

PLGA载多柔比星磁性纳米微球的制备与表征

董鑫

(同济大学 纳米与生物高分子材料研究所,上海 200092)

摘要:采用复乳法制备了PLGA载多柔比星磁性纳米微球,并对其形貌、粒径、磁性、包封率、载药量等特性进行了表征.实验结果证明,微球形貌良好,粒径分布在 20 ± 5 nm范围内,在乳液中分散均匀,具有一定的磁性,微球包封率为41.2%,载药量为0.4%.微球制备方法简便易行,效果良好,各项特性指标符合药物载体要求,在生物活体癌症靶向治疗中具有潜在应用价值.

关键词:磁性纳米微球;PLGA;多柔比星;复乳法

中图分类号:R73-3 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-2794(2008)10-0043-03

蒽环类抗生素多柔比星(Doxorubicin, DOX)是一种广谱抗癌药物,具有较强的活性,在癌症化疗中被广泛使用.但在使用时人体心脏、肾脏等器官对其产生严重的不良反应,也限制了其在肿瘤治疗中的应用^[1,2].本研究致力于制备一种可降解聚合物磁性纳米微球载体,通过磁靶向作用使药物在患处富集,减少药物毒性对身体其他器官的影响.同时通过调控聚合物的降解行为,使药物缓慢释放,降低突释浓度,减少给药次数,成为理想的药物释放体系^[3].

1 材料与设备

注射用多柔比星(Doxorubicin, 复旦大学医学院提供),聚乙交酯/丙交酯(PLGA, LA:GA=75:25, 济南岱罡生物科技有限公司), Fe_2O_3 悬浮液(比饱和磁化强度 $45-60 Am^2 \cdot kg^{-1}$, 自制),聚乙烯醇(Fluka公司),span80(国药集团上海化学试剂公司),二氯甲烷,丙酮,乙醇(分析纯, 国药集团上海化学试剂公司).

350W超声波发生器,HitachiHU211B透射电镜,振动样品磁强计VSM(EG&G Princeton Applied Research Vibrating Sample Magnetometer, Model 155, USA),紫外-可见分光光度计(UV-2450 Shimadzu).

2 实验方法

2.1 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的制备

采用改进的复乳法^[4]制备了水/油/水(W/O/W)体系的PLGA(聚乳酸(PLA)和聚乙醇酸(PGA)的共聚物)磁性载药微球.其过程简述如下:

(1) 初乳液制备

用10ml蒸馏水溶解10mg多柔比星,分装在10个小ep管(Eppendorf Micro Test Tubes型微量离心管)中备

收稿日期:2008-09-15

基金项目:国家自然科学基金(C03030401)资助项目.

作者简介:董鑫(1984—),男,河北昌黎人,德国慕尼黑大学硕士研究生.

用;用10ml二氯甲烷和丙酮(8:2)混合溶液溶解100mg PLGA,待溶解完全,加入0.5ml的span80,将1ml多柔比星溶液和1ml Fe_2O_3 悬浮液混合,超声分散1min.然后在超声条件下,用枪管将上述混合液滴加入PLGA溶液中,滴完为止,再超声分散3min,形成暗红色初乳液(W/O).

(2) 复乳制备

用100ml蒸馏水在加热条件下溶解1gPVA,作为乳化稳定剂.在超声和震荡条件下,将上述初乳用枪管缓慢滴入PVA(PolyvinylAlcohol:聚乙烯醇)水溶液中,形成复乳(W/O/W).

(3) 溶剂挥发与洗涤

在室温下,将复乳液低速搅拌,过夜,以挥发溶剂.然后将所得乳液用乙醇洗涤两次,除去span80,再用蒸馏水洗涤两次,除去PVA,直接制样,使用或冷冻保存.

2.2 PLGA载多柔比星磁性纳米微球形貌的观察

将上述PLGA微球蒸馏水乳液超声分散后,喷洒在铜网上,用透射电子显微镜放大15万倍,观察微球形貌.

2.3 PLGA载多柔比星磁性纳米微球磁性能测试

将磁性载药微球乳液烘干,得到粉末状样品,用振动样品磁强计测试其磁性能.

2.4 PLGA载多柔比星磁性纳米微球包封率和载药量的测定

在15000r/min下,将微球乳液低温离心分离1小时,取上清液,用紫外-可见分光光度计测量其在480nm处的吸收峰^[5].标定多柔比星蒸馏水溶液的浓度曲线,进而计算上清液中多柔比星的含量.将沉淀的磁性载药微球烘干,得到粉末状样品,用二氯甲烷溶解完全,用紫外-可见分光光度计测定其在480nm处的吸收峰,再标定多柔比星在二氯甲烷中的浓度曲线,进而计算微球中负载的多柔比星含量.

包封率=二氯甲烷中多柔比星的含量/(蒸馏水中多柔比星的含量+二氯甲烷中多柔比星的含量)×100%

实际载药量=理论载药量×包封率

3 结果与讨论

3.1 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的形貌

实验所形成的PLGA载多柔比星磁性纳米微球直径分布均匀,在 20 ± 5 nm范围内,虽偶有粘连现象,但总体上在乳液中均匀分散,微球形貌良好(图1).

在人体的生理环境中,表面为油性的微球分散在体液中,形成一种乳液体系;而微球本身又是一种“油包水”的复合体系.与水性药物直接作用于人体相比,这种体系中的载体微球起到一种屏蔽作用,避免药物过快释放到体液中,从而减轻了药物的毒副作用.而随着微球的降解,药物会均匀缓慢地释放到体液体系中,达到长效治疗的目的,同时可以减少给药次数,提高药物的使用效率.另一方面,从材料学角度讲,PLGA作为一种共聚物,其在水性条件下的降解速率直接与竞聚率(LA/GA)相关,从而可以方便地通过调节共聚物的组成控制微球的降解速率,进而调节给药时间.这就为临床应用上针对具体情况,制备不同药物的载药微球创造了条件,提供了多样性.微球良好的形貌和均匀的直径分布有利于降解性能的调控.

3.2 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的磁性能

实验结果表明,该磁性纳米微球具有明显的铁磁性特征,说明微球已经对铁磁性材料进行了成功的包裹(图2).在临床治疗中,通过体外强磁场的引导,口服或静脉注射的磁性微球可以直接到达病灶,从而进行靶向治疗.这样不但可以提高药物的使用效率,而且可以避免药

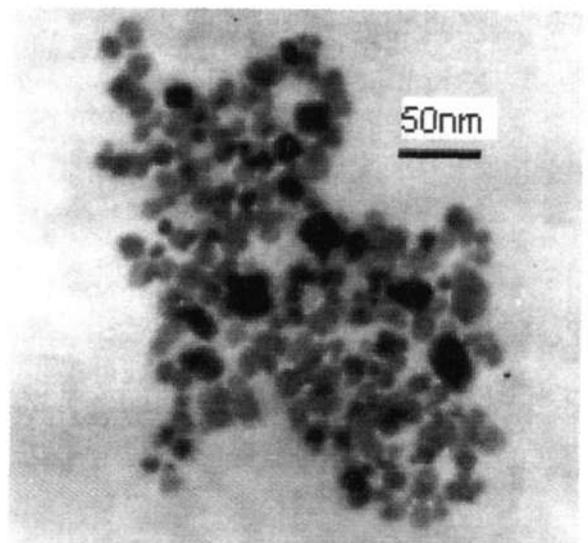


图1 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的透射电镜照片

物对人体其他组织器官的影响。

3.3 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的包封率和载药量

包封率 = $0.201394 \times 1 / (0.201394 * 1 + 0.095978 * 3) = 41.2\%$

实际载药量 = $41.2\% * 1\% = 0.412\%$

包封率和载药量是评价微球体系的重要指标。包封率越高,说明制备条件控制越好,而载药量则由具体的治疗所需药物浓度相关。由于多柔比星为一种化疗用抗生素,活性很高,因而用量较小^[6],所以较低的载药量仍能满足临床使用的要求。

综上所述,微球制备方法简便易行,效果良好,磁性、载药量、包封率等各项特性指标符合药物载体的要求,为进一步的生物活体靶向药物治疗奠定了基础,具有广阔的潜在临床应用价值。

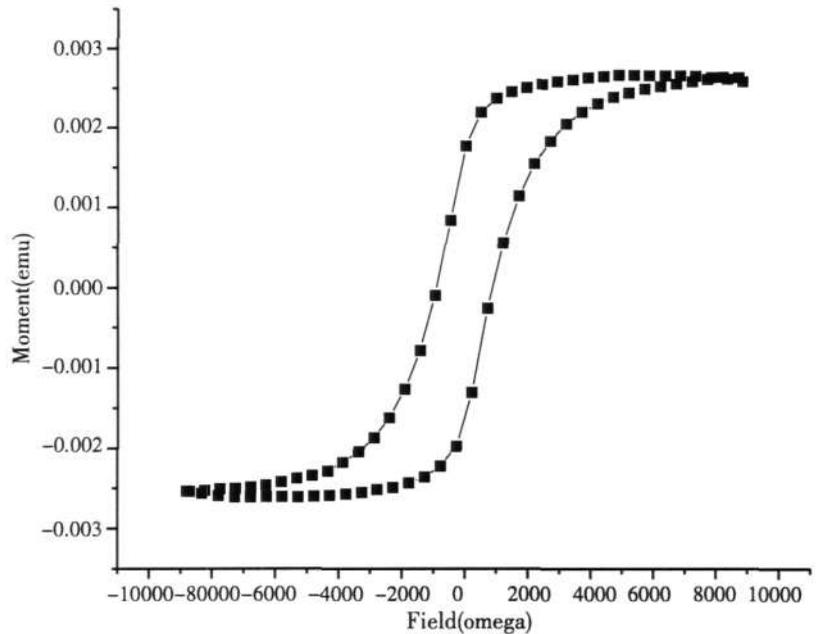


图2 PLGA载多柔比星磁性纳米微球的磁性曲线

参考文献:

- [1] 文柳静. 多柔比星心脏毒性的研究[J]. 中国药师, 2006,10:956-958.
- [2] Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephritic syndrome in rats[J]. Laboratory Investigation,1982,46(1):16-23.
- [3] Ma P X. Biomimetic materials for tissue engineering [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(2):184-198.
- [4] Jeon O, Lim H W, Song S J, Lee M, Kim B S. Poly(L-lactide-co-glycolide) nanospheres conjugated with a nuclear localization signal for delivery of plasmid DNA[J]. Journal of Drug Target,2007,15:190-198.
- [5] 吴诚,于月梅,梅兴国. 多柔比星长效注射微球的评价和对小鼠肿瘤的抑制作用[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2008,44(3):287-290.
- [6] 陈立娟,郭家彬,彭双清. 阿霉素致大鼠心脏氧化损伤及其机制的研究[J]. 毒理学杂志,2006,2(3):147-149.

Preparation and Characterization of Doxorubicin-loaded PLGA Magnetic Nanoparticles

DONG Xin

(Nano- and Bio- Polymeric Materials Institute, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Doxorubicin-loaded PLGA magnetic nanoparticles were prepared by the double emulsion method. The properties of the nanoparticles such as the morphology, size, magnetism, rate of encapsulation and drug-loading amount were characterized. The results demonstrated that the nanoparticles with magnetism dispersed well in the emulsion. The size of the particles were uniformly distributed in the range of 20 ± 5 nm. The rate of encapsulation and the drug-loading amount were 41.2% and 4%, respectively. The preparation method of the drug-loaded nanoparticles is easy but efficient. The various properties of the particles can meet the need for controlled-released drug carriers. They are good candidates for further development of the targeted anti-cancer treatment of animals and human.

Key words: magnetic nanoparticles; PLGA; doxorubicin; double-emulsion method