

界面聚合法制备聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊*

冯 鹏 马建标** 王亦农 何炳林

(南开大学高分子化学研究所吸附分离功能高分子材料国家重点实验室 天津 300071)

摘 要 采用界面聚合法制备了粒径约 200nm 的聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊,运用动态激光光散射和透射电镜测定了毫微囊的粒径及其分布,系统研究了高分子稳定剂类型、表面活性剂的用量、辅助添加剂的用量、以及后处理条件等因素对毫微囊粒径及其分布的影响.结果说明,在 300nm 稳定剂中,葡聚糖的稳定作用优于 Poloxamer 188,而葡聚糖的用量越大,毫微囊的粒径越小,采用葡聚糖-70 比葡聚糖-40 更能得到窄分布的毫微囊.增加表面活性剂吐温 20 的用量,同样减小毫微囊的粒径.与三油酸甘油酯相比,在有机相中加入苯甲醇能够增大毫微囊粒径,并改善毫微囊的规整性.乙醇和丙酮均可作为溶剂添加在有机相中,但含乙醇的体系分散较好,界面聚合得到聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊粒径分布较窄.此外,通过考察浓缩温度发现,在 20℃ 下真空浓缩时毫微囊粒径基本保持不变,而在 30℃ 下则发生一定程度的毫微囊聚集.

关键词 毫微囊, 聚 α -氰基丙烯酸正丁酯, 界面聚合, 药物释放系统

药物释放系统(Drug delivery system, DDS)因具有控释和/或导向作用而引起人们的广泛关注.以往的研究证明,进入循环系统的 DDS,粒径大于 12 μ m 的微粒会阻滞于毛细血管床,7~12 μ m 的微粒可被肺机械性滤阻,直径 0.5~5 μ m 的粒子易滞留在网状内皮系统(RES)丰富的肝脾组织中,只有粒径小于 500nm 的 DDS 能够在循环系统中自由流动达到靶位.毫微囊(Nanocapsule)是由高分子材料形成的粒径在 10~250nm 之间的胶态粒子分散体系,药物通常通过溶解或包封作用位于粒子内部.毫微囊不仅可以注射,而且可口服吸收进入循环系统,因此制备毫微囊所用的高分子材料必须是生物可降解的,而且与体液接触不会发生化学反应,高分子及其降解产物无毒副作用.作为医用粘合剂的聚 α -氰基丙烯酸烷基酯(Polyalkylcyanoacrylate, PACA)具有良好的生物相容性,而且可以通过碳链上酯基发生逆 Knovenagel 反应而降解,美国、日本和中国在通过安全性评价之后均有该类医用粘合剂上市,用于体内吻合、止血、栓塞、封闭等手术中.研究证明,PACA 在体内应用具有可接受的安全性,故人们考虑用其制备毫微囊 DDS.

随着生物技术的发展,肽类药物日益增多,其控制释放以及口服利用的要求非常迫切.采用聚 α -氰基丙烯酸烷基酯毫微囊,有望促进肽类药物控制释放剂型和口服吸收剂型的发展.虽然乳液

聚合法制备的聚 α -氰基丙烯酸烷基酯毫微囊能通过吸附作用在表面结合亲水性药物^[1~4],但药物负载量较小.Damge^[5~9]等用界面聚合法制备了一系列粒径小于 300nm 的聚 α -氰基丙烯酸异丁酯(PiBCA)毫微囊,成功地包封了具有一定亲水性的胰岛素,并进行了动物口服降血糖研究.据报道,聚 α -氰基丙烯酸正丁酯(PBCA)的急性毒性小于 PiBCA^[10],而且毫微囊口服后可以通过肠道吸收^[11,12].为了发展毒性更小的肽类药物毫微囊口服制剂,本实验室首先对聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊的界面聚合制备方法进行了系统研究,考察了影响毫微囊粒径及规整性的各种因素,总结制备窄分布毫微囊的最佳条件,为进一步研究包封肽类药物的毫微囊打下基础.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

α -氰基丙烯酸正丁酯购自广州白云医用胶总公司.葡聚糖 T-40,生化试剂(Pharmacia 分装),FW 40000,北京精科化学试剂公司.葡聚糖 T-70,生化试剂(Pharmacia 分装),FW 70000,天津市天宝通达(TBD)生物技术的发展中心. Poloxamer,生化试剂,pH6.25,沈阳药科大学制药厂.苯甲醇,A.R.,天津市天泰精细化学品有限公司(TTRC).三油酸甘油酯,CP,上海化学试剂二厂.吐温 20,生化试剂(Sigma 分装),FW 1385,氧

* 1999-07-30 收稿,2000-02-23 修稿;国家科技部生命科学技术发展中心资助项目(资助号 97-B-11); ** 通讯联系人

乙烯聚合度 23.5, 天津市天宝通达 (TBD) 生物技术发展中心. 其它试剂与溶剂均为国产分析纯试剂.

4803-02 型电磁搅拌器, Cole-Parmer 仪器公司. ZFQ85A 型旋转蒸发器, 上海医械专机厂. INNDVO 300/BI9000AT 光子相关谱仪, 美国 BROOKHAVEN 公司. EM400ST 型透射电镜仪 (TEM), 荷兰飞利浦公司.

1.2 聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊的制备

用蒸馏水配制含 1% 葡聚糖 (或 Poloxamer) 和 0.5% 吐温 20 的水溶液 (200mL). 将 4mL 三油酸甘油酯、0.5mL α -氰基丙烯酸正丁酯溶于 100mL 乙醇中形成有机相. 在一定的搅拌速度 (180rpm) 下, 将有机相缓缓滴加至水相中, 2h 滴加完毕后再于室温反应 2h, 得乳白色悬浮液体. 于 20℃ 真空旋转蒸发浓缩至 40mL, 于冰箱中 4℃ 保存.

2 结果与讨论

2.1 高分子稳定剂分子量对毫微囊粒径的影响

葡聚糖是葡萄糖聚合而成的链状多聚体, 是一种天然表面活性剂, 其临界胶束浓度 CMC (Critical micelle concentration) 为 $0.2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ (25℃), 表面张力 σ_{cmc} 为 $3.94 \times 10^{-4} \text{ N/cm}$ (25℃). 当葡聚糖吸附在两相界面上时, 引起界面张力降低, 并形成立体位阻, 使毫微囊之间不易聚集. 在制备聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊时, 在其它条件不变的情况下分别加入同等重量的葡聚糖 T-40 和葡聚糖 T-70 作稳定剂, 由动态激光光散射测量生成的毫微囊体系的微粒粒径及其分布. 图 1 结果显示, 以葡聚糖 T-40 为稳定剂时, 聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊的粒径有两组, 分别以 42nm 和 119nm 为中心. 说明葡聚糖 T-40 对毫微囊的稳定作用欠佳, 不能使初始形成的油相液滴在聚合过程中保持稳定, 结果在聚合初期部分小粒子通过碰撞形成较大的粒子, 而随着聚合时间延长, 一方面小粒子数量较少, 另一方面小粒子中的单体形成高分子之后其弹性升高, 碰撞形成大粒子的可能性减小, 最终形成两组粒径分布图样. 图 2 结果显示, 以葡聚糖 T-70 为稳定剂时, 聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊的粒径只有一组, 以 111nm 为中心. 显然, 与葡聚糖 T-40 相比, 使用葡聚糖 T-70 使毫微囊的粒径分布变窄, 多分散系数仅为 0.0795. 葡聚糖 T-70 平均分子量为

70000, 大于葡聚糖 T-40 的平均分子量 (40000), 单个分子葡聚糖 T-70 分子链链长大于葡聚糖 T-40, 对于毫微囊的稳定作用更好, 能够使初始形成的液滴在聚合过程中保持稳定, 结果形成的毫微囊其粒径分布较窄.

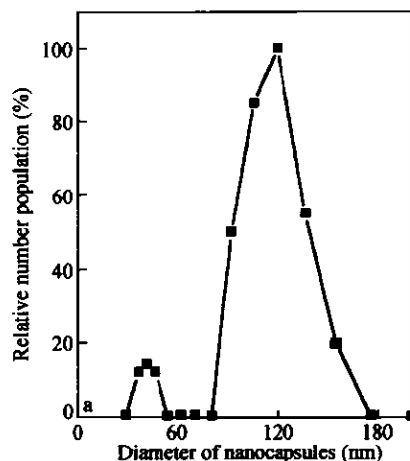


Fig. 1 Size distribution of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules
Prepared using 1% dextran T-40 and 0.5% Tween 20 in the aqueous phase

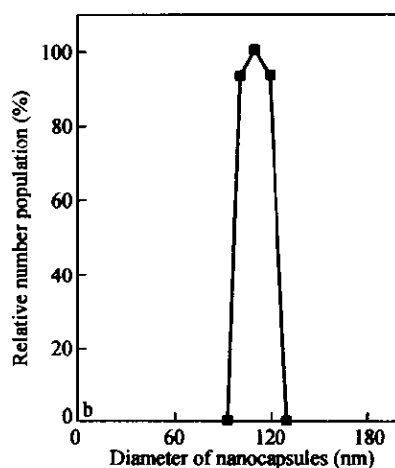


Fig. 2 Size distribution of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules
Prepared using 1% dextran T-70 and 0.5% Tween 20 in the aqueous phase

Poloxamer 188 化学名为聚 (氧乙烯-*b*-氧丙烯-*b*-氧乙烯), 属于非离子型表面活性剂, 亲水-亲油平衡值 HLB 为 16.0. 在水相中由 Poloxamer 188 代替葡聚糖 T-40 作稳定剂, 发现形成的毫微囊粒径分布较差. 比较所形成的毫微囊的透射电

镜照片(图 3),可见以 Poloxamer 188 为稳定剂形成的毫微囊(图 3b)形态很不规整,而且粒子之间发生粘连.意味着 α -氰基丙烯酸正丁酯不能在 Poloxamer 188 保护下通过界面聚合制备稳定的毫微囊.值得注意的是,透射电镜观察到的干态微囊的粒径显著小于激光光散射测定的湿态粒径.如图 3a 所示,以葡聚糖为稳定剂时,大的毫微囊粒径大约只有 30~35nm 左右,约为湿态粒径(92~155nm)的三分之一,说明毫微囊在晾干时因内部溶剂(如乙醇)渗出和外部水化层脱水而发生收缩.

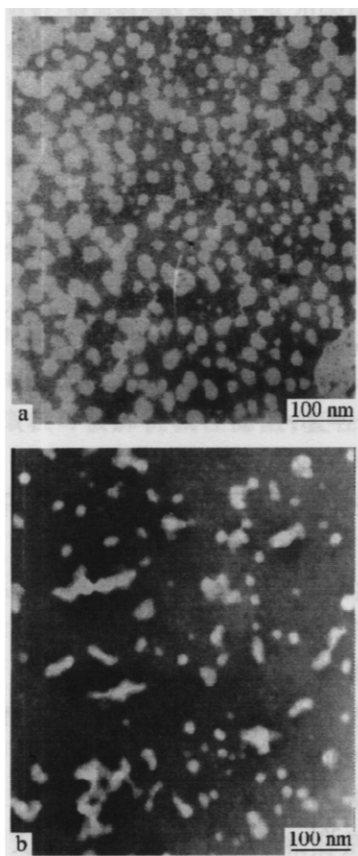


Fig. 3 TEM photographs of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules prepared using different polymeric stabilizers
a) Poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules prepared using 1% dextrin T-40 as stabilizer
b) Poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules prepared using 1% poloxamer 188 as stabilizer

2.2 聚合体系中水相成分的浓度对毫微囊粒径的影响

在其它条件不变的情况下,将水相中表面活性剂吐温 20 浓度提高至最初浓度的 1.5 倍、或同时将水相中葡聚糖 T-70 和吐温 20 浓度提高至最初浓度的 1.5 倍,制备聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊.采用动态激光光散射技术测量毫微囊的粒

径及分布,结果示于图 4 及图 5 中.通过比较图 4 与图 2,发现当吐温 20 的浓度由 0.5% 增大至 0.75% 时,数量最多的毫微囊的粒径从 111nm 减小到 89nm,但粒径分布稍微变宽,多分散系数 (Polydispersity) 从 0.0795 升高到 0.1088.同时增大葡聚糖 T-70 浓度至 1.5% 和增加吐温 20 的浓度至 0.75% 时,毫微囊(图 5)粒径则进一步减小至 51nm,多分散系数为 0.0763.表面活性剂吐温 20 (Tween 20) 的化学名为聚氧乙烯失水山梨醇

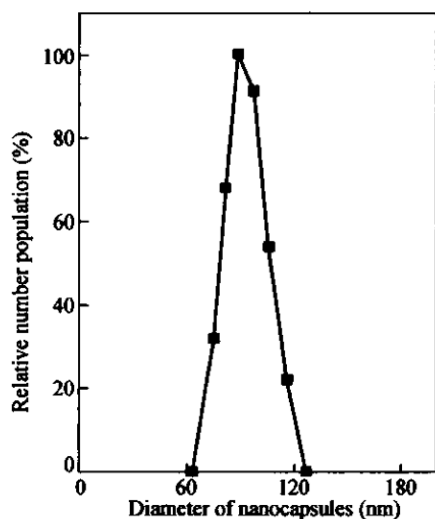


Fig. 4 Size distribution of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules
Prepared using 1% dextrin T-70 and 0.75% Tween 20 in the aqueous phase

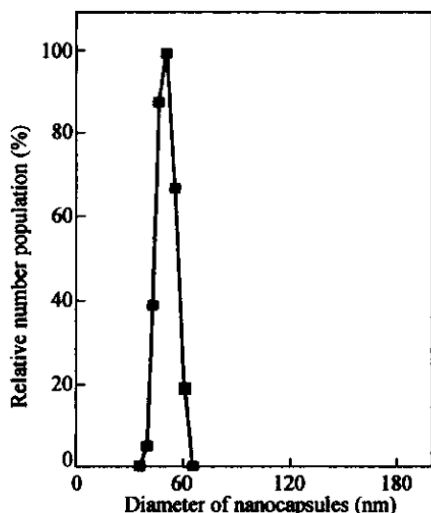


Fig. 5 Size distribution of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules
Prepared using 1.5% dextrin T-70 and 0.75% Tween 20 in the aqueous phase

单月桂酸酯,亲水-疏水平衡值 HLB 为 16.7,广泛应用于增溶和乳化(O/W).当有机相以细微液滴分散在水相中,由于油水间的界面增大,界面自由能也随之增大,致使其成为热力学不稳定体系,有机相液滴趋向于重新聚集.在加入降低界面张力的乳化剂吐温 20 后,吐温 20 被吸附于油水两相的界面,大大降低有机相液滴的表面能,阻止其重新聚集,形成稳定的 O/W 型乳剂.随着吐温 20 用量的增加,使形成的毫微囊粒径大幅度减小.实验结果还说明,高分子稳定剂葡聚糖与乳化剂吐温混合应用,可获得粒径更小、更稳定的毫微囊,且粒径分布窄.这是因为葡聚糖可形成较坚韧的膜包于毫微囊表面使体系更加稳定的缘故.

2.3 聚合体系的有机相中非聚合添加剂对毫微囊粒径的影响

其它条件不变时,分别在有机相中加入三油酸甘油酯或苯甲醇,进行 α -氰基丙烯酸正丁酯的界面聚合.三油酸甘油酯或苯甲醇的作用是调整有机相各成分的互溶性,进而影响有机相在水相中的分散,同时作为毫微囊的软化剂.加入三油酸甘油酯制备的毫微囊其主要粒子的粒径约为 110nm,而且形成的毫微囊体系较稳定,放置不分层,但外形不太规整.而加入苯甲醇的毫微囊平均粒径 217nm,外形呈较规整的球状,但体系不稳定,搁置一段时间后出现分层现象.在界面聚合过程中,当有机相滴入水相时,形成一个两相分界面,而 α -氰基丙烯酸正丁酯就是在这个界面上由水中微量羟基负离子引发聚合形成毫微囊的.由于有机相中含有与水互溶的乙醇,一旦有机相与水相接触,乙醇在单体聚合的同时会从有机相向水相迁移.由于三油酸甘油酯与乙醇的互溶性差,有机相中的乙醇向水相迁移较快,在单体聚合未形成坚韧囊壳之前乙醇已大量渗出,致使毫微囊粒径显著缩小.而苯甲醇与单体和乙醇的互溶性均较好,能够减缓乙醇从有机相向水相的扩散,因此形成的毫微囊保持较大粒径.但是,在苯甲醇作助溶剂的情况下,由于在毫微囊形成之后,其中的乙醇还会透过毫微囊壳向外扩散,干扰附着于毫微囊表面的表面活性剂和高分子稳定剂的空间排列,使毫微囊体系的存放稳定性下降.由于丙酮与乙醇一样可以与水互溶,因此还尝试了由丙酮代替乙醇进行界面聚合,结果发现形成的聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊粒径很不均匀,甚至生成肉眼可见的微粒,说明丙酮作溶剂不能使单体在水

相中良好分散.

2.4 浓缩温度对毫微囊粒径的影响

界面聚合法制备的聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊体系中含有乙醇,需要通过浓缩将其除去,同时提高毫微囊在悬浮液中的含量.在同等条件下制备的毫微囊,于室温(20℃)下通过真空旋转蒸发进行浓缩,透射电镜观察到浓缩后的毫微囊(图 6a)的干态粒径为 30~35nm,湿态粒径大约 100~120nm,意味着毫微囊在浓缩过程中粒径基本保持不变.而在 30℃ 下真空浓缩,得到的浓缩毫微囊(图 6b)的干态粒径最大超过 500nm,湿态粒径可以达到 1 μ m 以上.结果说明,聚 α -氰基丙烯酸正丁酯的毫微囊体系在常温下浓缩保持稳定,而加热将导致毫微囊的附聚.毫微囊体系受热时,一方面由于毫微囊粒子的布朗运动加快,粒子之间发生碰撞的机会增多,另一方面毫微囊表面附着的表面活性剂和高分子稳定剂的分子运动剧

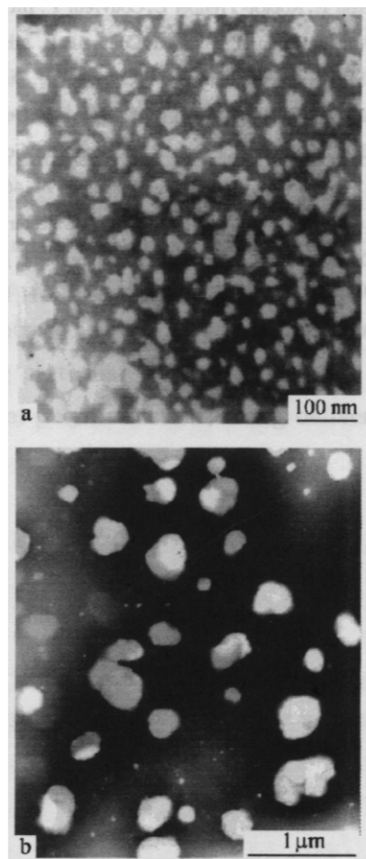


Fig. 6 TEM photographs of poly(*n*-butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules

Prepared using 1% dextrin T-70 and 0.5% Tween 20 in the aqueous phase

a) After evaporation at 20℃ in vacuum

b) After evaporation at 30℃ in vacuum

烈,使粒子的稳定性下降,最终导致毫微囊粒子聚集而使微粒粒径增大.从图 6b 透射电镜图片观察,小粒子聚集一起形成的大粒子表面光洁,意味着小粒子之间不是简单粘结,而是发生了融合.为了解释这种现象,采用水引发 α -氰基丙烯酸正丁酯本体聚合得到的样品进行 DSC 分析(升温速率 10K/min),结果在 15~30℃ 之间发现了玻璃化转变(onset: 17.1℃, midpt: 21.3℃, inflpt: 22.7℃, endpt: 25.5℃).显然,聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊悬浮液在 30° 浓缩时,发生玻璃化转变之后的小粒子发生附聚后融合在一起形成直径较大的

粒子.此外,存在于毫微囊中的液态三油酸甘油酯使毫微囊处于溶胀态,这更有利于聚集粒子之间的融合.

通过研究不同因素对聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊粒径及其分布的影响,发现以吐温 20 为分散剂(0.5%)、葡聚糖 T-70 为稳定剂(1%)、乙醇为溶解单体和三油酸甘油酯的溶剂,按 2:1 水相/油相比例进行界面聚合,可以制备出粒径小于 200nm 的窄分布聚 α -氰基丙烯酸正丁酯毫微囊.生成的毫微囊悬浮体系在 20℃ 真空浓缩,毫微囊保持稳定.

REFERENCES

- 1 Bapat N, Boroujerdi M. *Drug Dev Ind Pharm*, 1992, 18: 65~77
- 2 Henry-Michelland S, Alonso M J, Andremont A, Maincent P, Sauzieres S J, Couvreur P. *Int J Pharm*, 1987, 35: 121~127
- 3 Couvreur P, Vouthier C. *J Contr Rel*, 1991, 17: 187~198
- 4 Seijo B, Fattal E, Roblot-Treupel L, Couvreur P. *Int J Pharm*, 1990, 62: 1~7
- 5 Damge C, Michel C, Aprahamian M, Couvreur P. *Adv Biomater*, 1987, 7: 643~648
- 6 Damge C, Michel C, Aprahamian M, Couvreur P. *Diabetes*, 1988, 37: 246~251
- 7 Damge C, Michel C, Aprahamian M, Couvreur P, Devissaguet J P. *J Contr Rel*, 1990, 13: 233~239
- 8 Damge C, Hillaire-Buys D, Puech R, Hoeltzel A, Michel C, Ribes G. *Diabetes, Nutr Metab*, 1995, 8: 3~9
- 9 Lowe P J, Temple C S. *J Pharm Pharmacol*, 1994, 46: 547~552
- 10 Kante B, Couvreur P, Dubois-Krack G, De Meester C, Guiot P, oland M, Mercier M, Speiser P. *J Pharm Sci*, 1982, 71: 786~790
- 11 Scherer D, Mooren F C, Kinne R K H, Kreuter J. *J Drug Targeting*, 1993, 1: 21~27
- 12 Kreuter J, Scherer D, Mooren F C, Kinne R K H. *Proc Int Symp Contr Rel Bioact Mater*, 19th, 1992. 34~35

PREPARATION OF THE POLY(*n*-BUTYL α -CYANOACRYLATE) NANOCAPSULES BY INTERFACIAL POYMERIZATION

FENG Peng, MA Jianbiao, WANG Yinong, HE Binlin

(*The State Key Laboratory of Functional Polymer Materials for Adsorption and Separation*,

Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract Because poly(butyl α -cyanoacrylate) was less toxic than poly(isobutyl α -cyanoacrylate) and its nanocapsules could be orally absorbed via intestine wall, the polymeric nanocapsules as drug delivery system of peptides was prepared by the interfacial polymerization of butyl α -cyanoacrylate other than isobutyl α -cyanoacrylate used previously. The aqueous phase contained a surfactant such as Tween 20 and polymeric stabilizer such as dextrin T-70, dextrin T-40 as well as Poloxamer 188. And the organic phase composed of monomer butyl α -cyanoacrylate and a cosolvent such as glycerol trioleate or benzyl alcohol in bulky solvent ethanol or acetone. The nanocapsule sizes and their distribution were measured by laser scattering technique and transmission electron micrography. It was investigated the influence of the used surfactants, polymeric stabilizers, cosolvents, and temperature in vacuum evaporation on the nanocapsule sizes. The results show that dextrin T-70 is a better polymeric stabilizer than its low molecular weight analog dextrin T-40 and Poloxamer 188 for the monomer phase soluble in ethanol to be dispersed in aqueous phase with Tween 20 as a surfactant. The size of the polymeric nanocapsules decreased with increase of amounts of dextrin T-70 and Tween 20 dissolved in aqueous phase. Compared with glycerol trioleate, benzyl alcohol as cosolvent could made the nanocapsules larger and smoother because benzyl alcohol might make the immigration of the solvent, ethanol, in the monomer phase into aqueous phase more slowly. In addition, when the formed suspension of poly(butyl α -cyanoacrylate) nanocapsules was concentrated by evaporation in vacuum at 30°C instead of 20°C, small nanocapsules would be aggregated into large particles.

Key words Nanocapsule, Poly(butyl α -cyanoacrylate), Interfacial polymerization, Drug delivery system