

聚乙烯醇固载 β -环糊精线性高聚物的 合成及其药物控制释放研究*

黄 怡 范晓东** 张楠楠

(西北工业大学化工系 西安 710072)

摘 要 利用缩醛化反应将醛基化 β -环糊精(β -CD)固载到聚乙烯醇(PVA)大分子链上,合成出了聚乙烯醇固载 β -环糊精(PVA- β -CD)的线性环糊精高分子,其最佳反应条件是反应时间 2 h,温度 70℃, β -CD-6-CHO 与 PVA 的质量比小于等于 4:1.采用红外光谱及核磁共振表征了该聚合物的分子结构.通过研究 PVA- β -CD 与模型药物喜树碱(CPT)的包合作用,对不同环糊精固载量的 PVA- β -CD 膜在不同 pH 值下的药物释放机理进行了探讨.结果表明,PVA- β -CD 因包合增溶作用促进了水难溶性药物的释放.

关键词 聚乙烯醇, β -环糊精, 固载, 分子包合, 药控释放

随着现代药学研究的深入及生物制剂工业的发展,各种类型的药物控制释放载体越来越受到关注.虽然小分子环糊精作为药剂添加剂已得到广泛的应用,但环糊精高分子既具有环糊精对药物小分子的包合功能又具有大分子多重形态及相结构特性,因而能有效地对药物进行包合及控制释放,是近代生物制药及剂型研究的重要功能材料之一^[1-4].聚乙烯醇具有无毒性及良好的生理相容性和力学性能,已被广泛用于生物医用材料^[5-7],如人工肾脏、人工晶体等.作为药物载体,聚乙烯醇也显示出优越的控制释放性能.Sreenivasan^[7]制备了包含 β -环糊精的聚乙烯醇水凝胶,结果表明,由于环糊精的作用,水杨酸的释放速率减慢.其原因是环糊精与水杨酸的包合作用,减小了其扩散速率.为了进一步研究环糊精以共价键键合到聚乙烯醇后的药物控制释放性能,并探讨它的药控释放机理,本文设计并合成了聚乙烯醇固载 β -CD 线性高聚物.利用化学改性的方法首先合成出醛基化的 β -CD,再利用缩醛化反应将 β -CD 固载到聚乙烯醇(PVA)大分子链上.用红外光谱及核磁共振对其结构进行了表征,最后选择了两种抗癌药物喜树碱和苯丁酸氮芥作为模型药物,研究了新型线性环糊精高聚物(PVA- β -CD)膜的药物控制释放行为.

1 实验

1.1 仪器与试剂

美国 Varian 公司 Inova-400 型核磁共振仪;北京第二光学仪器厂 WQF-310 型傅立叶红外光谱仪, KBr 压片;北京瑞利公司 UV-1200 型紫外可见分光光度计;美国 Labconco 公司 Freeze Dry System 4.5L 型冷冻干燥仪;华美生物工程公司透析袋(截流分子量 8000 ~ 10000);聚乙烯醇,聚合度 1750 \pm 50,实验试剂,天津天大实验化工厂; β -环糊精,上海三浦化工有限公司,重结晶两次,110℃真空干燥 12 h.喜树碱,西安近代化学研究所提供;苯丁酸氮芥,Fluka Chemie GmbH CH-947;对甲基苯磺酰氯,中国医药集团上海化学试剂公司;对甲基苯磺酸,西安化玻站化学厂;三乙胺,天津市津东天正精细化学试剂厂;二甲基亚砜(DMSO),西安三浦精细化工厂.以上试剂均为分析纯.

1.2 单 6-对甲基苯磺酰 β -环糊精酯(β -CD-6-OTs)的合成

β -CD 3 g (2.64 mmol) 悬浮在 25 mL 水中, NaOH 0.337 g (8.2 mmol) 溶解在 1 mL 水中,在搅拌下加到 β -CD 溶液中,将对甲基苯磺酰氯(*p*-TsCl) 0.75 g (3.96 mmol) 溶解在 1.5 mL 乙腈中后,在 0℃ 下滴加到 β -CD 的混合溶液中,25℃ 下搅拌反应 2 h 后,用稀 HCl 中和至 pH = 6,过滤沉淀,滤液在 4℃ 下放置过夜.收集沉淀,将两次所得沉淀

* 2003-10-17 收稿,2003-12-29 修稿;陕西省自然科学基金项目(基金号 2000H11);** 通讯联系人

重结晶,真空干燥,得白色固体为 β -CD-6-OTs,产率 28%.分解温度为 179℃(文献值[8],179℃)

1.3 单 6-甲酰基 β -环糊精(β -CD-6-CHO)的合成

将 5 g(3.9 mmol) β -CD-6-OTs,4 g(39.6 mmol) 三乙胺,50 mL DMSO 加入三口烧瓶中,搅拌升温至 135℃,反应 1.5 h.反应结束后,将深棕色产物加入到 500 mL 无水乙醇中沉淀出产物,并多次用蒸馏水-丙酮溶解-沉淀的方法对产物进行提纯,50℃下真空干燥,得产物 β -CD-6-CHO,产率 53%.¹H-NMR(D₂O)(其中包括化合物的醛基化和共价水合物两种形式) δ 9.12(s, 0.5H), 6.11(s, 0.5H), 5.55(s, 0.6H), 5.30(s, 3.5H), 4.96(s, 3H), 3.89~3.54(m, 28H), 3.54~3.49 $\times 10^{-6}$ (m, 14H); IR $\nu_{(C=O)}$ = 1705 cm⁻¹.元素分析(C₄₂H₆₈O₃₅·8H₂O),计算值 C 39.50; H 6.63.实测值 C 39.70; H 6.41.

1.4 固载 β -CD 的 PVA- β -CD 的合成

将 0.5 g PVA 溶解在 10 mL DMSO,再加入一定量的 β -CD-6-CHO 和少量对甲基苯磺酸,搅拌升温至 70℃反应 2 h 后,倒入透析袋中,12 h 更换一次蒸馏水.透析一周后,将袋中产物冷冻干燥得 PVA- β -CD,用浓硫酸水解法^[9]测定其环糊精固载量,结果见表 1.

Table 1 Conditions and results of the reaction of β -CD-6-CHO with PVA

Code no.	Feed composition PVA/ β -CD-6-CHO(g/g)	Reaction time(h)	Reaction temperature(℃)	β -CD content in wt%
I	0.5/0.5	2	70	19.6%
II	0.5/1.0	2	70	35.5%
III	0.5/1.8	2	70	57.5%
IV	0.5/2.0	2	70	56.1%

1.5 PVA- β -CD 与喜树碱(CPT)的包合行为研究

相溶解度法,称取过量的 CPT 于容量瓶中,依次加入不同浓度的 PVA- β -CD(以 β -CD 计算),用 pH = 2 的缓冲溶液定容,放置振荡器中,待固液平衡后,称取适量的滤液,用紫外分光光度计测定 370 nm 处的吸光度,依工作曲线得相应 PVA- β -CD 浓度下的 CPT 的溶解度.

1.6 PVA- β -CD CPT 复合药膜的制备

称取一定量的 CPT 溶解在少量 1 mol/L 的 NaOH 溶液中,加入到已经溶解的 PVA 或 PVA- β -

CD 中,混合均匀,先在 40℃ 下蒸去溶剂,然后置于真空干燥箱(50℃)中干燥至恒重.制成每片平均直径为 1.5 cm,厚度为 0.5 mm,重约 30 mg 的圆形薄膜,其含药量为 5%.

称取一定量的苯丁酸氯芥(CLB)溶解在少量无水乙醇中,方法同上.

1.7 药物累计释放率的测定

CPT 的释放,分别将 PVA 或 PVA- β -CD 药膜浸泡于 25.0 mL 释放介质(pH = 2.0 或 pH = 11.0 离子强度为 0.1 mol/L 的缓冲溶液)中,体系温度为 25℃,定时取 5.0 mL 释放液,同时向释放体系补充 5.0 mL 新鲜缓冲液,以维持释放体系的体积不变.用紫外可见分光光度仪测定释放药物的含量.

CLB 的释放,将 PVA 或 PVA- β -CD 药膜分别放入盛有 5.0 mL 缓冲溶液(pH = 6.8 离子强度为 0.1 mol/L)的透析袋中,同时将其置于 25.0 mL 具有相同介质的容器中,体系温度为 37℃,以下实验步骤同上.

2 结果与讨论

2.1 PVA 固载 β -CD(β -PVA-CD)的合成与结构表征

2.1.1 β -CD-6-OTs 和 β -CD-6-CHO 的合成 β -CD-6-OTs 和 β -CD-6-CHO 的合成分别参考文献[8]、[10]和[11]进行,其结构经红外光谱和核磁共振氢谱证实.

PVA 固载 β -CD(β -PVA-CD)的合成路线如图 1 所示.

2.1.2 PVA- β -CD 的合成 由表 1 可以看出,反应物的用量直接影响着环糊精的固载量,即 β -CD-6-CHO 用量的增大,产物的固载率明显的增大.但当 β -CD-6-CHO 的用量增大到一定程度时,容易引起交联反应,因此,为了得到线性的高聚物, β -CD-6-CHO 与 PVA 的质量比以小于等于 4:1 为宜.

2.1.3 PVA- β -CD 的结构与表征 在 PVA 和 PVA- β -CD 的红外谱图中,由于 PVA 和 β -CD 都含有相同的基团羟基,所以 PVA- β -CD 的谱图与 PVA 较为相似,但 β -CD 的键入可以从 1035 cm⁻¹ 处 β -CD 的 C—O 振动吸收峰中得到证实.另外,比较具有不同 β -CD 含量的 PVA- β -CD 的红外谱图,3400 cm⁻¹ 是羟基的特征峰.位于 1100 cm⁻¹ 和 1035 cm⁻¹ 处分别是 PVA 和 β -CD 的 C—O 振动吸

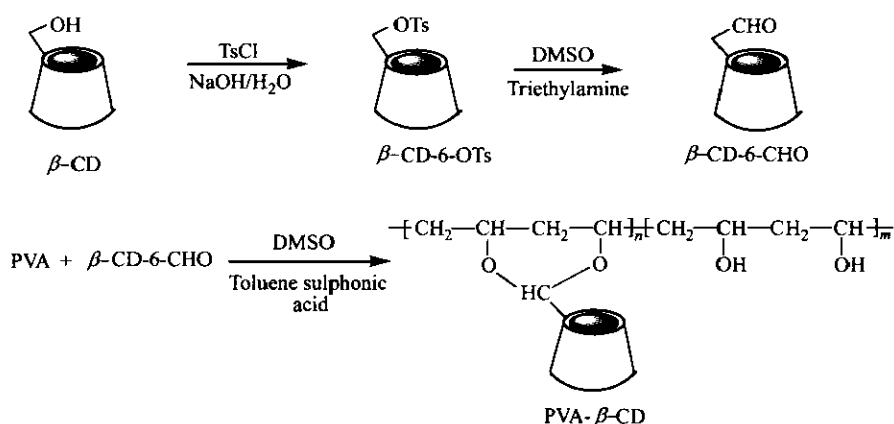


Fig. 1 Reaction schemes for the immobilization of β -cyclodextrin onto PVA

收峰,从图中可以看出,当 β -CD 含量较小时, 1035 cm^{-1} 处的峰被 PVA 的 C—O 振动吸收峰所掩盖,随着 β -CD 固载量的增加,该峰的强度也逐渐增大,当含量为 56.1% 时,明显与 PVA 吸收峰分开.

图 2 给出了 PVA- β -CD 的核磁共振谱,结合其分子结构,可得出各共振峰的化学位移 δ , 5.25 (s, CD: H6), 4.94 (s, CD: H1), 3.91 ~ 3.50 (m, CD: H2, H3, H4, H5, PVA: 次甲基氢), 1.57 ~ 1.50 (d, $-\text{CH}_2-$).

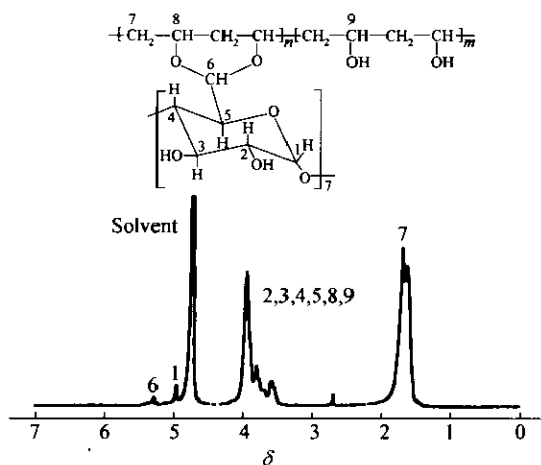


Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of PVA- β -CD II in D_2O

2.2 药物控制释放行为的研究

图 3 和图 4 分别给出了 PVA 及不同 β -CD 含量的 PVA- β -CD 在 $\text{pH} = 2$ 和 $\text{pH} = 11$ 的条件下喜树碱(CPT)的累积释放率和时间关系曲线.由图可见,相同的载体在不同释放介质中对药物 CPT 的释放行为有着较大的差别,在 $\text{pH} = 11$ 时, CPT 的累积释放量和释放速率随着 β -CD 含量的变化不明显,而在 $\text{pH} = 2$ 的介质中,随着 β -CD 含

量的增加, CPT 的累积释放量和释放速率有了明显的增加,释放时间为 30 分钟时, CPT 的累积释放率由 β -CD 含量为零的 11% 增加到 42%.

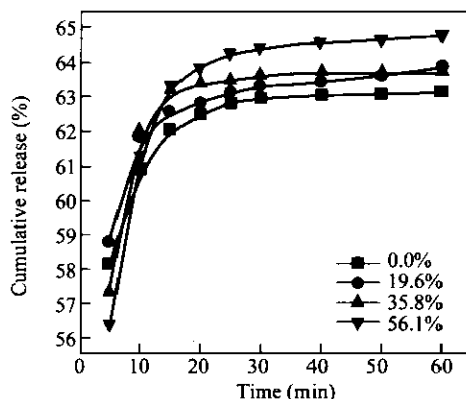


Fig. 3 Cumulative release of camptotecin (CPT) from PVA- β -CD versus time at $\text{pH} = 11.0$ at 25°C

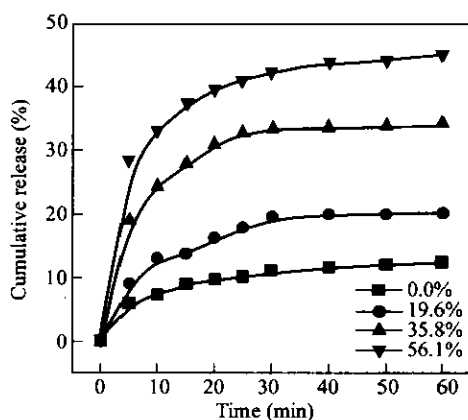


Fig. 4 Cumulative release of CPT from PVA- β -CD versus time at $\text{pH} = 2.0$ at 25°C

为了探讨药物释放机理,我们比较了在不同的 pH 条件下 CPT 从纯 PVA 中释放的行为.从图

5中可以看出,CPT在 $\text{pH} = 11$ 的条件下的释放速率和释放量远大于在它在 $\text{pH} = 2$ 时的释放速率和释放量.因此,决定其释放速率的主要因素是药物的溶解度.由于该药物在这两种介质中的水溶性相差极大,在酸性介质中(即 $\text{pH} = 2$ 时),CPT是以闭环形式存在,水溶性非常差,在碱性介质中(即 $\text{pH} = 11$ 时),CPT是以开环形式的,即以羧酸盐的形式存在,易溶于水^[12].可见该释药体系是以药物溶解机制为主的^[13].

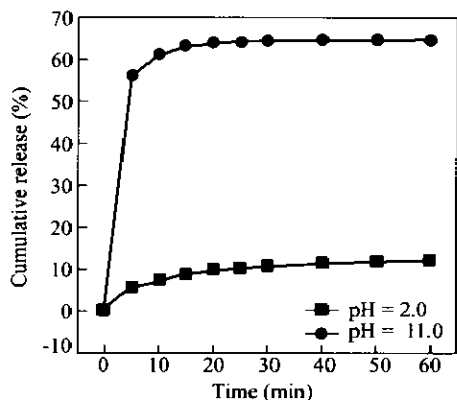


Fig. 5 Cumulative release of CPT from PVA versus time at $\text{pH} = 2.0$ and 11.0 at 25°C

大量研究表明,环糊精对水不溶性的药物可以起到包合增溶的作用,从而提高它的释放速率和释放量,并提高其生物利用度.我们以环糊精含量为56.1%的PVA- β -CD为主体化合物,采用相溶解度法^[14]研究了在 $\text{pH} = 2$ 时,该聚合物对CPT的包合行为.根据实验部分1.5的方法,获得了CPT在不同浓度下的PVA- β -CD水溶液的紫外光谱图(图6).当PVA- β -CD浓度为0时,CPT的固有溶解度等于 $7.16 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$,随着PVA- β -CD浓度的增加,CPT的溶解度也增加,表明了环糊精空腔与CPT发生了超分子包合作用,根据相溶解度图(图7)得相溶解度方程为:

$$Y = 7.28167 \times 10^{-6} + 1.45 \times 10^{-3} X$$

$$R = 0.9951$$

$$K = \frac{t}{S_0(1-t)} \quad (1)$$

包合常数可按方程(1)求得,其中 K 为包合常数 t 为斜率, S_0 为固有溶解度,分别代入斜率 1.45×10^{-3} 及固有溶解度 $7.16 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$,求得PVA- β -CD/CPT体系的包合常数 $K = 202.8 \text{ L/mol}$.

结果表明,PVA- β -CD分子中的环糊精空腔可与药物CPT产生超分子包合,并由此增加其水溶

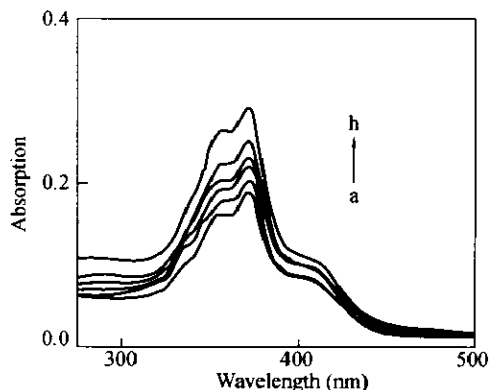


Fig. 6 The UV absorption spectra of CPT at varying concentrations of PVA- β -CD (IV) with $\text{pH} = 2.0$ (buffer solution)

The IV concentrations were $0 \sim 1.06 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ (related to units containing β -CD residues) from a to h.

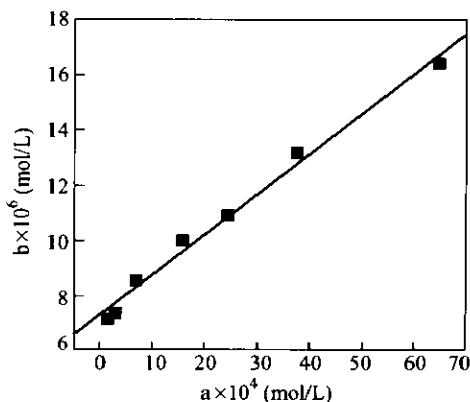


Fig. 7 Phase solubility diagrams of CPT in $\text{pH} = 2.0$ buffer solution

性.这样,在一定的条件下,可以促进难溶药物的释放.从图4可以看出,PVA- β -CD随环糊精含量增多,其释药能力增强.

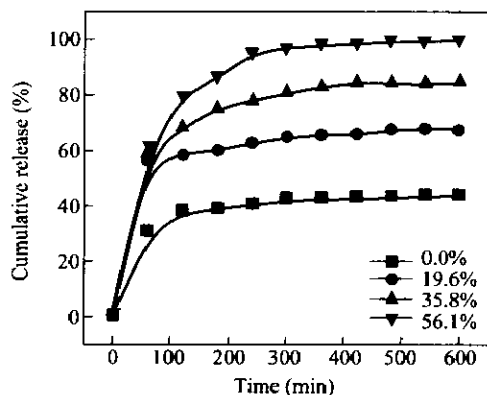


Fig. 8 Cumulative release of chlorambucil (CLB) from PVA and PVA- β -CD versus time at $\text{pH} = 6.8$ at 25°C

对于不同药物, PVA- β -CD 释放实验得出了同样的结果. 图 8 给出了 PVA 和不同 β -CD 含量的 PVA- β -CD 在 pH = 6.8 的缓冲介质中 CLB 的累积释放曲线. 由图可见, 释放时间为 300 min 时, CLB 的累积释放率由 β -CD 含量为零的 41% 增加到 97%. β -CD 与 CLB 的包合作用已得到证实^[15]. 因此, PVA- β -CD 对该药物的释放有着与对 CPT 同

样的增溶促释作用.

最后应当指出的是对于致密的 PVA 膜, β -CD 的键入可能起到了致孔作用, 增加了水分子的渗透能力和药物的扩散能力, 这也是 PVA- β -CD 中环糊精含量增加有助于药物释放的原因之一. 但我们认为对于难溶药物, 环糊精的增溶作用应该是非常重要的影响因素.

REFERENCES

- 1 Chen S P, Wang Y T. *J Appl Polym Sci*, 2001, 82: 2414 ~ 2421
- 2 Paradossi G, Cavalieri, Crescenzi V. *Carbohydr Res*, 1997, 300: 77 ~ 84
- 3 Bibby D C, Davies N M, Tucker I G. *Int J Pharm*, 1999, 187: 243 ~ 250
- 4 Bibby D C, Davies N M, Tucker I G. *Int J Pharm*, 1999, 180: 161 ~ 168
- 5 Kormsmeier R W, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas N A. *Int J Pharm*, 1983, 15: 25 ~ 31
- 6 Hassan C M, Ward J H, Peppas N A. *Polymer*, 2000, 41: 6729 ~ 6735
- 7 Sreenivasan K. *J Appl Polym Sci*, 1997, 65: 1829 ~ 1832
- 8 Petter R C, Salek J S, Sikorski C T, Kumaravel G, Lin F. *J Am Chem Soc*, 1990, 112: 3860 ~ 3868
- 9 He Binglin (何炳林), Zhao Xiaobing (赵晓斌). *Science in China (Series B) (中国科学) (B 辑)*, 1992, 12: 1240 ~ 1247
- 10 Yoon J, Hong S, Martin K A, Czarnik A W. *J Org Chem*, 1995, 60: 2792 ~ 2795
- 11 Liu Yu (刘育), Kang Shizhao (康诗钊). *Science in China (Series B) (中国科学) (B 辑)*, 2001, 31 (3): 214 ~ 219
- 12 Burke T G, Mi Z H. *J Med Chem*, 1994, 37 (1): 40 ~ 46
- 13 Tokumitsu H, Ichikawa H, Fukumori Y. *Pharm Res*, 1999, 16: 1830 ~ 1835
- 14 Higuchi T, Connors K A. *Adv Anal Chem Instrum*, 1965, 4: 117 ~ 212
- 15 Huang Yi (黄怡), Fan Xiaodong (范晓东). *Chinese Journal of Applied Chemistry (应用化学)*, 2003, 20(1): 38 ~ 41

STUDY ON IMMOBILIZATION OF β -CYCLODEXTRIN ONTO POLY(VINYL ALCOHOL) AND ITS CONTROLLED DRUG RELEASE BEHAVIOR

HUANG Yi, FAN Xiaodong, ZHANG Nannan

(*Department of Chemical Engineering, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072*)

Abstract A novel β -cyclodextrin (β -CD) graft copolymer was synthesized by immobilizing β -CD onto the linear chain of PVA through acetalization reaction. The optimum reaction condition was tested as that the feed weight ratio of β -CD-6-CHO with PVA is 4:1 at 70°C for 2 h. The structures of PVA- β -CD were characterized by Infrared Spectroscopy (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The molecular inclusion complex of PVA- β -CD with camptothecin (CPT), an anticancer drug, was studied. The results indicated that due to the inclusion of PVA- β -CD with the drug, the solubility of the CPT increased greatly. And the cumulative release rate and extent of drug released from PVA- β -CD matrix can be effectively improved with the increase in β -CD content.

Key words Poly(vinyl alcohol), β -Cyclodextrin, Immobilization, Inclusion, Controlled drug release