

乳酸/羟基乙酸共聚物分子量 对艾塞那肽微球性质的影响

石琳¹, 刘斌^{1,2}, 王梦舒¹, 王春雨³, 孔维¹, 陈妍^{1*}

(1. 吉林大学生命科学学院, 吉林长春 130012; 2. 吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室, 吉林长春 130012; 3. 长春生物制品研究所, 吉林长春 130062)

[摘要] 目的: 制备艾塞那肽-乳酸/羟基乙酸共聚物(PLGA)微球, 并研究 PLGA 分子量对微球性质的影响。方法: 选用不同分子量的 PLGA, 采用复乳法制备艾塞那肽 PLGA 微球; 对微球的粒径、载药量、包封率和体外释放等指标进行测定。结果: PLGA 分子量对艾塞那肽 PLGA 微球的性质有明显影响。结论: 可通过调节 PLGA 分子量调控微球的性质。

[关键词] 艾塞那肽; 微球; 乳酸/羟基乙酸共聚物; 分子量

[中图分类号] R113

[文献标识码] B

[文章编号] 1674-4721(2009)05(a)-117-02

Effect of molecular weight of poly(Lactic-co-Glycolide) on properties of exenatide-loaded microspheres

SHI Lin¹, LIU Bin^{1,2}, WANG Mengshu¹, WANG Chunyu³, KONG Wei¹, CHEN Yan^{1*}

(1. College of Life Science, Jilin University, Changchun 130012, China; 2. State Key Laboratory of Supramolecular Structure & Materials, Jilin University, Changchun 130012, China; 3. Changchun Institute of Biological Products, Changchun 130062, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare exenatide-loaded poly (lactic-co-glycolide acid) (PLGA) microsphere, to evaluate the effect of molecular weight of PLGA on properties of these microspheres. **Methods:** The exenatide-loaded PLGA microspheres were prepared by double emulsion method with PLGA of different molecular weight. Parameters including particle size, drug loading, encapsulation, and releasing in vitro were determined. **Results:** The molecular weight of PLGA showed a significant effect on the property of exenatide-loaded PLGA microspheres. **Conclusion:** The expected characteristics of the microspheres can be realized by adjusting the molecular weight of PLGA.

[Key words] Exenatide; Microspheres; Poly(lactic-co-glycolide)acid; Molecular weight

Exendin-4 是胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 类似物, 具有刺激胰岛素分泌、抑制胰高血糖素分泌、抑制胰岛 B 细胞凋亡、减缓胃排空等生理活性^[1-2]。艾塞那肽(exenatide)为人工合成的 exendin-4, 是由 39 个氨基酸组成的多肽类药物, 用于 2 型糖尿病的治疗, 临床效果显著, 但与其他蛋白多肽类药物

一样, 存在频繁注射不便的问题 (每天两次的皮下注射给药)^[3-4]。本实验室以乳酸/羟基乙酸共聚物 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 为载体材料制备缓释拟达 1 个月的 exenatide 微球, 考察了 PLGA 分子量对微球性质的影响。

1 仪器与试剂

MICCRA D-8 高速匀浆器 (德国 ART 公司); XL30 ES-

* 通讯作者

学工作, 宣传检验医学在疾病诊断、治疗、转归和推测预后等方面的知识, 显现出极为重要的作用。在社区医学检验中, 应由高年资、技术熟练、责任心强的同志担当工作, 提供上门服务、预约服务等特色的服务内容, 真正把服务理念落到实处, 提出专业性的治疗建议, 充分贴近社区居民, 方便社区卫生服务机构工作, 解决其实际问题, 更好地为社区居民的健康服务。

另外, 针对社区卫生服务应开展血、尿分析、肝功能、肾功能、血脂、心肌酶谱、风湿系列、糖化血红蛋白、甲状腺功能、肿瘤系列、肝炎系列等检查服务, 供社区卫生人员及广大社区居民选择检查, 帮助较大的社区卫生服务中心建立常规检验室。这些工作都是迫切需要政府及全社会广泛关注的。

检验医学资源和技术在社区卫生服务中的应用可以大大方便社区居民就医, 可以充分合理利用检验资源, 避免资源浪费, 做到资源共享, 实现经济效益和社会效益双丰收, 为检验医学在社区卫生服务中的发展奠定坚实的基础。

[参考文献]

- [1] 郝伟. 检验医学在社区卫生服务中的运行模式和作用[J]. 中国社区医师杂志, 2007, 4: 42-43.
- [2] 陈梅, 黄丽云, 谢文锋, 等. 检验标本采集对检验质量控制的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 4: 119.
- [3] 李成喜. 动脉硬化患者血清低密度脂蛋白胆固醇及总胆红素的测定[J]. 中国医药导报, 2009, 6(1): 72-73.
- [4] 王盛, 胡昆. 妊娠合并贫血筛查总结[J]. 中国现代医生, 2008, 56(1): 118.

(收稿日期: 2009-03-15)

EM FEG 扫描电镜(美国 FEI 公司);MS2000 粒径测定仪(英国 Malvern 公司);冷冻干燥机(德国 Christ 公司)。

艾塞那肽(吉林大学生命科学学院肽合成研究室提供,纯度>98%);PLGA(乳酸/羟基乙酸比为 50/50, MW 分别为 10 000、20 000、30 000, 山东岱罡生物科技有限公司);Micro-BCA 蛋白检测试剂盒(美国 Pierce 公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 微球的制备

采用复乳溶剂挥发法制备艾塞那肽 PLGA 微球^[5]。以醋酸钠溶液溶解艾塞那肽作为内水相,与 PLGA 的二氯甲烷溶液混合,高速匀浆器搅拌制得初乳,在匀浆器高速搅拌下快速滴加到 1%PVA 水溶液中,得到复乳,继续搅拌 4 h,离心收集微球,蒸馏水洗涤 3 次,冷冻干燥,即得。

2.2 微球的形态观察

取微球粉末少许,XL30 ESEM FEG 扫描电镜下观察微球的表面形态。扫描电镜照片(图 1)显示所制备的微球形态圆整,表面光滑,大小均匀。

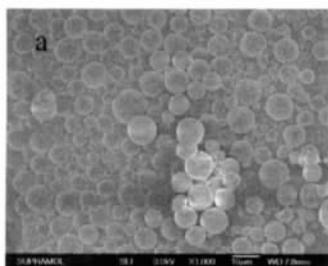


图 1 艾塞那肽微球扫描电镜图

Fig 1 SEM photographs of Exenatide loaded microspheres

2.2 微球的粒径测定

将微球在水中均匀分散,MS2000 测定微球粒径大小,结果见表 1。可见,随着 PLGA 分子量的增大,所制备微球的粒径也随之增大。

表 1 艾塞那肽微球的理化性质(n=3)

Tab 1 Characteristics of exenatide-loaded microspheres (n=3)			
PLGA 分子量(Da)	平均粒径(μm)	载药量(%)	包封率(%)
10 000	6.2±0.7	1.30±0.15	40.6±4.7
20 000	7.7±1.0	2.10±0.23	65.6±7.1
30 000	8.5±0.9	2.50±0.28	78.1±8.8

2.3 微球载药量及包封率的测定

精密称取适量微球,用 0.1 mol/L NaOH(含 5%SDS)溶液混悬,在 100 rpm、37℃水浴摇床中震荡 24 h,8 000 rpm 离心 10 min,micro-BCA 试剂盒测定上清液中的艾塞那肽含量^[6]。按如下公式计算:载药量%=(微球中所含药物重量/微球的总重量)×100%,包封率%=(微球的实际载药量/微球的理论载药量)×100%,结果见表 1。可见,随着 PLGA 分子量的增大,微球的载药量及包封率随之提高。

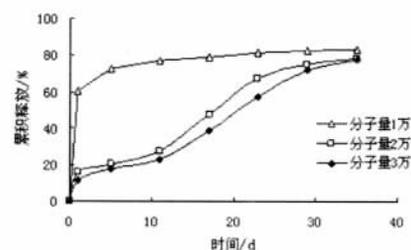


图 2 艾塞那肽微球的累积释放曲线

Fig 2 The accumulative releasing curves of exenatide microspheres

2.4 微球体的外释放试验

精密称取适量艾塞那肽微球于离心管中,加 10 mmol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液混悬(含 0.01%叠氮钠和 2 mmol/L SDS),37℃、100 rpm 水浴震荡,于指定时间取出,4 000 rpm 离心 10 min,吸出全部上清液,micro-BCA 试剂盒测定上清液中艾塞那肽的含量,计算累积释放量,结果见图 2。可见,PLGA 分子量对 exenatide 的释放速率有明显的影响,分子量越低,药物释放越快。PLGA 分子量为 10 000 的微球,突释严重(60%)。而 PLGA 分子量为 20 000 及 30 000 的微球,突释相对较小,可缓慢释放药物达 30 d。

3 讨论

PLGA 是一种可生物降解的合成高分子材料,被广泛应用于微球的制备^[7]。已知,PLGA 的分子量和乳酸/羟基乙酸的比例对于微球的性质影响较大^[8]。本研究选用分子量分别为 1 000、2 000 和 3 000 的 PLGA,采用复乳法成功地制备了可以缓释 30 d 的艾塞那肽 PLGA 微球,国内未见报道。研究表明,在上述分子量范围内,PLGA 分子量越大,微球的粒径越大、包封率越高、exenatide 的释放越慢,可通过对 PLGA 分子量的调节对微球的性质进行有目的的调控,为艾塞那肽 PLGA 微球的处方优化提供了依据。

[参考文献]

- 谭兴容.Exendin-4 与糖尿病治疗[J].重庆医学,2006,35(10):904.
- Yu BS, Wang AR.Glucagon-like peptide 1 based therapy for type 2 diabetes[J].World J Pediatr,2008,4(1):8-13.
- Ai G, Chen Z, Shan C.Single-and multiple-dose pharmacokinetics of exendin-4 in rhesus monkeys[J].Int J Pharm,2008,353(1-2):56-64.
- Drucker DJ, Buse JB, Taylor K, et al. Trautmann, D. Zhuang, L. Porter, Exenatide once weekly versus twice daily for the treatment of type 2 diabetes: a randomised, open-label, non-inferiority study [J]. Lancet. 2008, 372(9645):1240-1250.
- 孙华燕,徐风华.溶剂挥发法制备蛋白质类微球的研究进展[J].中国新药杂志,2008,17(3):195-198.
- Van der Walle CF, Sharma G, Ravi Kumar M. Current approaches to stabilising and analysing proteins during microencapsulation in PLGA [J]. Expert Opin Drug Deliv,2009,6(2):177-86.
- Xu Q, Czernuszka JT. Controlled release of amoxicillin from hydroxyapatite-coated poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres [J]. J Control Release, 2008, 127(2):146-153.
- 王襄平,梅兴国.乳酸/羟基乙酸共聚物分子量及其单体组成比例对利培酮微球性质的影响[J].中国药房,2007,18(1):38-41.

(收稿日期:2009-03-05)