

聚乳酸自支持膜的叠加及其作为药物控释阻隔层的研究

李妍^a 杨盛^b 何桂丽^b 焦永华^b 付昱^{*,a} 孙挺^{*,a}

(^a 东北大学 理学院 沈阳 110819)

(^b 东北大学 生命科学与健康学院 沈阳 110819)

摘要 发展了一种将自支持膜层层叠加制备多层膜的新方法,并研究了该薄膜对药物释放的调控效果.首先利用聚乙烯醇作为牺牲层制备出聚乳酸自支持膜,然后将聚乳酸自支持膜转移或层层叠加到载药薄膜表面,最后对覆盖有聚乳酸薄膜的载药膜进行药物释放研究.实验结果表明,聚乳酸薄膜对药物的释放起到了明显的调节作用,并且转移的薄膜的控释效果优于原位制备的薄膜,多层叠加的薄膜控释效果强于同等厚度的单层薄膜.这可能是由于转移和叠加的薄膜层与层之间的空隙对药物的释放起到了缓冲作用所致.这种基于自支持膜叠加制备多层膜的方法为药物涂层的研究提供了新思路,在生物材料、医用植入器件等领域都有一定的发展前景.

关键词 层层组装;聚乳酸;自支持膜;阻隔层;药物控释

Fabrication of Poly(lactic acid) Multilayer by Superimposing Free-standing Films for Controlled Drug Delivery

Li, Yan^a Yang, Sheng^b He, Guili^b Jiao, Yonghua^b Fu, Yu^{*,a} Sun, Ting^{*,a}

(^a College of Sciences, Northeastern University, Shenyang 110819)

(^b College of Life and Health Sciences, Northeastern University, Shenyang 110819)

Abstract A new method has been developed to fabricate multilayer films by superimposing free-standing films and the resulting film was utilized as the barrier coating to control the drug release. First, the poly(lactic acid) (PLA) free-standing film was prepared by using polyvinyl alcohol (PVA) as a sacrificial layer. Then the PLA film was transferred or layer-by-layer overlaid on the drug-loaded film. Finally, the drug release process of the as-covered drug-loaded film was investigated. The prepared PLA free-standing film was smooth and robust, and the thickness increased linearly with the solution concentration. It is worth mentioning that on the bottom surface of the PLA film there was the PVA residue from the sacrificial layer, which can't be completely removed. That may facilitate the fabrication of the multilayer by superimposing because the PVA could provide interaction between the layers through hydrogen bonding. The free-standing films with about 50, 100 and 200 nm thickness were transferred and overlaid. The SEM observation shown that the transferred film could fully cover the target surface and the morphology was basically smooth. The thickness of the multilayer film was in agreement with the expected value. All of these indicated that the multilayer fabrication was successful. The multilayer PLA films can efficiently control the drug release. Moreover, the transferred film was more efficient than the *in-situ* spin film and the multilayer film was more efficient than the monolayer film. This may be attributed to the gap between the transferred free-standing films, which holds the released drug, retarding the release rate. The concept to fabricate the multilayer by superimposing free-standing film provides a new approach to control drug release and has great potential in the biological materials and medical implant devices.

Keywords layer-by-layer assembly; poly(lactic acid); free-standing film; blocking layer; controlled release

1 引言

自支持膜由于自身高柔韧性、高透明度以及极大的宽高比等优点受到越来越多学者的关注^[1~5].由具有生物相容性和生物可降解性的高分子为原料制备出的自支持膜更是优点颇多,在组织修复等医学领域表现突

出,已成为生物医学领域研究的热点^[6,7].Greco等^[8]制备出了聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸自支持传导性超薄膜,其可成功的覆盖到纸,有孔氧化铝,钢网,甚至皮肤的表面,在传感以及生物医学领域都有一定的发展潜力.Fujino等^[9]利用可生物降解的左旋聚乳酸为原料制备出的自支持膜,其同样具有极强的组织粘附

* E-mail: fuyu@mail.neu.edu.cn; sun1th@163.com

Received August 8, 2014; published September 6, 2014.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21174024), Program for Liaoning Excellent Talents in University (No. LR2012008), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Nos. N120505005, N120405007, N130305002, N130205001).

项目受国家自然科学基金(No. 21174024)、辽宁省高等学校优秀人才支持计划(No. LR2012008)和中央高校基本科研业务费(Nos. N120505005, N120405007, N130305002, N130205001)资助.

力, 仅仅使用盐水即可转移贴附到兔子的腹膜内部. Okamura 等^[10]将此种左旋聚乳酸自支持膜作为伤口包扎材料用于老鼠胃切口的修复, 过程中不需要使用任何胶粘剂, 而且整个愈合过程没有发生组织粘连, 切口也没有留下伤疤. 这些工作充分显示了自支持膜不依赖基底和胶黏剂的良好附着能力, 这些优点使得自支持膜将在表面改性和包覆、组织修复等领域得到广泛应用^[11].

本论文利用自支持膜的粘附作用, 将制备的自支持膜层层叠加制备了聚乳酸(PLA)多层膜, 并利用该薄膜作为阻隔涂层有效地对药物释放进行了调控. 首先利用聚乙烯醇(PVA)作为牺牲层制备出 PLA 自支持膜, 然后将 PLA 自支持膜层层铺展转移叠加到载药的多层膜表面, 最后对铺有阻隔涂层的载药多层膜进行药物释放研究. 研究表明 PLA 薄膜对药物的释放起到了明显的调节作用, 而且叠加后的薄膜效率更高. 这可能是由于叠加的自支持膜之间存在间隙, 其为药物的释放提供了缓冲的空间, 减缓了药物释放的速度. 这种基于自支持薄膜转移叠加制备多层膜的方法为改善药物突释、调控药物释放速度提供了新的途径, 在生物材料、医用植入器件以及组织工程等领域都有广阔的发展前景^[12-14].

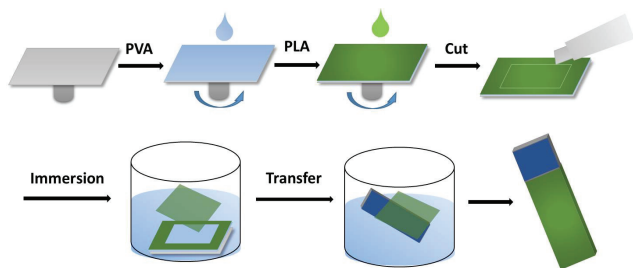


图 1 PLA 多层膜包覆于载药膜的制备过程

Figure 1 The fabrication process of the PLA multilayer on the drug-loaded film

2 结果与讨论

2.1 PLA 自支持膜的制备与表征

我们根据文献, 利用牺牲层法制备了 PLA 自支持膜, 其制备过程如图 1 所示. 大致过程: 首先在基片上制备聚乙烯醇(PVA)牺牲层, 然后在其表面滴加一定浓度的 PLA 三氯甲烷溶液, 利用旋涂法制备 PLA 层, 最后将其浸入水中, 待 PVA 溶解掉后即得到 PLA 自支持膜. 该自支持膜可以用金属圈捞起, 并在空气中稳定存在, 无破裂现象, 如图 2 所示. 这表明该 PLA 自支持膜具有良好的机械强度. 我们用 SEM 对 PLA 自支持膜的表面形貌进行了观察, 如图 3 所示, 自支持膜表面平滑均匀, 无褶皱和突起.

改变 PLA 溶液的浓度可以制备得到不同厚度的自支持膜. 我们使用表面探针式扫描台阶仪对由不同浓度的 PLA 溶液而制备的 PLA 自支持膜的厚度进行了表征,

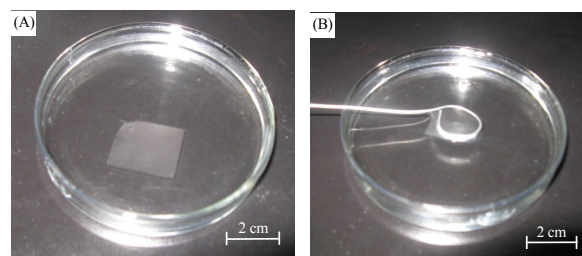


图 2 PLA 自支持膜漂浮于水面(A)和铁环捞起(B)的照片

Figure 2 The photographs of the PLA free-standing films floating on water (A) and lifted-up by an iron hoop (B).

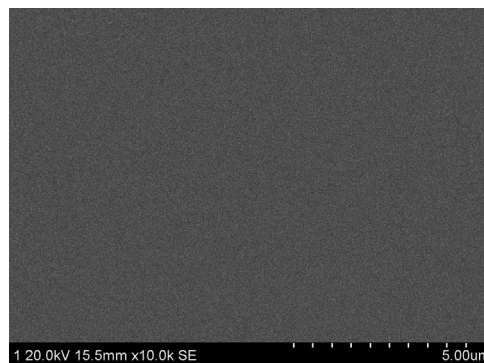


图 3 PLA 自支持膜 SEM 照片

Figure 3 The SEM image of the PLA free-standing film

在浓度为 5 mg/mL 时, 膜的厚度约为 45 nm, 而当浓度增加到 20 mg/mL 时, 膜的厚度增加到 190 nm. 随着 PLA 浓度的增大, 其厚度与 PLA 的浓度基本上呈线性关系, 如图 4 所示. 厚度增加的主要原因来自于浓度增加后溶液粘度的增加.

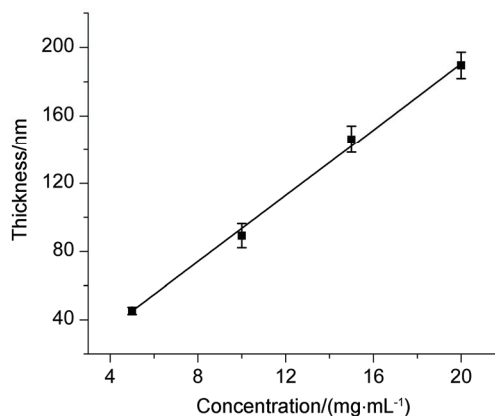


图 4 PLA 自支持膜厚度与 PLA 制备浓度关系图

Figure 4 The relationship of the thickness of the PLA free-standing film with the concentrations of the PLA preparation solutions

为了解牺牲层法制备得到的 PLA 自支持膜表面的化学组成, 我们利用 X 射线光电子能谱(XPS)对 PLA 自支持膜的底面(即 PLA/PVA 交界面)进行了表征. 图 5 为 PLA, PLA 自支持膜以及 PVA 的 XPS O1s 谱图. 从图中可以清楚地看到, PVA 谱图只在 529.3 eV 处有吸收峰, 该峰为聚合物中羟基氧的结合能; PLA 谱图中有两处吸收峰, 分别位于 530.6 eV 与 529.2 eV 处, 分别对应于聚

合物中酯基的羰基氧和羟基氧的结合能. 从 PLA 自支持膜的谱图中可以看出羟基与羰基峰的比值大于 PLA 聚合物的比值, 这可能是由于自支持膜的表面有 PVA 残留而造成的. 为了进一步证实这一点, 我们改变了制备自支持膜时在水中浸润的时间. 从图中我们可以看出当浸润时间从 10 min 延长到 30 min 时, 羟基峰的比例有所降低. 这表明当浸润时间增加时, PVA 的残留量变少了, 符合我们的假设. 我们进一步延长浸润时间发现羟基与羰基峰的比值基本不再发生变化, 这表明 PLA 自支持膜的下表面上会残留有一定量的 PVA.

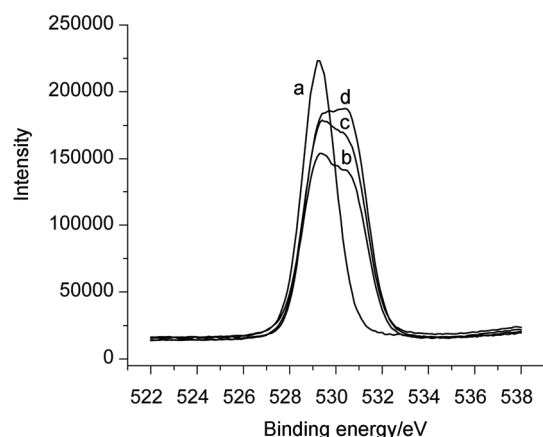


图 5 XPS O1s 谱图: PVA (a), PLA 自支持膜在水中浸泡 10 min (b) 和 30 min (c), PLA (d)

Figure 5 The XPS O1s spectra of the PVA polymer (a), the PLA free-standing films after immersion in water for 10 min (b) and 30 min (c), the PLA polymer (d)

2.2 PLA 自支持膜的转移与叠加

由于本工作拟研究 PLA 膜对药物释放的阻隔作用, 因此选择 PAH-D/HA 载药膜^[15,16]为基底进行 PLA 自支持膜的转移和叠加. 首先通过牺牲层法可制备得到漂浮于水面的 PLA 自支持膜, 然后将载药膜基底伸入水下, 再缓慢提出水面可使 PLA 自支持膜均匀覆盖在基片上, 室温干燥后, PLA 膜即被转移到载药膜表面上. 重复这一过程便可完成 PLA 自支持膜的叠加. 我们用 SEM 对转移与叠加后的表面形貌进行了观察, 如图 6 所示. 从图中可以看出, 当 PLA 自支持膜(5 mg/mL)转移包覆 1 层时, 由于 PLA 自支持膜厚度小、粘性大, 其可完全贴附于 PAH-D/HA 载药膜的表面, 仍然能较明显的观察到载药膜表面的凹凸不平. 随着叠加层数的增加, 包覆表面逐渐变得光滑与平整. 叠加 4 层后, 表面除了有一些由于叠加操作而产生的微小的褶皱之外, 已经十分光滑平整, 而且 PLA 自支持膜可完全覆盖载药膜.

PLA 自支持膜转移或叠加之后膜的厚度没有发生变化. 如表 1 所示, 20 mg/mL PLA 自支持膜转移后厚度为 190 nm, 与转移前厚度一致. 而分别叠加了 2 次和 4 次的 10 mg/mL 和 5 mg/mL 的自支持膜的厚度为 225 和 209 nm, 单层厚度分别为 115 和 53 nm, 与转移前基本

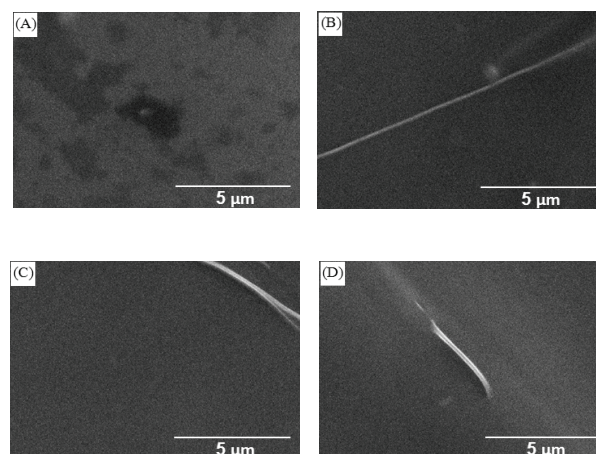


图 6 PAH-D/HA 膜上包覆不同层数 PLA 膜的 SEM 照片, 分别为 1, 2, 3 和 4 (从 A 到 D)

Figure 6 The SEM images of the PLA films on the PAH-D/HA film with different layers of 1, 2, 3 and 4 (from A to D)

对应, 但有所增大, 这可能是因为叠加过程中两层之间贴合的不完全, 存在微小的间隙和褶皱造成的. 以上结果都表明自支持膜可以完整地转移和叠加, 膜结构在此过程中没有受到明显的破坏.

表 1 转移方式制备的 PLA 膜的厚度

Table 1 The thickness of the transfer PLA films

转移层数	PLA 浓度/(mg·mL ⁻¹)	厚度/nm
1	20	192 ± 21
2	10	225 ± 35
4	5	209 ± 25

2.3 PLA 自支持膜的药物控释作用

由于 PLA 具有良好的生物相容性、生物可降解性、代谢产物无毒副作用等特点, 因此 PLA 自支持膜及其转移叠加制备的薄膜可以作为理想的药物控释涂层使用. 我们以载有模型分子甲基橙的 PAH-D/HA 多层膜为载药膜^[8], 将制备得到的 PLA 自支持膜转移叠加在载药膜表面作为控释涂层, 研究这种可生物降解的自支持膜对甲基橙释放的影响.

无控释涂层的载药膜的药物释放曲线如图 7 中曲线 a 所示. 从图中可以很清晰地看出, 在 0~6 h 之间药物出现明显的突释现象, 随后释放曲线趋于平缓. 释放进行到 24 h 后, 载药膜中的药物基本释放完全, 释放百分比达 97.2%.

覆盖有转移或叠加 PLA 膜的载药膜的药物释放曲线如图 7 中曲线 c 和 d. 从图中可以看出, PLA 控释涂层对甲基橙的突释现象均起到了明显的减缓效果, 24 h 后的释放百分比也明显减小, 这说明此 PLA 控释涂层对药物缓释能够起到积极的作用. 我们用 SEM 对释放 24 h 后的叠加 4 层 5 mg/mL PLA 膜的载药膜表面形貌进行观察, 如图 8 所示. 在低倍率下可以观察到 PLA 膜表面

出现了一些褶皱;在高倍率下可发现 PLA 膜表面并没有发生破损. 这表明 PLA 膜在释放后仍然保持完整, 而药物的释放主要依靠的是渗透作用. 进一步比较曲线 c 和 d 可知, 转移包覆 1 层 20 mg/mL PLA 膜 24 h 后的释放百分比为 32.5%. 尽管 4 层 5 mg/mL PLA 膜与 1 层 20 mg/mL PLA 膜在总厚度上基本一致(两者的膜厚度分别为 210 和 190 nm), 但释放进行 24 h 后, 叠加 4 层 5 mg/mL PLA 膜的载药膜的释放百分比仅为 18.7%, 显著小于包覆 1 层 20 mg/mL PLA 膜的释放量. 同时, 我们对直接旋涂与转移两种方式得到的 PLA 膜对甲基橙释放的影响. 直接旋涂 1 层 20 mg/mL PLA 膜(曲线 b)在释放 24 h 后的释放百分比为 48.5%, 释放量明显大于转移叠加 1 层 20 mg/mL PLA 膜(曲线 c)32.5%的释放量, 说明与直接旋涂方式相比, 转移方式的控释效果更好.

以上的释放结果说明, 通过转移叠加得到的 PLA 膜不但可以防止药物前期的突释现象, 更能有效地控制药物的释放行为. 这种多层 PLA 膜具有良好的控释效果的原因可能是由于层层之间贴合不紧密而形成的微小缝隙所致, 这些缝隙对药物释放具有缓冲作用, 减缓了释放速度, 这也是多层薄膜具有更好的控释效果的原因.

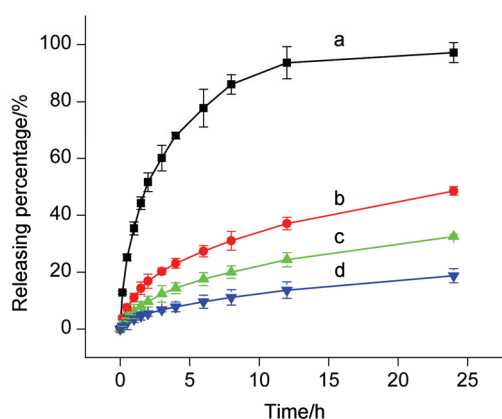


图 7 不同释放系统的释放曲线图: 无 PLA 膜(a), 原位旋涂 1 层 PLA 膜(20 mg/mL)(b), 转移 1 层 PLA 膜(20 mg/mL)(c), 转移 4 层 PLA 膜(5 mg/mL)(d)

Figure 7 The releasing curves of the drug delivery system without the PLA film (a) and with one-layer *in-situ* spin-coated PLA (20 mg/mL) film (b), one-layer transferred PLA (20 mg/mL) film (c), four-layer transferred PLA (5 mg/mL) film (d)

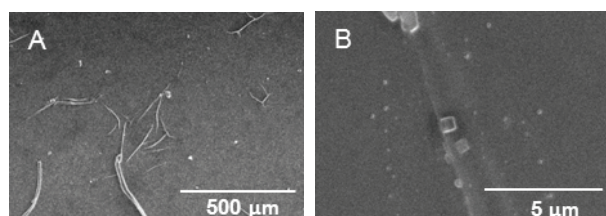


图 8 转移 4 层 PLA 膜(5 mg/mL)释放后 SEM 照片, (A)100×, (B)10000×

Figure 8 The SEM images of four-layer transferred PLA (5 mg/mL) film after releasing. (A) 100×, (B) 10000×

3 结论

本研究发展了一种利用自支持膜转移叠加制备药物控释涂层的新方法. 实验结果表明该药物控释涂层可以有效地降低前期药物突释, 控制药物释放速度, 而其控释效果与叠加层数相关, 叠加层数越多阻释效果越好. 该方法在生物材料、医用植入器件以及组织工程等领域都有一定的应用前景.

4 实验部分

4.1 PLA 自支持膜的制备

在 3.5 cm×2.5 cm 的玻璃片上滴加 1 mL 的 PVA(2 wt%), 4000 r/min 旋涂 20 s, 80 °C 烘干 2 min. 以此为牺牲层, 再将一定浓度的 1 mL 的 PLA 的三氯甲烷溶液滴于 PVA 层上, 4000 r/min 旋涂 20 s, 80 °C 烘干 2 min. 最后, 将基片表面的薄膜用手术刀切割成 2.5 cm×2.3 cm 的长方形, 并将其放于水中静置 10 min, 待 PVA 层溶解后即可得到漂浮的 PLA 自支持膜^[17].

4.2 PAH-D/HA 载药多层膜的制备

PAH-D/HA 载药多层膜根据文献[15]报道的方法制备, 大致过程如下: 将羟基化的石英片放入 PAH-D 溶液(1 mg/mL, pH=7.4)中浸泡 20 min, 然后用去离子水浸洗 2 次, 每次 1 min, N₂ 吹干; 再将石英片放入 HA 溶液(1 mg/mL, pH=7.4)中浸泡 20 min, 取出后用去离子水浸洗 2 次, 每次 1 min, N₂ 吹干. 循环以上操作 10 次即可制备得到(PAH-D/HA)*10 层层组装多层膜. 将此多层膜浸泡于甲基橙溶液(15 mmol/L, pH=7.0)中 30 min, 取出后 25 °C 烘干, 然后用去离子水浸洗 2 次, 每次 1 min, 25 °C 烘干, 即可制备得到 PAH-D/HA 载药多层膜.

4.3 PLA 自支持膜的叠加

将 PAH-D/HA 载药多层膜伸入到漂浮在水面上的 PLA 自支持膜下方, 缓慢抬起直至高出水面, 然后 25 °C 干燥 30 min, PLA 自支持膜便转移覆盖至载药多层膜表面. 重复此操作即可得到叠加了自支持薄膜的多层膜.

4.4 药物释放

将包覆 PLA 自支持膜的 PAH-D/HA 载药多层膜浸于 3 mL 的 0.9% 生理盐水中, 37 °C 恒温水浴. 间隔一定时间, 更换生理盐水. 对释放有药物的生理盐水溶液进行 UV-vis 吸收光谱测量, 记录 464 nm(甲基橙特征吸收峰)处的吸光度, 计算出溶液中甲基橙的含量和累积释放百分率, 并绘制体外释放曲线.

References

- [1] Cheng, W. L.; Campolongo, M. J.; Tan, S. J.; Luo, D. *Nano Today* **2009**, *4*, 482.
- [2] Cheng, W. L.; Campolongo, M. J.; Cha, J. J.; Tan, S. J.; Umbach, C. C.; Muller, D. A.; Luo, D. *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 519.
- [3] Vendamme, R.; Onoue, S. Y.; Nakao, A.; Kunitake, T. *Nat. Mater.*

- 2006, 5, 494.
- [4] Peng, X.; Jin, J.; Nakamura, Y.; Ohno, T.; Ichinose, I. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 353.
- [5] Yuan, J.; Liu, X.; Akbulut, O.; Hu, J.; Suib, S. L.; Kong, J.; Stelacci, F. *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 332.
- [6] Fujie, T.; Matsutani, N.; Kinoshita, M.; Okamura, Y.; Saito, A.; Takeoka, S. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19(16), 2560.
- [7] Fujie, T.; Saito, A.; Kinoshita, M.; Miyazaki, H.; Ohtsubo, S.; Saitoh, D.; Takeoka, S. *Biomaterials* **2010**, 31(24), 6269.
- [8] Greco, F.; Zucca, A.; Taccola, S.; Menciassi, A.; Fujie, T.; Haniuda, H.; Takeoka, S.; Dario, P.; Mattoli, V. *Soft Matter* **2011**, 7(11), 10642.
- [9] Fujino, K.; Kinoshita, M.; Saitoh, A.; Yano, H.; Nishikawa, K.; Fujie, T.; Iwaya, K.; Kakihara, M.; Takeoka, S.; Saitoh, D.; Tanaka, Y. *Surg. Endosc.* **2011**, 25(10), 3428.
- [10] Okamura, Y.; Kabata, K.; Kinoshita, M.; Saitoh, D.; Takeoka, S. *Adv. Mater.* **2009**, 21(43), 4388.
- [11] Zhao, S.; Hu, C. Y.; Chen, X. Y.; Zhou, J.; Jiao, Y. H.; Zhang, K.; Fu, Y. *Soft Matter* **2012**, 8, 937.
- [12] Fu, Y.; Chen, H.; Bai, S. L.; Huo, F. W.; Wang, Z. Q.; Zhang, X. *Chin. J. Polym. Sci.* **2003**, 21, 499.
- [13] Fu, Y.; Yang, M.; Li, Y.; Zhong, C. B.; Jiao, Y. H.; Lin, A. L.; *Chem. J. Chin. Univ.* **2012**, 33, 2779. (付昱, 杨敏, 李妍, 仲崇斌, 焦永华, 林奥雷, 高等学校化学学报, **2012**, 33, 2779.)
- [14] Jiang, Y.; Wu, P. Y. *Acta Chim. Sinica* **2008**, 66, 1265. (江艳, 武培怡, 化学学报, **2008**, 66, 1265.)
- [15] Wang, L.; Chen, D. D.; Sun, J. Q. *Langmuir* **2009**, 25(14), 7990.
- [16] Chen, D. D.; Wang, L.; Sun, J. Q. *Acta Chim. Sinica* **2012**, 70, 1779. (陈栋栋, 王林, 孙俊奇, 化学学报, **2012**, 70, 1779.)
- [17] Ricotti, L.; Taccola, S.; Pensabene, V.; Mattoli, V.; Fujie, T.; Takeoka, S.; Menciassi, A.; Dario, P. *Biomed. Microdevices* **2010**, 12(5), 809.

(Cheng, F.)