

β 羟基丁酸戊酸共聚酯作为药物黄体酮缓释载体的初步研究

陈银广 陈 坚 余彩荣 堵国成 伦世仪

(无锡轻工大学生物工程学院,无锡 214036)

王朝晖

(中国医科大学,南京 210038)

摘要 对用 PHBV 作为药物缓释载体进行了研究,采用乳化溶剂挥发法制备得到药物缓释微球。研究表明,药物释放及药物含量受 PHBV 在氯仿中的浓度、黄体酮与 PHBV 的比例以及制备温度的影响。用 PHBV 制备黄体酮缓释微球的最佳条件为 PHBV 在氯仿中的浓度为 100 g/L 黄体酮的加入量为 PHBV 质量的 6%,温度为 40°C。

关键词 β 羟基 酸戊酸共聚酯;药物载体;黄体酮;缓慢释放

中图分类号 R944.9

0 前 言

β 羟基丁酸戊酸共聚酯 (PHBV) 作为 β 羟基丁酸酯 (PHB) 的一个重要衍生物,是微生物在不平衡生长条件下贮存于细胞内的一种高分子聚合物。它不仅具有与聚丙烯相似的性质,而且还具有化学合成塑料所没有的特殊性能,如生物降解性、生物相容性、光学活性等,因此在农业、医药等领域具有广泛的应用前景^[1]。在医药方面,应用生物相容性,将其用作外科缝线、骨骼和血管的替代品以及用作药物缓释载体^[2-5]等。尽管化学合成的可降解聚合物如聚乙二醇酸酯 (PGA) 和聚乳酸 (PLA) 用作药物载体时具有良好的缓释效果,但由于在化学合成这些聚合物时需加入一些添加剂,它们留在产品中对人体不利^[6],而微生物积累产生的 PHBV 对人体无任何副作用,所以选择 PHBV 作为药物缓释载体已经引起人们的关注。

根据本研究室已经开发的一种提取 PHBV 的新方法^[7],从细菌细胞中提取得到质量较好、收率较高的 PHBV。再以黄体酮作为药物,以 PHBV 作为载体,采用乳化溶剂蒸发法制备药物缓释微球,着重研究了 PHBV 在氯仿中的浓度、黄体酮的用量以及温度等对药物缓释微球的缓释效果及药物含量的影响,得到了较佳的制备条件。这方面的研究在国内尚未

见报道。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

PHBV (本研究室发酵法生产, HV与 HB摩尔比为 0.13:1)、黄体酮 (C. R)、氯仿 (C. R)、明胶 (A. R)、异丙醇 (A. R)。

1.2 主要仪器

FS-型可调高速分散器、GS12-2电子恒速搅拌器、UV-120-02分光光度计。

1.3 分析方法^[8,9]

1.3.1 药物包含量的测定 准确称量药物微球 10 mg于 50 ml容量瓶中,先加入约 20 ml氯仿,于 50℃水浴中保温 20 min,待完全溶解后定溶至 50 ml,用紫外分光光度计于 245.4 nm测定。

1.3.2 药物释放量的测定 准确称取 10 mg的微球于 150 ml三角瓶中,加入 75 ml的混合溶剂(异丙醇:水 = 1:4),于 30℃下搅拌,定时取样,过滤后,用紫外分光光度计于 248.2 nm测定。

1.3.3 药物缓释微球的制备 为了消除其它杂质对实验的影响,首先对用新发明的表面活性剂——络合剂水溶液法从真养产碱杆菌中提取出来的 PHBV (纯度 96%以上)用氯仿重新提纯,经气相色谱测定,PHBV的纯度达 99.9%以上。

药物缓释微球的制备:用乳化溶剂蒸发法^[8,10],即将黄体酮加入到溶有 PHBV的氯仿溶液中,待药物溶解后,将其倒入用二次去离子水配制的 0.5%明胶溶液中,混合液经高速分散器分散后(8 000 r/min),在恒温水浴中用电子恒速搅拌器搅拌 1 h,然后抽滤、充分水洗,将得到的微小的球体在 30℃的真空干燥箱中充分干燥。

2 结果与讨论

2.1 PHBV浓度对药物释放量及包含量的影响

改变氯仿中的 PHBV的浓度,固定其它制备条件,即 125 ml 0.5%的明胶溶液,5 ml氯仿,10 mg黄体酮,温度为 30℃,搅拌速度为 1 200 r/min,制得不同 PHBV浓度的药物微球。在 30℃的温度下考察药物释放随时间变化的情况,结果见图 1。

从图可以看出,不同浓度 PHBV制得的微球对药物释放都有明显的缓释作用,尤其是 100 g/L浓度的 PHBV制得的微球的缓释效果更明显,即使经过 12 h,药物也只释放了 7%左右。比较药物释放达 5%时所需的时间(T_{50})可知,不同浓度 PHBV制成的微球的缓释效果的次序是:100, 140, 50, 60, 30 g/L。

另一方面,PHBV浓度的改变必然影响药物的包含量,结果见图 2。

很显然,在药物用量恒定的条件下,PHBV浓度的增大必然引起微球中药物含量的下降,但从理论含量与实际含量的差值随 PHBV浓度的变化关系可以看出,当 PHBV的浓度为 100 g/L时,药物被包埋的效率最高,因此选择 PHBV在氯仿中的浓度为 100 g/L。

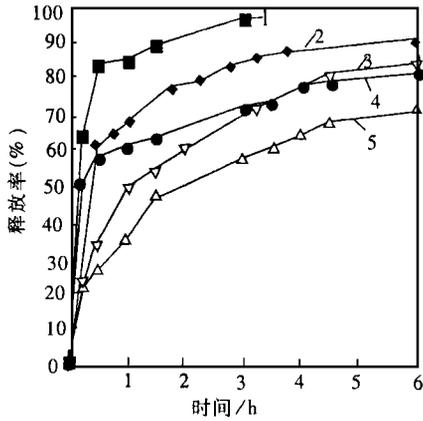


图 1 PHBV 浓度对药物释放的影响

1- 60 g/L; 2- 50 g/L; 3- 140 g/L; 4- 30 g/L; 5- 100 g/L

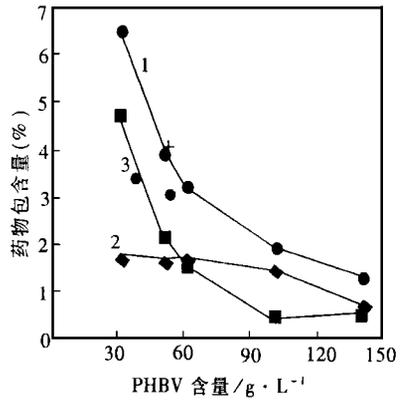


图 2 PHBV 浓度对药物包含量的影响

1- 理论药物含量; 2- 实际药物含量; 3- 理论与实际的差值

2.2 药物的用量对药物释放量及包含量的影响

改变黄体酮的加入量,固定 PHBV 在氯仿中浓度为 50 g/L,其它制备条件同上,制得黄体酮与 PHBV 的质量比不同的微球,它们在 30°C 时的药物释放随时间变化见图 3.

比较图 3 中的不同药物加入量制得微球的药物释放随时间的变化关系可以发现, T_{50} 相差不很明显,但经过 12 h 的释放后,对于由 6% 的药物加入量制得的微球,只有约 80% 的药物释放,而药物加入量为 8%, 10% 制得的微球却有 90% 的药物释放.

理论上讲,药物加入量的增加,在一定范围内必然引起药物包含量的增加,但如果药物的加入量超过载体所能包埋的临界值,药物包含量将不再增加,图 4 给出了药物包含量随药物加入量变化的关系

图 4 表明,随着药物加入量由 2% 增加到 6%,药物包埋率也不断增加;当加入量超过 6% 以后,包埋率急剧下降,因此选择黄体酮与 PHBV 质量之比为 6% 较好.

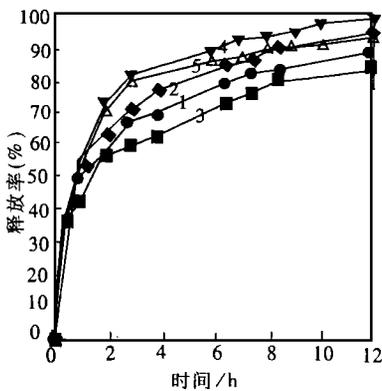


图 3 药物加入量对药物释放量的影响

1- 20 g/L; 2- 40 g/L; 3- 60 g/L; 4- 80 g/L; 5- 100 g/L

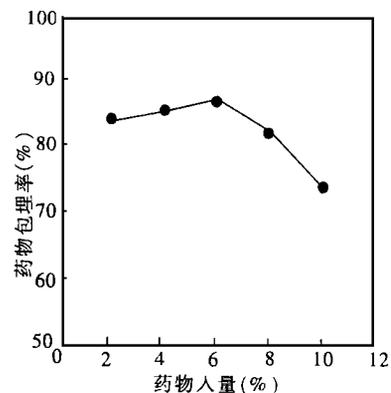


图 4 药物加入量对包埋率的影响

综合图 3,图 4 的实验结果,作者认为,按照本制备方法,微球是在氯仿的挥发过程中形成的.过多的黄体酮的加入,造成大量的药物吸附在载体 PHBV 的表面或镶嵌在载体中间而不是被很好地包埋,一方面大量药物在洗涤时被洗掉,使得药物包含量下降;另一方面药物

释放速度加快。

2.3 温度对药物释放量及包含量的影响

改变制备微球的温度,固定 PHBV 在氯仿中的浓度为 50 g/L,其它制备条件同 2.1,不同温度下制备的微球的药物释放随时间的变化关系如图 5。

从图 5 可以发现,50℃制备的微球的缓释效果最差,这可能是由于温度太高后,氯仿挥发速度太快导致黄体酮包埋效果不好所致。很显然,50℃制备的微球,经过 12 h,药物几乎全部释放;而 40℃制备的微球在同样的释放条件下,只有约 80% 的药物释放。比较图 5 不同温度的 T_{50} 可知,选择 40℃的制备温度,药物缓释效果最好。

随着制备温度的升高,氯仿挥发速度加快,必然导致药物不能被很好地包埋而残留在溶液中,使得微球中药物含量下降,不同的制备温度对药物包含量的影响的结果见图 6。

图 6 的结果表明,温度在 20~ 40℃范围内,药物的包埋率随温度升高而增加;温度超过 40℃,包埋率随着温度升高而降低。结合图 5 的实验结果,选择制备微球的温度为 40℃可以得到较好的结果。

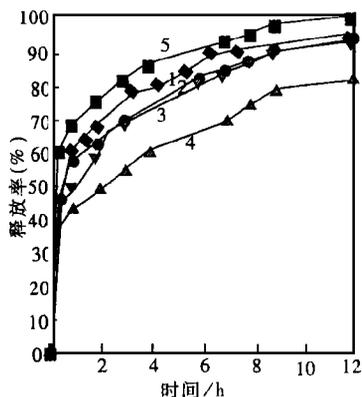


图 5 制备温度对药物释放量的影响

1—20℃; 2—28℃; 3—35℃; 4—40℃; 5—50℃

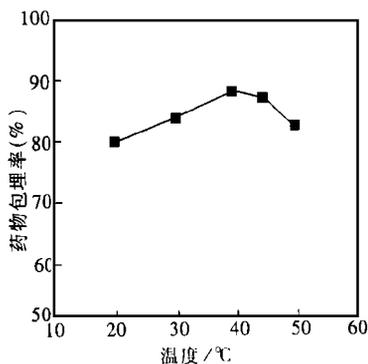


图 6 不同制备温度下药物的包埋率

诚然,其它的因素,如搅拌转速、乳化剂浓度等对微球的制备肯定也有影响,所有这些还在进一步研究之中,结果将另文发表。

3 结 论

- 1) PHBV 这种生物可降解高分子聚合物能够作为制备某些药物缓释微球的载体。
- 2) 以黄体酮为药物,以 PHBV 为载体,用乳化溶剂蒸发的方法制得的药物缓释微球,具有明显的缓释效果。
- 3) 制备上述缓释微球的较佳条件是 PHBV 在氯仿中的浓度为 100 g/L,黄体酮的加入量为 PHBV 质量的 6%,温度为 40℃。

参 考 文 献

- 1 Doi Y. Microbial polyesters, New York VCH publishers, 1990
- 2 Bowald S F, Johansson E G. Polymer sheets for tissue separation in wound healing. EP 349 505. 1990
- 3 Trau M, Truss R W. Hydroxybutyrate polymer particles for controlled release of agrochemicals and pharmaceuticals, 欧州专利, 293 172, 1988
- 4 Kwan L, Steber W. Intermittent- release oral dosage forms for veterinary use. 欧州专利, 406 015, 1991
- 5 Korsatko W B, Korsatko W, Wegleitner K. 欧州专利, 450 262, 1991
- 6 Wood D A. Biodegradable drug delivery systems. International Journal of pharmaceutics, 1980, 7: 1~ 18
- 7 陈坚, 陈银广, 伦世仪. 从真养产碱杆菌中提取聚β-羟基丁酸酯的新方法. 中国专利 97 1 06977. 8, 1997
- 8 Natan G, James C P. Poly(hydroxybutyrate- hydroxyvalerate) microspheres containing progesterone: preparation, morphology and release properties. J Microencapsulation, 1991, 8(2): 185~ 202
- 9 黄君礼, 鲍治宇. 紫外吸收光谱法及其应用. 北京: 中国科学技术出版社, 1992
- 10 马小明. 食品工业中的微胶囊技术. 北京: 学苑出版社, 1991

Application of PHBV as a Slow-Released Carrier of Progesterone

Chen Yinguang Chen Jian Yu Cairong Du Guocheng Lun Shiyi

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Wang Zhaohui

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210038)

Abstract PHBV used as slow-released carrier of progesterone was investigated in this paper. PHBV microspheres containing progesterone were prepared by an emulsion solvent evaporation method. It was found that release behaviour and content of progesterone in the microspheres depended on the concentration of PHBV in chloroform, the ratio of progesterone to PHBV and the temperature of preparation. The optimal conditions of PHBV content in chloroform, the ratio of progesterone to PHBV and temperature for preparing the microspheres were obtained respectively as 100 g/L 0.06 1 40°C.

Key words poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate); drug carrier, progesterone; slow release

(责任编辑: 陈 娇)