

·研究简报·

聚己内酯微粒的生物降解行为*

陈戴葵 贝建中 王身国**

(中国科学院化学研究所 PCLCC 北京 100080)

关键词 聚己内酯, 微粒, 生物降解性

由于微包裹药物制剂具有降低药物毒副作用、防止药物失活、减少服药次数以及靶向给药的效果, 从而既可提高病灶部位的药物浓度, 又可减小对机体其它部位的损伤, 因此成为较理想的药物释放体系, 以至日前在药物释放体系中, 微包裹药物释放体系得到了广泛的应用. 生物降解性高分子是理想的药物包裹材料, 由于它在药物释放完毕后可以在体内降解, 而后被机体代谢或吸收, 不需再手术取出, 因此, 用高分子微包裹药物释放体系治疗癌症等疑难病症正在成为国际上共同的研究热点^[1]. 聚己内酯(PCL)是兼具良好力学性能和药物通透性能的生物降解性高分子材料^[2,3], 已经成为可临床应用的药物载体材料. 然而至今对于微粒聚己内酯降解行为的研究还甚少. 为了掌握药物释放完毕后, 微包裹载体材料的降解情况, 以便能进一步调节和控制药物载体材料的生物降解速度, 本文研究了聚己内酯微粒在无酶和有酶条件下的降解行为, 且通过 SEM、干涉反差显微镜、GPC 和 X-射线衍射等手段, 对微粒随着降解的形态、分子量和结晶度等的变化进行了观察和测定, 并对降解机理进行了讨论.

1 聚己内酯微粒的制备

采用乳液-溶剂蒸发法, 将 PCL(Aldrich, 分子量 4.8×10^4) 的二氯甲烷溶液在搅拌条件下, 注入含有稳定剂和乳化剂的三口烧瓶, 持续搅拌并控制溶剂蒸发速度, 待溶剂完全蒸发后, 用蒸馏水洗涤, 多次离心分离和洗涤后冷冻干燥^[4].

2 降解试验

称取 PCL 微粒 150mg, 加入有 5mL pH 7.4 KH_2PO_4 -NaOH 缓冲液的试管, 分别在无酶及加有 5mg 脂肪酶的介质中, 于 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 进行降解试验, 定期取样. 期间试管不时振荡, 且每三天更换新鲜降解介质.

3 测试

微球粒径及粒径分布测定, 使用 OLYMPUS IMT-2 倒置显微镜, 用计算机统计粒径及粒径分布. 微球形态观察, 使用 HITACHI S-530 扫描电子显微镜. 分子量测定, 使用 Waters 的 510 型凝胶渗透色谱仪(GPC)测定. 结晶度测定, 使用 D/max-2400 X-射线衍射仪测定.

4 稳定剂对 PCL 微粒体形态的影响

采用乳液溶剂蒸发法, 分别以明胶、疏水改性的丙烯酰胺共聚物(PAM)^[5]及聚乙烯醇(PVA)为稳定剂, 制备了 PCL 微粒. SEM 观察的结果(图 1)表明, 由三种不同稳定剂所制得的微粒都呈圆球形, 但唯有以明胶为稳定剂制得的 PCL 微粒表面光滑, 且粒径分布最窄, 在 $13.4 \pm 4.7(\mu\text{m})$ 范围.

我们认为, 微粒的形态差别是由于稳定剂性质不同造成的. 由于明胶可形成一定的氢键作用, 能在

* 1999-02-05 收稿, 1999-04-28 修稿; 国家 863 计划资助项目(基金号 715-002-0210); ** 通讯联系人

乳液液滴表面形成致密的保护层,以至在相应的搅拌和溶剂蒸发速度下,得到粒径分布较窄的微粒.而用其它稳定剂时,得到的微粒或粒径分布很宽(图 1b),或粒径分布宽,且球形不规整、有破损(图 1c)).

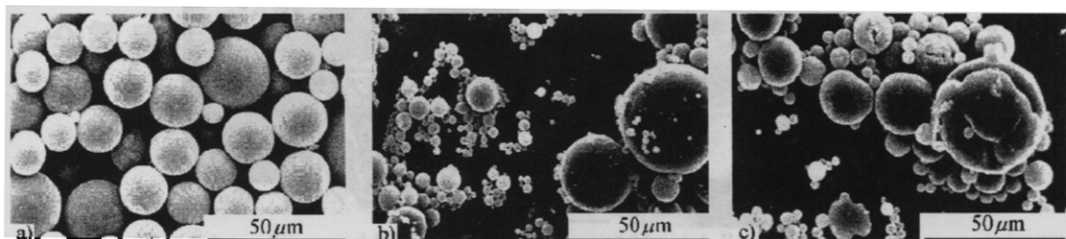


Fig. 1 Morphologies of PCL microparticles prepared by using different stabilizers

a) gelatin; b) PAM; c) PVA

5 PCL 微粒的降解

研究了在 pH 7.4 和 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下脂肪酶对 PCL 微粒降解的影响.表明,在无酶条件下,降解到 9 周时,PCL 微粒的表面形态未显著变化(图 2b);而存在脂肪酶的条件下,降解 3 周时,微粒表面粗糙,开始出现微小的孔洞(图 2c),分子量下降及分子量分布的增加也明显变化(表 1),到 9 周时,PCL 微粒则呈带条纹的空隙结构(图 3b).表明了脂肪酶对 PCL 微粒降解的促进作用以及 PCL 微粒可生物降解.

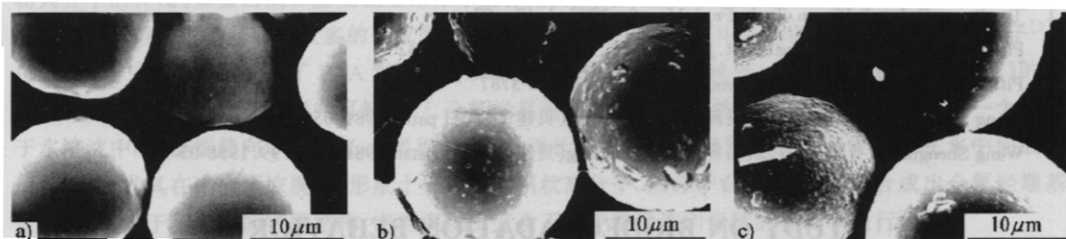


Fig. 2 Morphology changes of PCL microparticles by degradation under pH 7.4 at 37°C

a) original; b) after 9 weeks without lipase; c) after 3 weeks with lipase

Table 1 Effect of lipase on degradation of PCL microparticles under pH 7.4 at 37°C *

Degradation time (week)	Lipase	$M_w \times 10^{-4}$	M_w/M_n	Crystallinity X_c (%)
0	—	4.8	1.58	51.1
4	none	4.6	1.63	51.2
	with	4.3	1.68	
6	none	4.6	1.63	61.6
	with	4.1	1.74	
10	none			51.2
	with			61.6

* Molecular weight of PCL was measured using CHCl_3 as solvent and calculated by using standard polystyrene samples

6 PCL 微粒降解机理的探讨

图 3a 为用干涉差方法摄得的 PCL 微粒降解前的形态,可以看到呈条纹状的不完整的球晶结构,与由电镜观察到的在有酶条件下降解 9 周时,微粒残余的带条纹的空隙结构(图 3b)很好地相一致.我们认为,这是由于 PCL 是呈部分结晶的高分子,因此用干涉差显微镜可观察到带条纹状的结晶结构.而在降解时,由于无定形区首先降解,使最终留下了带条纹的空隙结构,为结晶部分.这是用显微镜对 PCL

微粒降解机理说明的首次形态观察的证明.

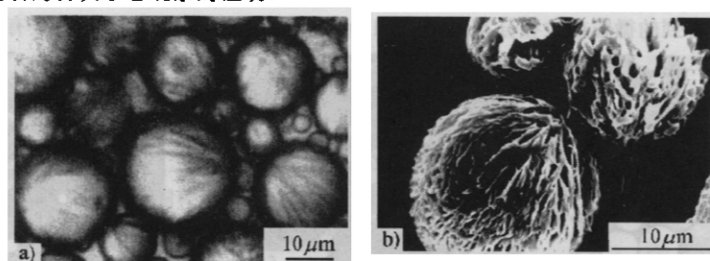


Fig. 3 Morphology of PCL microparticles under pH 7.4 at 37°C

a) original ones; b) degraded ones for 9 weeks by SEM

用 X-射线衍射法测定了从微粒降解前后结晶度的变化. 结果表明, 有酶条件下, 降解到 10 周时 PCL 微粒的结晶度从 51.1% 增加到 61.6%, 而无酶条件下降解 10 周时的结晶度几乎没有变化, 这是对 PCL 无定形区首先降解, 使结晶度提高的进一步证明.

REFERENCES

- 1 Tomlinson E. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Manuf.*, 1983, 4: 49~57
- 2 Pitt C G, Gratzl M M, Jeffcoat A R. *J. Pharm. Sci.*, 1979, 68: 1534~1542
- 3 Pitt C G, Chasaldo F J. *J Appl Polym Sci*, 1981, 28: 3779~3787
- 4 Wang Shenguo(王身国), Lu Ze(吕泽), Bei Jianzhong(贝建中). CH patent, 98100577.2. 1998-02-26
- 5 Wang Shenguo(王身国), Lu Ze(吕泽), Bei Jianzhong(贝建中). CH patent, 98101117.99. 1998-03-19

STUDY ON BIODEGRADATION BEHAVIOR OF POLYCAPROLACTONE MICROPARTICLES

CHEN Dairui, BEI Jianzhong, WANG Shenguo

(PCLCC, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract Spheric polycaprolactone (PCL) microparticles were prepared by PCL polymer with an emulsification-solvent evaporation technique. Effects of various stabilizers, such as gelatin, hydrophobically modified polyacrylamide derivative (PAM) and poly(vinyl alcohol) (PVA) on the morphology and particle size distribution of the PCL microparticles were studied. The degradation behaviors of the PCL microparticles were compared with and without lipase under pH 7.4 at $37 \pm 1^\circ\text{C}$. The results showed that in the case of using gelatin as a stabilizer the diameter of the PCL microparticles was in a range of $13.4 \pm 4.7 \mu\text{m}$. The fact that the degradation rate of the PCL microparticles was accelerated in the presence of enzyme—lipase was evidenced by SEM and GPC measurements. On the other hand, according to SEM, interference contrast microscopy and X-ray diffraction techniques, it was evidenced that the degradation of the PCL microparticles started in the amorphous area of the PCL microparticles.

Key words Polycaprolactone, Microparticles, Biodegradability