

屏蔽层对支架涂层药物缓释影响的体外研究*

边慧娟^{1,2},周少雄²,梁新杰²

(1. 钢铁研究总院,北京 100081; 2. 安泰科技股份有限公司,北京 100081)

摘要: 载药涂层的药物释放行为对于药物洗脱支架的临床治疗效果具有非常重要的意义。讨论了在聚碳酸酯载药涂层外面再加一层空白聚合物层(即屏蔽层)对药物释放的影响。从 4 方面的体外实验证明屏蔽层(drug free polymer layer, DFPL)可以防止聚碳酸酯载药涂层药物“暴释”的现象,并且屏蔽层厚度和释放速率不是简单的比例关系,以及不同的药物梯度和不同的屏蔽层材料对药物释放有不同的影响效果。

关键词: 聚碳酸酯;药物洗脱支架;屏蔽层;梯度涂层;暴释

中图分类号: TB324

文献标识码:A

文章编号:1001-9731(2012)10-1285-03

1 引言

目前,药物涂层金属支架已经成为临床应用的主要对象,它的优势是既能给局部组织提供足够的治疗药物浓度,又避免了由于血药浓度过高而引起的全身毒副作用。药物洗脱冠脉支架的药物释放行为对于药物洗脱支架的临床治疗效果具有非常重要的意义。药物的释放速度必须要与支架内再狭窄的发生过程相一致,并且释放的药物量要达到治疗要求,同时也不产生全身的毒性反应。

本文以脂肪族聚碳酸酯为载药涂层,以雷帕霉素为目标药物进行研究。脂肪族聚碳酸酯是一种具有良好的生物相容性的生物材料,由于含有脂肪族链,分子间作用力较小,玻璃化温度低,具有良好的拉伸性能,为无定形聚合物。雷帕霉素(RAPA)为一种亲脂性大环内脂类抗生素,易通过细胞膜,具有较强的免疫抑制作用和抗细胞增生作用。它具有高选择性的双重作用机制,既可有效防止内膜增生,又可降低炎症细胞的活性^[1]。F. Unger^[2]等的实验表明聚碳酸亚乙酯(PEC)用于支架载药涂层有一定的应用前景。本文对其作为药物载体做了进一步的研究,讨论了通过对屏蔽层的调节来达到对 PEC 涂层支架药物缓释的控制。

2 实验

2.1 实验仪器和材料

聚碳酸亚乙酯(PEC),中科院长春应用化学研究所;聚三亚甲基碳酸酯(PTMC),济南岱罡生物科技有限公司;1,4-二氧六环、二氯甲烷,国药集团化学试剂

有限公司;雷帕霉素(RAPA),杭州华东普洛医药科技有限公司;不锈钢冠脉支架,安泰科技股份有限公司;HZS-H 水浴振荡器,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;美国 UNICO UV-2102 PCS 型紫外-可见分光光度计;BFX4-80 低速自动平衡离心机,白洋离心机厂;美国 SONO-TEK 支架喷涂系统。

2.2 涂层支架的制备

2.2.1 非屏蔽载药涂层支架的制备

激光切割的 $\text{O}1.5\text{mm}\times 18\text{mm}$ 的不锈钢冠脉支架经过热处理、酸洗、抛光和钝化。PEC 溶于二氯甲烷中,浓度为 3‰(g/mL),待完全溶解后,加入雷帕霉素。根据不同要求调整 PEC 和雷帕霉素的质量比,配成涂层液。然后用涂层仪对支架进行喷涂。最后 40℃ 真空干燥 24h。

2.2.2 屏蔽载药涂层支架的制备

在非屏蔽涂层支架制备完后,按照不同要求再喷涂不同厚度的不含药物 PEC 涂层。最后 40℃ 真空干燥 24h。

其它材料的非屏蔽和屏蔽载药涂层支架的制备同上。

2.3 涂层 316L 不锈钢片的制备

2.3.1 非屏蔽载药涂层不锈钢片的制备

机床切割不锈钢片为 $10\text{mm}\times 10\text{mm}\times 0.15\text{mm}$,经过热处理、酸洗、抛光和钝化。PEC 溶于二氧六环中,浓度为 1‰(g/mL),待完全溶解后,加入雷帕霉素。根据不同要求调整雷帕霉素和 PEC 的质量比,配成涂层液。滴涂不锈钢片。最后 40℃ 真空干燥 24h。

2.3.2 屏蔽载药涂层不锈钢片的制备

在非屏蔽涂层不锈钢片制备完后,按照不同要求再滴涂不同厚度的不含药物 PEC 涂层。最后 40℃ 真空干燥 24h。

其它材料的非屏蔽和屏蔽载药涂层不锈钢片的制备同上。

2.4 体外药物释放实验

将样品置于离心管中,加入 2mL pH 值为 7.4 的 PBS 缓冲溶液。然后把离心管放入 37℃ 的水浴振荡器中,震荡次数为 72r/min。分别于 1、3、7、14、28d 的不同时间间隔取出支架,在原来的离心管中加入 3mL 乙腈,4000r/min 离心 10min,取上清液用 0.45 μm 的滤膜过滤,然后进行紫外光谱测试。每个释放量有 3

* 基金项目:北京特色新材料产业关键技术研究基金资助项目(Z09010102000000)

收到初稿日期:2011-11-30

收到修改稿日期:2012-02-26

通讯作者:周少雄

作者简介:边慧娟(1973-),女,河北沧州人,在读博士,师承周少雄教授,从事生物材料研究。

个平行样,取平均值。取出支架放入一个新的离心管中,加入新鲜的 PBS 溶液,继续进行药物释放实验。

2.5 吸水率的测定

称取一定质量的聚合物,用二氯甲烷溶解,然后倒入培养皿中,待溶液蒸发,放入真空干燥箱,干燥至恒重,取出,剪成 10mm×10mm 的薄片。放入 pH 值为 7.4 的 PBS 缓冲溶液中,每周取出一片。蒸馏水冲洗后,用滤纸吸干表面的水分,称重 m_1 ,放到真空烘箱中抽真空至恒重 m_2 :

$$\text{吸水率 } a\% = \frac{(m_1 - m_2)}{m_2} \times 100\%$$

3 结果和讨论

3.1 屏蔽层对药物“暴释”的影响

目前有些洗脱支架药物释放存在“爆发释放”(burst-release)现象,即在支架置入后 24 h 内药物释放量很大,而在随后的释放期有效药物浓度明显不足,严重影响了洗脱支架的疗效^[3,4]。本文采用加一层屏蔽层的方法控制这种局面,使释放相对缓和。

图 1 为涂覆屏蔽膜的屏蔽支架和没有涂覆屏蔽层支架的药物缓释曲线的对比图。由图 1 可知,无屏蔽层的 PEC 带药涂层支架(曲线(a)),初期释放药物的速率很大,但是随着时间的推移,释放速率减慢,到 50d 左右的时候药物基本释放完全。而带有 PEC 屏蔽层的带药涂层支架(曲线(b)),释放速率虽然也随着时间的推移而减小,但是减小的幅度远远小于前者,在 70d 左右依然保持释放的态势,因此相对来说,屏蔽层的存在不但缓解了初期雷帕霉素的“突释”效应,而且也延长了药物释放周期,达到了缓慢释放和长期释放的目的。在药效方面,初期降低,后期提升了血药浓度,保证了药物的治疗作用。

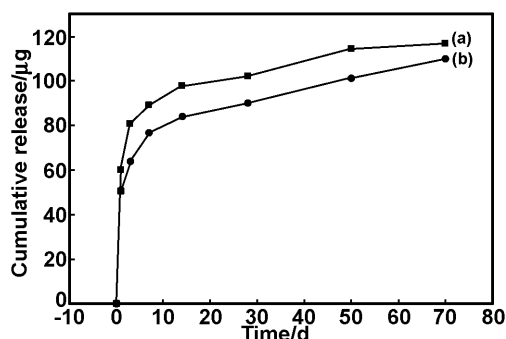


图 1 屏蔽层对药物释放的影响

Fig 1 Effect of DFPL to the burst-release of RAPA

3.2 屏蔽层厚度对药物释放的影响

由 3.1 可知,屏蔽层确实对雷帕霉素的爆发释放有抑制作用,但是不清楚屏蔽层的厚度对药物释放是否和厚度成正比例关系。为了简化实验步骤,本文用滴涂不锈钢片代替喷涂不锈钢冠脉支架来进行实验。在相同的 PEC 药物涂层上面涂覆了不同比例的屏蔽层,药物层和屏蔽层的厚度比依次为 4 : 0、3 : 1、2 :

1、4 : 3。

由图 2 可见,在释放初期(7d 之前),随着屏蔽层厚度递增,释放量递减,但是每种释放速率都特别快。而过了 7d,释放速率都减慢。这是因为随着屏蔽层厚度的增加溶胀需要的时间变长,释放需要的路径也变长,释放的速率随之减慢。后期随着药物浓度降低,药物的释放速率随之减慢。由图 2 可知无论释放前期还是后期,释放速率和屏蔽层厚度有一定的关系,但这种关系并不是严格的比例关系。

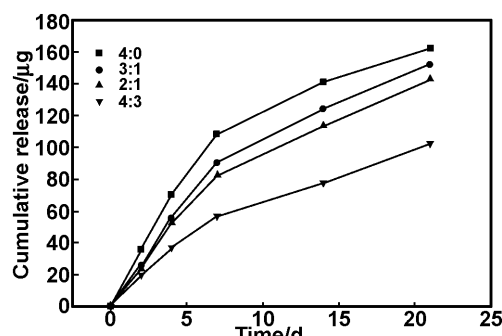


图 2 屏蔽层厚度对药物释放的影响

Fig 2 Effect of the thickness of DFPL to drug release

3.3 梯度涂层对药物释放的影响

为了简化实验步骤,采用滴涂不锈钢片代替喷涂不锈钢冠脉支架 PEC 涂层来进行实验,如图 3 所示。

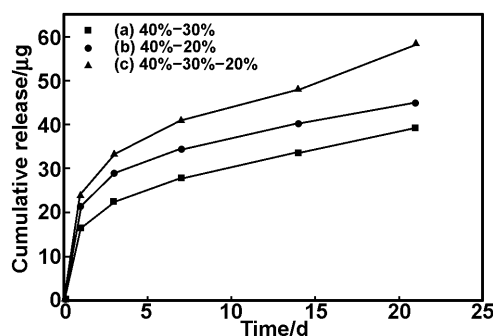


图 3 梯度涂层对药物释放的影响

Fig 3 Effect of gradient drug coating to drug release

制备涂层时,首先保证滴涂的药物总量都是 400µg。图 3 曲线(a)的不锈钢片先滴涂药物含量为 40%的 PEC 溶液,其中药物含量为 200µg;然后滴涂 30%的溶液,其中药物含量为 200µg。图 3 曲线(b)的不锈钢片先滴涂药物含量为 40%的 PEC 溶液,其中药物含量为 200µg;然后滴涂 20%的溶液,其中药物含量为 200µg。图 3 曲线(c)的不锈钢片先滴涂药物含量为 40%的 PEC 溶液,其中药物含量为 200µg;然后滴涂 30%的溶液,其中药物含量为 100µg,再滴涂 20%的溶液,其中药物含量为 100µg。因为药物总量一定,因此图 3 曲线(a)涂层厚度应该最小,曲线(b)的涂层厚度应该最大。实验之前预想曲线(a)应该在图的最上面,是释放最快的。因为释放路径短而且浓度梯度大,曲线(b)是释放最慢的。但是事实并非如此,曲线(c)是释放最快的。认为是 PEC 的吸水性很好,雷帕霉素又不溶于水,释放介质的药物浓度为 0,相比图 3

(a)和(b)两条曲线,只有曲线(c)的药物浓度过渡得最缓慢,梯度最小,40%—30%—20%—0,因此它的药物释放就更流畅。曲线(b)的药物梯度为40%—20%—0,相对于曲线(a)的40%—30%—0的变化要更均衡,因此曲线(b)的释放量比曲线(a)的释放量大。

3.4 屏蔽层材料对药物释放的影响

为了简化实验步骤,采用滴涂不锈钢片代替喷涂不锈钢冠脉支架来进行实验。为考察不同的聚合物屏蔽层对药物释放的影响,分别以PEC、PEC/PTMC(5:5,Blend)、PTMC作为药物载体和屏蔽层,按照聚合物和雷帕霉素的质量比为6:4滴涂316L不锈钢片,药物总量相同。药物释放结果如图4所示。

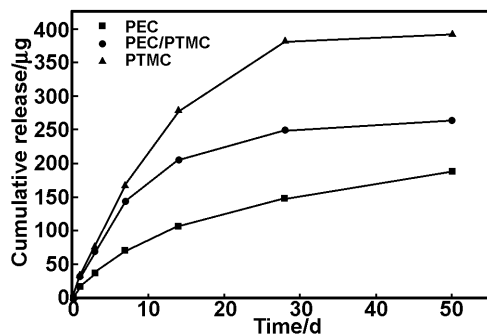


图4 不同载药聚合物涂层对药物释放的影响

Fig 4 Effect of polymers to drug release

由图4可见,不同的材料对药物的释放效果是不一样的。原因分析:PEC是无定形聚合物,它和药物的相容性比较好,达到分子结构的相容。并且PEC吸水性比较大,42d内的平均吸水率为6.30%。因此释放药物比较缓和。而PTMC是疏水聚合物,它的吸水率比较小,42d内的平均吸水率为1.18%。PEC/PTMC在42d内的平均吸水率为2.27%,介于PEC和

PTMC之间。由此可见聚合物对药物释放的影响应该不仅仅是分子结构的影响,同时吸水率也是影响因素之一。

4 结 论

屏蔽层对聚碳酸酯涂层药物释放有一定的影响:

(1) 防止了药物在初期的“爆发释放”。

(2) 屏蔽层厚度对药物释放在早期有降低释放量的作用,后期有延长释放时间的作用,但并不是和厚度成比例的关系。

(3) 载药量一样,但是涂层的药物梯度不同,药物释放曲线不同。

(4) 相同的药物而不同的药物载体均有不同的药物释放曲线。这些实验结果都是在体外进行的模拟实验,在体内是否如此有待进一步的实验验证。

参考文献:

- [1] Poom M, Marx S O, Gallo R, et al. Rapamycin Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Migration[J]. Clin I Vest, 1996, 98: 2277-2283.
- [2] Unger F, Westedt U, Hanefeld P, et al. Poly(Ethylene Carbonate): A Thermoelastic and Biodegradable Biomaterial for Drug Eluting Stent Coatings[J]. Controlled Release, 2007, 117(3): 312-321.
- [3] Finkelstein A, McDlean D, Kar S, et al. Local Drug Delivery Via a Coronary Stent with Programmable Release Pharmacokinetics[J]. Circulation, 2003, 107: 777-784.
- [4] Hwang C W, Wu D, Edelman E R. Physiological Transport Forces Govern Drug Distribution for Stent-based Delivery[J]. Circulation, 2002, 104: 600-605.

Vitro study of the effect of drug free layers to drug release of drug eluting stents

BIAN Hui-juan^{1,2}, ZHOU Shao-xiong², LIANG Xin-jie²

(1. China Iron & Steel Research Institute, Beijing 100081, China;

2. Advanced Technology & Materials Co., Ltd, Beijing 100081, China)

Abstract: To retard the burst-release of rapamycin, a film of drug free polymer (polycarbonate) was loaded as the outer layer of the stent coating. The experiments demonstrated that the release of rapamycin is affected by the outer drug free layers, the thickness and different polymers of the outer polymer are the factors that affected the drug release. The gradient drug coating is also experimented to be another factor.

Key words: polycarbonate; drug eluting stent; drug free polymer layer; gradient drug coating; burst-release