

快速膜乳化法制备载紫杉醇聚乳酸类微球

曾焱婧^{1,2}, 王连艳¹, 马光辉¹, 马润宇²

(1. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100190; 2. 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029)

摘要: 采用快速膜乳化法、均质乳化法和超声法制备了聚乳酸(PLA)空白微球, 比较了3种方法所制微球的均一性。采用均质乳化法和超声法制备的PLA微球平均粒径分别为1.022和0.987 μm , 多分散系数分别为0.133和0.145, 而快速膜乳化法制备的PLA微球平均粒径为0.906 μm , 多分散系数为0.005。在此基础上, 采用快速膜乳化法制备了聚乳酸-聚(乳酸-羟基乙酸)共聚物(PLGA)和聚(乳酸-聚乙二醇)二嵌段共聚物(PELA)载紫杉醇微球, 平均粒径分别为0.906, 0.987和1.015 μm , 多分散系数均为0.005, 载药率分别为3.89%, 4.93%和3.18%, 包埋率分别为63.2%, 71.6%和51.3%, 在磷酸盐缓冲液中释放60 d后, PLGA微球的药物释放率为83.87%, PLA微球为50.25%, PELA微球为41.27%。

关键词: 快速膜乳化; 聚乳酸类微球; 均一性; 载药率; 体外释放

中图分类号: R944.5

文献标识码: A

文章编号: 1009-606X(2010)03-0568-08

1 前言

紫杉醇^[1]是红豆杉属植物中一种复杂的次生代谢产物, 也是目前唯一一种可促进微管聚合和稳定已聚合微管的药物^[2-4], 临床上主要用于治疗卵巢癌和乳腺癌, 对肺癌、黑色素瘤等也有一定疗效^[5]。紫杉醇在水中的溶解度极低($<0.006 \text{ mg/mL}$), 给药难度大^[6]。现有紫杉醇药物泰素(TAXOL)使用时需用聚氧乙烯蓖麻油(Polyoxyethylene caster oil, Cremephor EL)与乙醇(Ethanol)作为有机溶媒溶解后静脉注射, 此类有机溶剂易引起过敏反应, 且影响药物分子向组织间扩散, 造成药物吸收差^[7]。为克服现有有机溶媒注射剂的不足, 国内外针对紫杉醇药物新型制剂开展了广泛研究。2005年, 美国食品药品监督管理局(FDA)批准白蛋白结合紫杉醇纳米粒注射混悬液(Abraxane)上市^[8,9], 该品不含有毒溶媒, 但由于采用人血白蛋白制备, 来源受到限制, 价格非常昂贵也限制了其广泛应用。针对其不足, 本研究拟采用FDA批准、来源广泛、价格相对低廉的可生物降解的聚乳酸类聚合物制备载紫杉醇纳微颗粒。

颗粒型制剂的粒径均一可控性与制剂批次的重复性和生物利用度密切相关, 而现有的制备方法如均质乳化、超声乳化等方法制备的微球粒径及其分布很难控制。为解决这些关键问题, 本研究采用快速膜乳化法(Premix membrane emulsification)制备聚乳酸[Poly(lactic acid), PLA]微球, 并与现有乳化技术制备的PLA微球进行了比较, 表明快速膜乳化对乳液粒径大小及其均一性控制有明显优势, 利于提高微球制备的重复性、体外释药及

体内药效批次间的重复性。

聚乳酸、聚(乳酸-羟基乙酸)共聚物[Poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]和聚(乳酸-聚乙二醇)二嵌段共聚物[Poly(ethylene glycol-co-lactide acid), PELA]是研究最多的可生物降解微球的骨架材料。微球制剂可改善紫杉醇水溶性差难以给药的缺点, 利用聚乳酸及其共聚物在体内可生物降解的特性, 可延长药物在体内的作用时间, 提高药物疗效^[10]。另外, 3种材料物化性质如亲疏水性等的差异导致其载药率、释放行为等方面也存在差异, 不仅影响载药微球对难溶药物溶解度的改善, 且影响微球在体内的行为, 进而影响其药效发挥程度。因此, 本研究还采用快速膜乳化技术制备了粒径均一可控的3种聚乳酸类材料PLA, PLGA和PELA的载紫杉醇(Paclitaxel, PTX)微球, 并对微球形貌、药物包埋率和体外释放行为进行了比较。

2 实验

2.1 试剂及仪器

聚乳酸(PLA, 分子量10 kDa)、聚(乳酸-羟基乙酸)共聚物(PLGA, LA:GA=50:50, 分子量15 kDa)购于山东医疗器械研究所, 聚(乳酸-聚乙二醇)二嵌段共聚物[PELA, mPEG(2000)-PLA, 1:19, 分子量40 kDa]购于济南岱罡生物科技有限公司, 紫杉醇(PTX, 分子量853.9)购于北京怡禾生物工程有限公司, 聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA-217, 聚合度1700, 水解度88.5%)购于日本Kuraray公司, 二氯甲烷(DCM)购于北京国药集团, 乙腈购于北京Dikma公司。

BS 110S 型电子天平(德国 Sartorius 公司), T18 均质机(德国 IKA 公司), S-450 超声破碎机(美国 BRANSON 公司), 高速离心机(美国 Sigma 公司), 带有亚微米级粒径分析功能的 Zeta 电位仪(美国 Brookhaven Instruments Co.), JFC-1600 真空离子溅射仪(日本 JEOL 公司), JEM-6700F 冷场发射扫描电子显微镜(日本 JEOL 公司), 冻干机(美国 Dura-Dry TMMP 公司), 230 目碳支持膜(BZ110223a, 北京中镜科仪技术有限公司), JEM-1400 透射显微镜(日本 JEOL 公司), LC-20A 高效液相色谱(日本 Shimadzu 公司), THZ-C 恒温振荡器(江苏太仓实验仪器厂)。

快速膜乳化装置^[11]及微孔玻璃膜均购自日本 SPG Technology 公司, 膜长 10 cm, 外径 1 cm, 膜孔径 2.8 μm 。

2.2 实验方法

2.2.1 均质乳化法制备 PLA 微球

将一定量 PLA 溶于二氯甲烷作为油相, 一定浓度的 PVA 水溶液作为水相, 冰浴条件下采用均质乳化法将油相分散于水相中制备油/水(O/W)乳液, 将其在常温下磁力搅拌挥发去除有机溶剂固化成微球, 用去离子水离心洗涤 5 次, 冷冻干燥制成成品。通过优化均质乳化速率和时间, 控制微球平均粒径在 0.900~1.100 μm 。

2.2.2 超声乳化法制备 PLA 微球

将一定量 PLA 溶于二氯甲烷中作为油相, 一定浓度的 PVA 水溶液作为水相, 冰浴条件下用超声乳化将油相分散于水相中制备油/水(O/W)乳液, 用溶剂挥发法去除乳滴中的有机溶剂使其固化成微球, 用去离子水离心洗涤 5 次, 冷冻干燥制成成品。通过优化超声乳化功率和时间, 控制微球平均粒径在 0.900~1.100 μm 。

2.2.3 快速膜乳化法制备 PLA, PLGA, PELA 空白微球和载药微球

采用快速膜乳化技术制备空白微球。将一定量膜材(PLA, PLGA 或 PELA)溶于二氯甲烷中作为油相, 一定浓度的 PVA 水溶液作为水相, 均质乳化制备油/水(O/W)预乳液(24000 r/min, 2 min)。将其倒入快速膜乳化装置中, 以一定氮气压力反复压过膜孔(膜孔径 2.8 μm), 将所得乳液在常温下磁力搅拌挥发去除有机溶剂使其固化成微球, 用去离子水离心洗涤 5 次, 冷冻干燥制成成品。

制备载紫杉醇微球时, 将一定量膜材与紫杉醇溶于二氯甲烷中作为油相, 其他制备条件不变, 制备方法同上。

2.2.4 微球粒径分布的测定和表面形貌的观察

将洗涤后的微球悬浮在去离子水中, 采用带亚微米级粒径分析功能的 Zeta 电位仪测定平均粒径及其分布;

粒径均一性用多分散系数表示, 多分散系数越小, 粒径越均一^[12]。取少量微球悬浮液滴于锡箔纸上, 自然晾干, 用剪刀剪下一小块铺满微球的锡纸, 用导电胶粘到样品台上, 采用离子溅射仪对样品喷金(20 mA, 120 s)后, 将样品台置于扫描电镜样品室中, 对其表面形貌进行表征。

2.2.5 紫杉醇在微球中的分布

紫杉醇在微球中的分布采用透射电镜观察和表征。取适量微球悬浮于乙醇中, 滴于 230 目(62 μm)的碳支持膜上, 在膜的另一端用滤纸吸去多余液体, 反复滴几次。自然晾干后, 在透射电镜下进行观察。

2.2.6 微球载药率和包埋率的测定

紫杉醇的定量分析采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱条件: Inersil[®] ODS-3 C₁₈ 柱, 95%乙腈/水为流动相, 流速 1 mL/min 下等梯度洗脱, 紫外检测, 检测波长为 227 nm。

为对微球中的紫杉醇进行准确定量, 首先采用紫杉醇标准品绘制标准曲线, 具体过程如下: 精确称取紫杉醇标准品 10 mg, 溶于 100 mL 乙腈/水混合溶液(60/40, φ)中, 配制成 100 $\mu\text{g/mL}$ 紫杉醇储备液。精确量取储备液 8, 6, 4 和 2 mL 于 10 mL 容量瓶定容, 得到浓度分别为 80, 60, 40 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 的标准液, 采用同样条件对标准液进行高效液相色谱测定, 进样量为 100 μL , 以峰面积(Y)对标准液浓度(X)作图, 线性回归拟合后得标准曲线:

$$Y=169\,699.96X+362\,652.4\ (R^2=0.998).$$

先将微球降解后再采用 HPLC 测定微球中紫杉醇含量, 每个样品做 3 个平行样, 结果取平均值。具体过程如下: 精确称取 10 mg 载药微球溶于乙腈溶液中并定容至 5 mL, 超声 20 min 后于室温下过夜降解。离心取上清液 600 μL , 加 400 μL 超纯水稀释至 1 mL, 使乙腈与水的体积比为 60:40, 采用同样的色谱条件进行 HPLC 测定, 进样量为 100 μL 。将所测峰面积代入标准曲线即可求得样品中紫杉醇浓度, 进而计算得到 10 mg 微球中包埋的紫杉醇量, 载药率(Loaded Efficiency, LE)和包埋率(Encapsulation Efficiency, EE)的计算式如下:

$$\text{载药率LE (\%)} = \frac{10\text{ mg微球中紫杉醇量}}{10\text{ mg(微球质量)}} \times 100\%,$$

$$\text{包埋率EE (\%)} = \frac{\text{实际载药率}}{\text{理论载药率}} \times 100\%,$$

$$\text{其中, 理论载药率 (\%)} = \frac{\text{加入紫杉醇量}}{\text{制备所得微球量}} \times 100\%.$$

2.2.7 微球体外释放行为的评价

精确称取 5 mg 载药微球置于 8 mL 玻璃小瓶中, 加

入 5 mL 磷酸盐缓冲溶液(pH=7.4), 其中含 0.1% Tween-80(微球聚集抑制剂), 0.1% Tween-20(湿润剂)和 0.01%迭氮钠(抑菌剂). 置于 37℃ 恒温空气浴振荡器中振摇释放药物, 振摇频率为 40 r/min. 间隔一段时间后取出样品, 7000 r/min 下离心 10 min, 使微球与释放物分离. 将微球用新的磷酸盐缓冲液重新悬浮进一步释放药物, 上清液冻干后用 1 mL 乙腈/水溶液(60/40, ϕ)溶解紫杉醇药物, 用 HPLC 法测定释放的药物量. 释放实验每个样品平行做 3 次, 结果取平均值.

3. 结果与讨论

3.1 快速膜乳化法制备 PLA 微球的工艺优化

采用单因素法对水相中 PVA 浓度、油水相体积比、油相中 PLA 浓度和过膜压力 4 个因素进行优化, 得到快速膜乳化法制备 PLA 微球的最优工艺. 如无特别说明, 快速膜乳化制备条件如下: 油相 PLA 浓度 20 g/L, 水相 PVA 浓度 20 g/L, 油水相体积比 1:7, 预乳液制备均质乳化速率 24000 r/min, 时间 2 min, 过膜压力 0.6 MPa, 过膜次数 3 次.

3.1.1 水相中 PVA 浓度对微球粒径均一性的影响

采用不同 PVA 浓度的水相制备 PLA 微球, 其粒径分布如图 1(a)所示, PVA 浓度为 5, 10, 15 和 20 g/L 条件下制备的微球平均粒径分别为 0.949, 0.911, 0.883 和 0.871 μm , 多分散性系数分别为 0.063, 0.022, 0.023 和 0.005, 表明随 PVA 浓度提高, PLA 微球均一性有所提高. 这是因为 PVA 作为稳定剂能在油水界面间形成致密的分子层, 阻止乳滴的聚并, PVA 浓度越高, 作用越强, 所得微球均一性越好.

3.1.2 油水相体积比对微球粒径均一性的影响

不同油水相体积比条件下所制 PLA 微球的粒径分布如图 1(b)所示, 油水相体积比为 1:5, 1:6, 1:7 和 1:10 条件下所制 PLA 微球的平均粒径分别为 0.782, 0.818, 0.829 和 0.871 μm , 多分散系数分别为 0.069, 0.049, 0.020 和 0.005, 表明随油水相体积比减小, 微球粒径均一性变好. 这是因为随水相体积增大, 乳液体系中乳滴浓度降低, 乳滴间因碰撞发生聚并的机会减少, 乳液粒径均一性变好, 导致最终微球的粒径均一性变好.

3.1.3 油相 PLA 浓度对微球粒径均一性的影响

分别称取 100, 200, 300 和 400 mg PLA 溶于 10 mL 二氯甲烷中配制成浓度 10, 20, 30 和 40 g/L 的 PLA 溶液作为油相, 采用快速膜乳化法制备 PLA 微球, 其粒径分布如图 1(c)所示, 所得微球平均粒径分别为 0.680, 0.748, 0.799 和 0.858 μm , 多分散系数分别为 0.129, 0.117, 0.010 和 0.005. 表明随油相 PLA 浓度增加, 微球平均粒径增大、粒径均一性变好. 这是由于油相 PLA 浓度增大, 体系粘度也增大, 在相同过膜压力下, 乳滴破碎程度降低, 导致微球粒径增大; 而随油相 PLA 浓度降低, 相同均质条件下制备的预乳液中形成的小乳滴越多, 小乳滴在相同压力下过膜时未受到剪切而直接通过膜孔, 导致微球的粒径均一性变差.

3.1.4 过膜压力对微球粒径均一性的影响

分别在 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 MPa 过膜压力下制备 PLA 微球, 其粒径分布见图 1(d), 平均粒径分别为 1.091, 0.923, 0.824 和 0.649 μm , 多分散系数分别为 0.009, 0.005, 0.005 和 0.005, 表明过膜压力对微球粒径的均一性影响不大, 但对粒径大小有一定影响, 随过膜压力增大微球粒径减小. 这是因为过膜压力越大, 膜壁对预乳液的剪切力越大, 乳滴的破碎程度越大, 导致微球粒径越小.

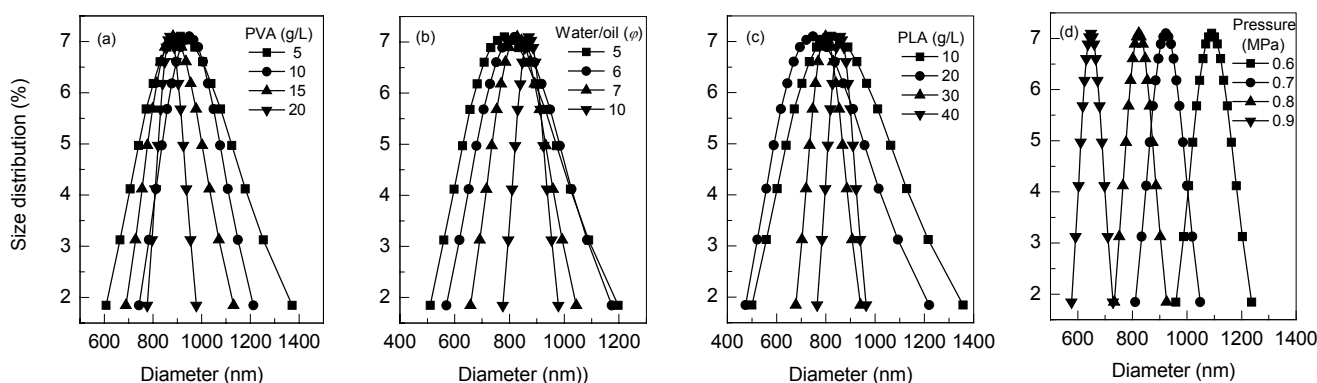


图1 不同条件下所制 PLA 微球的粒径分布

Fig.1 Particle size distributions of microspheres prepared under different conditions

3.2 不同方法所制 PLA 微球的均一性比较

在上述实验的基础上, 得到快速膜乳化法制备均一

PLA 微球的优化条件如下: 油相 PLA 浓度 40 g/L, 水相 PVA 浓度 20 g/L, 油水相体积比 1:10, 过膜压力 0.7

MPa, 过膜次数 3 次. 为使均质乳化法和超声法所制微球与快速膜乳化法具有可比性, 其他工艺条件与快速膜乳化一致, 优化后的均质乳化速率和时间为 24000 r/min 和 3 min, 超声功率和时间为 120 W 和 3 min. 均质乳化、超声乳化和快速膜乳化所制 PLA 微球的平均粒径分别为 1.022, 0.987 和 0.946 μm , 多分散系数分别为 0.133, 0.145 和 0.005, 3 种方法所制 PLA 微球的扫描电镜照片

和粒径分布如图 2 所示. 通过比较可明显看出快速膜乳化法所制 PLA 微球粒径均一性最好, 而均质和超声法所制 PLA 微球粒径不同, 粒径分布较宽. 作为药物载体, 较宽的粒径分布会造成批次间包埋率、体外释药行为和体内药效的重复性差. 与两种现有微球制备方法相比, 快速膜乳化法所制 PLA 微球在粒径均一性上具有明显的优势, 有望克服现有方法的不足.

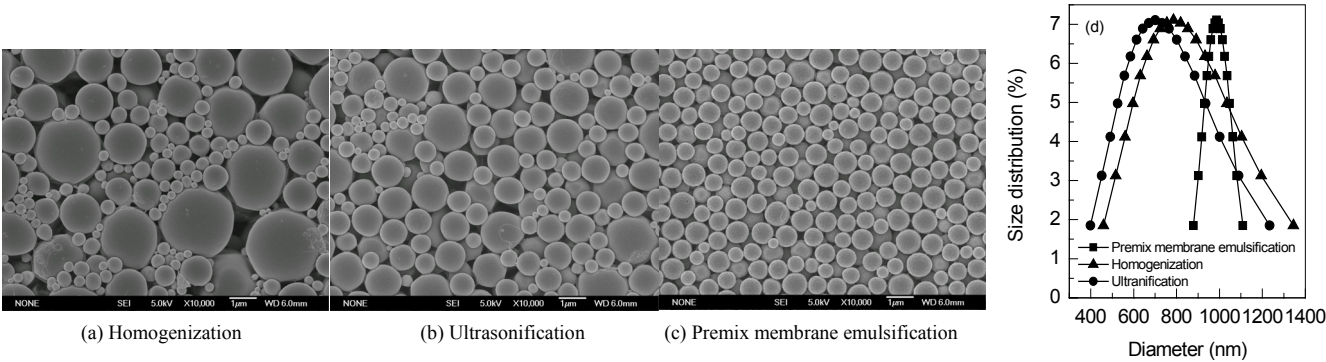


图 2 三种方法所制 PLA 微球的扫描电镜照片和粒径分布
Fig.2 SEM micrographs and particle size distributions of PLA microspheres prepared using different methods

表 1 快速膜乳化法制备 PLA, PLGA 和 PELA 载紫杉醇微球优化工艺条件

Table 1 The optimal conditions of PLA, PLGA and PELA microspheres prepared by premix membrane emulsification						
Polymer	Polymer concentration (g/L)	Paclitaxel concentration (g/L)	PVA concentration (g/L)	Volumetric ratio of oil to water	Transmembrane pressure (MPa)	Pass times
PLA	40	2	20	1:10	0.60	3
PLGA	40	2	20	1:5	0.75	3
PELA	50	2	10	1:5	0.50	3

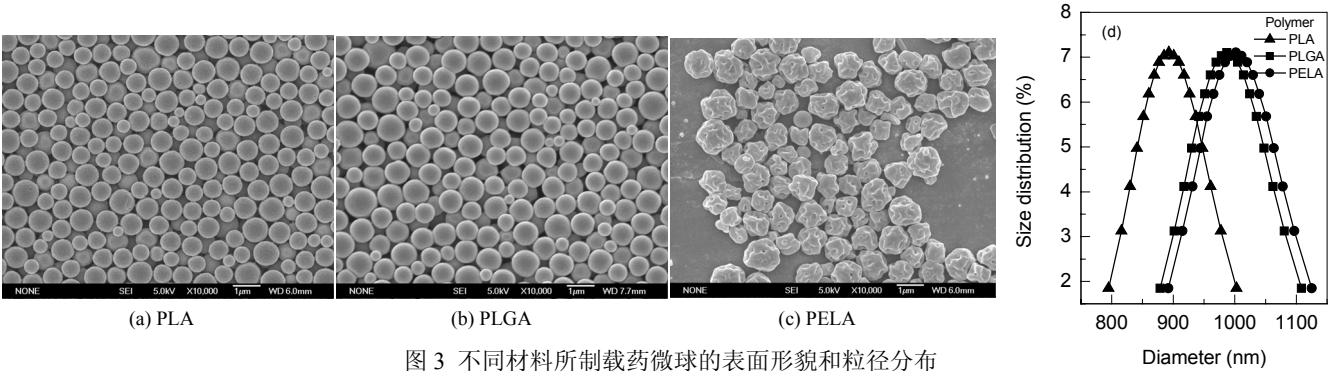


图 3 不同材料所制载药微球的表面形貌和粒径分布
Fig.3 SEM micrographs and particle size distributions of microspheres prepared with different polymers

3. 3 快速膜乳化法制备 PLA, PLGA 和 PELA 载药微球

选用 3 种具有不同亲疏水性的聚乳酸类材料 PLA, PLGA 和 PELA, 采用快速膜乳化法对难溶药物紫杉醇进行包埋和体外释药行为研究, 系统考察了材料对载药微球形貌、载药率和包埋率及体外释药行为的影响. 优化后 3 种载药微球的工艺条件如表 1 所示.

3.3.1 材料对载药微球表面形貌和粒径分布的影响

快速膜乳化法制备的 PLA, PLGA 和 PELA 载药微球的扫描电镜照片和粒径分布如图 3 所示, 3 种微球的

平均粒径分别为 0.905, 0.987 和 1.015 μm , 多分散系数均为 0.005, 表明 3 种微球的粒径都很均一, 同时也证明快速膜乳化法在制备均一微球方面具普适性^[13-15]. 从扫描电镜照片看, PLA 和 PLGA 微球表面圆整光滑且分散性好, PELA 微球表面则呈现许多褶皱和小孔. 这主要是因为 PELA 的亲水性较强, 在相同的固化条件下, 其固化速率比相对疏水的 PLA 和 PLGA 慢, 同时由于部分水会因 PELA 中 PEG 嵌段的亲水性进入乳滴内部, 在固化过程中, 随进入内部水分增多, 油膜破裂, 导致

固化后在微球表面形成类似于褶皱和孔道的结构。材料亲疏水性不同导致的形貌差异会最终影响药物在微球内部分布的不同,进而导致载药率和包埋率及体外释药行为不同。

3.3.2 材料对药物在微球内部分布的影响

目前,对载紫杉醇微球的研究主要集中于微球的缓释作用和靶向作用^[16-18],而有关载体材料本身的影响报道较少。本研究用透射电镜观察了不同材料所制裁药微球内部紫杉醇的分布情况,结果如图4所示。由图可以

看出,材料的亲疏水性对难溶药物紫杉醇在微球内的分布有一定影响,疏水药物在疏水的 PLA 微球中呈细小颗粒且均匀分布,而在相对亲水的 PLGA 微球中则聚集成小的片状,在更亲水的 PELA 微球中则聚集成更大的片状。这是因为疏水性药物在疏水性 PLA 溶液中均匀分布,随溶剂二氯甲烷挥发,药物和 PLA 原位析出,药物颗粒随即也固定在微球中;而随材料亲水性增加,二氯甲烷挥发后,由于聚合物材料与药物间的相分离增强,从而导致药物聚集成片状。

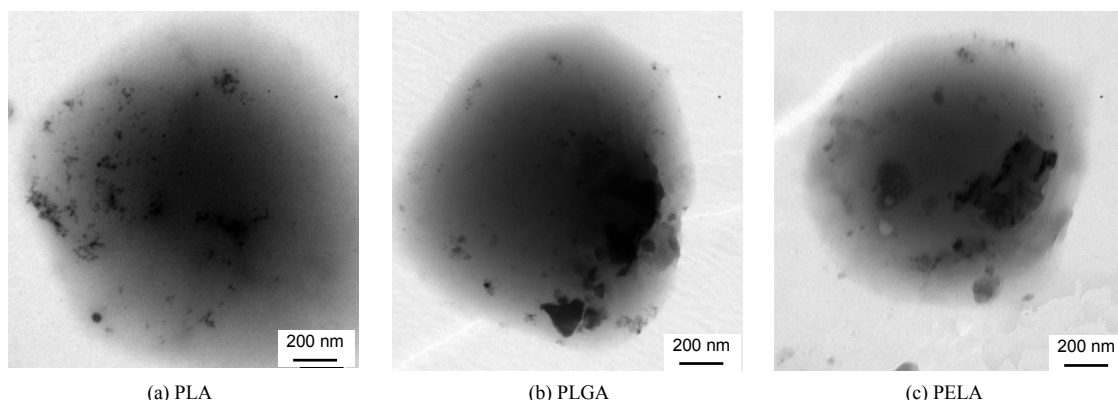


图4 不同材料所制裁药微球内部紫杉醇的分布情况

Fig.4 TEM micrographs of paclitaxel in microspheres prepared with different polymers

3.3.3 材料对载药率和包埋率的影响

采用快速膜乳化法所制 PLA、PLGA 和 PELA 三种载药微球的载药率分别为 3.89%、4.93%和 3.18%,包埋率分别为 62.8%、73.6%和 51.3%。由于 PLA、PLGA 和 PELA 的亲疏水性不同,在溶剂挥发过程中,药物与膜材间的相容性也有所不同。药物在 PLA 微球中均匀分布,分布在微球表面的药物比亲水性的 PLGA 和 PELA 微球多,在后续洗涤过程中,表面部分药物被除去,导致载药率和包埋率比稍亲水的 PLGA 微球低;PLGA 微球亲水性适中,溶剂挥发过程中,其与药物分离,同时 PLGA 液膜又足以保证药物不发生泄漏,药物在微球表面的量比 PLA 微球低,导致其载药率和包埋率相对较高;而 PELA 微球亲水性太强,在溶剂挥发过程中,疏水药物与 PELA 间相分离程度较大且速度较快,形成的药物聚集物在微球固化过程中易泄漏出来,从而导致其载药率和包埋率较低。

3.3.4 材料对载药微球体外释药行为的影响

不同材料所制裁药微球的体外释放行为如图5所示,可以看出,60 d 后 PLGA 微球的药物释放率最高达 83.87%,PLA 和 PELA 微球较低,分别为 50.25%和 41.27%。PLGA 微球前期释放较快,15 d 后累积释放量达 80.41%,之后释放非常缓慢;而 PLA 和 PELA 微球

仅在前 3 d 释放较快,之后则释放较慢。

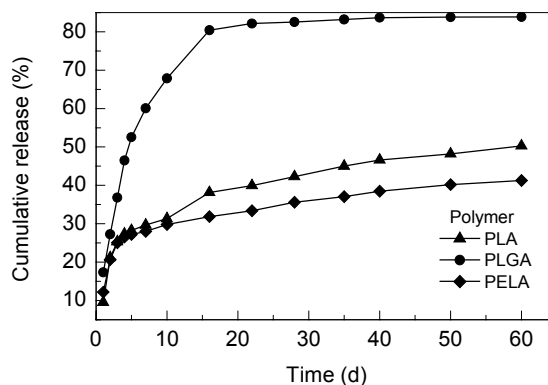


图5 不同材料所制裁药微球的体外释放行为

Fig.5 Cumulative release profiles of PTX from microspheres prepared with different polymers

这种释药行为的差异与微球材料的亲疏水性和药物在微球内的形态及分布相关。从释药前后载药微球表面形貌(图6)和药物在微球内的分布形态(图4)分析,PLA 材料因疏水性较强,水很难进入微球内部将药物溶出释放,仅是微球表面的药物被水溶出而释放,因此前 3 d 释放较快,之后释放较慢;PELA 微球虽然本身具有较强亲水性,水易进入微球内部溶出药物使其释放,但由于难溶药物紫杉醇在微球内部呈大片状聚集,其比表

面积较小导致药物溶出少且溶出速度慢,同时,微球表面也随水进入而重新排列,小孔数量减少,导致其释放速率也较慢;而 PLGA 微球因具有适中的亲水性,水分

易进入微球内部溶出药物,同时难溶药物在微球内部呈小片状聚集分布,比表面积较高,增加了溶出,因此其释放药物速度较快。

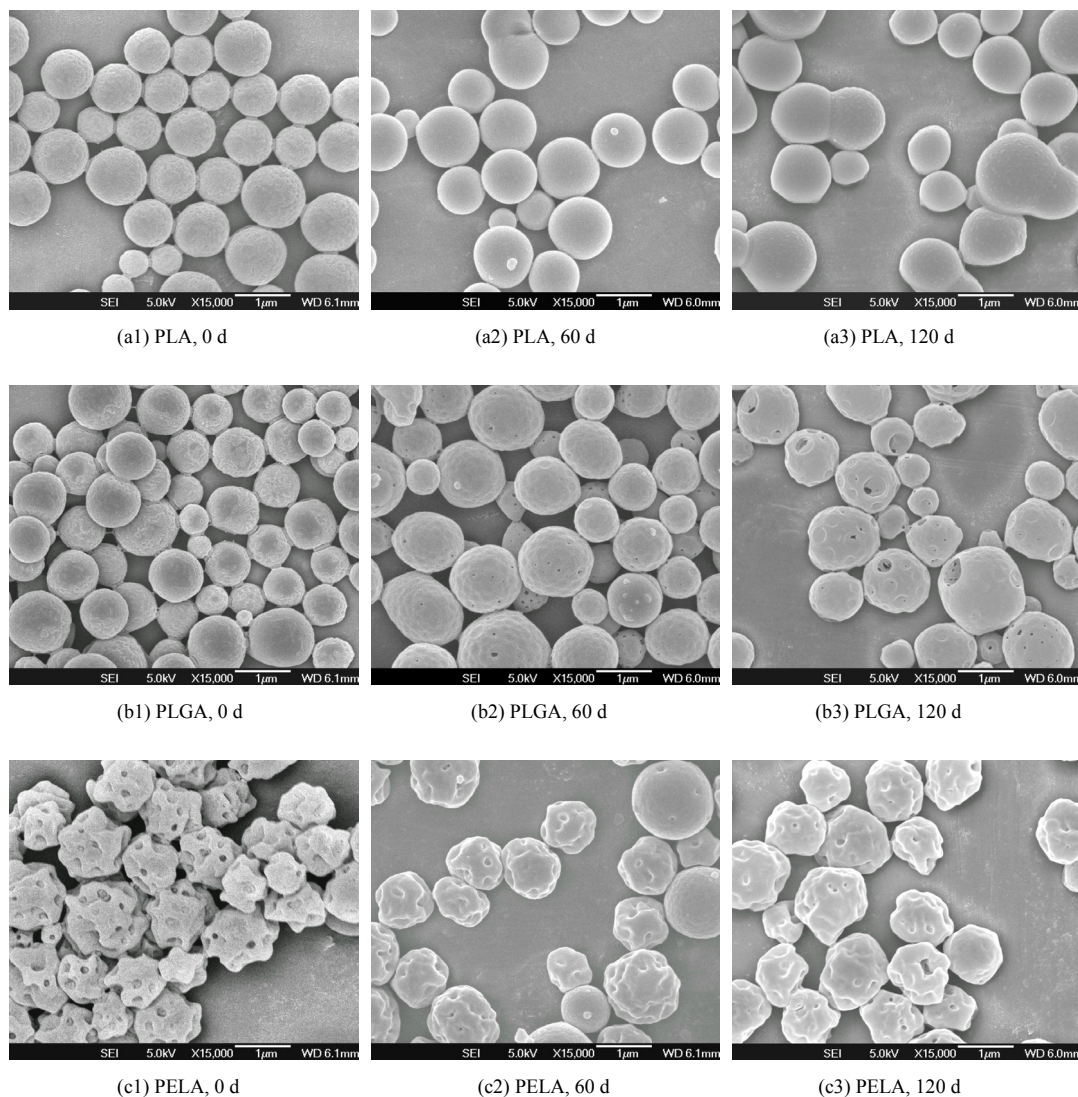


图6 释药前后载药微球表面形貌

Fig.6 SEM micrographs of microspheres prepared with different polymers before and after releasing *in vitro*

3.4 快速膜乳化法制备均一微球的机理

快速膜乳化中乳滴形成的机制如图7所示.当液滴直径(d_1)大于膜孔径(d_m)时,液滴在压过膜孔时主要受操作压力 p 、膜孔壁两侧对液滴的剪切力 F_1 和 F_2 的共同作用.假设液滴与膜孔壁的夹角为 θ ,在平行膜孔方向,液滴破碎瞬间受力 $F=p+(F_1+F_2)\cos\theta$ [图7(a)].液滴破碎的程度与其受力大小和液滴本身的强度密切相关.液滴受力大小主要受操作压力和液滴在膜孔处变形程度(θ 大小)影响,而其在膜孔处的变形程度主要与液滴粘度和液滴油水界面膜强度密切相关;液滴本身强度主要受油相PLA浓度影响,而液滴油水界面膜强度与水相PVA

浓度和油水相体积比相关,因此,在快速膜乳化过程中过膜压力、油相PLA浓度、水相PVA浓度和油水相体积比是影响液滴大小和均一性的主要因素.随过膜压力增大,液滴受力越大,破碎程度越大,导致液滴粒径减小,这与最终PLA微球随过膜压力增加粒径减小的结果一致.油相PLA浓度越大,其粘度越大,液滴的韧性也随之增强,相同操作力下,液滴在膜孔处变形越小,虽然 θ 减小导致剪切力增大,但不足以使液滴发生更大程度的变形,液滴仍较难破碎,因此,随PLA浓度增加,液滴粒径增大,均一性变好.水相PVA浓度越大,液滴油水界面膜强度越强,液滴韧性越好;相同PVA

浓度下,油水体积比越小,油相中形成的液滴越少,单个液滴与 PVA 形成的界面膜强度也越强,液滴的韧性变好,液滴的韧性足以抵抗剪切力带来的更大程度的变形,导致液滴更难破碎,均一性变好。

当液滴直径小于膜孔径($d_2 < d_m$)时,如图 7(b)所示,液滴将不被剪切直接通过膜孔,这部分液滴将直接影响乳液的均一性。预乳液中小于膜孔径的液滴越多,乳液的均一性越差。而预乳液中小液滴的多少与油相中 PLA 浓度、水相中 PVA 浓度和油水相体积比直接相关。油相 PLA 浓度越小、水相 PVA 浓度越低、油水相体积比越大都将导致形成的小液滴越多,最终导致 PLA 微球均一性变差。

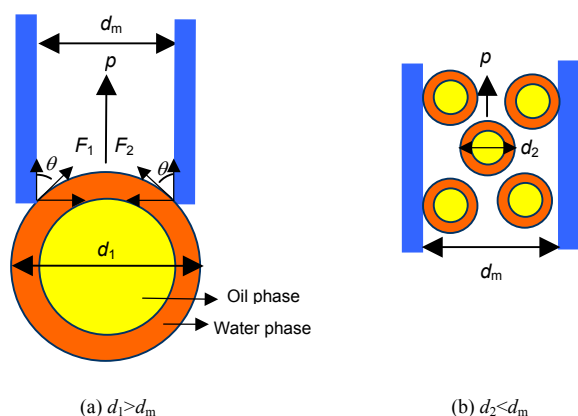


图7 快速膜乳化中乳滴形成机制

Fig.7 The principal force analysis of droplet in the premix membrane emulsification process

4 结论

通过对均质乳化法、超声乳化法和快速膜乳化法制备的 PLA 微球及快速膜乳化法制备的 PLA, PLGA 和 PELA 载紫杉醇微球的载药率及其体外释药行为的比较,得到如下结论:

(1)快速膜乳化法所制 PLA 微球多分散系数为 0.005,均质乳化法和超声乳化法所制 PLA 微球多分散系数分别为 0.133 和 0.145。在制备均一微球方面,快速膜乳化法具有明显优势。

(2)快速膜乳化法制备的 PLA, PLGA 和 PELA 载紫杉醇微球载药率分别为 3.89%, 4.93%和 3.18%,包埋率分别为 63.2%, 71.6%和 51.3%。在磷酸盐缓冲液中释放 60 d 后,PLGA 微球的药物释放率为 83.87%,PLA 微球为 50.25%,PELA 微球为 41.27%。只有亲水性适中的

PLGA 材料对药物有较高的药物装载率、包埋率及较快的体外释药行为。

参考文献:

- [1] 王思铭. 紫杉醇长效注射缓释微球的制备以体内评价 [J]. 长春中医药大学学报, 2007, 23(3): 15-16.
- [2] Safavy A, Bonner J A, Waksal H W, et al. Synthesis and Biological Evaluation of Paclitaxel-C225 Conjugate as Model for Target Drug Delivery [J]. Bioconjugate Chem., 2003, 14(2): 302-310.
- [3] 王海燕, 李运曼, 刘国卿. 紫杉醇抗癌机制研究进展 [J]. 药学进展, 1999, 23(4): 210-214.
- [4] 金涛, 李铁晶, 吴桐. 紫杉醇抗肿瘤机理与毒副作用 [J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(6): 816-819.
- [5] Dhanikula A B, Panchagnula R. Localized Paclitaxel Delivery [J]. Int. J. Pharm., 1999, 183(2): 85-100.
- [6] Adams J D, Flora K P, Goldspier B R, et al. Taxol: A History of Pharmaceutical Development and Current Pharmaceutical Concerns [J]. J. Natl. Cancer Inst. Monographs, 1993, (15): 141-147.
- [7] Allwood M, Maritin H. The Extraction of Diethylhexyl Phthalate (DEHP) from Polyvinyl Chloride Components of Intravenous Infusion Containers and Administration [J]. Int. J. Pharm., 1996, 127(1): 57-61.
- [8] 马培奇. 新颖蛋白结合微粒药物紫杉醇新制剂(Abraxane)在美首次获准上市 [J]. 中国医药技术与市场, 2005, 5(6): 17.
- [9] Milan F M. Method for the Treatment of Solid Tumors by Albumin Microparticles Incorporating Paclitaxel [P]. US Pat.: US6652884B2, 2003-11-25.
- [10] 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.
- [11] Wei Q, Wei W, Lai B. Uniform-sized PLA Nanoparticles: Preparation by Premix Membrane Emulsification [J]. Int. J. Pharm., 2008, 359(1): 294-297.
- [12] Lv P P, Wei W, Gong F L. Preparation of Uniform Sized Chitosan Nanospheres by a Premix Membrane Emulsification Technique [J]. Ind. Eng. Chem. Res., 2009, 48(19): 8819-8828.
- [13] 赖波, 卫强, 孙春宝. 膜乳化法结合复乳法制备粒径均一的载溶菌酶 PELA 微球 [J]. 过程工程学报, 2008, 8(2): 327-332.
- [14] Wei Q, Wei W, Wang L Y. Preparation of Uniform-sized PELA Microspheres with High Encapsulation Efficiency of Antigen by Premix Membrane Emulsification [J]. J. Colloid Interface Sci., 2008, 323(2): 267-273.
- [15] 田瑞, 王连艳, 吴颀. 快速膜乳化法制备粒径均一的 PLGA 微球和微囊 [J]. 过程工程学报, 2009, 9(4): 754-726.
- [16] 王辰允, 刘燕, 曲恒燕. 紫杉醇长效缓释微球的制备与评价 [J]. 军事医学科学院院刊, 2004, 28(6): 549-551.
- [17] 阎洲, 裴元英. 紫杉醇肺靶向微球的制备及体内评价 [J]. 中国临床药理学杂志, 2006, 15(4): 226-230.
- [18] Patil Y, Sadhukha T, Ma L. Nanoparticle-mediated Simultaneous and Targeted Delivery of Paclitaxel and Tariquidar Overcomes Tumor Drug Resistance [J]. J. Colloid Interface Sci., 2009, 236(1): 21-29.

Preparation of Microspheres of Paclitaxel-loaded PLA, PLGA and PELA by Premix Membrane Emulsification

ZENG Ye-jing^{1,2}, WANG Lian-yan¹, MA Guang-hui¹, MA Run-yu²

(1. State Key Lab. Biochem. Eng., Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China;

2. College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Poly(lactic acid) (PLA) microspheres were prepared by premix membrane emulsification and compared with the results by homogenization and ultrasonification. The mean diameters of PLA microspheres prepared by homogenization and ultrasonification were 1.022 and 0.987 μm , and the corresponding polydispersities 0.133, 0.145, respectively, while the mean diameter of PLA microspheres by premix membrane emulsification was 0.906 μm and the polydispersity 0.005. Furthermore, the microspheres of paclitaxel (PTX) loaded PLA, PLGA [poly(lactic-co-glycolic acid)], PELA [poly(ethylene glycol-co-lactide acid)] with uniform size were prepared by premix membrane emulsification, and their encapsulation efficiency and cumulative release profiles *in vitro* were studied. The mean diameters of PTX-loaded PLA, PLGA and PELA microspheres were 0.906, 0.987 and 1.015 μm with the same polydispersity of 0.005. The corresponding drug loading efficiencies and encapsulation efficiencies were 3.89%, 4.93%, 3.18% and 63.2%, 71.6%, 51.3%, respectively. The cumulative release rates of PLA, PLGA, and PELA microspheres *in vitro* for 60 d were 83.87%, 50.25% and 41.27%.

Key words: premix membrane emulsification; microspheres; uniformity; loading efficiency; drug release *in vitro*