

可降解聚乙交酯-丙交酯缓释微球用于甲状旁腺 相关肽的持续释放*

张士博¹ 张 喆³ 于美娜¹ 刘童斌¹ 王晶晶¹ 蔡 青¹
陈 莉³ 贺超良^{2**} 孟维艳^{1**} 陈学思²

(¹ 吉林大学口腔医学院 长春 130021)

(² 中国科学院长春应用化学研究所 生态环境高分子材料重点实验室 长春 130022)

(³ 东北师范大学化学学院 长春 130024)

摘 要 采用水包油包水(W1/O/W2)复乳溶剂挥发法制备了包载甲状旁腺激素相关肽(PTHrP)的聚乙交酯-丙交酯(PLGA)微球,通过核磁,红外,GPC,扫描电子显微镜等观察 PLGA 载药微球的结构,表明载药微球具有良好的球形结构,其平均粒径约为 8 μm. 而体外模拟释放表明,此 PLGA 载药微球能实现 PTHrP1-34 长达 25 天的持续释放. 并通过 MTT 法、碱性磷酸酶活性测定等检测负载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球缓释系统对小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 增殖及分化的影响,结果表明 PTHrP1-34 浓度为 1×10^{-9} mol/L 时对 MC3T3-E1 增殖促进效应最大,且随着药物作用时间的延长,缓释系统促进细胞增殖、分化的作用越明显.

关键词 甲状旁腺相关肽, 聚乙交酯-丙交酯, 微球, 控制释放

甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)是具有促进成骨细胞形成及矿化骨作用的骨质疏松症治疗药物,是唯一同时具有加强骨细胞溶解骨钙和破骨细胞吸收骨基质作用的多肽类激素^[1-4]. 该药已于 2002 年由美国 FDA 批准用于骨质疏松症的治疗,商品名特立帕肽^[5](teriparatide).

甲状旁腺相关肽(PTHrP)是一种与 PTH(1-34)在基因编码、分子结构、受体构成和信号传导方面有许多相同或相似之处的多肽类物质,是在研究恶性肿瘤引起的高钙血症机制过程中发现的. 近来研究表明 PTHrP 的不同肽段(PTHrP1-34, 1-36, 1-84)均可明显提高骨质疏松大鼠的骨量及生物力学强度,具有与 PTH 相同的促进成骨细胞或未成熟的成骨样细胞增生的作用^[6-8].

口腔种植体初期稳定性的关键决定因素在于牙槽骨的质量和剩余牙槽骨的体积,而临床研究证明系统性的骨质疏松对牙槽骨的矿物质含量和剩余牙槽骨体积都有明显影响^[9,10],因此,PTHrP 由于具有增加种植体周围骨密度、提高种植体初

期稳定性、加速种植体的早期骨整合等优异的成骨作用,在口腔种植领域有广泛的应用前景^[11].

然而,PTHrP 不同的给药方式会对骨组织产生不同的影响,间歇的、低剂量的给药能促进骨骼合成代谢作用,增加骨量,改善骨结构,但是,大剂量的 PTHrP 会引起破骨细胞广泛活化,不同程度的降低成骨细胞内特异性转录因子,骨唾液蛋白,骨钙素和 I 型胶原蛋白的表达水平,使成骨细胞的功能受到抑制^[12-13]. 另外,PTHrP 存在着半衰期短、容易变性、价格昂贵等缺陷,因此研制控制其缓释的载体,提高其生物利用率极为必要,引入高分子载体是有效的解决途径. 生物降解高分子材料因为其良好的生物相容性、降解性、可吸收性、可加工成多种形式的植入式生物医疗材料及可以作为药物载体等特点受到广泛的研究^[14]. 以生物降解高分子材料作为 PTHrP 载体以实现缓释的研究已有报道,例如 Jung^[15] 2007 年首次利用 RGD 修饰 PEG 制备成水凝胶基质,混入 PTH1-34,协同促进种植体周围骨再生.

聚乙交酯-丙交酯(PLGA)是一种生物相容

* 2013-08-27 收稿, 2013-10-24 修稿;国家自然科学基金(基金号 50973108, 51003103, 21174142)、科技部国际合作与交流专项(项目号 2010DFB50890)、吉林省科技发展计划(项目号 201101082, 20110332)和吉林省卫生厅科研课题(课题号 2012Z087)资助项目.

** 通讯联系人, E-mail: clhe@ciac.jl.cn; mengsitong66@163.com
doi:10.3724/SP.J.1105.2014.13213

性良好的可降解材料,其应用最广、研究最多,以聚乙交酯-丙交酯微球包裹蛋白类药物的报道很多,双乳液法是最常用的方法之一^[16~18].已经获得美国食品和药品管理局(FDA)的批准.本文以生物相容性、降解性优良的 PLGA 为材料,通过双乳液法制备了包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球,并对其结构、形貌进行了表征.通过体外模拟释放、细胞毒性评价、碱性磷酸酶测定,研究了包载 PTHrP 的 PLGA 微球对小鼠胚胎成骨细胞(MC3T3-E1)增殖的促进作用.实验结果表明:此包载 PTHrP 的 PLGA 微球在口腔种植领域具有良好的应用前景.

1 实验部分

1.1 实验材料与纯化

高速剪切乳化机(BME 100 LX,上海威宇机电制造有限公司);HZQ-X100 型恒温震荡培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司);Sigma 3K 30 冷冻离心机(Germany);聚乙交酯-丙交酯(PLGA, $M_n = 85000$)自制;甲状旁腺相关肽(PTHrP1-34)购自上海吉尔生化有限公司;聚乙烯醇($M_n = 70000 \sim 80000$, 醇解度 88%)购自上海化学试剂公司;0.01 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PB, pH = 7.4)自制;3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)和二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司;HeLa 细胞、MC3T3-E1 细胞,本实验室冻存;¹H-NMR 采用 Bruker AM-300 核磁共振仪;SEM 采用 Micrion FEI PHILIPS 场发射扫描电子显微镜;FTIR 实验采用 BIO-Rad Win-IR 型付里叶红外光谱仪,红外测试样品和 KBr 混合后研磨压片后测试.

1.2 PLGA 结构与分子量的表征

通过¹H-NMR、FTIR 和 GPC 等测试手段表征 PLGA 的化学结构与分子量.

1.3 载药 PLGA 微球的制备

采用水包油包水(W1/O/W2)的复乳溶剂挥发法制备包埋 PTHrP1-34 的聚合物微球.将 135 mg PLGA 和 24 mg Tween-80 溶于 4.5 mL 二氯甲烷中.将 1.56 mg PTHrP1-34 溶于 0.2 mL 三次蒸馏水中,并加入到上述聚合物溶液中,超声 60 s,充分混匀.将上述混合液注入到 50 mL 质量分数为 1% 的 PVA 水溶液中,在冰浴下采用高速剪切机在 3000 r/min 的转速下乳化 3 min 后,注入 100 mL 二次蒸馏水,常温下磁力搅拌 6~8 h,

使溶液中的二氯甲烷挥发完全.然后以 10000 r/min 的转速离心 4 min 收集产物,并用二次蒸馏水洗涤,重复 3~4 次,冷冻干燥,得到包载 PTHrP1-34 的聚合物微球.

1.4 载药微球形貌表征

将干燥的未参与释放的微球样品置于金属载物台上,喷金处理后,用 SEM 观察聚酯微球的表面形貌.

1.5 微球载药量测定

用 NaOH-SDS 方法测定载药微球的载药量和包封率.将适量的载药微球粉末置于 NaOH-SDS 溶液中,待聚合物材料降解后,离心取上层清液,通过紫外分光光度计测定降解液中 PTHrP1-34 浓度,通过下式计算得到微球中 PTHrP1-34 的载药量和包封率:

$$\text{载药量}(\%) = \frac{[\text{微球中药物质量}]}{[\text{微球总质量}]} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{包封率}(\%) = \frac{[\text{微球中载药质量}]}{[\text{投药总质量}]} \times 100\% \quad (2)$$

1.6 载药微球的体外释放

精确称取 15 mg 载药微球放入离心管中,加入 5 mL PB(0.01 mol/L, pH = 7.4)缓冲溶液中,放入恒温振荡箱中振荡,每隔一定时间离心,取出上层清液测定 PTHrP1-34 的浓度,并补充等量新鲜缓冲液.采用紫外分光光度法(波长 280 nm)测量 PTHrP1-34 浓度,并计算累积药物释放百分比以考察载药微球的体外释放特性.

1.7 PTHrP1-34 对细胞的活性及凋亡效应的影响

检测了 PTHrP1-34 对小鼠前成骨细胞(MC3T3-E1)的活性及凋亡作用的影响.将 MC3T3-E1 细胞种植于 96 孔板中(3000 个细胞/孔),每孔含有 200 μ L 的 10% 胎牛血清的 aMEM 培养液,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 氛围中培养 24 h.加入预先用 PBS 制备好的不同浓度的 PTHrP1-34 溶液(1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} , 1×10^{-9} , 1×10^{-10} , 1×10^{-11} , 1×10^{-12} mol/L),并分别采用不同的给药方式.间歇性给药组:每 24 h 中仅前 6 h 给药,其余时间换成不含 PTHrP1-34 的培养液;持续性给药组:每 24 h 均更换含 PTHrP1-34 的新的培养液.经过培养 24 h、48 h 和 72 h 后,通过 MTT 法检测细胞活性,用 Bio-Rad 680 酶标仪测量微板在 490 nm 的吸光度值.细胞活性按如下计算公式计算:

$$\text{Cell viability (\%)} = A_{\text{sample}}/A_{\text{control}} \times 100 \quad (4)$$

A_{sample} 代表待测样本的吸光度值, A_{control} 代表对照组的吸光度值.

1.8 PTHrP1-34 对细胞分化的影响

MC3T3-E1 细胞以 8000 个细胞/孔的密度接种于 24 孔板 ($n=4$), 培养 24 h 后, 细胞贴壁. 加入预先用 PBS 制备好的不同浓度的 PTHrP1-34 溶液 (1×10^{-7} , 1×10^{-8} , 1×10^{-9} , 1×10^{-10} , 1×10^{-11} mol/L), 并分别采用间歇性给药的方式, 培养 72 h 后, 经 0.25% 胰蛋白酶消化 2~3 min, 加培养液终止消化, 用移液器轻轻吹打, 将所有液体及细胞转入 EP 管, 然后 1000 r/min 离心 10 min 弃上清, 留沉淀细胞, 再加入 1 mL PBS 轻轻吹打, 再次离心 10 min, 弃上清, 在细胞沉淀中加入 200 μ L PBS, 直接放入液氮中 3~5 s, 立即转入 -20°C 冰箱 (20 s 左右), 再取出室温解冻, 解冻后再重复冻融 3 次; 按碱性磷酸酶试剂盒操作步骤在 96 孔板中加样, 最后轻轻振摇孔板混匀, 用 Bio-Rad 酶标仪测量微板在 520 nm 的吸光度值 OD. 碱性磷酸酶 ALP 活性 (金氏单位/100 mL) 按如下公式计算:

$$\text{ALP viability} = (A_{\text{sample}} - A_{\text{control}})/(A_{\text{standard}} - A_{\text{control}}) \times 0.02 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \quad (4)$$

A_{sample} 代表待测样本的吸光度值; A_{control} 代表空白对照组的吸光度值; A_{standard} 代表标准品的吸光度值.

1.9 负载 PTHrP1-34 聚合物微球对细胞增殖的影响

通过 MTT 法检测负载 PTHrP1-34 聚合物微球缓释系统对小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 增殖及分化的影响. 实验分组, 空白对照组: 单纯培养液组 (a); 阳性对照组: 10^{-9} mol/L PTHrP1-34 + 培养液间歇性给药组 (b); 阴性对照组 1: 10^{-9} mol/L PTHrP1-34 + 培养液一次性给药组 (c); 阴性对照组 2: 未载药聚合物微球 + 培养液组 (d); 实验组: 负载不同浓度 PTHrP1-34 聚合物微球分别 + 培养液组 (e/f/g). 每组 5 个样本. MC3T3-E1 细胞以 3000 个细胞/孔的密度接种于 96 孔板, 培养 24 h 后, 细胞贴壁; a 组更换培养液; b 组每 24 h 的前 6 h 加入含 PTHrP1-34 的培养液, 之后换成不含药的培养液, 每 24 h 为一个循环; c 组在加入含 PTHrP1-34 的培养液后不在更换培养液; d 组: 培养液中加入适量 Gel 2; e、f、g 聚合物微球组, 将负载的 PTHrP1-34 总浓度设为 1×10^{-8} , $1 \times$

10^{-9} 和 1×10^{-10} mol/L 3 个不同数量级, 加入培养液中. 使药物、聚合物微球、载药聚合物微球与细胞作用; 于 24、48、72 h 后, 通过 MTT 法检测细胞活性, 用 Bio-Rad 酶标仪测量微板在 490 nm 的吸光度值 A. 细胞活性按上述计算公式 (3) 计算.

1.10 负载 PTHrP1-34 聚合物微球对细胞分化的影响

MC3T3-E1 细胞以 8000 个细胞/孔的密度接种于 24 孔板 ($n=4$), 培养 24 h 后, 细胞贴壁. 实验分组, 空白对照组: 单纯培养液组 (a); 阳性对照组: 10^{-9} mol/L PTHrP1-34 + 培养液间歇性给药组 (b); 阴性对照组 1: 10^{-9} mol/L PTHrP1-34 + 培养液一次性给药组 (c); 阴性对照组 2: 未载药聚合物微球 + 培养液组 (d); 实验组: 负载不同浓度 PTHrP1-34 聚合物微球分别 + 培养液组 (e/f/g). 每组 5 个样本. 培养 72 h 后, 经 0.25% 胰蛋白酶消化 2~3 min, 加培养液终止消化, 用移液器轻轻吹打, 将所有液体及细胞转入 EP 管, 然后 1000 r/min, 离心 10 min 弃上清, 留沉淀细胞, 再加入 1 mL PBS 轻轻吹打, 再次离心 10 min, 弃上清, 在细胞沉淀中加入 200 μ L PBS, 直接放入液氮中 3~5 s, 立即转入 -20°C 冰箱 (20 s 左右), 再取出室温解冻, 解冻后再重复冻融 3 次; 按碱性磷酸酶试剂盒操作步骤在 96 孔板中加样, 最后轻轻振摇孔板混匀, 用 Bio-Rad 酶标仪测量微板在 520 nm 的吸光度值 OD. 碱性磷酸酶 ALP 活性 (金氏单位/100 mL) 按公式 (4) 计算.

2 结果与讨论

2.1 PLGA 结构与分子量的表征

PLGA 的结构通过核磁和红外确定, PLGA 重复单元中乳酸和羟基乙酸单元的比约为 85:15. PLGA 的分子量由 GPC 测定, $M_n = 85000$, PDI = 1.26.

2.2 载药微球的形貌

载药微球的形貌通过扫描电子显微镜 (SEM) 观察. 如图 1 所示, 载药微球具有良好的球形结构. 载药微球的平均粒径约为 8 μm .

2.3 微球载药量测定

用 NaOH-SDS 方法测定载药微球的载药量和包封率. 包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球的载药率和包封率分别为 0.84% 和 72.3%. 说明载药微球具有较高的包埋效率.

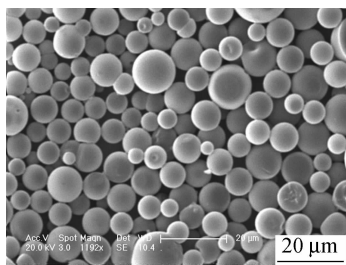


Fig. 1 SEM micrograph of PTHrP loaded PLGA microspheres

2.4 包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球的体外释放

由于 PTHrP1-34 促进骨骼合成代谢作用取决于低剂量及间歇的给药方式,所以包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球的缓释效果是重点关注的对象. 如图 2 所示,由于部分 PTHrP1-34 包在 PLGA 微球表层,在第一天出现了明显的突释,第二天开始剩余的包裹于微球内部的 PTHrP1-34 缓慢释放. 包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球的持续释放可以达到 25 天. 由此可见,该 PTHrP1-34 载药微球能较好地实现 PTHrP1-34 在生理温度下的长期持续释放.

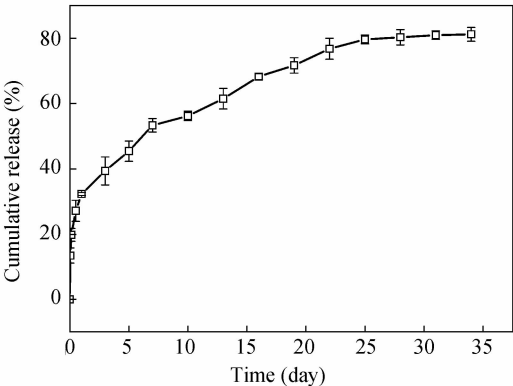


Fig. 2 Cumulative release of PTHrP from PLGA microspheres as a function of time

2.5 PTHrP1-34 对 MC3T3-E1 增殖及分化的影响

根据文献报道,PTHrP1-34 的浓度为 1×10^{-8} mol/L 左右时效果最佳^[19],所以我们考察了不同浓度 PTHrP1-34 对 MC3T3-E1 增殖及分化的影响. 如图 3 所示,PTHrP1-34 浓度由 1×10^{-6} mol/L 降低至 1×10^{-9} mol/L 时,药物对 MC3T3-E1 增殖促进效应逐渐增高,高于空白对照组. 这种促进增殖效应在 PTHrP1-34 浓度为 1×10^{-9} mol/L 时最显著,与空白组相比具有统计学差异. 随着药物作用时间的延长,达到 72 h 时,加入

1×10^{-9} mol/L PTHrP1-34 对促进细胞增殖作用最明显,且明显高于其他组. 而 PTHrP1-34 浓度由 1×10^{-9} 继续下降至 1×10^{-11} mol/L 时,对细胞的增殖促进效应又逐渐降低. 实验所得结果表明 PTHrP1-34 浓度为 1×10^{-9} mol/L 时对 MC3T3-E1 增殖促进效应最大,与文献报道略有差异.

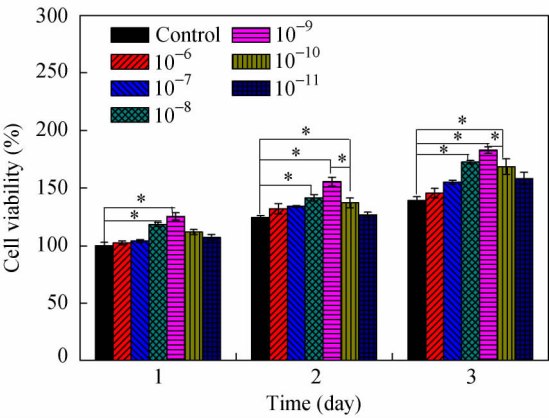


Fig. 3 Cell viability (%) of MC3T3 cells incubated with PTHrP1-34 solutions with different concentrations (*, $P < 0.05$)

为进一步验证 PTHrP1-34 对 MC3T3-E1 分化的影响,对细胞内碱性磷酸酶的含量进行了考察. 如图 4 所示, PTHrP1-34 浓度由 1×10^{-7} mol/L 到 1×10^{-9} mol/L 递减时,ALP 的活性逐渐增强,即 PTHrP1-34 促进 MC3T3 分化作用是逐渐增强的,且 PTHrP1-34 浓度在 1×10^{-9} mol/L 时,ALP 的活性增加最明显,明显高于空白组,具有统计学差异. 而当 PTHrP1-34 浓度在 $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-11}$ mol/L 时,ALP 的活性相比于空白对照组虽有所增强,但效果不如 PTHrP1-34 浓度为 1×10^{-9} mol/L 时明显.

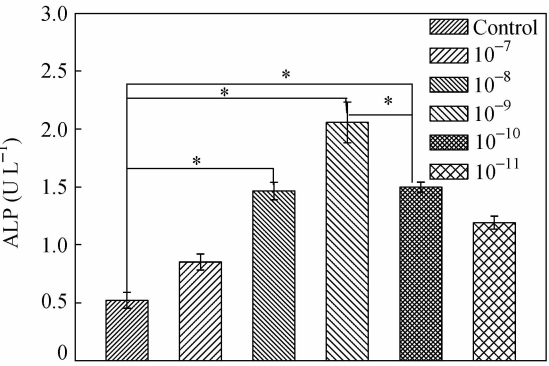


Fig. 4 ALP activity (%) of MC3T3 cells without or with PTHrP1-34 solutions at different concentrations, respectively (*, $P < 0.05$)

2.6 负载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球对 MC3T3-E1 增殖及分化的影响

如图 5 所示,与空白对照组 (a) 相比,间歇性给予 1×10^{-9} mol/L PTHrP1-34 组 (b) 促进细胞增殖作用明显增高,且随着药物作用时间的延长,促增殖效应越来越显著 ($P < 0.05$). 而一次性给药 (c) 组促细胞增殖作用不如 (b) 组明显,且随着时间的延长,药物代谢,该组的促细胞增殖效应与 (a) 组相比无明显差异. (d) 组将 PLGA 空微球与 MC3T3-E1 共培养,其无促进细胞增殖的作用,与 (a) 组相比无显著差异. 当载药 PLGA 微球负载 PTHrP1-34 总浓度分别为 10^{-8} 、 10^{-9} mol/L 时,具有明显的促进细胞增殖作用,特别是 (f) 组,显著高于 (a) 组和 (b) 组 ($*, P < 0.05$). 且随着药物作用时间的延长,缓释系统促进细胞增殖的作用越明显.

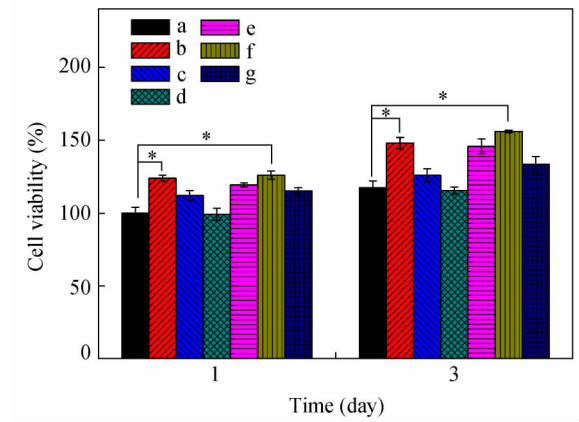


Fig. 5 Cell viabilities (%) of MC3T3 cells incubated with free PTHrP solution and PTHrP-loaded PLGA microspheres; (a) negative control group, (b) group treated with 1×10^{-9} mol L^{-1} PTHrP solution by intermittent administration, (c) group treated with 1×10^{-9} mol L^{-1} PTHrP with one-time administration, (d) PLGA microsphere without PTHrP, (e), (f) and (g) groups treated with PTHrP-loaded PLGA microsphere at final PTHrP1-34 concentrations of 1×10^{-8} , 1×10^{-9} and 1×10^{-10} mol L^{-1} respectively ($*, P < 0.05$)

在 MC3T3-E1 分化早期标志物 ALP 活性测定的实验结果如图 6 所示, (b) 组 ALP 活性增强较明显 ($*, P < 0.05$, 有统计学差异); (e)、(f) 和 (g) 组,通过缓释 PTHrP1-34 作用于细胞,表现出了明显促细胞分化作用,相比于 (a) 组有统计学差异 ($*, P < 0.05$), 且明显高于 (b) 组,这可能与局部持续微量缓释的给药方式有关.

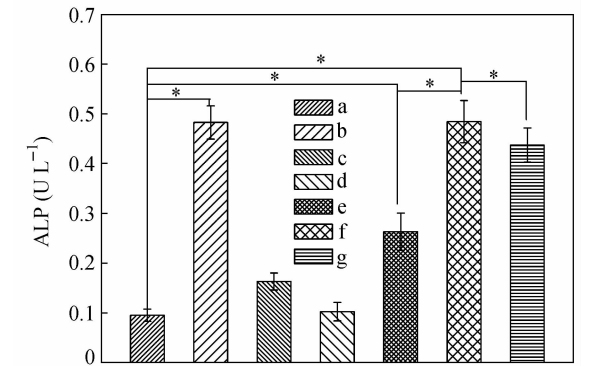


Fig. 6 ALP activities (%) of MC3T3 cells incubated with free PTHrP solutions and PTHrP-loaded PLGA microspheres; (a) negative control group, (b) group treated with 1×10^{-9} mol L^{-1} PTHrP solution by intermittent administration, (c) group treated with 1×10^{-9} mol L^{-1} PTHrP by one-time administration, (d) PLGA microsphere without PTHrP, (e), (f) and (g) groups treated with PTHrP-loaded PLGA microsphere at final PTHrP1-34 concentrations of 1×10^{-8} , 1×10^{-9} and 1×10^{-10} mol L^{-1} , respectively ($*, P < 0.05$)

3 结论

本实验应用双乳液法制备了包载 PTHrP1-34 的 PLGA 微球,并对其结构、形貌进行了表征. 通过体外模拟释放、细胞毒性评价、碱性磷酸酶测定,表明该载有甲状旁腺相关肽的缓释微球体系能够实现药物在生理条件下的缓慢持续释放,显著促进小鼠胚胎成骨细胞的增殖,因而在口腔种植领域具有良好的应用前景.

REFERENCES

1 Canalis E. Clinical Endocrinology & Metabolism,2010,95(4):1496 ~ 1506
2 Blind E. Clinical Laboratory,2008,54(11):439 ~ 449
3 Pleiner D J,Zwettler E,Paschalis E. Calcified Tissue International,2009,84(3):159 ~ 170
4 Chen C,Koh A J,Datta N S. J Biol Chem,2004,279:29121 ~ 29129
5 Devogelaer J P,Boutsen Y,Manicourt D H. Current Osteoporosis Report,2010,8(3):154 ~ 161
6 Inoue D,Matsumoto T. Biomed Pharma- cother,2000,54:32s ~ 41s
7 Horwitz M J,Tedesco M B,Gundberg C. J Clin Endocrinol Metab,2003,88:569 ~ 575
8 Stewrat A F,Cain R L,Burr D B. J Bone Miner Res,2000,15(8):1517 ~ 1525

9 Jiang G, Matsumoto H, Fujii A. *J Dent Res*, 2007, 86: 52 ~ 57

10 Yang J, Farnell D, Devlin H. *J Dent Res*, 2005, 33: 123 ~ 129

11 Li Cong(李聪), Zhang Zhe(张喆), He Chaoliang(贺超良), Zhuang Xiuli(庄秀丽), Chen Li(陈莉), Cai Qing(蔡青), Xue Yan(薛妍), Zhang Bin(张宾), Wang Shizhen(王世振), Meng Weiyan(孟维艳), Chen Xuesi(陈学思). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2012, (7): 778 ~ 783

12 Vahle J L, Sato M, Long G. *Toxicol Pathol*, 2002, 30(3): 312 ~ 321

13 Cann C, Oe E, Sanchez S, Arnaud C. *J Bone Miner Res*, 2000, 66(6): 456 ~ 460

14 Lu Rong(陆荣), Zhang Feng(张峰), Ding Cuicui(丁翠翠), Li Suyi(李苏亚). *Technology & Development of Chemical Industry(化工技术与开发)*, 2010, 39(9): 4 ~ 7

15 Jung R E, Cochran D L, Domken O, Seibl R, Jones A A, Buser D, Hammerle C H. *Clin Oral Implants Res*, 2007, 18(3): 319 ~ 325

16 Xiong Lei(熊雷), Jiang Hongwei(姜宏伟), Wang Dizhen(王迪珍). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2008, (8): 791 ~ 796

17 Shi Xudong(石旭东), Sun Lei(孙磊), Gan Zhihua(甘志华). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2011, (8): 866 ~ 873

18 Zhang Xiumei(张秀梅), Cai Jing(蔡静), Yang Yanan(杨亚楠), Chen Xuesi(陈学思), Xie Xuming(谢续明). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2011, (6): 653 ~ 660

19 Alves E C, Szejnfeld V L, Pereira S N, Coelho L E, Helden M C. *Calcif Tissue Int*, 2010, 87(5): 424 ~ 436

Biodegradable PLGA Microspheres for Controlled Delivery of Parathyroid Hormone Related Peptide

Shi-bo Zhang¹, Zhe Zhang³, Mei-na Yu¹, Tong-bin Liu¹, Jing-jing Wang¹, Qing Cai¹, Li Chen³, Chao-liang He^{2*}, Wei-yan Meng^{1*}, Xue-si Chen²

(¹ School of stomatology, Jilin University, Changchun 130022)

(² Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

(³ Department of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130024)

Abstract PLGA microspheres were chosen as the carrier to overcome the limitations of application for parathyroid hormone related peptide (PTHrP) which can increase the number and viability of osteoblasts and promote bone formation with a low-dose, long time, intermittent administration. PLGA microspheres were prepared by a water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double emulsion solvent evaporation and PTHrP1-34 was encapsulated to the microspheres by a technique with good sphericity and high efficiency. The micrographs of polyester microspheres were evaluated by scanning electron microscope (SEM). The polyester microspheres had a good spherical shape. PTHrP1-34 loaded microspheres exhibited a slow release behavior for about 25 days, which was accord with expectation. The effect of PTHrP1-34 loaded microspheres on pre-osteoblastic proliferation was studied *via* cell proliferation evaluation experiments. The results demonstrated that PTHrP1-34 loaded PLGA microspheres can enhance the proliferation and differentiation of MC3T3 cell effectively. Alkaline phosphatase (ALP) quantification experiment was also performed to investigate the influence of differentiation. The cells incubated with PTHrP1-34 loaded PLGA microspheres exhibited higher ALP level which was related to the differentiation. In summary, PTHrP1-34 loaded PLGA microspheres show great potential as a promising delivering and releasing carriers for application of oral implantology.

Keywords Parathyroid hormone related peptide, PLGA, Microspheres, Controlled-release

* Corresponding authors: Chao-liang He, E-mail: clhe@ciac.jl.cn;
Wei-yan Meng, E-mail: mengsitong66@163.com