

## 羧甲基壳聚糖/有机累托石纳米复合材料 及其药物缓释性能研究\*

吴小婷<sup>1</sup> 王小英<sup>1,2</sup> 杜予民<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup> 武汉大学资源与环境科学学院 武汉 430079) (<sup>2</sup> 华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室 广州 510640)

**摘 要** 利用简单的溶液插层法制备了羧甲基壳聚糖/有机累托石纳米复合材料,其中累托石(REC)用十六烷基三甲基溴化铵进行改性.用X-射线衍射(XRD)、红外光谱(FTIR)和扫描电镜(SEM)表征了该纳米复合材料的微观结构和形态,实验表明羧甲基壳聚糖插层进入了累托石层间,增大了累托石的层间距,并且累托石均匀地分布在羧甲基壳聚糖基体中.以牛血清蛋白(BSA)为药物模型,研究了纳米复合材料与海藻酸钠形成的微球的药物缓释性能.结果显示,该微球对药物的包封率及缓释性能与纯羧甲基壳聚糖微球相比都有较大改善,包封率从56%提高到86%,药物缓释时间从24 h上升到72 h.并且纳米复合材料/海藻酸钠微球的释药具有pH响应性,在pH为1.2的条件下释药慢,而在pH为7.4时释药快,可用于小肠或结肠定位缓释系统.因此,羧甲基壳聚糖/有机累托石纳米复合材料很有潜力作为药物载体.

**关键词** 纳米复合材料, 羧甲基壳聚糖, 累托石, 微球

羧甲基壳聚糖是两性聚电解质,其链段中同时含有酸性基团和碱性基团,它具有良好的生物相容性和可生物降解性,并可在生物体内完全降解,是一种极具潜力的缓释材料<sup>[1-3]</sup>.而累托石(REC)是一种具有特殊结构、较为罕见的层状硅酸盐矿物,因其化学组成和特异的矿物晶体结构而具有特殊的物理化学性能,可作为一种新矿物药,起到吸附病原菌、毒素及有害因子的作用<sup>[4,5]</sup>.

近年来,聚合物/层状硅酸盐纳米复合材料因结合了有机、无机材料的优点而备受关注,其具有常规复合材料所没有的结构、形态以及较常规聚合物基复合材料更优越的性能和广泛的应用前景<sup>[6-9]</sup>.目前,已见报道的聚合物一般都使用合成高分子材料如聚乙二醇、聚丙烯腈、聚酰胺以及一些共聚物,或其中的一个组分为合成高分子材料,至于完全由单一天然高分子组成的两性聚合物实为少见<sup>[10,11]</sup>.另外关于层状硅酸盐类国内外一般利用黏土、蒙脱土和高岭土等,而对于累托石基的纳米复合材料的研究才刚刚起步.本实验室已研究了壳聚糖及其衍生物与累托石杂化的纳米复合材料<sup>[12,13]</sup>.本文利用溶液插层法首次制备了羧甲基壳聚糖/累托石杂化纳米复合材料,并对其药物缓释性能做了研究.

## 1 实验部分

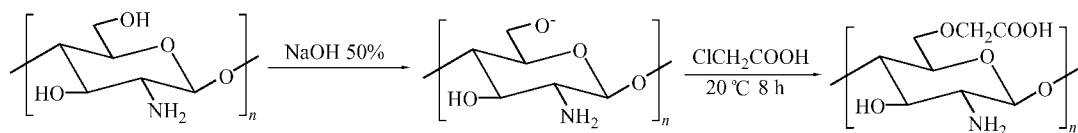
### 1.1 实验试剂

壳聚糖购自浙江玉环海洋生物化学有限公司,脱乙酰度为92%(元素分析法测得),重均分子量为 $2.1 \times 10^5$ (GPC法测得).钙基累托石由湖北名流累托石科技股份有限公司提供.十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)购自武汉新锐科技有限公司.海藻酸钠购自上海化学试剂公司.其它试剂均为分析纯.

### 1.2 羧甲基壳聚糖/有机累托石纳米复合材料的制备

**1.2.1 羧甲基壳聚糖的合成** 在2 g壳聚糖中加入新配的50%氢氧化钠溶液,置于-20℃下冷冻过夜,充分碱化后,取出自然解冻后转移至三口烧瓶中,加入20 mL异丙醇搅拌30~45 min,再在1 h内分批加入2.4 g氯乙酸固体,20℃下搅拌反应8 h.停止反应后过滤,用蒸馏水溶解,再用稀盐酸调节pH至中性.透析完全,得到的溶液旋转蒸发浓缩后冷冻,取出后用冷冻干燥仪干燥即得6-羧甲基壳聚糖样品(简称CMC).制得的羧甲基壳聚糖的收率在46%左右,取代度为0.8,重均分子量为 $3.6 \times 10^5$ .反应式如下页所示.

\* 2008-06-02 收稿,2008-09-16 修稿 国家自然科学基金(基金号 30571462)资助项目;\*\* 通讯联系人,E-mail: duyumin@whu.edu.cn



**1.2 累托石的有机化处理** 称取 4 g 累托石溶于 200 mL 水中,溶胀一天.再将 2 g 十六烷基三甲基溴化铵溶于 528 mL 水,完全溶胀后在 1 h 内滴到累托石中,80℃ 搅拌 6 h,离心至无 CTAB 游离,冷冻干燥后即得有机累托石成品(简称 OREC).

**1.2.3 羧甲基壳聚糖/有机累托石纳米复合材料(简称 COR)的制备** 将羧甲基壳聚糖制成 2.5 g/L 的水溶液,分别按羧甲基壳聚糖:累托石比为 2:1,4:1,8:1,12:1 的比例滴加羧甲基壳聚糖溶液,加热搅拌,反应 2 天后,冷冻干燥即得,样品分别标记为 COR1, COR2, COR3 和 COR4.

### 1.3 壳聚糖/累托石纳米复合材料的表征

X-ray 衍射分析在 D8 Advance diffractometer (Bruker, U. S. A.) 上进行,连续记谱扫描,  $\text{CuK}\alpha$  辐射( $\lambda = 0.154 \text{ nm}$ ),管电压 40 kV,电流 50 mA,扫描范围  $2\theta$  角为  $1^\circ \sim 10^\circ$ ,扫描速度为  $1^\circ/\text{min}$ .

红外光谱测试用 170SX 傅立叶光谱仪 (American Nicolet Company),用 KBr 压片法,扫描范围  $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ .

微球形貌用真空干燥后的样品喷金后在 S-570 型扫描电镜 (Hitachi, Japan) 观察照相.

### 1.4 微球的制备、表征及体外释放

本实验采用滴入法制备微球<sup>[14]</sup>.配置 2% 的海藻酸钠溶液、5% 的氯化钙溶液、1% 的羧甲基壳聚糖溶液和 1% 的羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料溶液.再将海藻酸钠溶液与羧甲基壳聚糖溶液按 2:1 (体积比) 的比例混合,海藻酸钠溶液与纳米复合材料溶液也按 2:1 (体积比) 的比例混合,然后将 2 mg/mL 的牛血清蛋白 (BSA) 加入到混合溶液中,置于磁力搅拌器上搅匀.

将 5% 的氯化钙溶液加于烧杯中,边搅拌边用注射器逐滴滴入混合溶液 2 mL. 15 min 后,取少量样品用紫外分光光度仪测其吸收度,计算游离的 BSA 的量.

BSA 的体外释放实验按下面的方法进行.模拟胃肠道的 pH 环境,微球先置于 pH 为 1.2 的酸性环境中 (HCl 缓释液),然后转入 pH 为 7.4 的弱碱性环境磷酸盐缓释溶液 (PBS),考察对微球释放的行为.每隔一段时间取样用紫外分光光度仪

测其吸收,计算释放出的 BSA 的质量,绘制微球的释放曲线.

## 2 结果与讨论

### 2.1 羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料的 XRD 图谱

图 1 为复合材料的 X 射线衍射曲线.在图 1 中可看到,累托石在  $2\theta$  角为  $3.4^\circ$  和  $7.1^\circ$  附近出现较强的衍射角,说明它存在明显的有序结构.但有机累托石的衍射曲线上原本属于累托石的衍射角已经消失,并且  $2\theta$  角出现在  $2.3^\circ$ .说明累托石与十六烷基三甲基溴化铵反应后,其有序结构受到了破坏,即表明累托石改性成功.并且与有机累托石相比,复合材料的衍射角向小角移动,说明羧甲基壳聚糖与有机累托石形成插层型的纳米复合材料.

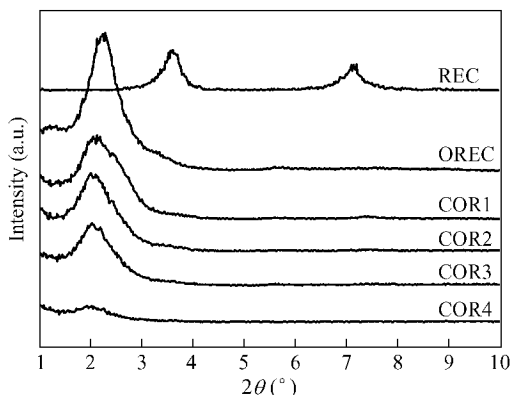


图 1 X-ray diffraction patterns of REC, OREC, COR1, COR2, COR3 and COR4

### 2.2 羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料的 FTIR 图谱

图 2 是实验产物的红外光谱图.从图中可以看出,有机累托石比累托石多出两个  $2924 \text{ cm}^{-1}$ 、 $2846 \text{ cm}^{-1}$  的甲基和亚甲基的伸缩振动峰,说明累托石改性成功.还可以从复合材料图中看出,累托石在  $3651 \text{ cm}^{-1}$  处的羟基的伸缩振动峰已消失,这是由于累托石表面的羟基众多,与羧甲基壳聚糖基体发生强烈相互作用并形成新的界面层或局部网络等结构从而影响复合材料的性能.在所有的纳米复合材料中,羧甲基壳聚糖在  $3435 \text{ cm}^{-1}$  处的

氨基和羟基的振动峰都向低波数方向移动,并且此处的吸收峰变得更宽更强,这些都是氢键作用的表现.原因可能是羧甲基壳聚糖分子与累托石之间发生静电或氢键作用<sup>[12]</sup>.从以上分析得知,累托石和羧甲基壳聚糖之间发生了相互作用.

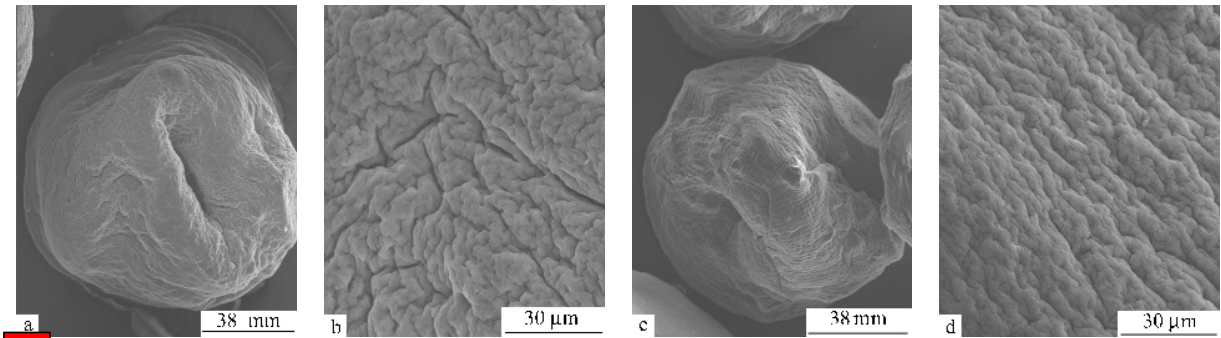
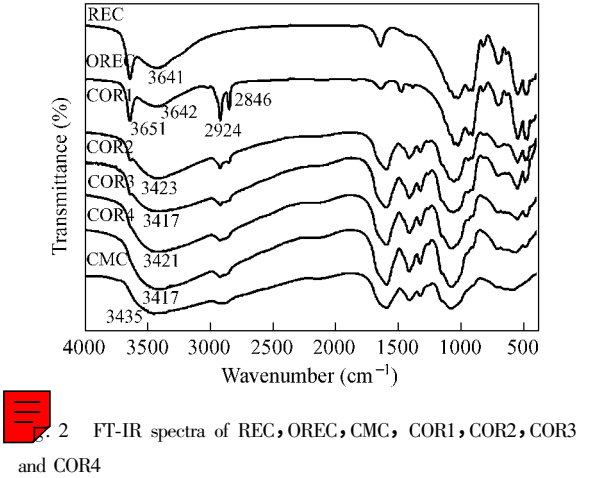
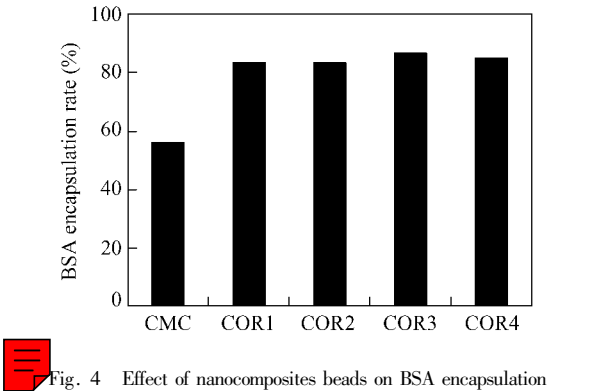
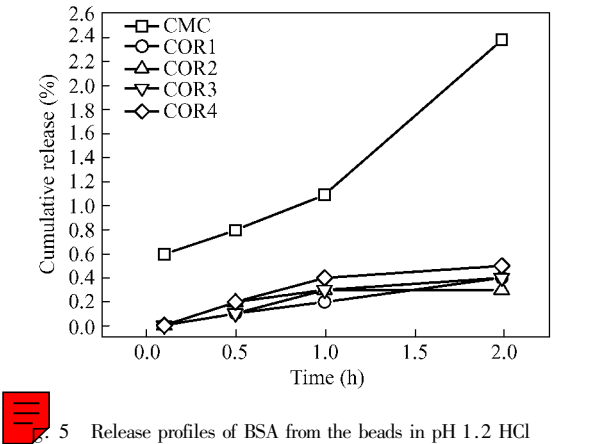


Fig. 3 SEM photographs of the beads  
a) Alginate-CMC beads ; b) Surface morphology of alginate-CMC beads ;  
c) Alginate-COR2 beads ; d) Surface morphology of alginate-COR2 beads



时间只有 24 h.而用羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料制备的微球最高包封率为 86%,药物缓释时间长达 72 h.并且,微球在酸性环境中释药困难,但在碱性环境中易释药.表明微球在胃中释放

2.3 微球的形态  
海藻酸钠/纯羧甲基壳聚糖微球和海藻酸钠/纳米复合材料微球的表面形貌用 SEM 表征,如图 3 所示.纯羧甲基壳聚糖形成的微球具有褶皱的表面,并且上面有微孔,而羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料形成的微球表面相对光滑,结构更加致密.但微球干燥后完全失去了规则的形状,具有较差的球形.从图中可以看出,纯羧甲基壳聚糖微球溶蚀的很严重,表面还有一些缝隙,而羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料微球的表面相对平滑,说明在羧甲基壳聚糖中加入无机材料——累托石,可以提高载药微球在释放介质中的稳定性.  
2.4 复合材料的缓释性能  
从图 4、5 和 6 可看出,羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料的微球对药物的包封率及缓释性能与纯羧甲基壳聚糖微球相比都有较大提高,纯羧甲基壳聚糖微球最高包封率只有 56%,药物缓释



的药极少,主要集中在肠道,这样就有利于药物在小肠内更好地吸收,特别是高分子蛋白类药物.更

重要的是,该材料可以结合粘土片层对药物的吸附作用、对黏膜的保护及吸附体内毒素的功能和羧甲基壳聚糖的增强胃黏膜的渗透性和吸收性,比纯羧甲基壳聚糖更适合在医药上应用.

图 7 和图 8 分别是羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料与海藻酸钠制备的微球分别在 pH = 1.2 的 HCl 溶液中和 pH = 7.4 的 PBS 溶液中浸泡两天后干燥所得的 SEM 图.从图中可以看出,微球在酸性环境中表面结构相对致密一些,但在碱性环境中表面溶蚀得很厉害.并且同样倍数下进行扫描电镜拍摄,碱性环境中的微球比酸性环境中的干瘪得多,褶皱也多很多.说明微球在酸性环境中难溶胀,但在碱性环境中易溶胀.表明包药微球在酸性环境(如胃)中释药少,而在碱性环境(如

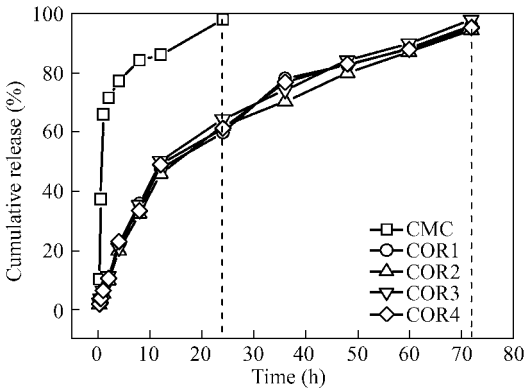


Fig. 6 Release profiles of BSA from the beads in pH 1.2 HCl (2 h) and pH 7.4 PBS (the following time)

肠道)中易释药.

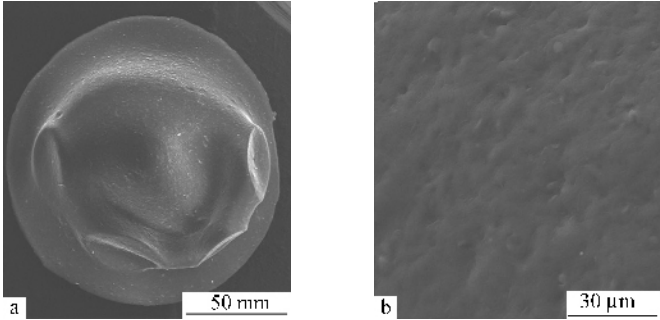


Fig. 7 SEM photographs of the beads at pH 1.2 HCl  
a) Alginate-COR2 beads ; b) surface morphology of alginate-COR2 beads

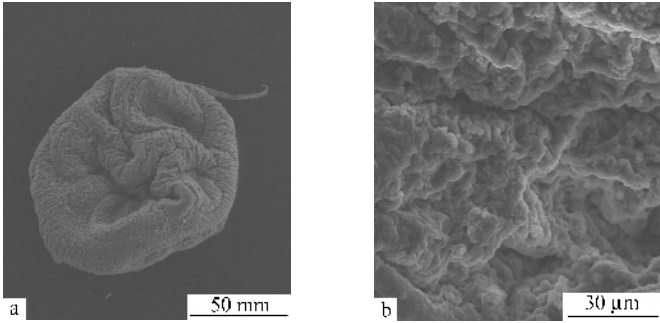


Fig. 8 SEM photographs of the bead at pH 7.4 PBS  
a) Alginate-COR2 beads ; d) Surface morphology of alginate-COR2 beads

### 3 结论

羧甲基壳聚糖与有机累托石进行插层反应可以合成羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料.这种纳米复合材料与海藻酸钠制备的微球是一种 pH

敏感材料,具有良好的药物缓释性能.它在酸性环境中难溶胀,包药后释药少,但在碱性环境中易溶胀,包药后释药多.因此,羧甲基壳聚糖/累托石纳米复合材料可以作为肠道靶向用药的包封材料,有望应用于医药领域.

## REFERENCES

- 1 Chen L Y, Du Y M, Zeng X Q. Carbohydr Res, 2003, 4(338) 333 ~ 340
- 2 Chen LY, Du Y M. Biomaterials, 2004, 25 3725 ~ 3732
- 3 Sun L P, Du Y M. Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2004, (2) 191 ~ 195
- 4 Hussein M Z B, Zainal Z, Yahaya A H, Foo D W V. J Controlled Release, 2002, 82 417 ~ 427
- 5 Dong Y C, Feng S S. Biomaterials, 2005, 26 6068 ~ 6076
- 6 Lu Jiankun(吕建坤), Qi Zongneng(漆宗能), Yi Xiaosu(益小苏). Polymer Bulletin(高分子通报), 2000, 6 18 ~ 25
- 7 Beckera O, Varleyb R, Simon G. Polymer, 2002, 43 4365 ~ 4373
- 8 Chan C M, Wu J S, Li J X. Polymer, 2002, 43 2981 ~ 2992
- 9 Huang Li(黄丽), Sun Zhengbin(孙正滨), Zhang Jinsheng(张金生). Acta Materiae Compositae Sinica(复合材料学报), 2001, 18(3) 1 ~ 4
- 10 Ma Jisheng(马继盛), Qi Zongneng(漆宗能), Li Ge(李革), Hu Youliang(胡友良). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2001, (5) 589 ~ 593
- 11 Garcia-Lopez D, Picazo O, Merino J C, Pastor J M. Eur Polym J, 2003, 39 945 ~ 950
- 12 Wang X Y, Du Y M, Yang J H, Wang X H, Shi X W, Hu Y. Polymer, 2006, 47 6738 ~ 6744
- 13 Wang X Y, Du Y M, Luo J W, Lin B F, John F. Carbohydr Polym, 2007, 69 41 ~ 49
- 14 Shi X W, Du Y M, Sun L P. Macromolecular Bioscience, 2005, 5(9) 881 ~ 889

## PREPARATION AND DRUG-CONTROLLED RELEASE PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL CHITOSAN/ORGANIC RECTORITE NANOCOMPOSITES

WU Xiaoting<sup>1</sup>, WANG Xiaoying<sup>1,2</sup>, DU Yumin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Department of Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430079)

(<sup>2</sup> State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640)

**Abstract** In order to combine the advantage of a biopolymer with clay in a drug delivery system, the simple solution-mixing processing technique was used to prepare carboxymethyl chitosan/organic rectorite nanocomposites (COR). The rectorite (REC) was modified with cetyltrimethyl ammonium bromide. A study on these nanocomposites' microstructures and configurations was conducted through observation of X-ray diffraction (XRD), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). The results indicated that carboxymethyl chitosan chains were inserted in silicate layers to form the intercalated nanocomposites, the interlayer distance of rectorite was magnified and rectorite dispersed well in carboxymethyl chitosan matrix. Bovin serum albumin (BSA), as a model protein drug, was incorporated into the nanocomposite/alginate microspheres. The results showed that their encapsulation efficiency and controlled release property were better than those of pure carboxymethyl chitosan/alginate microspheres. The encapsulation efficiency increased from 56% to 86%. *In vitro* release studies showed a burst effect and a slow and continuous release followed, and the release time prolonged from 24 h to 72 h. Drug release from nanocomposite/alginate microspheres was pH sensitive. The release rate was slow at pH 1.2 and rapid at pH 7.4, which can be used for drug delivery to the intestinal and colon. Therefore, the carboxymethyl chitosan/organic rectorite nanocomposites are of great potential in the biomedical field.

**Keywords** Nanocomposite, Carboxymethyl chitosan, Rectorite, Microsphere