文章编号:1000-5404(2009)12-1155-03

论著

乳酸-羟基乙酸共聚物缓释纳米微球的制备及体外释药评价

赵先英[1],刘毅敏[1],肖 湘[1],粟永萍[2],贺 建[1],李明春[1],张肖莎[3] (第三军医大学:[1]医学检验系暨药学院化学教研室,[2]军事预防医学院防原医学教研室,全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤研究重点实验室,[3]学员旅二队,重庆 400038)

摘 要:目的 以乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid),PLGA]为材料,制备缓释局麻药利多卡因(Lidocaine,LID)-PLGA长效缓释微球。**方法** 采用乳化溶媒挥发法制备微球;采用紫外分光光度法测定微球载药量、包封率和体外药物释放。**结果** 纳米微球形态光滑圆整,球体大小均匀,微球粒径为(174.5±15.2)nm,微球载药量和包封率分别为12.48%和54.30%,微球体外释放符合Higuchi方程,半衰期$t_{1/2}$=3.45 d。**结论** LID-PLGA纳米微球具有明显缓释作用。

关键词: 利多卡因;聚乳酸-羟基乙酸;纳米微球;缓释
中图法分类号: R914.2;R944.9;R96 **文献标识码:** A

Preparation of LIDA-PLGA slow release nanospheres and evaluation of the release properties *in vitro*

ZHAO Xian-ying[1], LIU Yi-min[1], XIAO Xiang[1], SU Yong-ping[2], HE Jian[1], LI Ming-chun[1], ZHANG Xiao-sha[3] ([1]Department of Chemistry, College of Laboratory Medicine and Pharmacy, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injuries, Institute of Combined Injury, College of Military Preventive Medicine, [3]2nd Student Team, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To prepare LID-PLGA nanospheres (LID-PLGA-Ns) with poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) for the study of the release properties *in vitro*. **Methods** The nanospheres were prepared by the solvent evaporation method. The drug-loading, encapsulation efficiency and release *in vitro* were determined by ultraviolet-visible spectrophotometry. **Results** The prepared LID-PLGA-Ns were even and uniform spheres with mean particle size of (174.5±15.2)nm in diameter. The drug loading and encapsulation efficiency were 12.48% and 34.30%, respectively. The *in vitro* release profile of nanospheres was found to agree with Higuchi equation, with $t_{1/2}$=3.45 d. **Conclusion** The prepared nanospheres loaded with lidocaine are of slow-release function *in vitro*.

Key words: lidocaine; poly(lactic-co-glycolic acid); nanosphere; slow release

利多卡因(Lidocaine,LID)作为临床麻醉与疼痛治疗中常用的局麻药[1],具有起效快、组织渗透性强等特点,因而广泛应用于硬膜外麻醉、腰麻、术后疼痛麻醉及某些长期剧烈疼痛、癌症疼痛的治疗,并在严重烧伤和重度放射复合伤显示出独到的治疗效果[2]。但由于其生物半衰期较短,仅为1.5~2 h,因此存在需小剂量频繁给药,并可能造成因局部组织的高浓度使药物经血管吸收入血产生中枢神经和心血管毒性的缺点[3]。若将其制成可降解的缓释微球,局部注射后可以使药物在给药部位缓慢释放,不仅可以增加患者的顺应性,减少用药总量,同时可以实现长期止痛的目的,因而在临床上将有广泛的应用前景。近年来,国内外学者对局麻药缓释给药系统进行了一系列研究,其中以聚乳酸-聚羟基乙酸嵌段共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid),PLGA]为载体的微球制剂的研究倍受重视[4]。PLGA微球控释系统具有生物相容性好,长期使用体内无蓄积,并可以延缓药物释放时间,降低药物毒性等特点[5]。本研究采用乳化溶媒挥发法制备了以PLGA为载体的LID纳米微球,并对微球的体外释放进行了考察。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

FS-250超声乳化仪(上海生析超声仪器有限公司),

基金项目:创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放基金(200714)
Supported by the Open Program Fn of the State Key Laboratory of Trauma, Burn and Combined Injuries (200714)

作者简介:赵先英,女,河南省郸城县人,硕士,副教授,主要从事纳米材料方面的研究。电话:(023)68752216, E-mail: xianyingzhao@yahoo.com.cn
通信作者:刘毅敏,电话:(023)68752217

收稿日期:2008-08-28;修回日期:2008-11-01

PF-101B 集热式恒温磁力搅拌器(浙江省乐清县乐成电器厂),TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),Zetasizer Nano S 粒度仪(英国马尔文仪器有限公司),TECNAI10 透射电镜(PHILIPS)。盐酸 LID(江苏济川制药厂,批号 976645),乳酸-羟基乙酸共聚物 n(LA)∶n(GA) = 75∶25(LA:乳酸,GA:羟基乙酸,中科院成都有机所),二氯甲烷、聚乙烯醇(国产分析纯),透析袋(截留相对分子质量为 8 000 ~ 14 400,USA)。

1.2 LID-PLGA 微球的制备

采用改良乳化溶媒挥发法制备 LID-PLGA-Ns[6]。准确称取一定量的 PLGA 溶解于 10 ml 二氯甲烷中,另准确称取一定量的 LID 药物于上述溶液中,超声分散,为有机相;在 800 r/min 搅拌条件下,将上述有机相缓缓注入到 3% PVA 的水相中搅拌,直至有机溶剂挥发完全。用 0.02 mol/L NaOH[7] 稀释至 100 ml,离心收集微球,蒸馏水洗涤,置干燥器中放置 48 h。

1.3 LID-PLGA-Ns 的大小与形态观察

用 Zetasizer Nano S 粒度仪测定微球粒径。用 PHILIPS-TECNAI10 透射电镜观察微球外观及形态。

1.4 微球中药物的含量测定及体外释放

1.4.1 含量测定 配制一系列不同浓度的 LID 标准溶液,在 262 nm 波长处测定吸光度值[$D(262)$],以浓度(C)和吸光度[$D(262)$]进行线性回归,得到回归方程为 $D(262) = 0.002\,646C + 0.006\,514$(相关系数 $r = 0.999\,8$, $n = 5$),浓度在 50 ~ 300 μg/ml 范围内线性良好。精密称取 50 mg 的载药微球,用二氯甲烷溶解,以 0.01 mol/L HCl 溶液涡旋萃取 3 次,离心收集此盐酸溶液,合并定容于 25 ml 容量瓶中,在波长 262 nm 处测定吸光度值[$D(262)$],通过线性回归方程计算含量。根据公式计算微球载药量和包封率。

$$\text{载药量} = \frac{\text{测定浓度(g/L)} \times \text{体积(L)}}{\text{取样质量(g)}} \times 100\%$$

$$\text{包封率} = \frac{\text{样品决质量(g)} \times \text{载药量}/100}{\text{加入碱的质量(g)}} \times 100\%$$

1.4.2 体外释放 精密称取载药微球 50 mg,装入预先处理好的透析袋中,加入 5 ml pH 7.4 磷酸盐缓冲溶液,两端扎紧,放入装有适量体积 pH 7.4 磷酸盐缓冲溶液的具塞玻璃瓶中,在温度(37.0 ± 0.5)℃、搅拌速度 100 r/min 的条件下进行释放。分别在不同时间间隔点定时取样并补充相同体积释放介质。释放液于 261 nm 处测定吸光度值[$D(261)$],以累积释放量与时间拟合方程,并作出缓释 LID-PLGA-Ns 微球体外释药曲线。

2 结果

2.1 LID-PLGA-Ns 的一般性质

该微球表面光滑圆整,大小均匀,没有孔隙或裂纹,聚集现象不明显。表面未观察到药物结晶的存在,证明药物包裹在微球内部。微球粒径为(174.5 ± 15.2)nm。见图 1。

2.2 LID-PLGA-Ns 的载药量、包封率和体外释药

LID-PLGA-NS 的载药量和包封率分别为 12.48% 和 34.30%。体外释放结果见图 2。以累积释放量和时间进行拟合,得到 LID-PLGA-NS 的溶出动力学方程为:$Q = 26.93t^{1/2} + 0.956\,3$,计算得到 $t_{1/2} = 3.45$ d,说明 LID-PLGA-NS 具有明显的缓释作用。

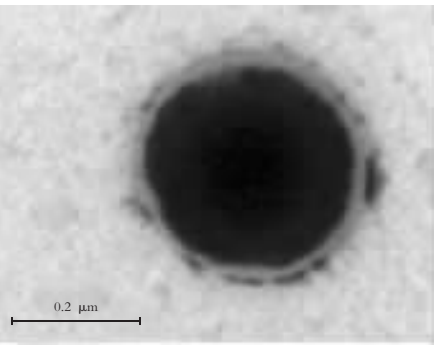


图 1 LID-PLGA-Ns 扫描电镜观察

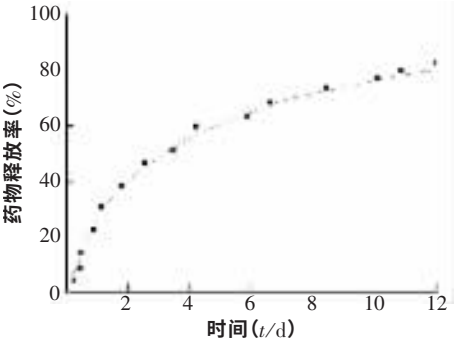


图 2 LID-PLGA-Ns 体外释药结果

3 讨论

微球是一种以适宜高分子材料为载体包裹或吸附药物而制成的球形或类球形的微粒,药物微球化是制备缓释制剂的有效方法,其中乳化溶媒挥发法是制备纳米微球的常用方法之一。由于 PLGA 微球控释系统具有的诸多特点,已经成为理想的载药系统。由于 LID 是水溶性药物,药物在分散过程中易进入水相,如直接使用乳化溶媒挥发法制备微球,包封率低。本研究通过使用氢氧化钠调节分散介质 pH,则可明显提高微球的载药量和包封率。

为得到最佳制备条件,本研究考察了对微球性质影响比较显著的 4 方面因素:PLGA 的质量浓度,投药比,PVA 质量浓度,搅拌速度对微球的形态、粒径、载药量和包封率的影响,得到了优化的微球制备条件。在此优化条件下制备的微球形态光滑圆整,球体大小均匀。微球初期释药较快,尤其第 1 天有突释现象(累积释药率为 20%),随后微球释放速度变缓,第 4 天累积释放度为 51.8%,第 10 天为 79.8%。本研究的突释现象是临床所希望的:吸附于微球表面的药物突释作用很快被吸收,产生麻醉作用,而随后的缓慢释放可部分补充药物的代谢量,产生持久的麻醉止痛作用。

本研究制备微球的体外释放符合 Higuchi 方程,具有明显的缓释作用,从而解决了因生物半衰期短,需

频繁给药的缺点,并可有效避免中枢神经和心血管毒性的副作用,符合纳米微球的一般规律。

参考文献:

[1] 冯志顺, 关活茂, 张　艳. 硬膜外阻滞不同时效局麻药在腰椎间盘手术的麻醉效果[J]. 广东医学, 2008, 29(6): 1004 - 1005.

[2] 陆建华, 陶　军, 叶建宁, 等. 颈交感神经阻滞对放烧复合伤小鼠 HPA 轴的调节及相关机制研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(21): 2111 - 2114.

[3] 张治然, 王晓波, 徐　萍. 麻醉药物对硬膜外阻滞利多卡因药动学的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(6): 786 - 788.

[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 Releas, 2003, 92(1 - 2): 39 - 48.

[5] Hariharan S, Bhardwaj V, Bala I, *et al*. Design of estradiol loaded PLGA nanoparticulate formulations: a potential oral delivery system for hormone therapy[J]. Pharm Res, 2006, 23(1): 184 - 195.

[6] Huang G, Cao J, Hu Z, *et al*. Controlled drug release from hydrogel nanoparticle networks[J]. J Control Release, 2004, 94(3): 303 - 311.

[7] Ravi-Kumar M N, Bakowsky U, Lehr C M. Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers[J]. Biomaterials, 2004, 25(10): 1771 - 1777.

(编辑　张　维)

(上接 1154 页)

3　讨论

3.1　术前护理

3.1.1　心理护理　　腹腔镜肝切除术在国内系新技术项目,患者术前突出的心理问题是顾虑手术的安全性、有效性、可行性及费用过高等。护理人员应针对性地为患者实施心理护理:①解释腹腔镜肝切除术的优越性:在达到开腹手术相同治疗效果的同时,具有创伤小、出血量少、并发症少、术后疼痛轻、恢复快、切口美容等优点[3]。②有关手术费用问题:腹腔镜肝切除术由于术中使用一次性材料较多,手术费用高于开腹肝切除术,但术后治疗费用较低,出院早,故总体费用与开腹肝切除术并无显著性差异。术前宣教可以通过图片向患者形象的交待手术的效果,并可组织拟手术患者与痊愈患者进行座谈,通过痊愈患者的现身说法来打消拟手术患者的疑虑,缓解术前紧张情绪,减少应激状态发生。当然也需要向患者推荐几种可供选择的治疗方案,介绍各种治疗方案的适应证、优缺点及疗效,尊重患者的选择,避免医疗纠纷的发生。

3.1.2　胃肠道准备　　对于腹腔镜肝切除来说,我们认为并不需要严格的胃肠道准备,术前 8 h 禁食水并予洁达灌肠即可,术前留置胃管和尿管,防止麻醉引起的呕吐导致误吸,并防止胃肠胀气而影响术野显露及手术操作,同时可以减轻术后腹胀,有利于术后肠道功能恢复,同时可预防尿潴留等。

3.1.3　皮肤及其他准备　　按上腹部常规手术范围备皮,脐部周围是腹腔镜手术置镜穿刺孔,应彻底清洗。以双氧水棉签清洗后,再用碘伏棉球擦拭数次,注意动作轻柔以免擦破皮肤。腹腔镜肝切除术术中由于长时间 CO_2 气腹有可能弥散入血导致酸中毒,故术前应常规行动脉血气检测,了解有无潜在的酸碱平衡紊乱。术前晚给予小剂量镇静剂。手术过程中双下肢使用弹力绷带防止术中下肢深静脉血栓形成。准备开腹手术器械,为转开腹手术之用。

3.2　术后护理

3.2.1　术后常规护理　　患者术后于监护室观察肌力恢复及呼吸情况,回病房后按全麻术后常规护理,注意保持呼吸道畅通,吸氧 2 ~ 3 L/ min。密切观察生命体征,平卧 6 h 后可改半卧位。术后 1 d 待生命体征及病情平稳后,尽早拔除胃管及尿管,促进胃肠道功能和膀胱功能及早恢复,鼓励患者早期下床活动。本组患者均于术后第 1 天下床活动,未发生术后并发症。

3.2.2　常见并发症的观察与护理　　①术后出血:主要为腹腔内肝断面出血,需密切观察患者生命体征,如出现无面色苍白、眼睑发白、脉速而弱、血压下降等症状,发现引流液量大,呈鲜红色,同时伴有血压下降,脉快而弱,考虑有腹腔内出血的可能,应严密观察,认真记录,及时备血并与医生联系,采取相应措施。值得注意的是并不能因为腹腔镜肝切除手术切口小而忽视切口出血的可能性,特别是合并有门脉高压的患者,因腹壁静脉曲张,术后出血的可能性仍比较大,需仔细观察腹部切口敷料有无渗血、渗液,避免无谓腹腔探查。本组术后均未发生腹腔内出血。②胆漏:腹腔镜肝切除术离断肝实质时,小的胆管未夹闭或结扎而切断,或用超声刀、Ligature 等直接切断了胆管而凝固不完全,术后均可发生胆漏。出现大量的胆汁漏,或者引起胆汁性腹膜炎,应及时剖腹处理。③人工气腹相关并发症:腹腔镜肝切除术常用人工 CO_2 气腹,术后应加强观察。如发现呼吸浅慢、二氧化碳分压升高、pH 值下降,应考虑高碳酸血症的可能,应急查动脉血气,确认后经吸氧和应用碱性药物等处理,临床症状常能很快得到控制。皮下气肿多发于胸腹部、阴囊等,气肿局部有握雪感、捻发音。应注意观察皮下气肿是否继续扩散和加重,如波及颈部,局部肿胀明显时,应防止出现呼吸困难,必要时可备气管切开包。

3.3　出院康复指导

①遵医嘱注意休息,适当活动(如慢步、太极),调节饮食,由流质逐渐向半流质过渡,少量多餐,可进食易消化、低脂、不产气食物, 忌辛辣油腻食物,逐渐过渡到进普食。②遵医嘱继续用药,定期随诊复查,了解肝功能变化及病情恢复情况。③对肝细胞癌患者,术后还应注意甲胎蛋白追踪检查结果,或注意观察有无肝癌的复发转移。患者出院前 1 d 护理人员进行出院指导,告知患者术后 7 d 回院拆线,术后 1 个月应回院复查,根据结果决定下一步复诊治疗计划。

关键词: 腹腔镜;肝切除术;围手术期;护理

中图法分类号: R473.6　　**文献标识码**: B

参考文献:

[1] 蔡秀军, 王一帆, 梁　霄, 等. 区域性血流阻断技术在腹腔镜肝切除术中的应用[J]. 中华外科杂志, 2006, 44(19): 1307 - 1309.

[2] 郑树国, 李建伟, 李剑斌, 等. 腹腔镜肝切除术的初步经验[J]. 中华消化外科杂志, 2007, 6(6): 424 - 427.

[3] Mamada Y, Yoshida H, Taniai N, *et al*. Usefulness of laparoscopic hepatectomy[J]. J Nippon Med Sch, 2007, 74(2): 158 - 162.

(编辑　王　红)