

# mPEG-PLGA 多孔微球的制备及其对降钙素的吸附行为

张慧霞<sup>1,2</sup>, 王玉霞<sup>2</sup>, 韦祎<sup>2</sup>, 阮燕晔<sup>1</sup>, 马光辉<sup>2</sup>

(1. 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161; 2. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100190)

**摘要:**以聚乙二醇-聚(乳酸-乙醇酸)共聚物(mPEG-PLGA)为材料,采用溶剂挥发法与快速膜乳化法制备了尺寸均一的 mPEG-PLGA 多孔微球,用其吸附降钙素,考察了降钙素浓度、吸附时间、离子浓度、温度及 pH 值及微球性质对吸附的影响.结果表明,优化的吸附条件为:降钙素浓度 1.0 mg/mL, pH 7.4, NaCl 浓度 0.2 mol/L, 14 ℃ 下吸附 8 h, 该条件下,微球吸附量为 48.9 mg/g;吸附量与微球比表面积正相关.

**关键词:** mPEG-PLGA; 多孔微球; 降钙素; 吸附; 比表面积

**中图分类号:** R944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2013)05-0870-07

## 1 前言

多孔微球是一种新型缓/控释药给药载体,具有载药方式温和、保护药物免遭破坏、控制药物释放速度、延长药物作用时间、减少药物不良反应及降低用药量等优点<sup>[1-5]</sup>.多孔微球材料来源广泛,种类繁多,主要可分为天然高分子材料(如淀粉、壳聚糖等)、无机材料(如二氧化硅、羟基磷灰石等)和合成聚合物材料[如聚乳酸、聚(乳酸-羟基乙酸)等]<sup>[4-9]</sup>.其中生物可降解材料因安全无毒、降解产物能参与体内代谢等优点而被广泛应用.

采用传统方法所制多孔微球粒径分布较宽<sup>[10-12]</sup>,需加入制孔剂才能成孔且孔径不易控制<sup>[13,14]</sup>.快速膜乳化作为一种新型的膜乳化技术,所制微球粒径分布均一,且重复性较好,利于提高微球制备的重复性、体外释药及体内药效批次间的重复性.

为实现在不加入任何制孔剂的条件下制备粒径均一且孔径可控的多孔微球,本研究采用聚乙二醇-聚(乳酸-乙醇酸)共聚物[mPEG-PLGA, Methoxy Poly(ethylene glycol-L-lactic-co-glycolic acid)]为膜材,通过溶剂挥发法结合膜乳化技术<sup>[15,16]</sup>制备多孔微球. mPEG-PLGA 是由亲水性链段 mPEG (Methoxy Polyethylene Glycol)和疏水链段 PLGA [Poly(L-lactic-co-glycolic acid)]聚合而成,具有良好的生物降解性和生物相容性<sup>[5]</sup>,已有许多研究采用此材料通过包埋法制备载药微囊,但包埋过程中蛋白与油水界面接触及初乳制备过程中均质、超声产生的高剪切力容易使蛋白降解或聚集,导致其活性降低,甚至引起免疫原性<sup>[17,18]</sup>.以 mPEG-PLGA 为膜材采用溶剂挥发法制备微球时,在初

乳化过程中,亲水性链段伸展于水相,疏水性链段伸展于油相,随溶剂挥发油相去除,内水相间合并可形成多孔结构,在不加任何制孔剂的条件下成功制备多孔微球,为后续的临床应用提供安全保障.

降钙素(Calcitonin, CT)是一种含 32 个氨基酸的直线型多肽类激素,分子量为 3431.85 Da,在人体中由甲状腺的滤泡旁细胞(Parafollicular cell, C 细胞)产生和分泌,是人体生化代谢活动中的一种重要激素.它与维生素 D、甲状旁腺激素协同作用可减低血液中钙、磷浓度,同时能显著降低高周转性骨病的骨钙丢失,可用于治疗骨质疏松症、变形性骨病及中度至重度症状明显的畸形性骨炎等疾病<sup>[19-21]</sup>.从鲑鱼甲状腺中提取的鲑鱼降钙素(Salcatonin)常被用于降低血钙<sup>[22,23]</sup>,是很有价值的模型药物.

本研究以生物可降解的聚乙二醇-聚(乳酸-乙醇酸)共聚物(mPEG-PLGA)为材料,采用溶剂挥发法结合快速膜乳化技术制备了尺寸均一的 mPEG-PLGA 多孔微球,用其吸附鲑鱼降钙素,研究多肽在微球表面的吸附行为,探讨影响其吸附量的关键因素和规律.与包埋法所制降钙素微囊的载药量(1.9 mg/g)<sup>[24]</sup>相比,本研究所制微球的载药量更高,作为药物载体具有很好的应用前景,为多孔微球应用于动物细胞培养、固定化酶和生物大分子分离纯化等领域奠定了基础.

## 2 实验

### 2.1 材料与试剂

mPEG-PLGA(济南岱罡生物技术有限公司,储存于低温干燥环境中),降钙素(深圳瀚宇药业股份有限公司).

收稿日期: 2013-05-21, 修回日期: 2013-06-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 51173187, 20706053)

作者简介: 张慧霞(1988-),女,山西省阳泉市人,硕士研究生,生物化学与分子生物学专业;韦祎,通讯联系人, Tel: 010-82545002, E-mail: ywei@home.ipe.ac.cn.

聚乙烯醇[Poly(vinyl alcohol), PVA, 日本 Kuraray 公司]、二氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司)均为分析纯, 直接使用. 微孔玻璃(Shriasu Porous Glass, SPG)膜(日本 SPG Technology 公司).

## 2.2 实验仪器

快速膜乳化装置为自主研发, RCT Basic 磁力搅拌器(德国 IKA 公司), T18 均质机(德国 IKA 公司), Labconco Free Zone 6 冻干机(美国 Dura.Dry TMMP 公司), 3K30 高速离心机(美国 Sigma 公司), Mastersizer

2000E 激光粒度分析仪(英国马尔文公司), LSM 6700F 扫描电子显微镜(日本 JEOL 公司), ASAP 2000 全自动比表面分析仪(美国 Micromeritics 公司), 紫外分光光度计(上海谱元仪器有限公司).

快速膜乳化装置及膜乳化过程如图 1<sup>[25]</sup>所示. 首先通过均质、超声等方法制备  $W_1/O$  初乳液, 将初乳液倒入含乳化剂的外水相中, 通过机械搅拌制备粒径较大的  $W_1/O/W_2$  预复乳液, 再通过较高的膜压将预复乳液迅速压过膜孔, 最终形成均一的乳液滴, 固化得到微球.

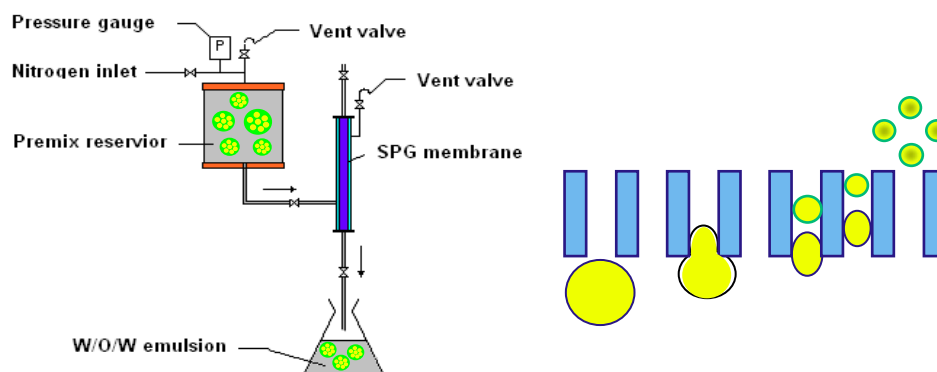


图 1 快速膜乳化装置及其乳液制备示意图<sup>[25]</sup>

Fig.1 Schematic diagram of miniature kit and principle of premix membrane emulsification<sup>[25]</sup>

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 多孔微球的制备

采用快速膜乳化装置制备多孔微球. 首先将一定量去离子水(内水相,  $W_1$ )加入含 mPEG-PLGA 材料的二氯甲烷(油相, O)中, 6000 r/min 转速下均质形成初乳, 将初乳液倒入 PVA 溶液(外水相,  $W_2$ )中, 磁力搅拌预乳化 60 s 得预复乳液; 将预复乳液倒入快速膜乳化装置的储存罐中, 在 20 kPa 氮气压力下压过 SPG 膜, 得到复乳液, 再将复乳液 300 r/min 磁力搅拌 5 h, 固化得到微球.

### 2.3.2 微球粒径及分布测定

微球体积平均粒径和粒径分布系数  $S_{pan}$  采用激光粒度仪测定. 将微球悬浮于去离子水中使其均匀分散, 取约 200  $\mu$ L 滴到装有自来水的样品槽中, 搅拌桨转动带动样品吸入激光通道中. 每隔 15 s 测定一次, 共测定 3 次, 由机器自动拟合给出平均值.  $S_{pan}$  值越小, 表明样品的均一性越好.

$$S_{pan}=(d_{90}-d_{10})/d_{50}, \quad (1)$$

式中,  $d_{10}$ ,  $d_{50}$  和  $d_{90}$  为样品体积占 10%, 50% 和 90% 时的粒径.

### 2.3.3 表面形态观察

将一定量微球悬浮液滴在铝箔上, 均匀摊开, 自然

晾干. 将铝箔用导电胶贴于样品台, 在真空条件下以 80 mV, 30 s 喷金 2 次, 用扫描电子显微镜观察.

### 2.3.4 多孔微球孔径及表面积测定

将约 100 mg 冻干微球装入样品管中, 40  $\mu$ m 真空脱气 4 h, 采用  $N_2$  吸附脱附法测定样品的孔结构, 结果用 Barrett-Joyner-Halenda(BJH)法进行分析<sup>[26]</sup>. 分别测定 3 个不同批次的样品, 取平均值.

### 2.3.5 吸附量的测定

考察多孔微球对鲑鱼降钙素的吸附效果. 首先绘制多肽溶液的标准曲线, 所有的吸附实验均在 25  $^{\circ}$ C 下 0.01 mol/L Tris-HCl 缓冲液中进行. 将 50 mg 微球加入 5.0 mL 含 0.2 mol/L NaCl 的多肽缓冲液中(pH 7.6)振荡吸附 48 h, 离心取上清, 用紫外分光光度计测定其在 275 nm 处的吸收率, 计算吸附量  $q$ (mg/g)<sup>[4]</sup>:

$$q=(C_0-C_1)V/W, \quad (2)$$

式中,  $C_0$ ,  $C_1$  为吸附前后多肽溶液浓度(mg/mL),  $V$  为溶液体积(mL),  $W$  为微球质量(g).

## 3 结果与讨论

### 3.1 mPEG-PLGA 微球

以 mPEG-PLGA 为材料, 采用快速膜乳化法与溶剂挥发法制备粒径均一的多孔 mPEG-PLGA 微球, 其

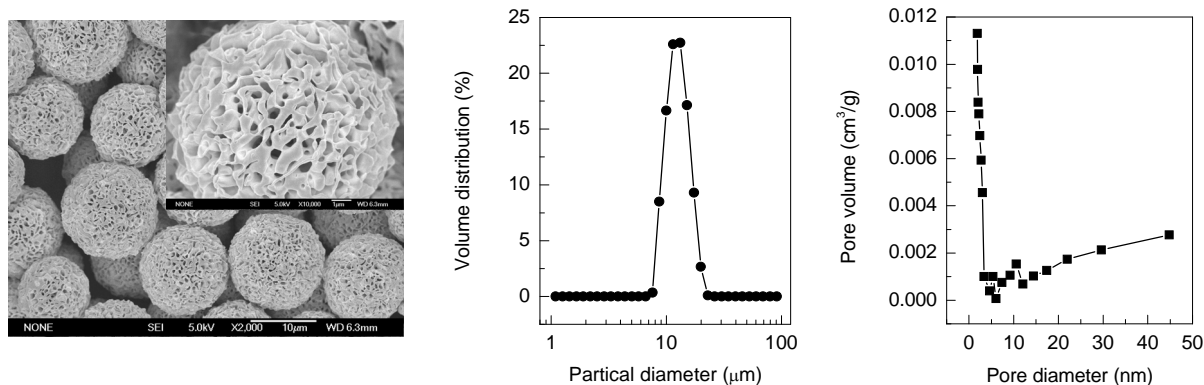


图 2 微球的形貌、粒径及孔径分布

Fig.2 SEM image, size distribution and pore distribution of porous microspheres

形貌及粒径和孔径分布如图 2 所示,可以看出,所制微球形较好,粒径约 10  $\mu\text{m}$ ,  $S_{\text{pan}}$  值为 0.715,表面具有多孔结构,孔分布均匀,平均孔径为 7.27 nm,可用于吸附药物。

### 3.2 吸附条件对微球吸附量的影响

以多孔微球吸附降钙素,考察降钙素浓度、吸附时间、吸附温度及 pH 值对吸附量的影响。

#### 3.2.1 降钙素初始浓度对吸附量的影响

药物浓度会影响固相与液相之间的浓度差,进而影响吸附量。降钙素初始浓度对微球吸附量的影响如图 3 所示,可以看出,吸附量随降钙素初始浓度增加而增加,降钙素初始浓度较低时吸附量增加较明显,较高时吸附量增加变缓。这主要是由于随降钙素浓度增加,微球的内外表面对降钙素的吸附增加,直至达到饱和状态。再增加降钙素浓度,由于受微球孔结构的限制,吸附量不会发生太大变化,同时会造成药物浪费。因此,1.25 mg/mL 为最优降钙素浓度。

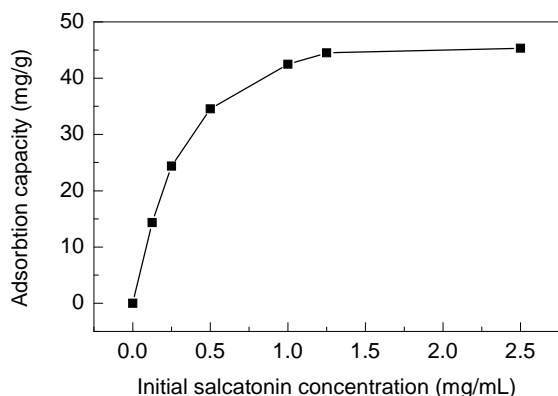


图 3 药物初始浓度对其吸附量的影响

Fig.3 Effect of initial salcatonin concentration on its adsorption

#### 3.2.2 吸附时间对多孔微球吸附量的影响

微球对蛋白的吸附过程为动态平衡过程,吸附达到

平衡时吸附量不再增加。由图 4 可知,当吸附时间为 8 h 时,微球吸附量达到饱和。这是因为吸附开始时液相中蛋白浓度较高,液相和固相间的浓度差大,0~8 h 吸附速率较高,8 h 时吸附量最大;吸附继续进行,溶液中的降钙素浓度逐渐减小,液相和固相的浓度差减小,最终吸附量下降。8 h 为最优吸附时间。

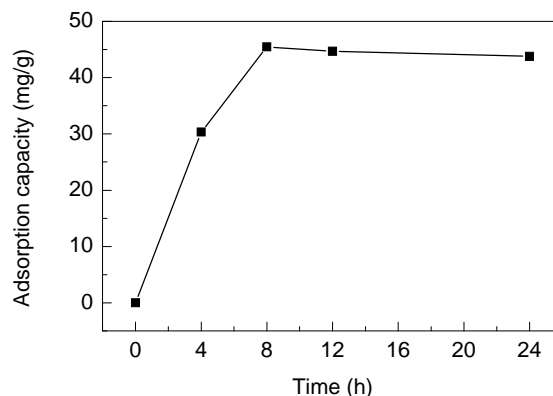


图 4 吸附时间对吸附量的影响

Fig.4 Effect of time on salcatonin adsorption

#### 3.2.3 温度对吸附量的影响

微球与蛋白之间的吸附为物理吸附过程,吸附速度较快,所需活化能较小,因此,低温有利于其吸附。但温度太低时,达不到吸附所需的最小活化能,吸附量较低。由表 1 可知,温度为 14 时吸附量最高。

表 1 温度对微球吸附量的影响

Table 1 Effect of temperature on salcatonin adsorption

Temperature (°C)	4	14	24	34
Adsorption capacity (mg/g)	43.4	46.6	45.1	43.9

#### 3.2.4 pH 值对吸附量的影响

本实验所制微球带负电荷,所选体系的 pH 值应使降钙素带正电荷,才有利于其吸附。降钙素的等电点  $\text{pI}=9.47$ ,因此选择体系 pH 9.4,吸附结果如表 2 所示。

可以看出, pH=7.4 时吸附量最高. 这是由于 pH=pI 时, 蛋白易沉淀析出, 不利于吸附; 随 pH 值降低, 降钙素所带正电荷增加, 有利于蛋白吸附, 吸附量提高; pH<7.4 会影响微球上—COOH 的解离, 从而使微球所带负电荷减少, 吸附量降低.

表 2 pH 值对吸附量的影响

pH value	5.4	6.5	7.4	8.2	9.4
Adsorption capacity (mg/g)	42.2	44.5	47.1	45.8	40.1

### 3.2.5 离子强度对吸附量的影响

不同离子强度下微球对降钙素的吸附量如图 5 所示, 可以看出, NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时吸附量最高. 这是因为盐离子与蛋白质中带电氨基酸的特殊作用不仅影响蛋白质分子的大小, 而且会影响其构象、稳定性和功能. NaCl 浓度太小时, 不利于蛋白解离, 吸附量较小; NaCl 浓度增加, 蛋白质构象发生变化, 使微球与蛋白之间的静电作用减弱, 疏水作用增强, 因此吸附量增加; 但 NaCl 浓度增加到 0.4 mol/L 时, 蛋白易聚集, 不利于微球对药物的吸附.

综合以上结果, 确定微球吸附降钙素的最佳条件为: 降钙素浓度 1.0 mg/mL, pH 7.4, NaCl 浓度 0.2 mol/L,

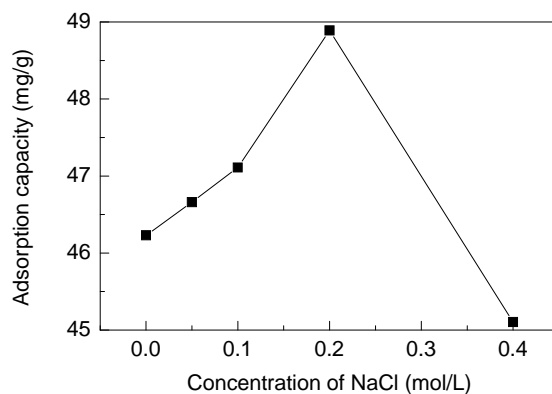


图 5 NaCl 浓度对吸附量的影响

Fig.5 Effect of NaCl concentration on salcatonin adsorption

温度 14 °C 下吸附 8 h, 该条件下, 微球吸附量达 48.9 mg/g.

### 3.3 微球性质对吸附量的影响

采用不同孔径的 SPG 膜(2.8, 5.2, 9, 18 μm)制备了粒径分别为 1.4, 3.7, 5.1, 11.6 μm 的微球, 其形貌及粒径分布如图 6 所示. 可以看出, 不同孔径 SPG 膜所制微球的孔结构变化很大, 3.7 μm 的微球为开孔结构[图 6(b)], 不利于吸附蛋白, 蛋白质只能吸附在微球表面, 吸附量较低; 其他 3 种微球均具有多孔结构.

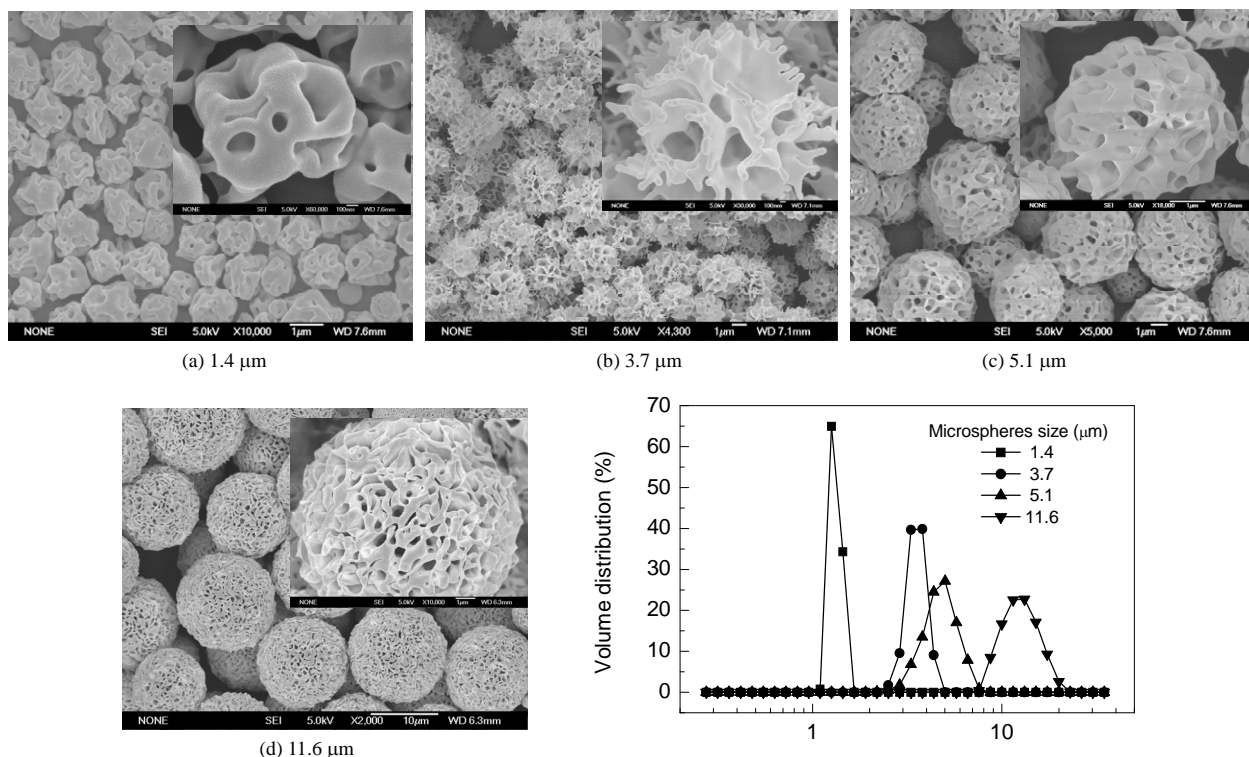


图 6 不同 SPG 膜所制微球的形貌及粒径分布

Fig.6 SEM images and size distribution of microspheres prepared by different SPG membranes

采用 BET 法对微球的孔结构进行表征并考察 4 种微球的吸附量, 结果如表 3 所示. 微球粒径为 3.7 μm 时,

吸附量最低, 为 17.6 mg/g; 微球粒径为 5.1 μm 时, 吸附量最高, 为 52.9 mg/g. 微球的吸附量与其比表面积成

正相关,这是由于比表面积较大时,微球与蛋白之间的吸附位点较多,吸附量较高。

表 3 不同孔径 SPG 膜所制微球的粒径及其分布、平均孔径、比表面积及吸附量

Table 3 Particle size and distribution, pore size, specific surface area and adsorbed capacity to protein of microspheres prepared with different SPG membranes

SPG membrane pore size (μm)	2.8	5.2	9	18
Particle size (μm)	1.4	3.7	5.1	11.6
$S_{pan}$	0.107	0.276	0.522	0.573
Particle pore size (nm)	5.83	4.36	6.44	7.27
Specific surface area (m <sup>2</sup> /g)	8.82	7.26	18.3	9.69
Adsorption capacity (mg/g)	35.7	17.6	52.9	48.9

### 3.4 吸附机理

#### 3.4.1 吸附热力学

最常见的描述吸附平衡关系的数学模型为 Langmuir 方程:

$$q = q_m C / (K_L + C), \quad (3)$$

式中,  $q_m$  为单层饱和吸附量(mg/g),  $C$  为溶液中多肽浓度(mg/mL),  $K_L$  为解离常数,是解吸与吸附的反应速率

常数的比值. Langmuir 方程可改写为

$$q^{-1} = q_m^{-1} + K_L / (q_m C). \quad (4)$$

Langmuir 方程的假设条件较苛刻,实际应用中难以达到,需对其进行修正.一般采用的修正模型为 Langmuir-Freundlich 模型,其方程式为

$$q = q_m K C^{1/n} / (1 + K C^{1/n}), \quad (5)$$

式中,  $K$  是吸附常数,为吸附速率与脱附速率的比值,  $K$  值越大,说明吸附速率比脱附速率越大;  $n$  为常数(0.5~0.6). 上式可改写为

$$q^{-1} = q_m^{-1} + (q_m K C^{1/n})^{-1}. \quad (6)$$

根据式(4), (6)对不同浓度的降钙素在微球上的吸附进行拟合,所得吸附等温线如图 7 所示,由拟合曲线得到的回归方程及相关参数如表 4 所示.可以看出, Langmuir 和 Langmuir-Freundlich 模型均能对吸附数据进行较好拟合,但 Langmuir-Freundlich 模型的拟合结果与实验值更接近,拟合结果更可靠。

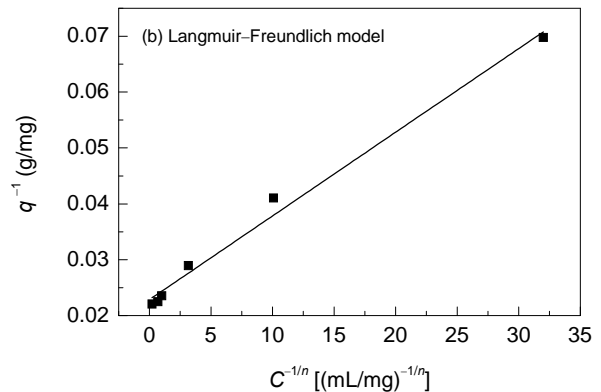
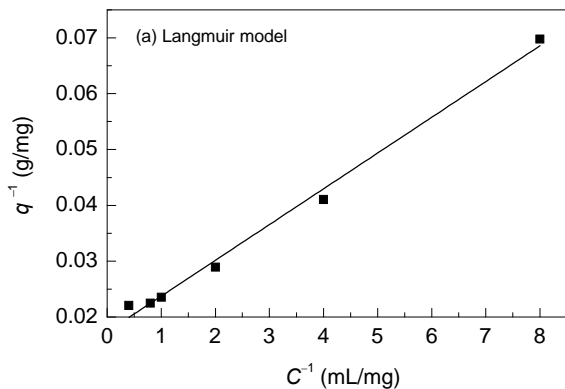


图 7 拟合的吸附等温线

Fig.7 Linear fitting of the adsorption isotherms

表 4 拟合方程及相关参数

Table 4 Linear regression equations and parameters

Model	Regression equation	$q_m$ (mg/g)	$R^2$
Langmuir	$q^{-1} = 0.0173 + 0.0064C^{-1}$	156.2	0.9919
Langmuir-Freundlich	$q^{-1} = 0.0186 + 0.0015C^{-5/3}$	53.7	0.9906

#### 3.4.2 吸附动力学

多孔聚合物微球内部有许多孔,降钙素在其上的吸附过程十分复杂,可分为三步,如图 8<sup>[27]</sup>所示:(1)降钙素从流体主体通过扩散(分子扩散与对流扩散)传递到多孔微球的外表面,称为外扩散(或膜扩散).降钙素与多孔微球接触时,在紧贴降钙素表面处有一层滞流膜,该步骤的速率主要取决于降钙素以分子扩散通过滞流膜的传递速率;(2)降钙素从多孔微球外表面通过微球的孔

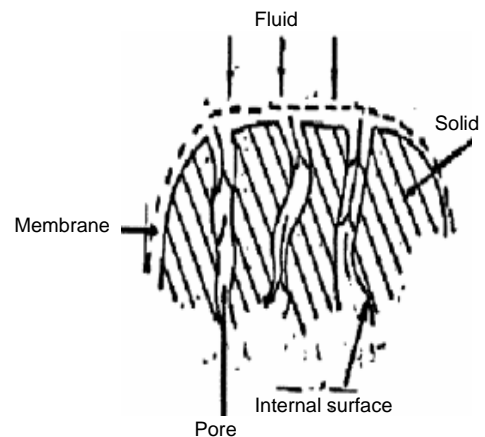


图 8 吸附机理<sup>[27]</sup>

Fig.8 Schematic diagram of adsorption mechanism<sup>[27]</sup>

扩散进入微球内部，到达微球内表面，称为内扩散(或粒扩散)；(3)降钙素在微球内表面被吸附。

## 4 结论

以 mPEG-PLGA 为材料，采用溶剂挥发法结合快速膜乳化法制备了尺寸均一的多孔微球，研究了不同条件下其对降钙素的吸附行为，得出以下结论：

(1)采用快速膜乳化结合溶剂挥发法技术，在不加入任何制孔剂的情况下，可成功制备 mPEG-PLGA 多孔微球。

(2)微球吸附降钙素的最佳条件为：降钙素浓度 1.0 mg/mL，pH 7.4，NaCl 浓度 0.2 mol/L，14 下吸附 8 h，该条件下，微球吸附量达 48.9 mg/g。

(3)吸附量与微球比表面积成正比相关。

(4)采用 Langmuir 模型及 Langmuir-Freundlich 模型描述鲑鱼降钙素的吸附，Langmuir-Freundlich 方程拟合的相关系数更高，结果更可靠。

### 参考文献：

- [1] 赵玉增, 白锋, 黄文强. 聚二乙烯基苯微球的合成及其表征研究 [J]. 高分子学报, 2004, (6): 410-414
- [2] Ehtezazi T, Washington C. Controlled Release of Macromolecules from PLA Microspheres: Using Porous Structure Topology [J]. J. Controlled Release, 2000, 68(3): 361-372.
- [3] Niu X F, Feng Q L, Wang M B. *In vitro* Degradation and Release Behavior of Porous Poly(lactic acid) Scaffolds Containing Chitosan Microspheres as a Carrier for BMP-2-derived Synthetic Peptide [J]. Polym. Degrad. Stab., 2009, 94(2): 176-182.
- [4] Dai C L, Wang Y J, Hou X. Preparation and Protein Adsorption of Porous Dextran Microspheres [J]. Carbohydr. Polym., 2012, 87(3): 2338-2343.
- [5] Patel B, Gupta V, Ahsan F. PEG-PLGA Based Large Porous Particles for Pulmonary Delivery of a Highly Soluble Drug, Low Molecular Weight Heparin [J]. J. Controlled Release, 2012, 162(2): 310-320.
- [6] 李凤红, 张宝砚, 李颖祎. 生物医用功能材料前驱体壳聚糖接枝聚己内酯的制备与表征 [J]. 功能材料, 2008, 9(39): 1511-1514.
- [7] Hou X, Wang X K, Gao B. Preparation and Characterization of Porous Polysucrose Microspheres [J]. Carbohydr. Polym., 2008, 72(2): 248-254.
- [8] Zhang H, Ju X J, Xie R. A Microfluidic Approach Fabricate Monodisperse Hollow or Porous Poly(HEMA-MMA) Microspheres Using Single Emulsions as Templates [J]. J. Colloid Interface Sci., 2009, 336(1): 235-243.
- [9] Du J J, Chen W, Zhang C. Hydrothermal Synthesis of Porous TiO<sub>2</sub> Microspheres and Their Photocatalytic Degradation of Gaseous Benzene [J]. Chem. Eng. J., 2011, 170(1): 53-58.
- [10] Wu Y M, Wang Y P, Yu Y Q. Dispersion Polymerization of Acrylamid with 2-Arcylamido-2-methyl-1-propane Sulfonated in Aqueous Solution [J]. J. Polym. Sci. A: Polym. Chem., 2006, 102(2): 2379-2385.
- [11] Zhang S H, Huang X, Yao N S. Preparation of Monodisperse Porous Polymethacrylate Microspheres and Their Application in the Capillary Electrochromatography of Macrolide Antibiotics [J]. J. Chromatogr. A, 2002, 948(1): 193-201.
- [12] Barby D, Haq Z. Low Density Porous Cross-link Polymeric Materials and Their Preparation and Use as Carriers for Included Liquids [P]. US Pat.: 4522953, 1985-10-22.
- [13] Hao D X. Porogen Effects in Synthesis of Uniform Micrometer-sized Poly(divinylbenzene) Microspheres with High Surface Areas [J]. J. Colloid Interface Sci., 2008, 323(1): 52-59.
- [14] Kim H K, Chung H J, Park T G. Biodegradable Polymeric Microspheres with "Open/Closed" Pores for Sustained Release of Human Growth Hormone [J]. J. Controlled Release, 2006, 112(2): 167-174.
- [15] 赖波, 马光辉, 苏志国. 膜乳化法与复乳法结合制备粒径均一的 PELA 载溶菌酶微球 [J]. 过程工程学报, 2008, 8(2): 327-332.
- [16] 田瑞, 马光辉, 苏志国. 快速膜乳化法制备粒径均一的 PLGA 微球和微囊 [J]. 过程工程学报, 2009, 9(4): 754-762.
- [17] Kim H K, Park T G. Microencapsulation of Human Growth Hormone within Biodegradable Polyester Microspheres: Protein Aggregation Stability and Incomplete Release Mechanism [J]. Biotechnol. Bioeng., 1999, 65: 659-667.
- [18] Sun L, Zhou S, Wang W J, et al. Preparation and Characterization of Porous Biodegradable Microspheres Used for Controlled Protein Delivery [J]. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspect, 2009, 345(13): 173-181.
- [19] Lyritis G P, Trovas G. Analgesic Effects of Calcitonin [J]. Bone, 2002, 30(1): 71-74.
- [20] Naot D, Cornish J. The Role of Peptides and Receptors of the Calcitonin Family in the Regulation of Bone Metabolism [J]. Bone, 2008, 43(5): 813-818.
- [21] Aguiar M, Gibbs B F, Massé R. Sensitive Capillary Chromatography Mass Spectrometric Methods for the Determination of Salcatonin in Human Biological Matrices [J]. J. Chromatogr. B, 2005, 818(2): 301-308.
- [22] Pace C N, Shirley B A, McNutt M, et al. Forces Contributing to the Conformational Stability of Proteins [J]. FASEB J., 1996, 10(1): 75-83.
- [23] Goto Y, Fink A L. Conformational States of b-Lactamase: Molten-globule States at Acidic and Sllkaline pH with High Salt [J]. Biochemistry, 1989, 28(3): 945-952.
- [24] Wei Q, Wei W, Tian R. Preparation of Uniform-sized PELA Microspheres with High Encapsulation Efficiency of Antigen by Premix Membrane Emulsification [J]. J. Colloid Interface Sci., 2008, 323(2): 267-273.
- [25] Gregg S J, Sing K S W. Adsorption, Surface Area, and Porosity [M]. New York: Academic Press, 1982. 224-226.
- [26] 李璐. 聚苯乙烯-二乙烯基苯多孔交联微球的制备及活性物吸附缓释性能研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2006. 89-92
- [27] 王永辉, 冯前进, 牛欣, 等. 鲑鱼降钙素微球的制备及其性质的研究 [J]. 世界中西医综合杂志, 2008, 3(8): 457-459.

## Preparation of mPEG–PLGA Porous Microspheres and Their Adsorption to Salcatonin

ZHANG Hui-xia<sup>1,2</sup>, WANG Yu-xia<sup>2</sup>, WEI Yi<sup>2</sup>, RUAN Yan-ye<sup>1</sup>, MA Guang-hui<sup>2</sup>

(1. *Shenyang Agriculture University, Shenyang, Liaoning 110161, China;*

2. *National Key Lab. Biochem. Eng., Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100190, China)*

**Abstract:** Relatively uniform size porous methoxy poly(ethylene glycol-L-lactic-co-glycolic acid) (mPEG–PLGA) microspheres were successfully prepared by premix membrane emulsification with solvent evaporate method. The effects of salcatonin concentration, salt concentration, pH value, adsorption temperature and time, and properties of microspheres on the adsorption capacity of salcatonin were investigated. The results showed that the adsorption capacity of porous microspheres reached 48.9 mg/g under the conditions of 1.0 mg/mL salcatonin concentration, pH value 7.4 of phosphate buffer, 0.2 mol/L NaCl concentration, 14 adsorption temperature and 8 h adsorption time. In addition, the adsorption capacity increased with the increase of specific surface area.

**Key words:** methoxy poly(ethylene glycol-L-lactic-co-glycolic acid); porous microspheres; salcatonin; adsorption; specific surface area