

阿霉素微胶囊的制备及表征

饶 骏 陶 霞 陈建峰*

(北京化工大学纳米材料先进制备技术与应用科学教育部重点实验室, 北京 100029)

摘 要: 采用三嵌段共聚物聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸 (PLA-PEG-PLA) 为载体, 阿霉素为模型药物, 通过双乳化溶剂蒸发法制备出阿霉素微胶囊, 考察了稳定剂和制备条件对阿霉素微胶囊的性质及阿霉素的载药率和释放速率的影响。扫描电子显微镜和激光粒度测试表明, 阿霉素微胶囊呈类球形或不完全球形, 粒径大小为 900 nm 左右。阿霉素微胶囊对阿霉素的包封率为 35.7%。通过体外释药实验表明, 阿霉素微胶囊可持续释药 10 天以上。

关键词: 阿霉素; 药物释放; 微胶囊; 聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸

中图分类号: TQ460

引 言

带有亲水链聚乙二醇 (PEG) 的两亲性可生物降解的三嵌段共聚物聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸 (PLA-PEG-PLA) 自组装微胶囊^[1], 作为大分子药物的载体, 具有制备工艺简单、稳定性好、载药量大、毒副作用低等优点, 近年来得到了很大的关注^[2-4], 如使用三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA 制备包载胰岛素的载药纳米胶囊^[5]。阿霉素 (doxorubicin, DOX) 是一种广谱抗肿瘤抗生素, 抗肿瘤谱广、活性强, 被广泛应用于治疗肝癌、胃癌等^[6]。但由于阿霉素存在心脏毒性、骨髓抑制等严重的不良反应^[7-8], 且分子结构不稳定, 易发生水解、光解等变化, 降低了疗效, 限制了阿霉素的临床使用。为了减少阿霉素的不良反应而又达到明显的治疗效果, 可以制备包载阿霉素的生物降解微胶囊, 如使用聚氰基丙烯酸正丁酯为载体制备出可生物降解的包载阿霉素的微胶囊^[9]。

制备可生物降解且包埋水溶性药物的微胶囊有双乳化法, 溶剂提取法, 液面展开法等多种方法^[10-11]。而使用三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA 制备包载阿霉素的微胶囊的报道较少。本文选用三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA 为载体, 通过双乳化溶剂蒸发法^[12]制备包载阿霉素的微胶囊, 并对制得的阿霉素微胶囊进行了表征。

收稿日期: 2008-01-02

第一作者: 男, 1981 年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: chenjf@mail.buct.edu.cn

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

注射用盐酸阿霉素, 汕头明治医药有限公司; 三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA, 济南健宝开元生物材料有限公司; 明胶, 国药集团化学试剂有限公司。

XL-30 扫描电子显微镜, 美国 FEI; Zetasizer-3000-HS 型激光粒度仪, 英国 Malvern; UV-2501 型紫外/可见分光光度计, 日本岛津; FV500 型荧光共聚焦显微镜, 日本 Olympus; VCX400 超声仪, 日本 Sonics。

1.2 阿霉素微胶囊的制备

阿霉素为水溶性药物, 采用双乳化溶剂蒸发法制备阿霉素微胶囊。取 50 mg 三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA (PEG 平均分子量为 1000, 所占质量分数为 10%) 溶解于 2 mL 等体积的二氯甲烷与乙酸乙酯混合液中, 加入 0.1 mL, 5 mg/mL 的阿霉素水溶液。在冰浴中, 将上述混合液超声乳化一定时间制备得到初乳液, 再加入 6 mL 质量分数为 0.1% 的明胶水溶液于初乳液中, 继续超声乳化一段时间制备得复乳液。将上述复乳液转移至 60 mL 蒸馏水中, 于室温下磁力搅拌 10 min, 最后旋转蒸发除去有机溶剂得到阿霉素微胶囊。阿霉素微胶囊以乳液形式保存。

1.3 阿霉素微胶囊的表征及测试

通过激光粒度仪测试阿霉素微胶囊的粒度大小及分布。取适量的阿霉素微胶囊乳液滴在玻璃片上, 用扫描电子显微镜观察微胶囊的形貌。采用紫外/可见分光光度计测定阿霉素微胶囊的载药

率^[13]。取一定量的阿霉素微胶囊乳液,经高速离心后取上层清液于 490 nm 处测其吸收度,由内标法计算得上清液中阿霉素的质量 m_1 ,再按下式计算阿霉素的包封率(E):

$$E = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\%$$

其中, m_0 为初始加入的阿霉素的质量,mg。

取阿霉素微胶囊乳液 30 mL,装入透析袋中,然后于大量纯水中静态透析 30 h,然后将透析袋中的乳液滴加在载玻片上,用荧光共聚焦显微镜 (CLSM) 观察微胶囊的内部载药情况。

1.4 体外释药实验

取阿霉素微胶囊乳液 30 mL,装入透析袋中,并置于盛有 PBS 缓冲液 (pH = 7.4) 的带磨口塞的锥形瓶中,然后放入 37 的水浴恒温振荡器中,在不同的时间点取样 10 mL,然后再补充 10 mL 的缓冲液,按照 1.3 节中的方法测定阿霉素的含量。

2 结果与讨论

2.1 阿霉素微胶囊结构特性

由双乳化溶剂蒸发法制备的阿霉素微胶囊为具有明显乳光的胶体溶液。用激光粒度仪测定阿霉素微胶囊的粒径分布,其粒径大小集中在 850 ~ 950 nm 之间。图 1 为阿霉素微胶囊的 SEM 照片,由图 1 可以看到,阿霉素微胶囊呈类球形或不完整球形,平均粒径大小约为 900 nm 左右,这样粒径的载药微胶囊可用于静脉给药,且窄粒径分布有利于药物稳定释放。

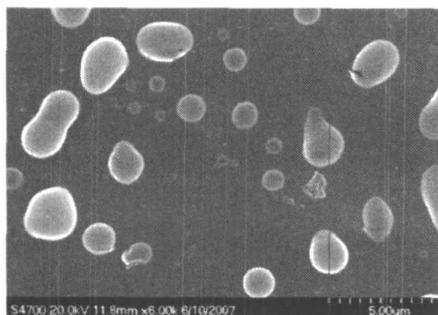
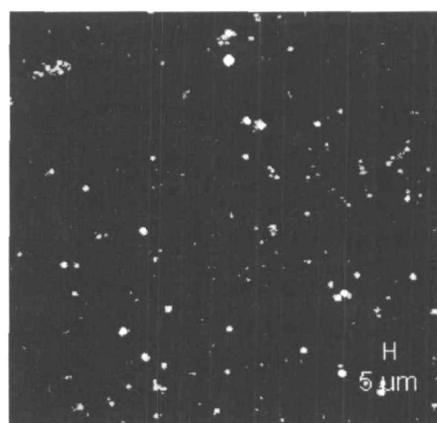


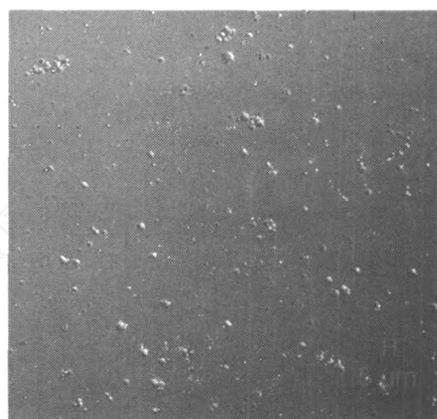
图 1 阿霉素微胶囊扫描电子显微镜图

Fig. 1 SEM micrograph of prepared microcapsules

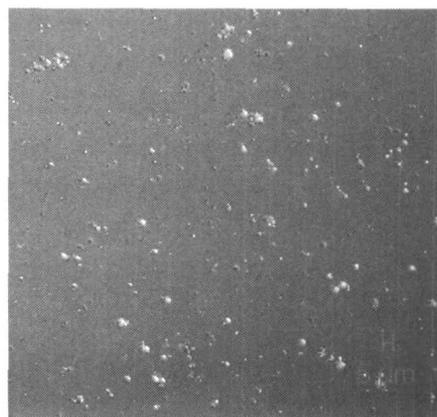
阿霉素具有荧光性,图 2 为阿霉素微胶囊 CLSM 照片。由 CLSM 照片可以看到阿霉素微胶囊内部具有荧光性,这说明制备出的确实是内部包载了药物的微胶囊。周围环境无荧光,说明透析处理的效果比较好。



(a) CLSM 荧光图



(b) CLSM 透射图



(c) a 和 b 的重叠图

图 2 阿霉素微胶囊荧光共聚焦显微镜照片

Fig. 2 Confocal laser scanning microscope (CLSM) images of DOX-loaded microcapsules

2.2 制备条件对微胶囊性质的影响

2.2.1 外水相稳定剂的选取

PLA 引入 PEG 后,共聚物具有一定的亲水性,因此只有采用表面张力较大的稳定剂才能使共聚物有效成球。可供选择的稳定剂有明胶,聚乙二醇(分子量为 6000) (PEG₆₀₀₀),聚乙烯醇,表面张力分别为

0.054, 0.0596, 0.0362 N/m。PEG₆₀₀₀虽然表面张力较大,可在生物体系中不易降解,所以本文采用表面张力大且可生物降解的明胶作为外水相稳定剂。

2.2.2 复乳超声时间和功率的影响

表 1 为制备条件对阿霉素微胶囊性质的影响。由表 1 可知,2 次超声时间和功率对微胶囊的平均粒径和药物包封率有显著影响。复乳超声功率增加则微胶囊粒径减小。复乳的乳化对微胶囊的粒径有决定性作用。增加复乳的超声功率可降低包封率和粒径。这是由于增加复乳的超声功率降低了油相小滴的粒径,从而微胶囊粒径减小,同时微胶囊表面积增加,使得药物的包封减少。

考察了共聚物浓度和外水相体积对平均粒径和包封率的影响。药物包封率随着共聚物浓度的增加而增加,但是平均粒径的变化不大,而外水相体积的增加能使微球粒径变大,包封率增加。

表 1 制备条件对阿霉素微胶囊性质的影响

Table 1 Effect of varying preparation conditions on the microcapsule size and the loading amount of DOX

t/ s	P/ W	D/ nm	E/ %
15	25	1050	36.3
15	35	727.5	27.4
10	30	1107	36.1
15	30	866.1	35.7
20	30	603.5	26.5

2.3 阿霉素微胶囊的体外释药性能

在体外释药研究中,所用阿霉素微胶囊的平均粒径为 866 nm,药物载药量为 35.7%。图 3 为阿霉素微胶囊在不同溶液中的体外释药性能。阿霉素微胶囊在 PBS 缓冲液的释药速度较在生理盐水和纯

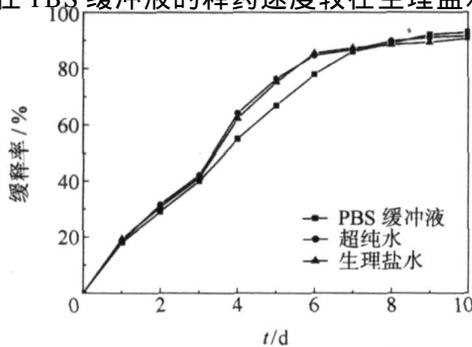


图 3 不同介质中阿霉素微胶囊的累积释药曲线

Fig.3 Cumulative release of DOX encapsulated in microcapsules in different media

水中慢,主要是由于共聚物在纯水和生理盐水中降解的速度比在磷酸盐缓冲液中快。阿霉素微胶囊在药物释放过程中药物的释放量比较稳定。从药物缓释的角度来看,阿霉素微胶囊的药物释放周期长,药物的释放量更加稳定、平缓,更有利于药物控释。

图 4 为不同组成的共聚物所制备的阿霉素微胶囊在 PBS 缓冲液中的体外释药性能。由图 4 知共聚物中 PEG 分子量和含量的提高均可以减弱阿霉素微胶囊的突释效应,使释药较平缓,且延长释药持续时间。

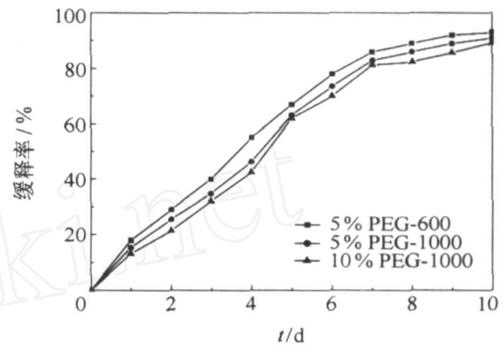


图 4 不同组成的 PELA 制备的阿霉素微胶囊在 PBS 溶液中的累积释药曲线

Fig.4 Cumulative release of DOX encapsulated in microcapsules with different PELA composites

3 结论

选用生物降解性和相容性较好的三嵌段共聚物 PLA-PEG-PLA 为载体,抗癌药物阿霉素为模型药物,采用双乳化溶剂蒸发法可制备阿霉素微胶囊。该微胶囊呈类球形或不完整球形,粒径大小为 900 nm 左右。其对阿霉素的包封率为 35.7%。体外释药可持续 10 d 以上。

参考文献:

- [1] Ventatraman S S, Pan J, Feng M, et al. Micelle-like nanoparticles of PLA-PEG-PLA triblock copolymer as chemotherapeutic carrier [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2005, 298 (1): 219 - 232.
- [2] Ruan G, Feng S S. Preparation and characterization of poly (lactic acid)-poly (ethylene glycol)-poly (lactic acid) (PLA-PEG-PLA) microspheres for controlled release of paclitaxel [J]. Biomaterials, 2003, 24 (27): 5037 - 5044.
- [3] Li Xiaohong, Deng Xiaomo, Yuan Minglong, et al. In vitro degradation and release profiles of poly-DL-lactide

- poly(ethylene glycol) microspheres with entrapped proteins[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, 78: 140 - 148.
- [4] 杨远,贾文祥,祁欣,等. 可生物降解材料作为基因载体的研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2006, 23(3): 573 - 577.
- [5] 牛文强,傅国旗,吴俊丽,等. PLA/PEG/PLA 三嵌段共聚物载药纳米胶囊的制备及表征[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(7): 1369 - 1371.
- [6] Dos Santos R A, Takahashi C S. Anticlastogenic and antigenotoxic effects of selenomethionine on doxorubicin-induced damage in vitro in human lymphocytes[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(2): 671 - 677.
- [7] Omelyanenko V, Kopeckov P, Gentry C, et al. Targetable HPMA copolymer-adriamycin conjugates: recognition, internalization and subcellular fate[J]. *Journal of Controlled Release*, 1998, 53(1 - 3): 25 - 37.
- [8] 林本兰,沈晓东,崔升,等. 磁性纳米粒阿霉素微球制备的初探[J]. *中国医院药学杂志*, 2005, 25(5): 424 - 426.
- [9] 李范珠,胡晋. 阿霉素纳米囊的制备工艺及其毒性试验[J]. *中国现代医用药学杂志*, 2006, 23(6): 474 - 477.
- [10] Yeo Y, Back N, Park K. Microencapsulation method for delivery of protein drug[J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2001, 6: 213 - 230.
- [11] Jain R A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable PLGA devices [J]. *Biomaterials*, 2000, 21(23): 2475 - 2490.
- [12] Meng Fentao, Ma Guanghui, Qiu Wei, et al. W/O/W double emulsion technique using ethyl acetate as organic solvent: effects of its diffusion rate on the characteristics of microparticles[J]. *Journal of controlled release*, 2003, 91(3): 407 - 416.
- [13] 赵瑞玲,谢茵,丁红. 紫外分光光度法测定阿霉素聚乳酸微球含量[J]. *山西医科大学学报*, 2003, 34(2): 166 - 167.

Preparation and characterization of doxorubicin-loaded microcapsules

RAO Jun TAO Xia CHEN JianFeng

(Key Laboratory for Nanomaterials, Ministry of Education, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Doxorubicin (DOX)-loaded poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) (PLA-PEG-PLA) microcapsules have been prepared by a double emulsion technique and characterized by dynamic laser light scattering, scanning electron microscopy (SEM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM). SEM showed that the microcapsules had a size of ca. 900 nm and smooth spherical surfaces. CLSM images directly verified that DOX was encapsulated into the microcapsules. The entrapment ratio of DOX in the capsules amounted to 35.7%. The effects of varying the preparation conditions on the microcapsule size and DOX encapsulation efficiency were also investigated. Drug release studies in a physiological environment indicated that the controlled release of DOX from the microcapsules could be sustained for over 10 days.

Key words: doxorubicin; drug release; microcapsule; poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid)