

新型缓控释辅料聚(乳酸-乙醇酸)的合成工艺研究

帅放文^{1,2,3}, 章家伟^{1,2}, 王向峰^{1,2}, 肖江^{1,2}, 张婷^{1,2}, 周宏灏^{3*} (1. 湖南省药用辅料工程技术研究中心, 长沙 410331; 2. 湖南尔康制药股份有限公司, 长沙 410331; 3. 中南大学临床药理研究所, 长沙 410078)

摘要: 目的 研究开环聚合合成聚(乳酸-乙醇酸) (PLGA) 的工艺。方法 采用正交实验优选常压合成聚(乳酸-乙醇酸) 的工艺条件, 并进行3批重复性验证。结果 最佳工艺条件确定为: 催化剂辛酸亚锡和引发剂十二醇的用量分别为0.03%和0.02%, 反应温度160℃, 搅拌速率300 r·min⁻¹, 反应10 h。通过筛选两种单体的投料比, 确定合成聚(乳酸-乙醇酸) 5050的乙交酯和丙交酯的比例为45:55。结论 筛选出的工艺能常压合成聚(乳酸-乙醇酸) 5050, 产品重均相对分子质量达到52 000, 分布系数为1.5~1.7, 工艺稳定, 质量可控。

关键词: 聚(乳酸-乙醇酸); 正交实验; 开环聚合; 缓控释

doi: 10.11669/cpj.2014.05.010 中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2014)05-0392-04

Research on Synthesis Technique of New Controlled Release Excipient Poly-(lactic-co-glycolic acid)

SHUAI Fang-wen^{1,2,3}, ZHANG Jia-wei^{1,2}, WANG Xiang-feng^{1,2}, XIAO Jiang^{1,2}, ZHANG Ting^{1,2}, ZHOU Hong-hao^{3*} (1. Hunan Engineering Research Center for Pharmaceutical Excipients, Changsha 410331, China; 2. Hunan ERKANG Pharmaceutical Co. Ltd., Changsha 410331, China; 3. Institute of Clinical Pharmacology, Central South University, Changsha 410078, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the synthesis technique of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) via ring-opening polymerization. **METHODS** Orthogonal experiments were carried out to optimize the synthesis conditions of PLGA under atmospheric condition. Three batches of repeated experiments were conducted to verify the technological conditions. **RESULTS** The target product could be synthesized by using 0.03% stannous octoate and 0.02% lauryl alcohol reacted at 160℃ for 10 h at a stir speed of 300 r·min⁻¹. The ratio of glycolide and lactide was determined to be 45:55 to ensure the formation of PLGA5050. **CONCLUSION** The screened out synthesis technique can obtain PLGA5050 with Mw of 52000 and coefficient of distribution between 1.5-1.7 at atmospheric pressure, and its quality is controllable.

KEY WORDS: poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA); orthogonal experiment; ring-opening polymerization; controlled release

聚(乳酸-乙醇酸) (PLGA) 作为一种高分子材料, 具有无毒、生物相容性高、可在生物体内完全降解等特点, 因而在生物医学和其他领域有良好的发展前景^[1-2]。目前, PLGA 的应用研究主要集中在缓释微球的制备上^[3-4], 已有商业化制剂产品面市, 如曲谱瑞林、亮丙瑞林、利培酮等。PLGA 的合成方法主要有乙交酯-丙交酯开环聚合^[5]、乳酸-乙醇酸溶液聚合^[6]和乳酸-乙醇酸熔融聚合^[7-8]3种方式, 其中乙交酯-丙交酯开环聚合研究最为广泛, 但是此方法大多采用真空封管方式, 不利于产业化。因而本实验在常压条件下进行乙交酯-丙交酯开环聚合合成 PLGA5050, 并对相应参数进行筛选, 以获得适于工业生产的合成工艺。

乙交酯(济南岱罡生物工程有限公司); 丙交酯(济南岱罡生物工程有限公司); 辛酸亚锡(sigma-aldrich公司, 分析纯); 十二醇(Sigma-aldrich公司, 分析纯); 二氯甲烷、甲醇为分析纯; 聚苯乙烯相对分子质量对照品(PS10000, PS18000, PS24200, PS36000, PS46500, PS78300, American Polymer Standards Corporation)。

红外分光光度仪: PE公司 Spectrum-65型; 核磁: BRUKER AV400; GPC(示差折光检测器岛津 RI201H): 液相: 岛津 LC-10ATVP型; 凝胶色谱柱 Shodex GPC KF-803(8 mm×300 mm); 机械搅拌; 集热式恒温加热锅: 金坛市中大仪器厂 DF-101S; 高压反应釜: 巩义市英峪高科仪器厂 F5L型。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.2 方法与结果

作者简介: 帅放文, 男, 博士, 研究方向: 新药研发 * 通讯作者: 周宏灏, 男, 博士, 院士, 研究方向: 遗传药理学、临床药理学 Tel/Fax: (0731) 84659105 E-mail: xiao341@126.com

1.2.1 合成方法 将乙交酯 8.92 g 和丙交酯 11.08 g(摩尔比 1:1) 投入到 500 mL 三颈烧瓶中, 升温至 60 °C 在 0.085 ~ 0.1 MPa 下真空脱水 2 h, 然后通入氮气, 加热至一定温度, 再加入催化剂辛酸亚锡和引发剂十二醇, 机械搅拌反应, 反应结束后, 冷却至室温。加入 100 mL 的二氯甲烷溶解所得聚合物, 边搅拌边滴加甲醇 150 mL 直至沉淀不再析出, 静置过滤后, 在 45 °C, 0.085 ~ 0.1 MPa 下真空干燥 12 h, 即得成品。

1.2.2 相对分子质量测定方法 取供试品适量, 精密称定, 加流动相溶解并制成每 1 mL 中约含 3 mg 的溶液, 振摇, 室温放置过夜, 作为供试品溶液。另取 6 个聚苯乙烯相对分子质量对照品适量, 加流动相溶解并制成每 1 mL 中约含 3 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照分子排阻色谱法《中国药典》2010 年版二部附录 V H) [9] 测定, 采用凝胶色谱柱, 以四氢呋喃为流动相, 流速为 1 mL · min⁻¹, 示差折光检测器; 检测器温度 35 °C。

取乙腈 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 理论板数按乙腈峰计不少于 10 000。

取上述对照品溶液各 200 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 由 GPC 软件计算回归方程。取供试品溶液 200 μL, 同法测定, 用 GPC 软件采用外标法算出供试品的重均相对分子质量、数均相对分子质量及相对分子质量分布。

1.2.3 正交优选合成条件 参考现有文献报道并结合研究实际, 采用正交实验的方式优选合成参数, 以期合成较高相对分子质量的产品, 产品相对分子质量通过凝胶色谱 GPC 测得。采用 L16(4⁵) 正交表研究催化剂用量 A, 引发剂用量 B, 反应时间 C, 反应温度 D, 搅拌速率 E 对产品质量的影响, 每个影响因素选取 4 个考察水平。因素水平表见表 1。

表 1 聚乳酸-乙醇酸 (PLGA) 合成参数筛选的正交实验因素水平表

Tab. 1 Orthogonal experiment factors and levels of PLGA synthesis parameters screening

Levels	Factors				
	amt of catalyst(A)	amt of initiator(B)	reaction time(C)	reaction temperature(D)	stirring speed(E)
	(w/w) /%	(w/w) /%	/h	/°C	/r · min ⁻¹
1	0.010	0.01	8	140	200
2	0.015	0.02	10	160	250
3	0.030	0.03	12	180	300
4	0.060	0.04	14	200	350

影响产品相对分子质量各因素主次关系为 A(催化剂用量) > B(引发剂用量) > D(反应温度) > C(反应时间) > E(搅拌速率), 最优的反应条件为 A₃B₂C₂D₂E₃, 即催化剂和引发剂的用量分别为乙交酯和丙交酯总质量的 0.03% 和 0.02%, 反应温度为 160 °C, 机械搅拌速率为 300 r · min⁻¹, 反应 10 h 能获得最佳的相对分子质量(表 2)。

1.2.4 乙交酯和丙交酯投料比筛选 由于乙交酯和丙交酯在上述反应条件下竞聚率不同, 导致 2 种单体按摩尔比 1:1 投料, 并不能获得预期的 PLGA5050。但是在相对分子质量一定的情况下, 产品的降解速率很大程度上取决于 2 种单体在产品中的比例, 这也是产品作为药用高分子材料的一项关键指标。因而本实验通过改变 2 种单体的投料比, 研究确定 PLGA5050 在实际生产中的投料比, 并根据核磁氢谱¹H-NMR 结果进行确证(图 1)。实验结果见表 3。

表 2 PLGA 合成参数的正交实验设计与结果

Tab. 2 Orthogonal experiment design and result of orthogonal PLGA synthesis parameters screening

No.	Factors					Molecular weight
	A	B	C	D	E	
1	1	1	1	1	1	38 500
2	1	2	2	2	2	50 600
3	1	3	3	3	3	45 200
4	1	4	4	4	4	37 200
5	2	1	2	3	4	46 600
6	2	2	1	4	3	48 100
7	2	3	4	1	2	46 300
8	2	4	3	2	1	47 800
9	3	1	3	4	2	49 900
10	3	2	4	3	1	49 700
11	3	3	1	2	4	46 700
12	3	4	2	1	3	43 600
13	4	1	4	2	3	42 200
14	4	2	3	1	4	35 100
15	4	3	2	4	1	42 000
16	4	4	1	3	2	28 300
K ₁	171 500	177 200	161 600	163 500	178 000	
K ₂	188 800	183 500	182 800	187 300	175 100	
K ₃	189 900	180 200	178 000	169 800	179 100	
K ₄	147 600	156 900	175 400	177 200	165 600	
\bar{K}_1	42 875	44 300	40 400	40 875	44 500	
\bar{K}_2	47 200	45 875	45 700	46 825	43 775	
\bar{K}_3	47 475	45 050	44 500	42 450	44 775	
\bar{K}_4	36 900	39 225	43 850	44 300	41 400	
R _j	10 575	6 650	5 300	5 950	3 375	

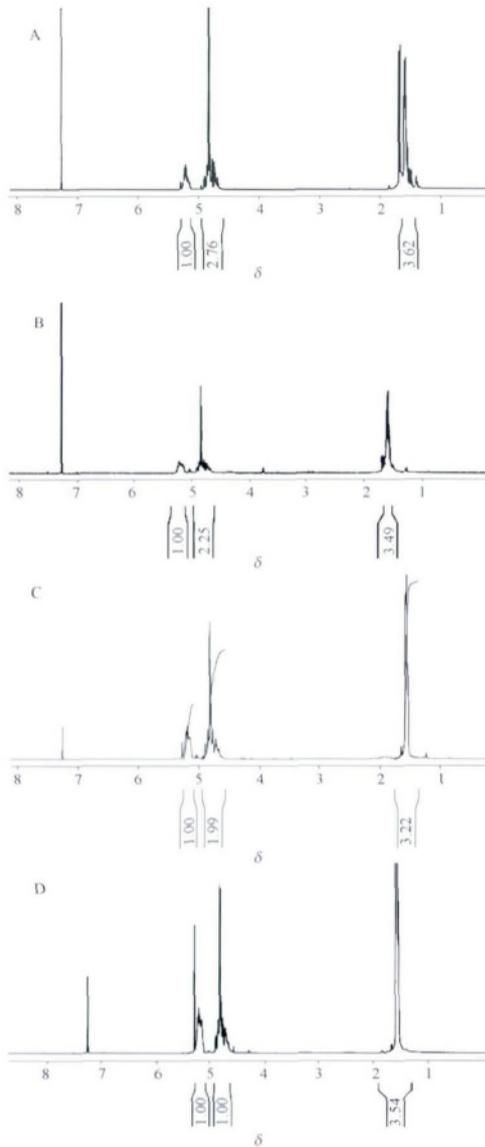


图1 不同乙交酯与丙交酯单体投料比的核磁氢谱

A - 55:45; B - 50:50; C - 45:55; D - 40:60

Fig. 1 ¹H-NMR of different reactant ratios of glycolide and lactide

A - 55:45; B - 50:50; C - 45:55; D - 40:60

表3 乙交酯和丙交酯投料比筛选

Tab. 3 Screening of the ratio of glycolide and lactide

No.	Reactant ratio (glycolide-lactide)	¹ H-NMR results (glycolide-lactide)
1	55:45	58:42
2	50:50	53:47
3	45:55	50:50
4	40:60	46:54

注:产品中乙交酯的比例计算公式为 $\frac{100 \times G}{2 \times L + G}$, 丙交酯比例计算公式为 $\frac{100 \times 2 \times L}{2 \times L + G}$ 其中 L 为核磁氢谱位移值 δ : 5.1 ~ 5.5 之间的积分值, G 为核磁

氢谱位移值 δ : 4.4 ~ 5.0 之间的积分值

Note: The ratios of glycolide and lactide in product could be calculated by formula

$\frac{100 \times G}{2 \times L + G}$ and $\frac{100 \times 2 \times L}{2 \times L + G}$ respectively. L is the chemical shift values between

5.1 and 5.5. G is the chemical shift values between 4.4 and 5.0

• 394 •

Chin Pharm J 2014 March, Vol. 49 No. 5

由表3结果可知,当乙交酯和丙交酯的投料比为45:55时,能制得PLGA5050。说明在正交筛选获得的合成条件下,乙交酯的竞聚率要高于丙交酯,即乙交酯反应活性相对较高。

1.2.5 重复性验证 结合正交实验和投料比筛选实验,确定PLGA5050的合成条件如下:将乙交酯658.9g,丙交酯1000g(摩尔比45:55)投入5L不锈钢反应釜中,升温至60℃,在-0.085~-0.1MPa下真空脱水2h,然后通入氮气,加热至160℃,再加入0.49g辛酸亚锡和0.3g十二醇,调节机械搅拌速率为300 r·min⁻¹,反应10h后,冷却至室温。加入8L的二氯甲烷溶解所得聚合物并转移至30L不锈钢桶中,边搅拌边滴加甲醇12L直至沉淀不再析出,静置过滤后,在45℃,-0.085~-0.1MPa下真空干燥12h,即得成品。

按照上述工艺,重复合成3次,同时测定产品的相对分子质量和单体比例,结果见表4图2。

2 结果与讨论

本实验采用正交法优选了PLGA的常压合成方法,为该产品的工业化生产创造了条件。通过调节乙交酯和丙交酯的投料比例,制得了PLGA5050这一目前研究和应用较为广泛的缓释微球用材料。同时,通过重复性实验验证了该工艺的稳定性,并通过采用凝胶色谱GPC和核磁氢谱¹H-NMR对所得产品的相对分子质量和组成进行了确证。实验证明,在乙交酯和丙交酯的投料摩尔比为45:55,催化剂辛酸亚锡和引发剂十二醇的用量分别为0.03%和0.02%,反应温度160℃,搅拌速率300 r·min⁻¹,反应10h的条件下,能获得较高相对分子质量的产品(重均相对分子质量M_w达到52000,分布系数为1.5~1.7),同时相对分子质量和组成稳定可控。综上所述,该PLGA制备工艺条件较为温和,对设备要求不高,后处理操作简便,可以进行工业化生产推广。

表4 3批重复性验证实验结果

Tab. 4 Results of three batches of repeated experiments

No.	Molecular weight	Glycolide-lactide	M _w /M _n
1	51 200	50:50	1.67
2	52 100	50:50	1.55
3	52 500	50:50	1.65
RSD/%	1.3	-	3.9

中国药学杂志 2014 年 3 月第 49 卷第 5 期

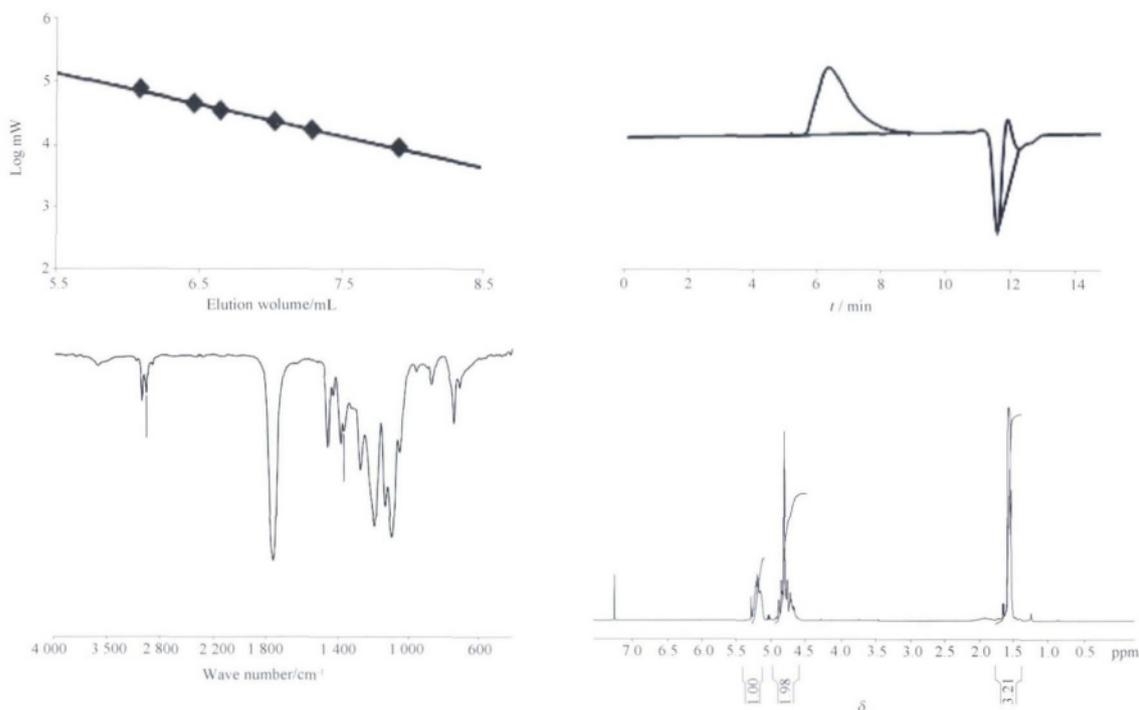


图2 重复性实验3所得PLGA5050的测试图谱

Fig. 2 The figure of PLGA5050 of the third repeated batch

REFERENCES

- [1] CHEN L, ZHAO B Z, DU X G. Recent study of polyglycolide and its copolymers [J]. *New Chem Mater* (化工新型材料), 2002, 30(3): 11-15.
- [2] ZHAO Y M, HUANG J H, CHEN J W, et al. Study on biodegradable medical materials of poly(glycolide-lactide) [J]. *Chin Syn Fiber Ind* (合成纤维工业), 1997, 20(4): 1-4.
- [3] CHANG S, LI X J, GONG J, et al. Modified preparation method and characteristics of nimodipine-loaded PLGA microspheres [J]. *Chem Ind Eng* (化学工业与工程), 2013, 30(1): 1-7.
- [4] LI X W, WANG L Q, ZHANG Y L, et al. Preparation and characterization of simvastatin-loaded PLGA microspheres for sustained release [J]. *J Oral Sci Res* (口腔医学研究), 2013, 29(3): 217-220.
- [5] LIU M M, ZHANG Z P. Study and preparation on poly(lactic-glycolic acid) polymer as medicinal delivery material [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2007, 19(1): 13-15.
- [6] AJIOKA M, SUIZU C, HIGUCHI C, et al. Aliphatic polyesters and their copolymers synthesized through direct condensation polymerization [J]. *Poly Degrad Stability*, 1998, 59(3): 137-143.
- [7] YANG F, WANG C Y, PAN Y F, et al. Studies on the direct synthesis of poly(lactic acid-glycolic acid) and its application in drug delivery microspheres [J]. *Poly Mater Sci Eng* (高分子材料科学与工程), 2005, 21(3): 77-80.
- [8] WANG N, WU X S, LUJIAN-UPTON H, et al. Polymeric materials science and engineering proceedings of the ACS division of polymeric materials science and engineering [C]. Denver, Colorado, USA: PMSE Division of ACS, 1997: 373-374.
- [9] *Ch. P* (2010) Vol II (中国药典2010年版·二部) [S]. 2010: Appendix 37: 1139.

(收稿日期: 2013-07-04)