

一种基于聚合物的新型微泡造影剂的声学基础测试

车小花¹, 林伟军¹, 张海澜¹, 崔文瑾², 王身国²

(1. 中国科学院声学研究所, 北京 100080; 2. 中国科学院化学研究所, 北京 100080)

摘要: 对一种基于聚乙交酯丙交酯共聚物(PLGA)的新型微泡造影剂进行了声学基础测试, 注入造影剂之后在自发自收和一发一收且发射、接收探头成 90°方式下均观察到了非常强的散射波, 且散射波的强度随着测试时间的不断增长而迅速减弱; 在自发自收方式下测得的来自水槽壁的脉冲反射回波的幅度则随着测试时间的不断增长而逐渐增大。

关键词: 聚乙交酯丙交酯共聚物; 超声造影剂; 声学测试; 散射波

中图分类号: TB551

文献标识码: A

文章编号: 1000-3630(2005)02-0105-05

Experimental investigation on a novel kind of ultrasound contrast agents based on porous Poly (l-lactic-co-glycolic acid)

CHE Xiao-hua¹, LIN Wei-jun¹, ZHANG Hai-lan¹, CUI Wen-jin², WANG Shen-guo²

(1. Institute of Acoustics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

2. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: A novel kind of ultrasound contrast agents based on porous poly (l-lactide-co-glycolic acid) was investigated by acoustical measurements, in which strong scattered waves were found either in monostatic or bistatic modes. Energy of scattered waves decreases rapidly with time, while the amplitude of the pulse echoes from the wall of the water tank increases.

Key words: poly (l-lactic-co-glycolic acid); ultrasound contrast agent; acoustical measurement; scattered wave

1 引言

20世纪90年代以来, 有关超声造影剂的应用和研究工作取得了很大的进展^[1-7]。造影剂除了起到造影的功能外, 也在不断地向多功能的方向发展, 比如靶组织显影与消融和用作药物的载体, 携带药物到达治疗区域后释放以提高药物疗效等。与国外已有多种超声造影剂被批准临床应用相比, 国内对造影剂的研究和应用仍然相对滞后。但在临床应用日益不断的需求和依靠国外进口设备及造影剂且价格昂贵的情况下, 以超声造影剂的研究制造为基础, 推动各种应用技术、仪器设备的发展与完善就显得非常重要。

可降解的聚内酯类聚合物是一类目前被广泛应用于临床医学的聚合物, 这类聚合物降解首先是从酯键断裂开始, 降解的产物是乳酸或者羟基乙酸, 这些都是人体三羧酸代谢的中间产物, 可以进一步降解成为水和二氧化碳, 对人体组织没有毒害作用。基于这些独特的优点, 聚内酯类聚合物已经被广泛应用在生物医学领域, 尤其是组织工程中, 目前, 建立在这一类生物医用材料的生物支架之上, 已经进行体内实验的有骨、软骨、肌腱、气管、心瓣、血管、皮肤以及神经组织, 尤其是皮肤组织已经进入临床, 有着广泛的应用前景。其中聚乙交酯(PGA)、聚丙交酯(PLA)和聚乙交酯丙交酯共聚物由于具有良好的生物相容性和可降解性已经被美国FDA批准认证^[8-10]。在国内, 中国科学院化学研究所在聚内酯类聚合物研制方面做了大量的工作, 首次制备出了基于聚乙交酯丙交酯共聚物 Poly(l-lactic-co-glycolic acid) (PLGA)的微泡造影

收稿日期: 2004-06-04; 修回日期: 2004-09-08

项目资助: 国家自然科学基金项目资助(10374097)

作者简介: 车小花(1976-), 女, 山东烟台人, 博士后, 主要从事声波散射的数值和物理模拟、超声应用等方面的研究工作。

剂^[11-13],通过改变制备过程中的条件,可以得到单腔或多腔的内部结构,壳层的厚薄也可以进行调整,而这些都与微泡的声学性质有着密切的关系。对这类微泡进行体外声学测试并提取相应的信息不但可以对其声学性能进行评价,还可以为微泡的研制及动物实验提供参考。更重要的是在对大量不同制备条件下的微泡造影剂进行测试后总结形成一套声学性能评价指标就可以直接用于对新研制产品的评价,取代或部分取代动物实验,节省成本和工作时间。本文将展示对这种基于聚合物的新型微泡造影剂测试的部分实验结果。

2 微泡的制备

2.1 聚乙交酯丙交酯共聚物(PLGA)的制备

取一定量的乙交酯、丙交酯和 0.05% 的 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 经彻底干燥以后,接真空排用氩气反复置换反应体系中的空气 3 次,在真空状态下封管聚合。油浴加热至 160°C 反应 48h,反应结束后用液氮胀裂聚合管,得到聚乙交酯丙交酯(PLGA)的共聚物。将此聚合物用氯仿溶解,配成约 8%~10% 的溶液,过滤后,在搅拌状态缓慢加入到乙醇溶液中,抽提纯化未反应的单体和催化剂。将絮状聚合物室温下减压干燥至恒重后,置于干燥箱中保存待用。

称取一定量的聚合物溶解在二氯甲烷溶液中,配成 3%~4% 的溶液,取一定量的水溶液与聚合物溶液经超声形成油/水(o/w)分散液后,缓慢逐滴加入到 1%~4% 的聚乙烯醇溶液中,剧烈搅拌 0.5h 以上,再于 500rpm~600rpm 的搅拌速度下搅拌 4h 以上将溶剂挥发除去。离心洗涤收集固化微泡,真空冷冻干燥得到样品后于室温密闭保存样品。通过调节聚合物的组分比例、聚合物溶液的浓度、内水相的体积、稳定剂的浓度来改变微泡的内部结构、外壳的壁厚,以及粒径分布、尺寸大小等,进而改变微泡的声学性质。

图 1(a)、1(b)为聚合物微泡的扫描电子显微镜(HITACHI S-530)照片和粒径曲线,可以看出微泡的主要粒径分布在 $1.1\mu\text{m}$ ~ $2.1\mu\text{m}$ 之间。

3 实验测量与结果分析

3.1 实验装置

如图 2(a)所示,美国泛美公司生产的 5052 超声波分析仪用以发射、接收和放大超声脉冲信号;Tek-

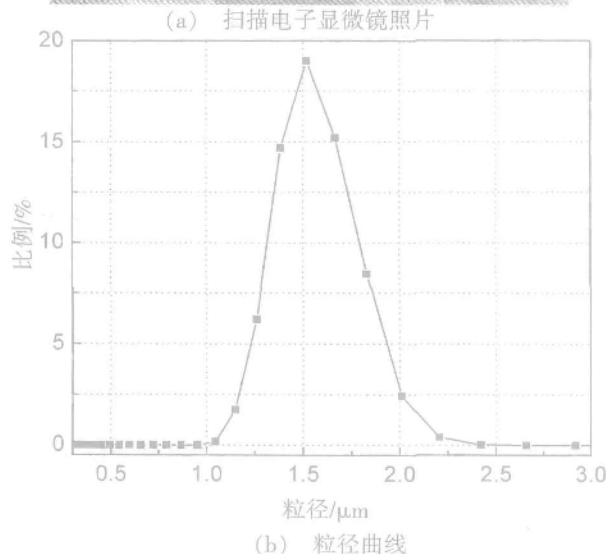
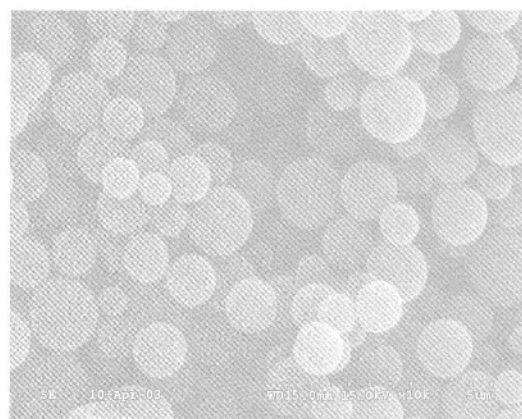


图 1 微泡的扫描电子显微镜照片和粒径曲线

Fig.1 Micro bubbles SEM picture and curve of the bubble radii.

tronix3012 示波器可以在计算机控制下显示和采集信号,采样频率为 50MHz。平探头 A 和 B 在超声分析仪 5052 激励下在有机玻璃试块上测得的脉冲反射回波波形和相应的频谱曲线分别如图 3(a)、图 3(b)所示,可以看出其 3dB 带宽约为 0.64MHz。共进行了两种方式的测试,一种为探头 B 用作发射探头 A 用作接收(一发一收且收发成 90°);另一种为探头 B 既用作发射又用作接收(自发自收方式),实验时在两种方式之间不断地切换。把造影剂按 0.003g/ml 蒸馏水的比例快速稀释后再抽取适量稀释液注入到装有蒸馏水的长 12.8cm、宽 8.6cm 的水槽中,微泡的浓度约为 10%/ml。水槽放置在一磁振子搅拌器上,注入造影剂后迅速搅拌约半分钟后开始测量。

3.2 结果分析

把 0.02g 造影剂用 0.67ml 蒸馏水稀释后,注入到装有 300ml 蒸馏水的水槽中进行了实验测量。用 St_{90} 表示发射、接收探头成 90° 时测得的波形,其中 t 为 0 时表示注入造影剂之前的波形, $t > 0$ 时表示注入造

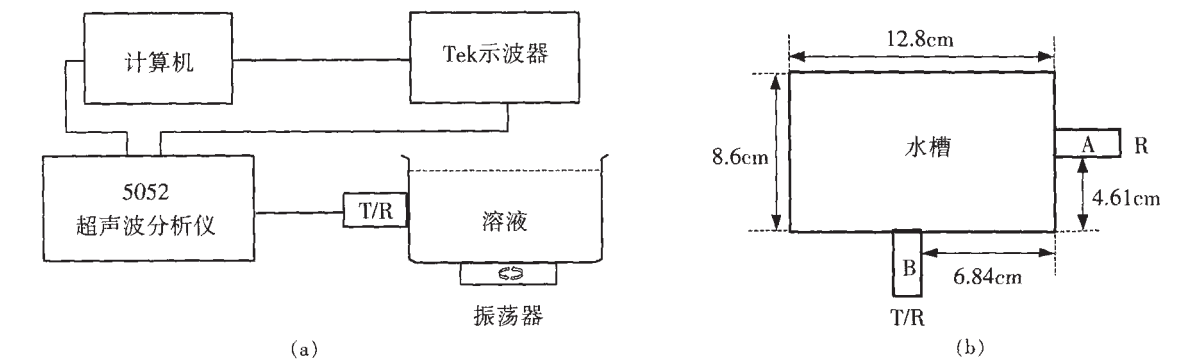


图 2 (a)实验装置示意图 (b)探头布置示意图
Fig.2 (a)Experimental configuration. (b)Probe deployment

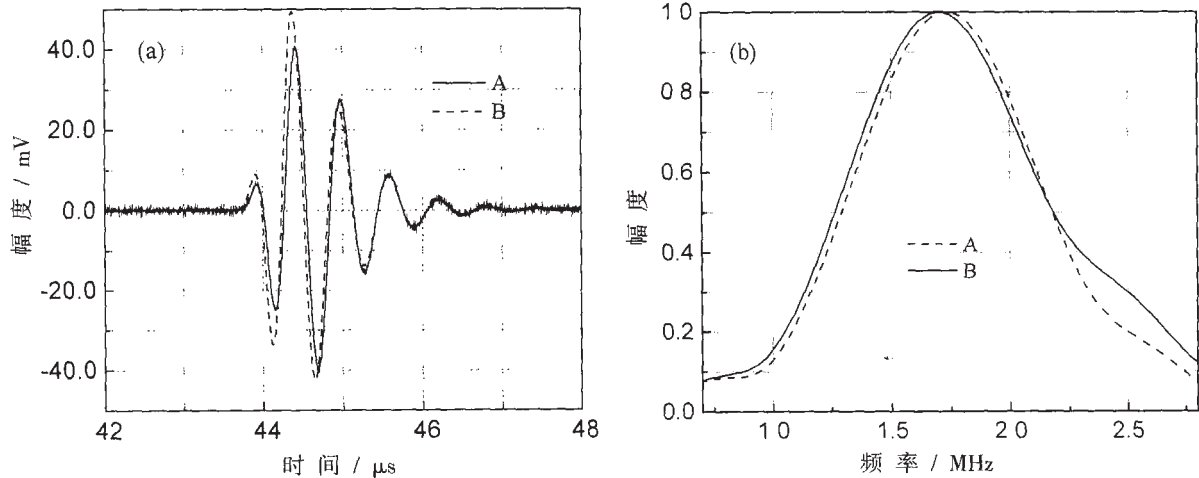


图 3 (a)发射、接收探头的时域波形和(b)相应的频谱曲线
Fig.3 (a)Waveforms at the transmitter and the receiving probe. (b)The spectra.

影剂后测得的波形。图 4(a)所示的是 St_{90} 的一个剖面, 其中第一道波为注入造影剂之前的波形, 第 2 道~第 5 道波分别为注入造影剂后 1、3、9、17 分钟时的波形。可以看出注入造影剂前探头只接收到了一些背景噪声, 而在刚注入造影剂后接收到的散射信号很强, 但随着时间的不断增长, 散射信号的强度逐渐减弱。图 4(b)所示的是自发自收方式下测得的波形 St_{PE} , 其中第 1 道波为注入造影剂前的波形, 第 2 道至第 5 道波分别为注入造影剂后 0.5、4、7 和 11 分钟时的波形, 到达时间在 $115\mu s$ 之后的波形为水槽壁的回波信号, 数据采集时为了保证散射波信号有足够的垂向精度, 水槽壁的回波信号已被饱和。同样可以看出, 在刚注入造影剂时到达时间在 $20\mu s \sim 115\mu s$ 范围内的散射波很强, 而随着时间的不断增长散射信号迅速减弱。散射信号迅速减弱的原因可能是在超声波的作用下微泡破灭导致浓度降低; 或者由于微泡的密度较低会不断上浮而引起声束穿过的区域微泡的浓度降低。图 4(c)所示的是自发自收方式下接收到的水槽壁的回波信号 Rt_{PE} , 与图

4(b)相比不同之处在于数据采集时回波信号没有被饱和。在注入造影剂 32 分钟后停止了测量, 并把所有时刻测得的 St_{90} 、 St_{PE} 和 Rt_{PE} 波形中的散射波、水槽壁的回波信号开窗, 计算窗内所有数据点的幅度的平方和再开方后得到相应的能量 E_{S90} 、 E_{SPE} 和 E_{RPE} , 两种方式下的相应能量随测试时刻的变化曲线如图 5(a)、图 5(b)所示, 自发自收和一发一收且发射、接收成 90° 方式下的散射波能量与测试时间的关系相似, 即在注入造影剂之前能量最低, 刚注入造影剂时能量最高并随着时间的不断增长而逐渐减弱; 自发自收方式下接收到的水槽壁的脉冲反射回波的能量与测试时间的关系刚好相反, 即在注入造影剂之前能量最强, 刚注入造影剂时能量有所降低并随着时间的不断增长而又逐渐增强。

把另一型号的微泡造影剂 0.01g 造影剂用 0.33ml 蒸馏水稀释后, 注入到装有 250ml 蒸馏水的水槽中进行了实验测量。图 6(a)、6(b)、6(c)是测量得到的波形, 图 7(a)、7(b)是相应的能量随测试时刻的变化曲线, 可以看出其变化规律与图 5(a)、5(b)所示的曲线类似。

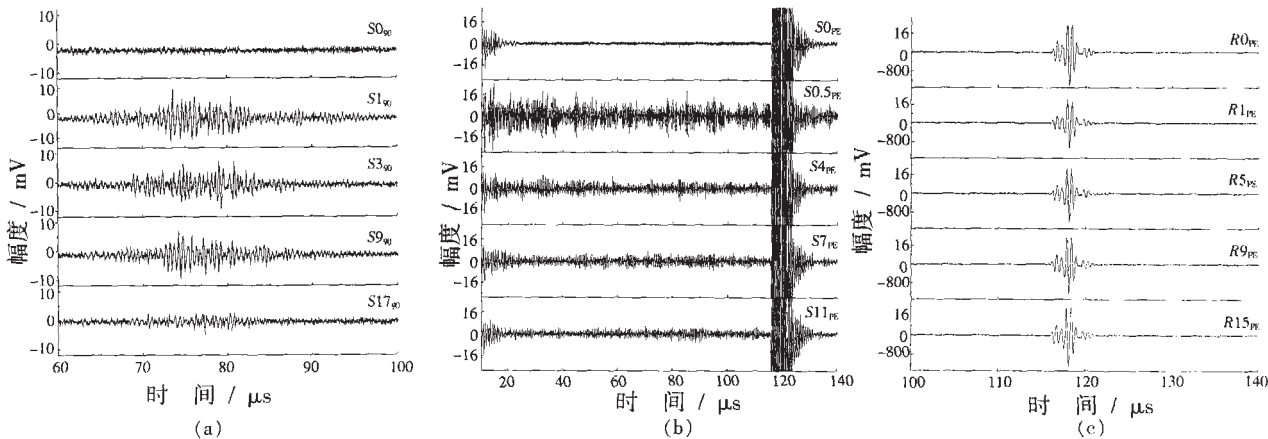


图 4 (a)收发探头成 90°时的散射波 (b)自发自收模式下的散射波 (c)水槽壁的回波
Fig.4 (a)Scattered waves,with the transmitting and receiving transducers form a 90° angle.
(b)Scattered waves under monostatic mode. (c)Echoes from the tank wall.

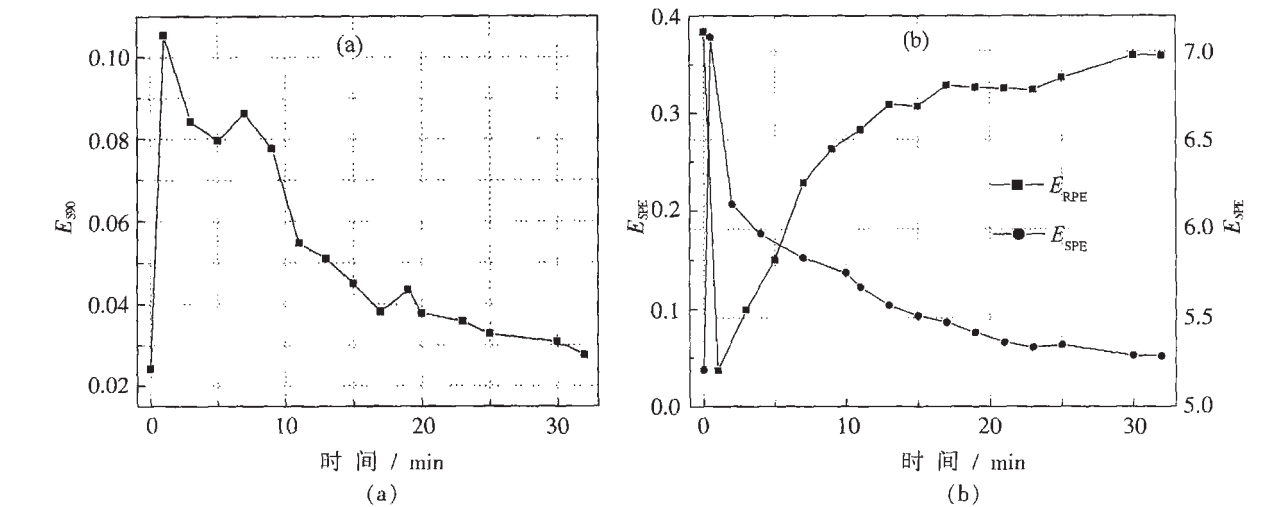


图 5 (a)收发探头成 90°时的散射波能量 (b)自发自收模式下的脉冲反射回波和散射波能量
Fig.5 Pulse echoes and scattered energy. (a)Bistatic mode with T and R forming a 90° angle. (b)Monostatic mode.

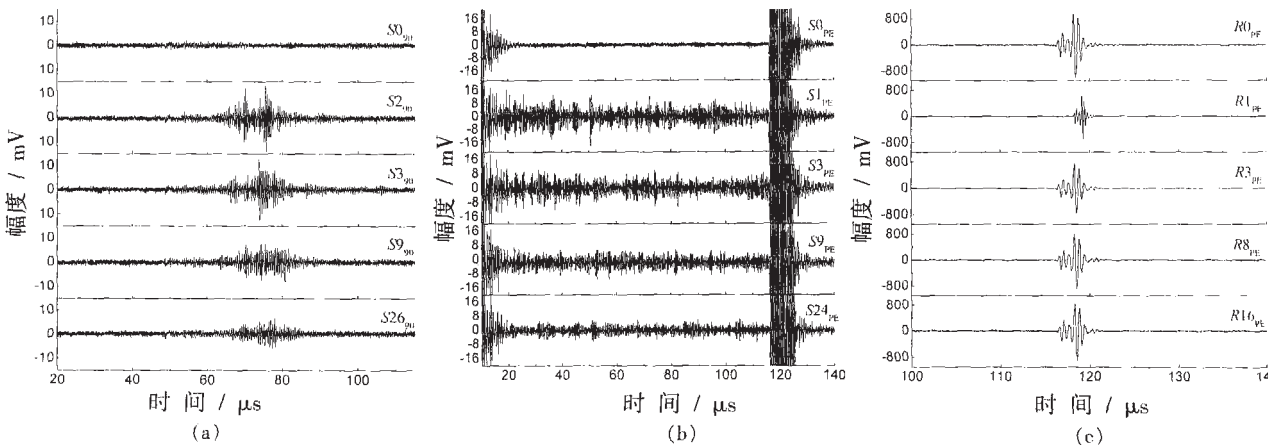


图 6 (a)收发探头成 90°时的散射波 (b)自发自收模式下的散射波 (c)水槽壁的回波
Fig.6 (a)Scattered waves in the bistatic mode with T and R forming a 90° angle.
(b)Scattered waves in the monostatic mode. (c)Echoes from the tank wall.

4 讨 论

基于聚内酯类生物可降解医用材料的造影剂微

泡,具有很多特殊的性质,无毒安全性高,能够用于临床,又可以根据临床造影的实际要求来改变微泡的外壳性质,进而改变声学性质指标来满足检查过程中的具体要求。

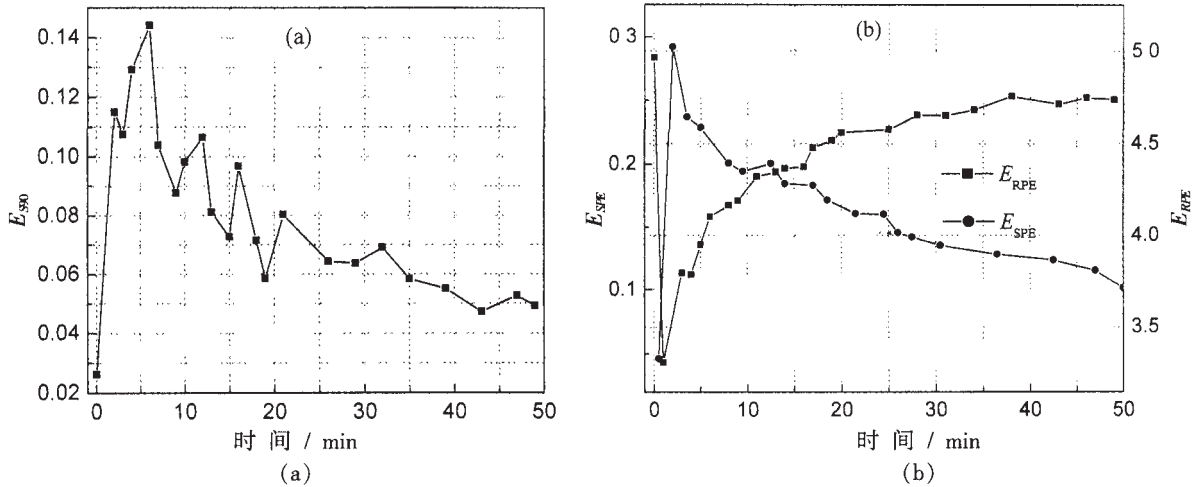


图7 (a)收发探头成 90° 时的散射波能量 (b)自发自收模式下的脉冲反射回波和散射波能量
Fig.7 (a)Scattered energy in the bistatic mode. (b)Echoes and scattered energy in the monostatic mode.

本文对一种基于聚乙交酯丙交酯共聚物(PLGA)的新型微泡造影剂进行了声学基础测试,不管在自发自收还是一发一收方式下均观察到了非常强的散射波,且散射波的能量均随测试时间的不断增长而逐渐降低并最终趋于注入造影剂之前的背景噪声值;自发自收方式下接收到的水槽壁的脉冲反射回波的能量在注入造影剂之前最大,刚注入造影剂时能量有所降低,随着时间的不断增长又逐渐增大。

虽然目前只对这种新型的微泡造影剂进行了基频测试,但本文的测试结果仍然可以为微泡造影剂的制备和评价提供参考。在今后的工作中还将进行谐波特性的测试;考察超声声场和气泡的相互作用对造影剂气泡的声学特性的影响等工作,以对微泡造影剂进行更为完善、可靠的声学性能评价。

参 考 文 献

- [1] Bleeker H J, Shung K K, Barnhart J L. Ultrasonic characterization of Alunex, a new contrast agent[J]. J Acoust Soc Am, 1990, **87**(4): 1792-1797.
- [2] de Jong N, Hoff L, Skotland T, et al. Absorption and scatter of encapsulated gas filled microspheres: theoretical considerations and some measurements[J]. Ultrasonics, 1992, **30**(2): 95-103.
- [3] de Jong N, Hoff L. Ultrasound scattering properties of Alunex microspheres[J]. Ultrasonics, 1993, **31**(3): 175-181.
- [4] Lotsberg O, Hovem J M, Aksum B. Experimental observation of subharmonic oscillations in infuson bubbles[J]. J Acoust Soc Am, 1996, **99**(3): 1366-1369.
- [5] Liu J H, Zhang D, Gong X F, et al. High acoustic nonlinearity of a liquid containing microbubbles [J]. Chin Phys Lett, 1999, **16**(10): 737-739.
- [6] 李莉, 万明习, 程敬之, 等. 包膜超声造影剂线性散射与视频强度动态特性研究 [J]. 中国生物医学工程学报, 2000, **19**(2): 131-137.
- [7] Zhu Z M, Ma J, Yu J F, et al. Acoustic nonlinearity of liquid containing encapsulated microbubbles [C]. ICA2004, V-3575-3576.
- [8] Kronenthal R L. Biodegradable polymers in medicine and surgery[M]. In: Kronenthal R L, User Z, Martin E, editors. Polymers in medicine and surgery, New York: Plenum, 1974.
- [9] Huang S J. Biodegradable polymers-Biomaterials and medical applications[M]. Kroschwitz JI, ed. New York: Wiley & Sons, 1989.
- [10] Vert M, Li S, Spenlehauer G, Guerin P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters [J]. J Mater Sci Mater Med, 1992, **3**: 432-446.
- [11] Luo W J, Li S M, Wang S G, et al. Synthesis and characterization of poly(L-lactide)-poly(ethylene glycol)multiblock copolymers [J]. J Appl Polym Sci, 2002, **84**(9): 1729-1736.
- [12] Chen W N, Luo W J, Wang S G, et al. Synthesis and properties of poly(L-lactide)-poly(ethylene glycol) multiblock copolymers by coupling triblock copolymers[J]. Polym Adv Technol, 2003, **14**(3-5), 245-253.
- [13] Wang S G, Wan Y Q, Cai Q, et al. Molecular design of synthetic biodegradable polymers as cell scaffold materials[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2004, **20**(2): 191-194.