

文章编号: 1006-2858(2010)01-0011-04

药用载体星状聚乳酸-羟基乙酸共聚物的合成与表征

肖玉婷, 冷迪, 李翔, 邱立朋, 潘卫三, 王东凯

(沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳 110016)

摘要: 目的 降低水溶性药物微球制剂突释现象。方法 以辛酸亚锡为催化剂, 采用熔融缩聚法合成星状聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (star-poly(lactic acid-glycollic acid) copolymer, star-PLGA); 采用 IR、¹H-NMR、GPC、DSC 及葡萄糖鉴别反应确证共聚物结构, 考察理化性质; 以天麻素为模型药物, 考察 star-PLGA 微球和聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (poly(lactic acid-glycollic acid) copolymer, PLGA) 微球的释放行为。结果 红外光谱和核磁共振分析结果与文献报道一致; 凝胶渗透色谱测定重均相对分子质量为 15 178; 差示扫描量热分析结果表明 star-PLGA 为非结晶态; 葡萄糖鉴别反应表明 star-PLGA 中有共价键结合的葡萄糖。Star-PLGA 微球能很好地控制突释现象, 释放行为平稳, 其释放曲线符合 Higuchi 方程。结论 成功合成了 star-PLGA (物质的量比 50/50), 作为微球制剂的载体 star-PLGA 能降低水溶性药物的突释现象。

关键词: 星状聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 红外光谱法; 核磁共振氢谱法; 凝胶渗透色谱法; 差示扫描量热分析法; 药用载体

中图分类号: R 94 文献标志码: A

生物降解材料是国内外的研究热点, 其中以聚乳酸 (polylactic acid, PLA)、聚乙醇酸 (polyglycollic acid, PGA) 及其共聚物 (poly(lactic acid-glycollic acid) copolymer, PLGA) 为代表的聚酯材料以其独特的降解性能引起了人们的广泛关注。PLGA 兼有 PLA 和 PGA 两种材料的优势, 生物相容性和可降解性好, 易被自然界中的多种微生物或动植物体内酶分解代谢, 广泛应用于医学和药学领域。在药物制剂领域, PLGA 主要作为制备微球或埋植剂的载体。目前, 微球制备的难点之一是药物的突释现象和释放行为不稳定^[1]。曾有国外文献报道采用 D, L 丙交酯、乙交酯、葡萄糖经熔融缩聚反应制备成星状聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (star-poly(lactic acid-glycollic acid) copolymer, star-PLGA), 与直链聚合物相比, 具有空间立体结构, 用于微球制剂可降低突释, 使释放行为稳定^[2]。目前国内 PLGA 的合成尚处于实验室阶段, 且无论是无规共聚物 (Ran-PLGA) 还是交替共聚物 (Alt-PLGA)^[3-5], 都为链状结构。作者合成了相对分子质量为 15 000 的适用于微球制剂的

star-PLGA (物质的量比 50/50) 共聚物。

1 仪器与材料

ARX-300 超导核磁共振仪、IFS-55 红外分光光度仪 (瑞士 Bruker 公司), LC-10A 高效液相色谱仪、DSC-60 差示量热扫描仪 (日本 Shimadzu 公司), OPTLAB DSP 示差检测器 (美国 Wyatt 公司), Waters 515 HPLC 泵、Waters 聚苯乙烯凝胶 HT₃、HT₄ 柱 (美国 Waters 公司)。

D, L 丙交酯、乙交酯 (济南岱罡生物科技有限公司), 葡萄糖 (天津博迪化工有限公司), 辛酸亚锡 (国药集团化学试剂有限公司), 其他试剂 (分析纯, 市售)。

2 方法与结果

2.1 Star-PLGA 的合成

聚酯类材料的制备通常采用熔融缩聚法, 故本实验中采用熔融缩聚法合成 star-PLGA, 催化剂选择辛酸亚锡^[6]。

称取处方量 D, L 丙交酯 5.54 g

收稿日期: 2009-04-20

作者简介: 肖玉婷 (1983-), 女 (汉族), 黑龙江大庆人, 硕士研究生, Email xy1983811@yahoo.com.cn; 王东凯 (1962-), 男 (汉族), 辽宁沈阳人, 副教授, 主要从事药物新剂型的研究, Tel 024-23986963, Email wangdksy@126.com。

(38.4 mmol)、乙交酯 4.46 g (38.4 mmol)、葡萄糖 20 mg (0.11 mmol), 置于三颈瓶中, 氮气保护下升温, 加入适量辛酸亚锡催化剂熔融, 抽真空,

升温至 140~180, 反应 10~18 h, 合成路线如图 1 所示。

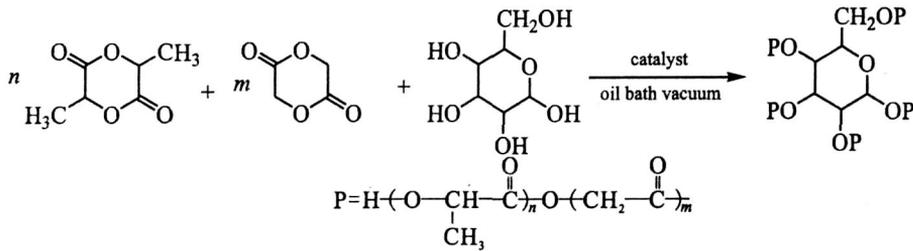


Fig 1 Synthesis route of star-poly(lactic acid-glycolic acid) copolymer

D, L 丙交酯与乙交酯投料比、反应温度、反应时间对最终合成产物的质量都有直接影响。采用共聚物投料物质的量比为 1:1。随着反应温度的升高, 产物的色泽加深, 提示可能有杂质产生, 故采用相对较低温度 160 条件下进行反应。反应温度一定时, 随着反应时间的延长, 共聚物的黏度先增大后减小, 提示发生了解聚反应。根据实验的要求, 可以选择不同黏度的共聚物。合成产物外观为淡黄色或类白色, 易溶于二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯, 不溶于水、甲醇、乙醚。

2.2 Star-PLGA 的表征

2.2.1 红外光谱 (IR) 分析

采用薄膜法, 以二氯甲烷为溶剂, 室温测定, 扫描次数为 256 次, 分辨率为 2 cm^{-1} 。

Star-PLGA 的红外谱图与文献一致。其中 1758 cm^{-1} 处是共聚酯中的酯羰基 ($\text{C}=\text{O}$) 的伸缩振动峰; $1270, 1170, 1132, 1093\text{ cm}^{-1}$ 处有酯醚键 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) 的伸缩振动峰, 证明了酯基的存在; $2996, 2951, 1452, 1423, 1394\text{ cm}^{-1}$ 为共聚酯中的饱和碳氢键 ($\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{CH}$); 3525 cm^{-1} 处为共聚酯末端羟基 (OH)。

2.2.2 核磁共振 ($^1\text{H-NMR}$) 分析

CDCl_3 为溶剂, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标, 室温测定。

Star-PLGA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图显示, 1.58 为乳酸链段中的甲基质子信号, 5.30 为乳酸链段中的次甲基质子信号, 4.83 为乙醇酸链段中的亚甲基质子信号。由上述分析可知, 共聚物链上同时存在 PLA 链段和 PGA 链段。根据 1.58 和 4.83 两处氢原子所对应的吸收峰面积的积分比可以看出, 共聚物物质的量比在组成范围内, 但链段中乙醇酸和乳酸两嵌段的物质的量比不等于 1:1, 这是因为乙交酯的竞聚率大于丙交酯的竞聚

率 ($r_{\text{glycolide}} = 2.8, r_{\text{lactide}} = 0.2$) 以及丙交酯活性较低^[7]。

从合成产物的红外及核磁分析可以基本确定产物是 star-PLGA。

2.2.3 凝胶渗透色谱 (GPC) 分析

采用 Waters 聚苯乙烯凝胶 HT₃、HT₄ 柱, 以氯仿为溶剂, 以聚苯乙烯为标准品, 在 25、流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 下进行凝胶渗透色谱分析。

图 2 为 star-PLGA 的 GPC 谱图。测定聚合度为 160, 聚合时间为 14 h。其重均相对分子质量 M_{rw} 为 15 178, 数均相对分子质量 M_{rn} 为 9 152, 相对分子质量分布较窄 (1.66), 符合聚合物的要求, 可以作为微球载体使用。

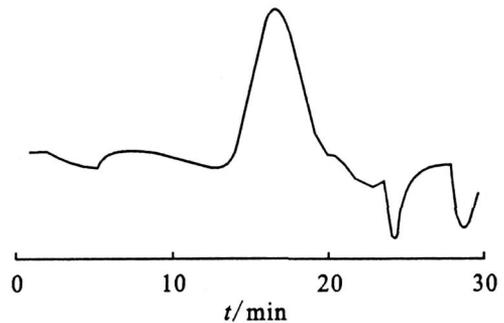


Fig 2 GPC of star-poly(lactic acid-glycolic acid) copolymer in CHCl_3

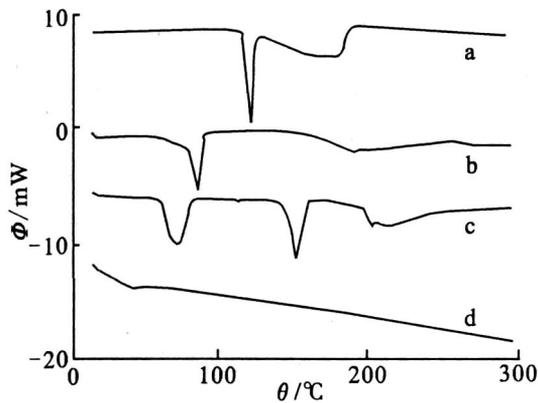
2.2.4 差示扫描量热 (DSC) 分析

在氮气保护下测定 DSC 曲线, 升温速率为 $10\text{ }\cdot\text{min}^{-1}$ 。

图 3 为 star-PLGA 的 DSC 谱图。可以看出 *D, L* 丙交酯、乙交酯及葡萄糖都有确定的熔点, 而合成的产物因为是非结晶态没有明显的吸热峰, 因而没有固定的熔点。

2.2.5 葡萄糖鉴别

按《中华人民共和国药典》(2005 版) 葡萄糖的鉴别反应操作, 配制碱性酒石酸铜试液。



a—D, L-Lactide; b—Glycolide; c—Glucose; d—Star-PLGA
Fig 3 DSC thermogram of star-poly(lactic acid-glycolic acid) copolymer

乙交酯、D, L 丙交酯混悬于适量水中 (A), 乙交酯、D, L 丙交酯、葡萄糖混悬于适量水中 (B), 分别滴加试液, 30 min 后, B 有红色沉淀, A 无沉淀, 证明乙交酯、丙交酯与试液不反应。将葡萄糖分别溶于 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ (C) 及质量分数 10% 盐酸溶液中 (D), 分别滴加试液, 30 min 后, C 有红色沉淀, D 无沉淀, 故 star-PLGA 可以用碱破坏。将葡萄糖溶于 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 中, 70 °C 水浴 4 h (E); star-PLGA 溶于 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 中, 70 °C 水浴 4 h (F); 分别滴加试液, 30 min 后, E 有红色沉淀, F 有红色沉淀, 证明 star-PLGA 中有葡萄糖。

由于合成后处理过程中用水萃取多次, 所以合成产物中不会有游离的葡萄糖。E 中出现红色沉淀则说明合成产物中有共价键结合的葡萄糖, 证明合成的聚合物为 star-PLGA。

2.3 载药微球释放行为考察

以 pH 值 7.4 的磷酸盐缓冲液为释放介质 (37 °C), 以水溶性药物天麻素为模型药物, 采用复乳溶剂挥发法制备微球, 测定 star-PLGA (自制) 与 PLGA (市售) 微球的释放行为。

图 4 为 star-PLGA 和 PLGA 载天麻素微球的释药曲线。PLGA 微球的释放有明显的突释效应, 而 star-PLGA 微球第 1 天释放量为 14%, 很好地控制了突释。二者 30 d 的累积释放率都大于 80%, star-PLGA 微球的累积释放率较 PLGA 微球略有增长。Star-PLGA 微球具有明显的缓释效果, 较 PLGA 微球的释放行为稳定。用零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程拟合 star-PLGA 微球的释放曲线, 方程中 x 为时间, y 为释药率,

零级方程: $y = 2.71 \times 10^{-2} x + 9.11 \times 10^{-2}$, $R^2 = 0.9785$; 一级方程: $y = -6.52 \times 10^{-2} x + 1.81 \times 10^{-2}$, $R^2 = 0.9658$; Higuchi 方程: $y = 0.161x - 4.86 \times 10^{-2}$, $R^2 = 0.9794$ 。结果表明, star-PLGA 微球的释放符合 Higuchi 方程。

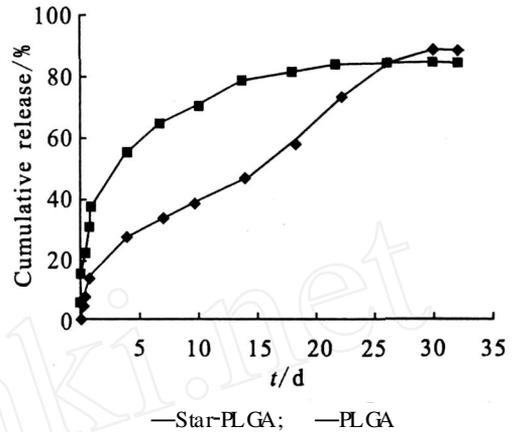


Fig 4 Release curve of star-poly(lactic acid-glycolic acid) copolymer (star-PLGA) and poly(lactic acid-glycolic acid) copolymer (PLGA)

3 讨论与结论

a. 微球制剂的突释原因主要是因为开始时微球表面药物的高速释放导致的。Star-PLGA 为空间立体结构, 且与 PLGA 相比水溶性增强, 故而与水性药物的亲和性较强, 能更好地包裹药物, 使微球制剂表面药量减少从而控制药物的突释, 同时也使得药物的释放行为更为平稳。

b. 以 D, L 丙交酯、乙交酯和葡萄糖为原料, 辛酸亚锡为催化剂采用熔融缩聚法反应, 在 160 °C 真空条件下, 反应 14 h, 合成了相对分子质量 15 000 的星状聚乳酸聚乙醇酸共聚物, 产率达到 80% 以上。通过熔融缩聚反应可以制得 star-PLGA, 并且可以通过改变反应时间、反应温度控制聚合物的相对分子质量, 获得不同应用需求的共聚物。Star-PLGA 微球与 PLGA 微球相比, 能很好地控制突释现象, 且释放行为更为平稳, 其释放曲线符合 Higuchi 方程。

参考文献:

- [1] 叶美娣, 郑彩虹. 乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 微球控释系统的突释 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22 (5): 372 - 373.
- [2] BODMER D, FONG J, KISSEL T, et al Sustained release formulations of water soluble peptides. US, 5876761 [P]. 1999 - 03 - 02

- [3] 汪朝阳, 赵耀明. 聚乙醇酸类生物羟基乙酸子 [J]. 广州化学, 2004, 29(1): 50 - 57.
- [4] 王尊元. 乳酸/乙醇酸交替共聚物的合成、表征及其在药物控释上的应用 [D]. 浙江: 浙江大学, 2002: 20 - 38.
- [5] 张倩, 虞鑫. 交替共聚聚乙丙交酯的合成及表征 [J]. 塑料工业, 2003, 31(5): 5 - 7.
- [6] BRICH Z, KISSEL T. Novel poly-esters, their preparation and pharmacological use thereof: GB, 2145422 [P]. 1985 - 03 - 27.
- [7] 张楠楠. 乙丙交酯及其共聚物的合成与结构性能研究 [D]. 西北, 西北工业大学, 2007: 54 - 56.

Synthesis and characterization of star-poly (lactic acid-glycollic acid) copolymer as pharmaceutical materials

XIAO Yu-ting, LENG Di, LI Xiang, QIU Li-peng, PAN Wei-san, WANG Dong-kai
(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To synthesize and characterize star-poly (lactic acid-glycollic acid) copolymer (star-PLGA) for the pharmaceutical materials of microspheres, in order to reduce the water-soluble drug microspheres burst phenomenon. **Methods** With stannous octoate as catalyst, melt-polycondensation was used to synthesize star-poly (lactic acid-glycollic acid) copolymer (star-PLGA); infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance spectroscopy ($^1\text{H-NMR}$), gel permeation chromatography (GPC), differential scanning calorimetry (DSC) and glucose authentication were used to confirm the structure and physicochemical of copolymer; with gastrodin as a model drug, the star-PLGA microspheres and PLGA microspheres release behaviors were visited. **Results** IR and $^1\text{H-NMR}$ datas were consistent with the results reported in the literature; GPC showed molecular weight (M_{rw}) to be 15 178; DSC showed that the star-PLGA was non-crystalline state; glucose authentication indicated that glucose was bonded by covalent linkage in star-PLGA; the in vitro results showed that the burst phenomenon could be well controlled due to the release of star-PLGA microspheres. The release behavior was smooth and the release curve was consistent with the Higuchi equation. **Conclusions** Star-PLGA (n n = 50 50) is synthesized. As the carrier of microspheres, it can reduce the water-soluble drug microspheres burst phenomenon.

Key words: star-poly (lactic acid-glycollic acid) copolymer (star-PLGA); infrared spectroscopy; nuclear magnetic resonance spectroscopy; gel permeation chromatography; differential scanning calorimetry; pharmaceutical material