论著

文章编号:1000-5404(2007)13-1280-02

ADM-PLGA 缓释纳米微球的制备及体外释药的研究

卢来春[1],张 蓉[1],张 纲[2],黄林清[1],刘同华[1] (第三军医大学新桥医院:[1]药剂科,[2]口腔科,重庆 400037)

提 要:目的 制备 ADM-PLGA 纳米微球,观察其一般特性、载药量、包封率和缓释特性。**方法** 采用超声乳化法制备缓释 ADM-PLGA-Ns 纳米微球,观察其一般特性,采用高效液相法测定 ADM 含量,并模拟体内条件研究 ADM-PLGA-Ns 纳米微球的体外缓释特性。**结果** 纳米微球表面光滑圆整,球体大小均匀,粒径为(21±5.4)nm,微球包封率和载药量分别为(89.71±7.31)%和(0.75±0.54)%。微球体外释药符合 Higuichi 方程,10 d 后释放度达 95.00%。**结论** ADM-PLGA纳米微球制备工艺效果满意,具有明显的缓释作用。

关键词:阿霉素;纳米微球;缓释

中图法分类号:R943;R944.9;R979.14 **文献标识码**:A

Preparation of ADM-PLGA sustained release nanospheres and their release characteristics *in vitro*

LU Lai-chun[1], ZHANG Rong[1], ZHANG Gang[2], HUANG Lin-qing[1], LIU Tong-hua[1] ([1]Department of Pharmacy, [2]Department of Stomatology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To prepare ADM-PLGA nanospheres (ADM-PLGA-Ns) and investigate their general characteristics, drug release characteristics *in vitro*. Methods The ADM-PLGA-Ns were prepared by W/O/W multiple emulsion volatilizing method. Their general properties were observed. HPLC was used to measure the content of ADM. *In vivo* conditions were simulated to study ADM-PLGA-Ns release characteristics. Results The ADM-PLGA-Ns were even and uniform spheres with mean particle size of (21±5.4) nm in diameter. The drug loading amount and encapsulation efficiency of ADM-PLGA-Ns were (89.71±7.31)% and (0.75±0.54)% respectively. The *in vitro* release profile of ADM-PLGA-Ns was figured by Higuichi equation. The drug release reached 95.00% at the 10th day. Conclusion The prepared ADM-PLGA-Ns have good properties including sustained release *in vitro*.

Key words: ADM; nanospheres; sustained release

阿霉素(adriamycin,ADM)属蒽环类抗生素,抗肿瘤谱广,活性强,但阿霉素对人体有心脏毒性、骨髓抑制等严重不良反应,因而限制了其在肿瘤治疗中的应用[1,2]。为降低阿霉素毒副作用,本试验选择聚乳酸-羟基乙酸共聚物(polylactide-co-glycolide,PLGA)为载体材料,应用复乳-干燥法制备 ADM-PLGA-Ns,并考察其载药量、包封率、外观形态及粒径分布、体外释药情况,客观评价 ADM-PLGA-Ns 质量和制备工艺优劣。

基金项目:国家自然科学基金(30600604);第三军医大学科研创新基金(XG200527) Supported by the National Natural Science Foundation of China (30600604) and the Scientific Research Foundation of Third Military Medical University (XG200527)

作者简介:卢来春(1973-),男,山东省莱芜市人,博士研究生,主管药师,主要从事医院药学和降血糖药物方面的研究。电话:(023)68774770

通讯作者:张 蓉,电话:(023)68755302

收稿日期:2007-04-13;**修回日期**:2007-04-25

1 材料与方法

1.1 主要设备与材料

江苏 HJ-3 恒温磁力搅拌器;JY92-Ⅱ型超声细胞粉碎机(宁波新芝科学仪器研究所);荷兰 PHLIPY TECNAL 透射电子显微镜;HITACHI CR21G 低温冷冻高速离心机;LC-10ATvp 高效液相色谱仪(日本岛津公司);色谱柱为 μBondapak C18 柱(4.5 mm×250 mm,10 μm);KYC-100C 空气恒温培养摇床(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

阿霉素原料药(批号:M061205)和对照品(由浙江海正药业公司提供);柔红霉素(测定用内标,由浙江海正药业公司提供,含量98.6%);聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA,重均分子量1.2万,50∶50,中国科学院成都有机化学研究所);聚乙烯醇 PVA(Fluka 公司);乙腈、甲醇为色谱纯,二氯甲烷等其他试剂均为分析纯。

1.2 ADM-PLGA 纳米微球的制备

称取一定量 ADM 药物溶于 2.0 ml PBS 溶液中,待其全部

溶解后作为水相；称取一定量 PLGA 溶于 10.0 ml 有机溶剂中（二氯甲烷 8.0 ml + 2.0 ml 丙酮）作为油相。将上述水相、油相混合，超声分散 1 min；加入 6% PVA 的 PBS 溶液 50 ml，超声分散 5 min。将上述溶液在室温低速搅拌 3 ~ 5 h，除去有机溶剂即得 ADM 纳米微球胶体溶液。在胶体溶液中加入 1% 的乳糖作为支架，常规冻干保存。

1.3　ADM-PLGA 纳米微球扫描电镜观察和激光粒度分布测试仪测定

吸取 ADM-PLGA 胶体溶液约 10 μl，共 10 份样本，用磷钨酸（PTA）染色 3 min，室温下干燥 15 min 后扫描电镜观察。

1.4　ADM 含量测定

1.4.1　色谱条件[3]　色谱柱：μBondapak C18 柱；流动相：乙腈-甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾（28∶20∶53，pH 4.2）；流速：1.0 ml · min^{-1} · L^{-1}；检测波长：254 nm；灵敏度：0.1 AUFS；定量进样 20 μl。

1.4.2　样品处理方法　精密量取样品溶液 100 μl，精密加入内标柔红霉素对照品溶液 100 μl（浓度为 25.0 μg/ml），混匀后，取 20 μl 进样。

1.4.3　标准曲线　取 ADM 对照品约 10 mg，精密称重，置于 100 ml 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，依次稀释，使实际配置的对照品溶液浓度分别为 0.10、0.25、0.50、1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 μg/ml。精密取上述各对照品溶液 100 μl，按 1.4.2 样品处理方法，自“精密加入内标柔红霉素对照品溶液 100 μl”起平行操作。以阿霉素峰与内标峰面积之比（Y）对阿霉素浓度（X）进行线性回归，得回归方程：Y = 0.425 3X + 0.113 2（r = 0.998 4，n = 9）。因此，阿霉素浓度在 0.10 ~ 50.0 μg/ml 范围内为线性关系较好的直线方程，ADM 浓度与吸收度有定量关系。

1.5　ADM-PLGA-Ns 载药量、包封率和体外药物释药特性

将制备的 3 批缓释 ADM 纳米微球溶液在 4 ℃、40 000 r/min条件下离心，2 h 后分离样品中上清液，按照 1.4 的方法测定 ADM 浓度，分别计算 ADM 的载药量和包封率。

$$载药量 = \frac{微球中所含药物质量}{微球的总质量} \times 100\%$$

$$包封率 = \frac{系统中的总药量 - 液体介质中未包封率药量}{系统中的总药量} \times 100\%$$

根据载药量精密称取含有 50 mg 缓释 ADM 微球放入具塞玻璃管中（共 3 组），加入生理盐水至 100 ml。模拟体内环境在恒温空气摇床中恒速振荡[（37 ± 1）℃，40 r/min]，分别于 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10 d 定时取样 0.5 ml，同时补加同体积的恒温生理盐水；样品按照 1.4 的方法测定不同时点样品上清液含量。以累积释放量和时间拟合方程，作出缓释 ADM 微球体外释药曲线图。

2　结果

2.1　ADM-PLGA-Ns 一般性质

该微球表面光滑圆整，球体大小均匀，其平均粒径为（21 ± 5.4）nm，粒径分布范围较窄。见图 1。

2.2　ADM-PLGA-Ns 载药量、包封率和体外释药

ADM-PLGA-Ns 的包封率和载药量分别为（89.71 ± 7.31）% 和（0.75 ± 0.54）%。微球在 10 d 内，持续释放 ADM，10 d 后释放度达 95.00%。以累积释放率和时间进行拟合，微球的体外释药规律符合 Higuichi 方程：$Q = 29.56t^{1/2} + 0.956\,3$，$r$ = 0.994 6。ADM 微球的体外释药曲线也显示：PLGA 微球体外能够持续释药，具有明显的缓释作用（图 2）。

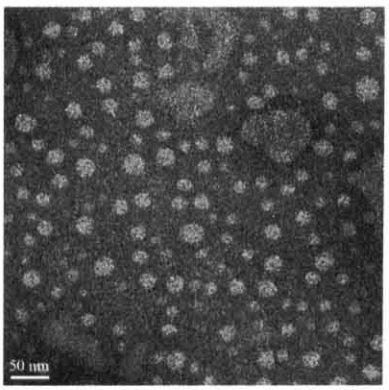


图 1　ADM-PLGA 纳米微球扫描电镜图

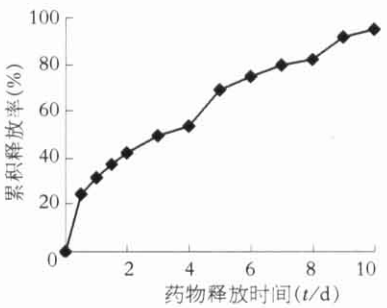


图 2　ADM-PLGA-Ns 体外释药曲线图

3　讨论

纳米微球在释放初期阶段药物主要是在浓度梯度作用下释放，随着纳米微球的降解和融蚀，药物从孔道扩散到组织，随着囊膜的生物降解，微球体系崩解，药物完全释放出来[4,5]。本研究微球的体外释药规律符合 Higuichi 方程，具有明显的缓释作用体外释药，符合纳米微球的一般规律。

参考文献：

[1] 王　睿，徐长庆. 阿霉素心脏毒性作用机制研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报，2006，27(10)：1221 - 1222.

[2] 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，2006，20(3)：147 - 149.

[3] 熊　雯，蒋心惠，张　丹. 盐酸阿霉素及其脂质体在大鼠体内的相关药动学参数比较[J]. 华西药学杂志，2004，19(2)：97 - 99.

[4] Wen J，Kim G J，Leong K W. Poly(D，L-lactide-co-ethyl ethylene phosphate)s as new drug carriers[J]. J Control Release，2003，92(1-2)：39 - 48.

[5] 张　纲，谭颖徽，卢来春，等. bFGF-PLA 缓释纳米微球的制备及体外释药的研究[J]. 重庆医学，2006，35(11)：1002 - 1004.

（编辑　汪勤俭）