frac{0.8468 \times 10^{-3} \text{g}}{0.002 \text{g}} \times 100\% = 42.34\%$$

$$\text{理论载药率} = \frac{\text{微球实际载药率}}{\text{包封率}}$$

$$\times 100\% = \frac{1.039\%}{42.34\%} \times 100\% = 2.5\%$$

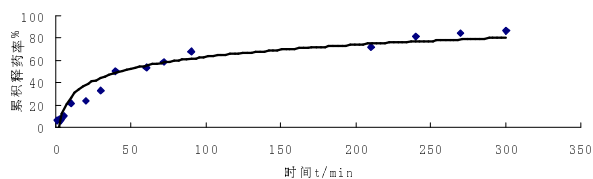
3.3 裸药及微球释放曲线

3.3.1 裸药释放曲线

将 0.01g (10mg) 巴比妥置于半透膜中放入 1000mL PBS 缓冲溶液中, 在下列时间依次取样测其吸光度, 根据吸光度计算药物浓度, 得到释药比率, 做累积释药率与时间的关系曲线 (图 4)。

从 (图 4) 巴比妥的裸药释放曲线可以看出巴比妥在缓冲溶液中 50 分钟即释放超过 50%, 突释显著, 300 分钟释放 86.26%, 所以不能直接用于人体, 有必要进行缓释的研究。

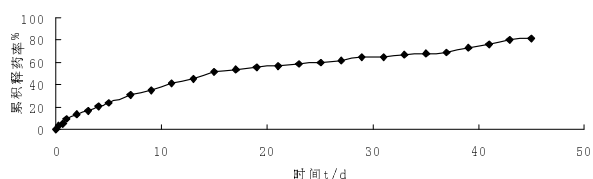
图4 巴比妥的裸药释放曲线



3.3.2 微球释放曲线

精密称取缓释微球, 装于 10mL 离心管中, 向离心管内加入 3mLPBS 缓冲溶液, 置于水浴箱中恒温恒速振荡, 分别于下列时间取样。取样时, 将离心管超速离心后, 吸取全部上清液, 测定其吸光度, 计算出药物浓度, 并求出释药百分比。补充 3mLPBS 缓冲溶液, 置于水浴箱中恒温恒速振荡, 等待下一个取样, 做微球药物的释放曲线(图 5)。

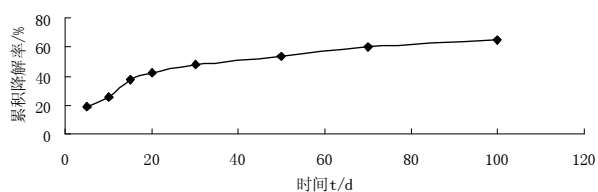
图5 载药微球累积释药率曲线



由(图 5)载药微球累积释药率曲线可以看出: 巴比妥载药微球最初有突释现象, 且不遵循零级动力学释放, 10 天内突释率达到 40%, 15 天后释药量阶梯式减少, 均匀释放, 40 天后又有一个突释过程, 45 天后释药率达到 80.97%。所以微球中药物释放分为三个阶段: 第一, 微球表面药物扩散引发的第一次突释; 第二, 微球药物的平稳释放; 第三, 由于聚合物的降解引发的药物的第二次突释^[5]。以上数据表明: PLGA 载药微球可以使巴比妥的药物释放多于 1.5 个月, 且缓释效果明显。

3.4 PLGA 降解曲线

图6 PLGA降解曲线



称取 0.08g 缓释微球, 根据载药率 1.039%, 可计算出其中 PLGA 的量为 0.0792g, 加入 100mLPBS 缓冲溶液磁力搅拌, 按下列时间将不溶物过滤, 干

燥称重, 计算降解率, 作降解率与时间的曲线(图 6)。

由(图 6)可以看出: 聚合物 PLGA 的体内降解经过最初 15 天的快速降解, 随后是长期的缓慢降解, 最初 5 天有 18.87% 的质量损失, 15 天后损失 37.25%, 100 天后损失 64.7%, 聚合物的最后降解是通过水渗透来完成的, 在最初的突释现象后, 微球中巴比妥的释放是通过 PLGA 降解来完成的。

3.5 红外分析

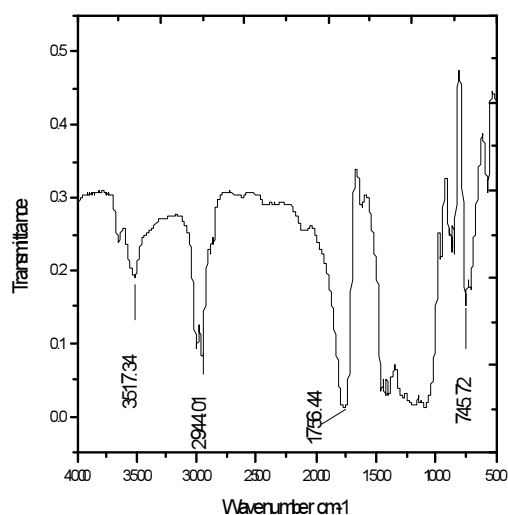


图7 PLGA 的红外谱图

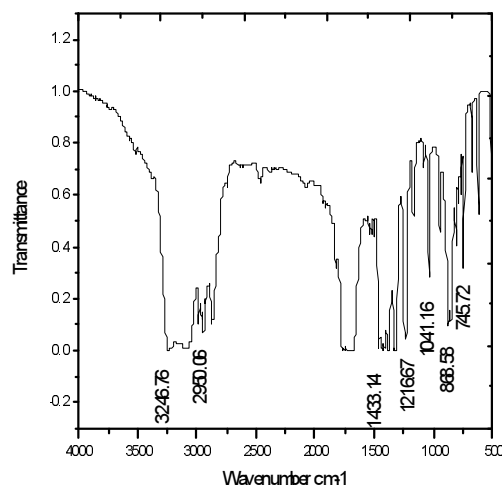


图8 巴比妥的红外谱图

由 PLGA(图 7)、巴比妥(图 8)、微球(图 9)的红外图谱分析可知:

巴比妥有许多官能团引发的特征吸收峰, 3100-3300 cm^{-1} 处为饱和 N-H 的伸缩振动峰, 2950 cm^{-1} 处为饱和 C-H 的伸缩振动峰, 1700 cm^{-1}

左右为 C=O 的伸缩振动峰, 1400 cm^{-1} 左右为饱和 C-H 的面内弯曲振动峰, 1200 cm^{-1} 左右为 C-C 骨架的伸缩振动峰, 1040 cm^{-1} 左右为 C-N 的伸缩振动峰, 870 cm^{-1} 处为饱和 N-H 的面外弯曲振动峰。

聚合物 PLGA 的特征吸收峰有: 3670-3517 cm^{-1} 处为 O-H 的伸缩振动峰, 2999-2944 cm^{-1} 处为饱和 C-H 的伸缩振动峰, 1756 cm^{-1} 处为 C=O 的伸缩振动峰, 1465-1400 cm^{-1} 处为 O-H 的面内弯曲振动峰, 1276 cm^{-1} 处为 C-O 的伸缩振动峰, 1171-1038 cm^{-1} 处为醚键的伸缩振动峰, 958 cm^{-1} 处为 O-H 的面外弯曲振动峰。

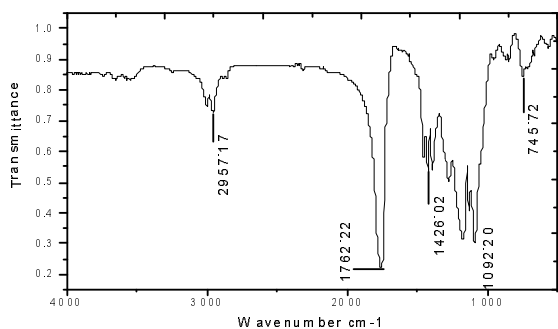


图 9 微球的红外谱图

对比载药微球, 与 PLGA 一样 2950 cm^{-1} 处饱和 C-H 的伸缩振动峰与 1760 cm^{-1} 处 C=O 的伸缩振动峰没有明显的不同, 但强度加强, 这是因为微球决不仅仅是两种物质的混合, 而是两种物质融为一体, 巴比妥的加入, 增大了吸收峰的强度。但在载药微球中出现了许多额外的峰, 这也是因为巴比妥的加入, 但是巴比妥许多特征峰在载药微球中不是很明显, 巴比妥中出现的 3246、1350、1216、1120、1041 cm^{-1} 的峰同样出现在载药微球中, 但区别于 PLGA, 这表明了 PLGA 已成功将巴比妥包埋。

3.6 微球的透射电镜及光学显微镜分析

将微球分散于丙酮中, 在透射电子显微镜下拍照。从(图 10)2.5 万倍透射电子显微镜的图片可以看出, 载药微球颗粒大小均匀, 1 μm -40 μm , 球型规则, 表面平滑, 微球大部分粒径在 400 nm 左右, 分布均匀。

从(图 11)光学显微镜的图片可以看出, 载药微球球型规则, 表面平滑, 能明显看出巴比妥已包埋于 PLGA 缓释材料中。由(图 12) 释药 45 天的微球图片可见: 微球已变得不规则, 这是由于

PLGA 的降解造成的, 这也是微球内药物释放的主要原因和途径。



图 10 微球的透射电镜图片(2.5 万倍)

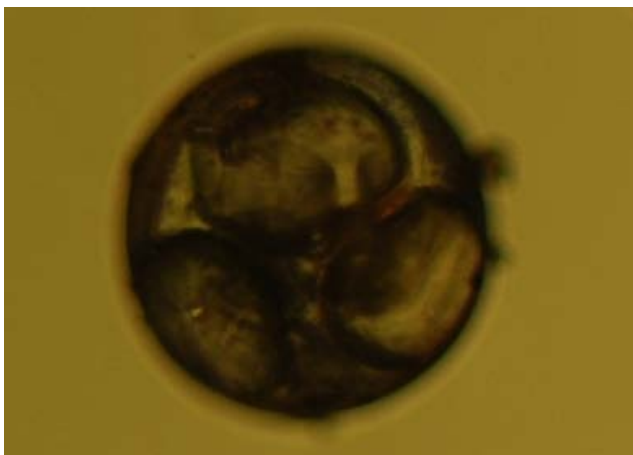


图 11 微球的显微镜图片

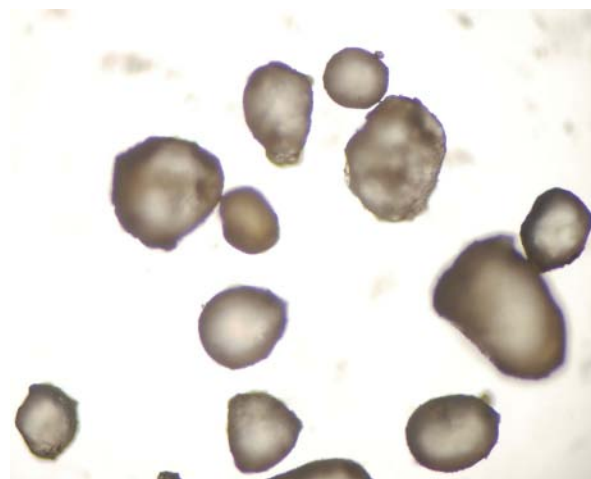


图 12 释药 45 天的微球显微镜图片

4. PLGA 控缓释材料的应用

4.1 可生物降解材料

可用作控缓释材料的可生物降解材料有壳聚糖^[6]、珊瑚藻及明胶、聚己内酯(PCL)、聚氨基酸、聚氰基丙烯酸酯、聚酸酐及其共聚物和酰胺类溶解性水凝胶等。特别是聚(α -羟基酸)聚合物,如聚乳酸 PLA、聚羟基乙酸 PGA 以及它们的共聚物 PLGA 都具有优良的生物相容性及生物可降解性,因此常用作控缓释体系的降解材料^[7]。

4.2 PLGA 载药微球

PLGA 微球被用于药物控缓释体系来治疗许多疾病,这些疾病的治疗要求药物在血液中维持一定的浓度,或者通过靶向作用使药物到达特定的组织和器官后缓慢释放,使药物在靶向部位的浓度显著增加,作用时间延长,提高了药物的治疗效果,同时减轻了对人体正常组织的毒副作用^[8-19]。PLGA 载药微球的释放速率相对缓慢且释放周期长,因此减少了由于频繁给药给病人带来的痛苦与不便,可以维持药物在体内的平稳释放,有效避免了药物突释对人体的副作用,降低了毒性,提高了药物的利用率^[20-21]。而且微球可以通过注射给药,这样可以使药物在局部释放,以保持药物在局部的高浓度,如疫苗抗原的释放^[22-23]。

5 结束语

PLGA 控缓释材料可用于巴比妥的缓慢释放研究,制备的微球载药率达到 1.039%,药物包封率 42.34%,微球包覆效果良好,微球在前 10 天有明显的突释,此后缓慢释药,最终药物释药率在 80% 以上。实验结果表明:PLGA 载药微球可以使巴比妥的释放多于 1.5 个月,且缓释效果明显,所以 PLGA 是制备药物控缓释体系的理想材料,必将广泛应用于医药及精细化工领域。

参考文献:

[1] Julia Schmieders, Uwe Gbureck, Roger Thull, et al.

Controlled release of gentamicin from calcium phosphate-poly (lactic acid-co-glycolic acid) composite bone cement [J]. Biomaterials, 2006, 27: 4239-4249.

[2] N.S. Berchane, K.H. Carson, A.C. Rice-Ficht, et al. Effect of mean diameter and polydispersity of PLGA microspheres on drug release: Experiment and theory [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2007, 337: 118-126.

[3] Franziska Gabler, Simone Frauenschun, Jochen Ringe, et al. Emulsion-based synthesis of PLGA-microspheres for the in vitro expansion of porcine chondrocytes [J]. Biomolecular Engineering, 2007: 1-6.

[4] Minuth, W.W., Strehl, R., Schumacher, et al. Tissue Engineering-Von der Zellbiologie zum kunstlichen Gewebe [J]. Wiley-VCH, Weinheim, pp, 2003: 179-181.

[5] Banu S. Zolnik, Pauline E. Leary, Diane J. Burgess. Elevated temperature accelerated release testing of PLGA microspheres [J]. Journal of controlled Release, 2006, 112: 293-300.

[6] Lim ST, Forbes B, Berry DJ, et al. In vivo evaluation of novel hyaluronan/chitosan microparticulate delivery systems for the nasal delivery of gentamicin in rabbits [J]. Int J Pharm, 2002, 231: 73-82.

[7] Maria Rosa Vitro, Begona Elorza, Susana Torrado, et al. Improvement of gentamicin poly (D,L-lactic-co-glycolic acid) microspheres for treatment of osteomyelitis induced by orthopedic procedures [J]. Biomaterials, 2007, 28: 877-885.

[8] Asghar L.F.A., Chandran. Multiparticulate formulation approach to colon specific drug delivery: current perspectives [J]. J. Pharm. Sci, 2006, 9: 327-338.

[9] Baklanov, D. V., Moodie, K.M., Mocarthy, F.E., et al. Comparison of transendocardial and retrograde coronary venous intramyocardial catheter delivery systems in healthy and infarcted pigs [J]. Cathet. Cardiovasc. Interv; 2006, 68: 416-423.

收稿日期: 2008.10.30

The preparation of PLGA microspheres and the research about the capability of the control release

Wu Yubin Han Xiang'en Xu Yanliang Qu Qichao

(School of Chemical and Biological Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The aim of this study was first to prepare Poly (lactide-co-glycolide) PLGA microsphere containing barbitone by a solvent evaporation method, PVP was used as dispersant. Transmission Electron Microscope (TEM) and Optical Microscope (OM) showed that the preparation of microsphere had regular shape, smoother surfaces and relatively narrow particle size distribution. Particle size is 400nm, approximately. The embedding effect was preferable. The actual drug loading was 1.039% and Encapsulation efficiency was 42.34%. According to Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis, PLGA and barbitone had become one substance. PH=7.4 PBS buffer solution was used as releasing media. UV was used to analyse the process of the release of microsphere. In the first 10 days, an initial burst release was observed. subsequently, drug release followed by a nearly constant rate per day. The cumulative amount of drug release was exceeded 80% after 45 days. The result showed that PLGA was a appropriate material of control release.

Keyword: PLGA; microsphere; Controlled or sustained material; drug control release

巫山打造全国最大生物能源基地

昨天,巫山县林业局长聂必红介绍,大约5年后,巫山将把30万亩乌桕打造成全国最大的生物能源基地和红叶景观地。

聂必红说,现在巫山的乌桕大约有20万亩,乌桕籽在全国的产量排名第三。同时,叶子在冬季比黄栌还要红。打造30万亩乌桕基地,就是成为全国最大的乌桕籽生产县。

目前,交旅集团正投资打造红叶景观林带10万亩,乌桕是首选。

聂必红说,乌桕一般一亩地可种50株,5年后就可结籽。乌桕长到30年后,每株树可结籽50斤,巫山最大的一株乌桕年产籽200多斤。

用乌桕籽来生产生物柴油技术已非常成功,巫山已与香港环球再生资源系统有限公司签订协议,计划明年在巫山建成年产5万吨的生物柴油厂,共同开发巫山乌桕资源。

乌桕籽出油率一般在37%,30万亩乌桕就是1500万株,如果按5年后产籽5斤/株计算,乌桕籽的产量可达7500万斤,可提炼2775万斤柴油。

目前乌桕籽的市场价高于柴油价,为1.4万元/吨,今后如果油价大幅上涨时,便可用乌桕籽来生产柴油。

在规划的30万亩乌桕种植中,巫山县采取了公司+农户的模式,目前重庆农业发展开发公司已开始实施。

如果农户种上几亩地的乌桕,人均年收入就可达千元以上。

全球物流巨头亚致力在上海投资

物流业纷纷“过冬”的局面下,全球物流巨头、业内以“财大气粗”著称的科威特亚致力物流(Agility)却选择在华逆市扩张。11月28日位于上海市奉贤区海港综合经济开发区的“亚致力—博禄上海加工及物流中心”正式破土动工。集团全球总裁阿尔沙伦表示:“这个占地7万平方米的新中心将专注于石化物流,满足中国汽车、包装、电器等行业的国际物流需求。”

亚致力大中华区行政总裁葛仁杰透露,新物流中心总投资约7000万美元,博禄(Borouge)等公司亦有出资,项目总计购买了约160亩土地,由亚致力控股。该中心有望在2009年建成,到2010年1季度全面投入中国市场运作,届时将直接由位于中东地区阿布扎比的博禄化工项目以货柜形式输入化学品,每年可处理超过60万吨的聚烯烃(包括聚丙烯、聚乙烯)。与之相配套,博禄亦会在同一地点兴建占地3万平方米的综合制造中心,并跻身博禄全球3家“远程中心”之一,每年用亚致力从中东运来的原料生产5万吨复合物料,以上海客户为首要对象。

摘自《中国航务周刊》