

聚乳酸头孢唑啉钠微球的制备及其释药性能

冯晓健^{1,2}, 王伟^{1,2}, 赵敏¹

(1 南京师范大学化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097)

(2 南京大学固体微结构物理国家重点实验室, 江苏 南京 210093)

[摘要] 采用复乳法制备了聚乳酸-头孢唑啉钠 (PLA-CEZ) 微球. 扫描电子显微镜 (SEM)、差热分析 (DTA) 和红外光谱 (FT-IR) 的实验结果表明, PLA-CEZ 呈现完整的球形且聚乳酸和模型药物能够有机地结合为一体. 同时, 探讨了聚乳酸分子量大小及释药介质对载药微球释放速率的影响.

[关键词] 复乳法, 药物缓释, 聚乳酸, 头孢唑啉钠, 微球

[中图分类号] R318.08 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)03-0076-05

Preparation and Drug-releasing Performance Research of Poly lactic Acid-cefazolin Sodium Microspheres

Feng Xiaojian^{1,2}, Wang Wei^{1,2}, Zhao Min¹

(1. School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

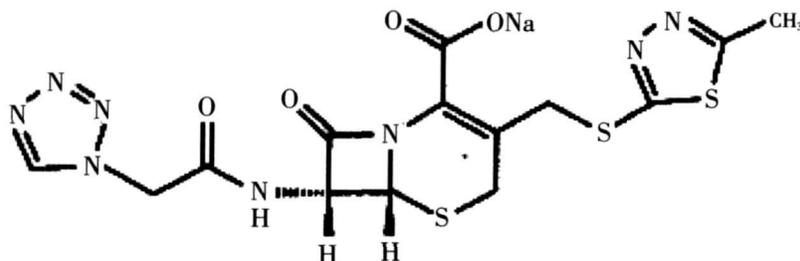
(2. State Key Laboratory of Solid State Microstructure, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract The PLA-CEZ microspheres were prepared successfully by the double emulsion method and were characterized by scanning electron microscope (SEM), differential thermal analysis (DTA) and IR spectroscopy. The results demonstrated that the PLA-CEZ microspheres were spherical and polylactic acid mingled together with cefazolin sodium. The effects of molecular weight of PLA and medium on the drug-releasing performance of the PLA microspheres were also investigated.

Key words double emulsion method, drug-releasing, polylactic acid, cefazolin sodium, microsphere

随着药学技术的日新月异, 药物研究已进入制剂创新时代, 新型的给药系统, 控释制剂等越来越受人们的青睐. 药物的控制释放涉及化学、医学、材料学、药理学、生物学等诸多领域. 控制释放给药系统是通过物理、化学等方法, 使药物在预定时间、按某一速度释放于作用器官或特定靶组织, 并使药物浓度较长时间维持在有效浓度内的一类制剂或装置. 在药物控释制剂中, 有微球、纳米囊、纳米粒、凝胶及脂质体等微粒, 其中以微球居多.

聚乳酸 (PLA) 具有良好的生物相容性和可降解性, 其最终降解产物是 H₂O 和 CO₂, 中间产物乳酸也是体内正常的糖代谢产物, 不会在重要器官内聚集, 因此成为医药卫生领域最受欢迎的材料之一^[1].



收稿日期: 2007-11-12

基金项目: 南京大学固体微结构物理国家重点实验室基金 (M05010) 资助项目.

通讯联系人: 冯晓健, 硕士研究生, 研究方向: 生物医药功能材料科学. E-mail: njnu_fj@126.com

头孢唑啉钠 (CEZ, Cefazolin Sodium, 也称 Cefamezin, 分子式为 $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$, 结构式如上) 是一种耐酶、高效、低毒, 对一般革兰氏阳性和阴性菌均有效的临床适应症较为广泛的药物。但是服用 CEZ 后会引起中枢神经的不良反应, 如高颅压、呕吐、抽搐、可逆性脑病等^[2]。因此, 如何抑止或消除 CEZ 的副作用成为非常有现实意义的研究课题, 引起人们极大的关注与兴趣。

为了延长药物对病灶组织的作用时间, 提高药物的疗效, 可通过对药物结构进行修饰或将药物制成长效缓释制剂。载药微球是一种应用较为广泛的新型给药体系, 一般以适宜的高分子材料为载体, 制成包裹药物的球形或类球形微粒。聚乳酸微球是近年来国内外研究的热点。国外一些公司已经成功开发出微球制剂, 并应用于临床; 随着研究的进展, 近年来国内也制备出了一批医用聚乳酸微球, 如利福平聚乳酸微球、伊维菌素聚乳酸微球、明胶聚乳酸微球等等。有关聚乳酸微球的制备方法很多, 常用的有复乳法、乳化溶剂挥发法、喷雾干燥法等。其中复乳法选择是一个与水不相混溶的沸点低、蒸汽压比水高的溶媒, 将聚乳酸溶于其中, 然后将药物水溶液分散在上述溶液中, 形成 W/O 型乳剂。另外配制一个含有稳定剂、保护胶的水溶液做为包裹溶液。在搅拌的情况下, 将此溶液加到上述乳剂中, 形成水包油包水 (W/O/W) 型复乳, 再使溶剂挥发掉, 即得 W/O/W 型复乳^[3]。此方法适用于制备水溶性药物的微球。

本文采用复乳法 (W/O/W) 以聚乳酸为药物载体, 头孢唑啉钠为药物囊材制备了聚乳酸载药微球, 并研究了聚乳酸——头孢唑啉钠 (PLA-CEZ) 微球的释药性能。

1 实验

1.1 试剂与仪器

头孢唑啉钠; 明胶 (化学纯, 中国医药 (集团) 上海化学试剂公司); 二氯甲烷 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); PBS 缓冲溶液; 模拟胃液。

TDL-5B 台式低速离心机 (上海菲恰尔分析仪器有限公司),

DZF-3 型真空干燥箱 (上海医用恒温设备厂),

Cary-5000 美国瓦里安公司紫外-可见-近红外光谱仪,

JSM-5610LV 型扫描电子显微镜 (SEM, 日本 JEOL),

WCT-2A 型微机差热天平 (北京分析仪器厂)。

1.2 头孢唑啉钠检测波长的确定和工作曲线的绘制

配制 pH = 7.4 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液, 准确称取适量的头孢唑啉钠, 并将其配制成不同浓度的溶液。以 PBS 为参比溶液, 参照中华人民共和国药典 (2003 版), 头孢唑啉钠在紫外区有较强的吸收峰的特征, 在 200~800 nm 范围内扫描 CEZ 的吸收曲线, 结果显示, 其在 272 nm 处有最大吸收峰, 和中华人民共和国药典结果一致 (2003 版)。

采用紫外分光光度法, 在 200~800 nm 范围内, 分别对聚乳酸、头孢唑啉钠 CEZ 及两者的混合磷酸盐水溶液进行紫外扫描, 以选择实验测定所需的波长。结果发现, 在 200~800 nm 波长范围内, 聚乳酸无紫外吸收, 其吸收曲线与基线基本重合, 头孢唑啉钠 CEZ 和聚乳酸混合溶液的吸收曲线与头孢唑啉钠 CEZ 的吸收曲线重合, 表明聚乳酸对头孢唑啉钠 CEZ 的吸收无干扰^[4]。最终选择 272 nm 为测定波长。

在 272 nm 处测定各个溶液的吸光度, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标作图, 即得 CEZ 的工作曲线。CEZ 的工作曲线方程: $A = 0.0016 + 2.80418C$ ($C = \text{mg/mL}$), 相关系数 $R = 0.9999$ 。

1.3 PLA-CEZ 微球的制备

精确称取头孢唑啉钠适量, 溶于水中, 将该溶液加入四颈瓶中, 同时高速搅拌; 称取适量聚乳酸 (PLA), 溶于 CH_2Cl_2 中, 并将其加到四颈瓶中, 搅拌一定时间后, 再将配好的明胶溶液加到四颈瓶中。反应 2 h 后, 挥发 CH_2Cl_2 , 离心分离, 得到微球, 将其放到真空干燥箱中干燥至恒重。

1.4 微球包封率和载药量的测定

称取聚乳酸微球 5 mg 将其溶于 5 mL CH_2Cl_2 中, 震荡摇匀后用 5 mL PBS 溶液萃取 3 次, 得到 PBS 溶液 15 mL 用紫外分光光度计在 272 nm 处测定 PBS 溶液的吸光度^[5]。根据公式计算微球的包封率和载药量:

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

$$\text{载药量} = \frac{\text{微球中药物质量}}{\text{称取微球质量}} \times 100\%$$

1.5 微球的 DTA 分析

准确称取制得的空白微球、载药微球和模型药物各 5 mg 将上述样品进行 DTA 分析. 实验条件为: DTA 量程 50 μ A, 升温速率 10 $^{\circ}$ C /min, 气氛为静态空气, 参比物为 Al_2O_3 .

1.6 微球的体外释药

采用分光光度法测定微球的释药情况: 称取适量的 PLA-CEZ 微球, 倒入透析袋中, 再移取 2 mL PBS 缓冲溶液于透析袋中, 将透析袋系紧放入盛有 98 mL PBS 溶液的锥形瓶中, 恒温 37 $^{\circ}$ C 磁力搅拌. 每隔一定时间, 从锥形瓶中取出 3 mL 溶液, 在 272 nm 处测其吸光度. 同时再补充 3 mL 新鲜的 PBS 溶液于锥形瓶中. 根据工作曲线可以得到药物的浓度, 进而可计算出药物的累积释药率. 按照公式可计算累积释药率:

$$\text{累积释药率} = \frac{\text{释放出的药物量}}{\text{微球中的理论药物量}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 微球的载药量和包封率

按照 1.5 所述方法, 测得载药微球 (分子量 $M = 10\,000$ g/mol) 的载药量为 4.27%, 包封率为 23.63%, 载药微球 (分子量 $M = 25\,000$ g/mol) 的载药量为 6%, 包封率为 34.46%. 从结果可知高分子量载药微球的包封率要比低分子量载药微球的包封率高, 这是因为聚乳酸本身能较好的溶解在 CH_2Cl_2 中, 而相对分子量高的溶液粘度高, 随着 CH_2Cl_2 的挥发, 较高分子量的聚乳酸容易沉降, 将药物包裹在微球中, 因此微球的包封率就高; 相反, 低分子量的载药微球包封率低.

2.2 CEZ-PLA 微球的形貌观察

在烘箱干燥恒重后, 微球呈白色粉末状. 在扫描电镜下观察, 我们发现, 由不同分子量聚乳酸制备的载药微球在药物释放前 (图 a 和图 c) 为良好的球形, 表面有微孔, 该微孔由 CH_2Cl_2 挥发所致, 这些孔道也为头孢唑啉钠向球外扩散溶出提供了通道. 与分子量较大的聚乳酸制备的载药微球相比, 使用分子量较小的聚乳酸得到的微球的粒径要小, 这可能也是影响分子量较小聚乳酸载药微球包封率小的一个因素. 因为, 在粒径小的微球中, 由于其比表面大, 使得外水相和内水相的接触增加, 导致内水相中的药物易于扩散到外水相中, 减小了药物的包封率. 图 a 与图 c 的电镜结果显示, 由较低分子量聚乳酸制备的载药微球表面微孔少, 而由较大分子量制备的微孔较多. Jalil 与 Nixon 通过对聚乳酸分子量对微囊形态与表面性质影响进行研究, 发现分子量较大的聚合物形成的微囊易于凝聚, 且得到较多孔微囊, 而使用分子量较低的聚乳酸则得到表面光滑而无孔的微球^[6]. 图 b 和图 d 为载药微球在释药介质释放后的形貌, 从图中可以看出, 微球表面有溶蚀、降解, 从而导致微球局部塌陷. 微球在释药介质释放过程中, 初期是药物在微球孔道扩散, 后期是载体骨架的溶蚀和降解. 而载体骨架在一定程度上会受分子量大小的影响, 因此载体分子量大小是影响载药微球释药的一个重要因素.

2.3 微球的 DTA 分析

从图 3 中可以看出, 模型药物 (曲线 a) 在 190 $^{\circ}$ C 时出现一个放热峰, 空白微球 (曲线 b) 在 360 $^{\circ}$ C 处有一个强的吸热峰, 而载药微球 (曲线 c) 在 360 $^{\circ}$ C 处也出现一个吸热峰, 与空白微球 (曲线 b) 相比其吸热峰明显增强. 吸收峰的明显增大可能是由于模型药物与空白微球在形成载药微球的过程中, 发生了能量的变化, 从而导致吸收峰明显增强. 同时也说明它们之间不是载体和药物的简单混和, 而是两者有机的结合在一起, 模型药物 CEZ 已成功地被药物载体 PLA 所包裹. 为了验证此结论, 我们进一步做了 CEZ 和 PLA 物

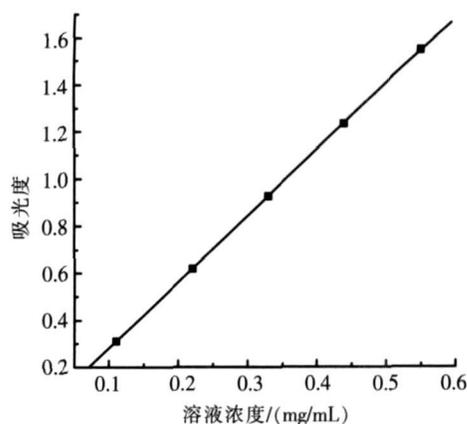
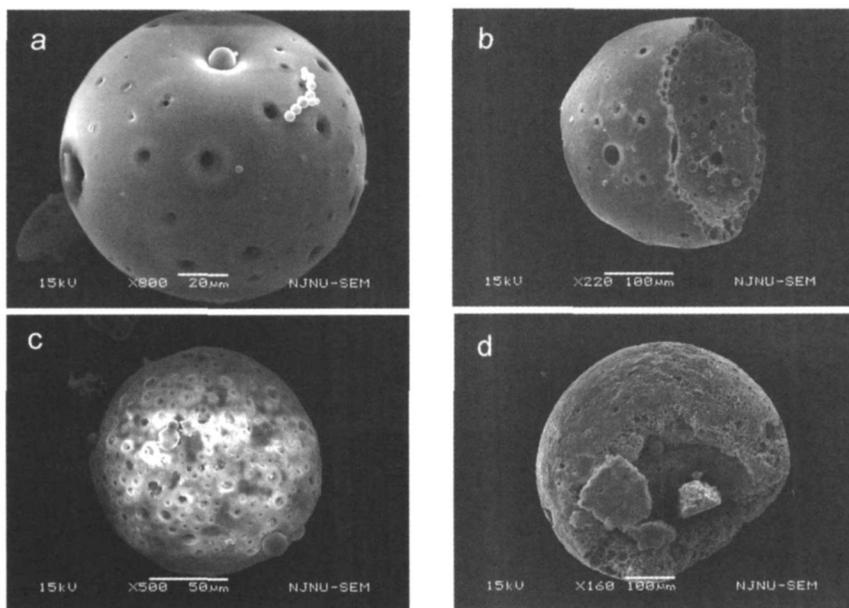


图 1 头孢唑啉钠的溶液浓度和吸光度关系曲线

Fig.1 Concentration and absorbency of the CEZ solution



$M=10\ 000$ 载药微球释放前(a)后(b); $M=25\ 000$ 载药微球释放前(c)后(d).

图 2 不同分子量聚乳酸载药微球 SEM 图

Fig 2 SEM photographs of the PLA-CEZ microspheres with different molecular weight

理混合的差示热分析(曲线 d). CEZ和 PLA 物理混合的差示热分析(曲线 d)可观察到 1个吸热峰, 1个放热峰, 分别为 174°C 和 360°C . 对比载药微球(曲线 a)与 CEZ和 PLA 物理混合的 DTA(曲线 d)图, 可以发现两者的曲线有很大的差异, 说明载体与药物不是简单的物理混合, 而是形成了载药微球, 并且存在着能量的变化.

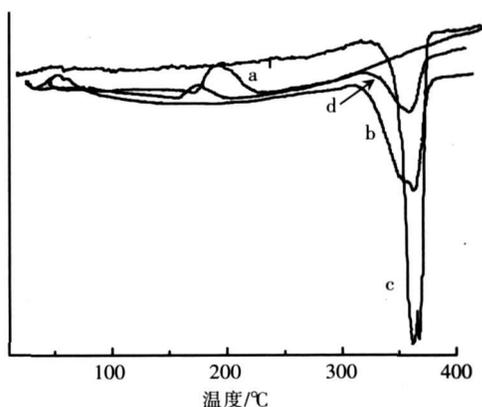
2.4 载药微球的 FT-IR 分析

从图 4 中可知, $3\ 512\ \text{cm}^{-1}$ 是 PLA 的 OH 吸收峰, $2\ 994\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 455\ \text{cm}^{-1}$ 是 CH_3 的伸展和弯曲振动峰, $2\ 994\ \text{cm}^{-1}$, $2\ 956\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 380\ \text{cm}^{-1}$ 是 CH 的伸展和弯曲振动峰, $1\ 760\ \text{cm}^{-1}$ 是 $\text{C}=\text{O}$ 的伸展振动峰, $1\ 190\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 077\ \text{cm}^{-1}$ 是 $\text{C}-\text{O}$ 的反对称和对称伸展振动峰. 对比空白微球(a)和载药微球(b)的红外图谱可知, 载药微球(b)在 $3\ 662\ \text{cm}^{-1}$ 有一个峰, 这是头孢唑啉钠结构中的 N-H 的伸展振动峰.

2.5 载药微球的体外释药分析

由图 5和图 6释药曲线中可以看出微球在体外释药实验的 24 h内, 释放了大量的药物, 这种现象被称作突释, 一般用药物的累计释药量(%)来衡量其程度; 其主要原因是部分药物存在于微球表面或近表面, 以及微球内部孔洞中, 故在释放初期, 药物可直接或通过孔洞迅速释放, 形成突释^[7].

载药微球($M = 10\ 000\ \text{g/mol}$)在 PBS与胃液中的释药曲线如图 5所示, 从图 5中我们可以看出, 药物释放介质在很大程度上影响该载药微球的释放速度, 当释放介质为 PBS时, 该载药微球释放速度较快, 是由于聚乳酸本身性质所致. 聚乳酸本身是一种聚酯类高聚物, 在碱性的条件下水解更快一些^[8]. 仔细分析该曲线发现, 随着降解时间的增长, 药物的释药速度在逐渐减缓, 其原因可能为, 随着时间的增长, 更多的聚乳酸发生了水解, 水解产物增多, 释药介质碱性也有所降低, 从而导致释药速度减缓, 逐渐趋于平稳状态. 图 6是不同分子量载药微球在 PBS释放介质中的释药曲线, 结果表明, 药物载体分子量的大小是影响载药微球释放速度的另一个重要因素. 图 6中曲线显示, 在同一种释药介质(PBS)中, 与相对分子量大的药物载体相比, 相对分子量小的在体液中释药较快, 因为分子量小的聚乳酸有更多的羧基分子链, 从而



曲线 a: 模型药物; 曲线 b: 空白微球; 曲线 c: 载药微球; 曲线 d: 药物与载体物理混和

图 3 PLA 微球差示热分析图

Fig.3 Differential thermal analysis of PLA microspheres

有更多的分子末端降解活性点,进而加快水解速度,随着聚乳酸分子量的增加,聚合物之间的作用力增大^[9].

3 结论

采用复乳法制备了 PLA-CEZ 微球, SEM 显示该微球具有良好的球形形态,且表面呈现均匀多孔形貌,通过 DTA 和 FT-R 表征,说明药物载体能成功的包裹模型药物,使两者结合在一起.同时,探讨了载体的分子量和载药微球的释药环境两方面因素对微球释药的影响,结果表明,两种微球在开始阶段都有突释效应,随后缓慢释放,与分子量大的药物载体相比,分子量小的在体液中释药较快.体外释药表明,PLA-CEZ 作为给药系统,有很好的缓释作用.

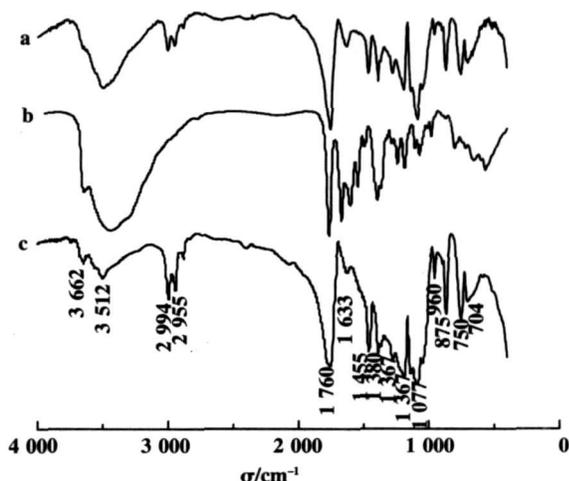


图 4 聚乳酸(a)及聚乳酸头孢唑啉钠载药微球(b)的 FT-IR 图谱
Fig.4 FT-IR spectra of the PLA (a) and PLA-CEZ (b) microspheres

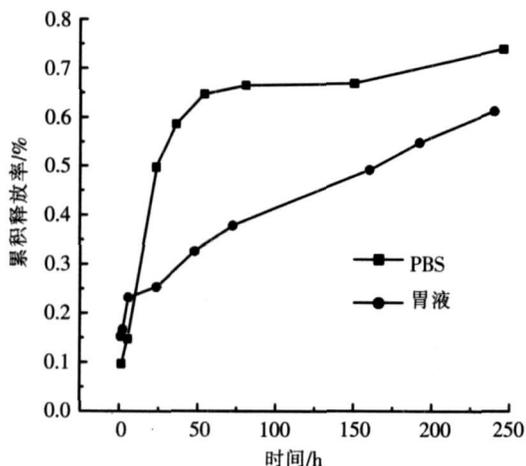


图 5 PLA-CEZ(M=10 000)的累积释药率与时间的关系
Fig.5 Relationship between cumulative release of PLA-CEZ(M=10 000) and release time

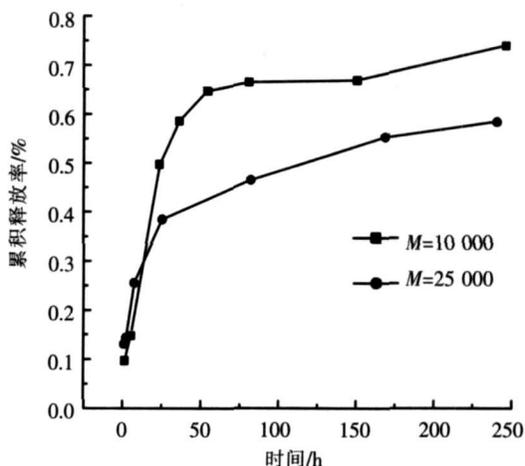


图 6 PLA-CEZ(释药介质 PBS)的累积释药率与时间的关系
Fig.6 Relationship between cumulative release of PLA-CEZ (medium: PBS) and release time

[参考文献]

[1] 白雁斌, 黄晓琴, 雷自强. 聚乳酸类医用生物降解材料的研究进展 [J]. 高分子通报, 2006 (3): 46-51.
 [2] 任杰, 宋金星. 聚乳酸及其共聚物在缓释药物中的研究及应用 [J]. 同济大学学报, 2003, 31 (9): 1 054-1 058
 [3] 杨艳红, 郝永梅, 赵凤林, 等. 非离子表面活性剂囊泡封装药物头孢唑啉钠的研究 [J]. 化学通报, 2002, 65 (7): 467-471
 [4] 程青, 卢文庆, 聂素云. 硫酸庆大霉素聚乳酸微球的制备及其体外缓释度的测定 [J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2006, 29 (2): 55-58
 [5] 黄开红, 朱兆华, 刘建化, 等. 聚乳酸载药纳米微粒制备及其释药性能 [J]. 癌症, 2005, 24 (8): 1 023-1 028
 [6] 郭键新, 王荣. 以聚乳酸为聚合物材料制备微粒给药系统 [J]. 药学进展, 1996, 20 (3): 135-138
 [7] 兰婷, 郝红, 赵君民. 聚乳酸载药微球制备及释药性能研究最新进展 [J]. 离子交换与吸附, 2006 22 (5): 475-480
 [8] 李良, 李国明, 黎茂荣. 聚乳酸载利福平微球的制备及其释药性能 [J]. 应用化学, 2003, 20 (1): 65-68
 [9] 杨帆, 陈一月, 林茵, 等. 聚乳酸的降解性能及其微球剂的研究 [J]. 中国药房, 2002, 13 (5): 263-265.

[责任编辑: 顾晓天]