

· 研究简报 ·

壳聚糖-丝心蛋白包药微球的结构和释放性能研究*

彭湘红

张俐娜**

(华中理工大学汉口分校化工系 武汉 430012)

(武汉大学化学系 武汉 430072)

潘雪龙

(昆山双鹤药业有限公司 江苏 215315)

关键词 壳聚糖, 丝心蛋白, 非诺洛芬钙, 共混微球, 缓释

近年, 高分子微球的研究与开发十分引人注目. 将药物包裹于微球中, 经主动和被动控制, 进入预定靶器官或组织后缓慢释放出, 不仅可降低其毒副作用, 还可提高其生物活性利用度. 壳聚糖(CS)可作牛血清白蛋白等药物缓释微球的载体^[1~3]. 丝心蛋白(FB)含 18 种氨基酸, 具有多孔性和良好的渗透性^[4], 也是一种理想的生物材料. 壳聚糖和丝心蛋白共混可交联成半互穿聚合物网络(Semi-IPN)结构. 具有智能水凝胶的性能^[5]. 本实验室已用纤维素铜氨液分别与干酪素、海藻酸钠及魔芋共混制得共混膜, 两种分子间存在由次价键力引起的很强的相互作用, 使其力学性能及耐热性明显提高^[6~8]. 熟知非诺洛芬钙(苯氧布洛芬钙)是非甾体消炎镇痛药, 用于急慢性、风湿性、类风湿性关节炎和强直性脊椎炎. 由于其生物半衰期较短, 需要频繁服药, 而且对肠胃刺激较大, 因此制成缓释制剂可以减少服药次数和药物的不良反应. 由此本文试图用壳聚糖和丝心蛋白共混制成微球, 并用于包合非诺洛芬钙得到包药微球. 采用 IR、X-ray 衍射、SEM 表征包药微球与未包药微球结构. 同时研究包药微球中非诺洛芬钙在人工肠液的缓释作用.

1 实验

壳聚糖(浙江玉环海洋生物化学有限公司), 粘均分子量 $M_v = 3.11 \times 10^5$, 脱乙酰度为 85.2%; 非诺洛芬钙(昆山双鹤药业有限公司, 纯度 98%); 市售天然蚕茧用 0.5% 的 NaHCO_3 溶液在 100℃ 煮 30min 脱胶, 干燥得丝心蛋白.

2% (W/W) 的壳聚糖醋酸溶液与 2% (W/W) 的丝心蛋白溶液分别按 1:4 和 2:3 (W/W) 比例混合, 混合液静置脱泡后浇铸在聚酯片上并于红外灯

下干燥成壳聚糖与丝心蛋白共混膜, 它们的编号依次为 CSF1, CSF2. 由壳聚糖和丝心蛋白制成的膜编号为 CS 和 FB.

壳聚糖-丝心蛋白共混微球制备按照专利所述方法进行^[9]. 包药微球制备方法为, 10g 壳聚糖-丝心蛋白共混液与 0.1g 非诺洛芬钙的冰醋酸溶液混合搅拌 30min, 然后加入液体石蜡, Span-20, 搅拌 30min 后加入戊二醛 1~1.5mL 反应 2h, 产物用丙酮洗涤, 过滤并干燥, 编号为 CS-FB-FC. 改变戊二醛用量, 分别为 1mL, 1.2mL, 1.5mL, 同时, 将 0.1g 非诺洛芬钙与壳聚糖溶液混合后加 1.5mL 戊二醛交联得壳聚糖-非诺洛芬钙微球(CS-FC).

壳聚糖, 丝心蛋白, 壳聚糖-丝心蛋白共混膜分别用 KBr 压片, 在红外光谱仪 (Shimadzu FTIR 8300) 进行分析. 壳聚糖-丝心蛋白微球(CS-FB), 非诺洛芬钙, 包药微球分别在红外谱仪 (FTIR 8300 Shimadzu) 和 X-ray 衍射仪 ($\text{CuK}\alpha$, 40kV/50mA, $2\theta = 4^\circ \sim 40^\circ$) 进行分析. 微球的形貌用扫描电子显微镜 (日立 S-430 SEM) 观察并拍照, 试样经喷金处理.

包药微球的非诺洛芬钙的体外释放试验采用动态渗析法^[10]. 称取 0.5g 包药微球置于渗析袋中, 加 5mL 人工肠液 (pH=7.4 的磷酸缓冲液^[11]) 使微球悬浮, 放入盛 1000mL 人工肠液的烧杯中, 在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温水槽中搅拌, 定时取样液 1mL 并稀释到 10mL, 然后补加等量稀释介质, 用紫外光度计 (UV-1600, Shimadzu) 测定其吸光度, 由此检测其浓度变化, 按下式计算释放药物的速度. 释放率 = $W_1/W_2 \times 100$. 式中 W_1 和 W_2 分别为微球在人工肠液溶出的非诺洛芬钙的量和非诺洛芬钙的总量.

* 1999-10-15 收稿, 1999-12-02 修稿; 上海中金投资集团和中科院广州纤维素化学开放实验室资助项目; ** 通讯联系人

2 结果

2.1 壳聚糖和丝心蛋白之间的相互作用 壳聚糖(CS)、丝心蛋白(FB)、壳聚糖和丝心蛋白共混膜CSF1、CSF2的红外光谱图示于图1.壳聚糖中氨基的N—H面内弯曲振动峰在 1595cm^{-1} ,丝心蛋白在 1652cm^{-1} 、 1540cm^{-1} 和 1241cm^{-1} 处近出现对应其无规线团构象的酰胺I、II、III的特征峰.然而对于共混膜CSF1和CSF2谱图上分别出现 1648cm^{-1} 双峰,为丝心蛋白酰胺I的特征峰 1652cm^{-1} 紫移的结果,表明共混膜中丝心蛋白的部分C=O受到氢键影响,而另一部分C=O仍维持原来的状态.丝心蛋白的酰胺III的特征峰 1241cm^{-1} 在共混膜CSF1、CSF2中则移向 1153cm^{-1} 、 1152cm^{-1} .此外在 $3000\sim 4000\text{cm}^{-1}$ 范围内丝心蛋白出现尖锐的N—H特征峰 3291cm^{-1} ,而壳聚糖出现分子内缔合羟基的吸收峰 3372cm^{-1} .在共混膜CSF1、CSF2的谱图上则在 3299cm^{-1} 和 3293cm^{-1} 的处出现肩峰,以上结果表明壳聚糖与丝心蛋白之间形成较强的氢键作用,由此说明壳聚糖与丝心蛋白有较强的相互作用.

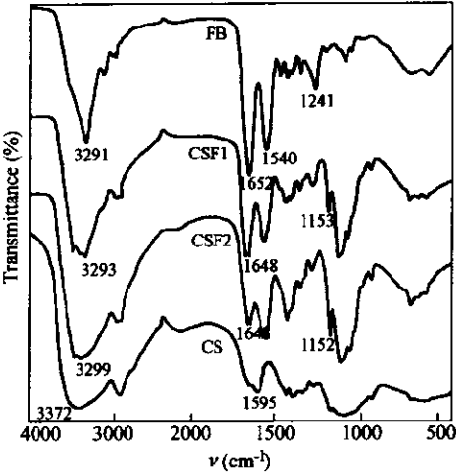


Fig. 1 IR spectra of pure fibrin (FB), CS-FB blend membranes CSF1, CSF2, pure chitosan (CS)

2.2 包药微球的释放性能 图2示出不同量戊二醛交联的壳聚糖-丝心蛋白-非诺洛芬钙微球(CS-FB-FC)和壳聚糖-非诺洛芬钙微球(CS-FC)中非诺洛芬钙在 pH = 7.4 的人工肠液中的释放率随时间的变化曲线.随戊二醛用量增加CS-FB-FC

微球中非诺洛芬钙在人工肠液中释放性能降低.戊二醛为1.0mL和1.2mL时,微球包合的非诺洛芬钙释放率为100%的时间为3h和7h,戊二醛为1.5mL时,微球包合的非诺洛芬钙在10h释放率为90%.表明戊二醛用量的增加导致壳聚糖、丝心蛋白微球的交联程度增加,而其溶胀性降低,使非诺洛芬钙较难从微球中释放出来.由此认为戊二醛为1.5mL时制备的微球较适于做缓释材料.在相同时间内,壳聚糖-丝心蛋白包合的非诺洛芬钙比壳聚糖包合的非诺洛芬钙的释放率要低,这是由于壳聚糖与丝心蛋白的相互作用较强,从而延缓微球中的非诺洛芬钙的释放,并且非诺洛芬钙与壳聚糖和丝心蛋白形成了分子间氢键.

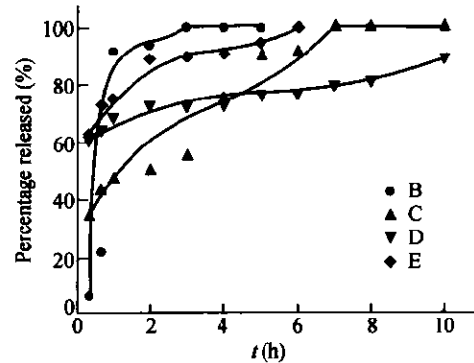


Fig. 2 Percentage of fenoprofen calcium released from different glutaraldehyed concentrations in CS-FB-FC (B) 1.0mL, (C) 1.2mL, (D) 1.5mL and (E) CS-FC microsphere

2.3 包药微球的结构 图3示出各试样的红外光谱.非诺洛芬钙为 α -甲基-3-苯氧基-苯乙酸钙二水合物,它在IR谱的特征吸收峰为 1560cm^{-1} 、 1488cm^{-1} (苯环骨架振动峰),壳聚糖和丝心蛋白微球的吸收峰出在 1632cm^{-1} ($-\text{C}=\text{N}-$), 1462cm^{-1} 、 1377cm^{-1} .包药微球的 1559cm^{-1} 的特征峰为非诺洛芬钙(苯环 1560cm^{-1})移向低波数,且其强度与该药物及其与微球混合物相比大大减弱.有趣的是壳聚糖和丝心蛋白微球的 1462cm^{-1} 、 1377cm^{-1} 的特征峰在包药微球中消失.这些结果均表明非诺洛芬钙与壳聚糖和丝心蛋白之间形成很强的分子间相互作用力.

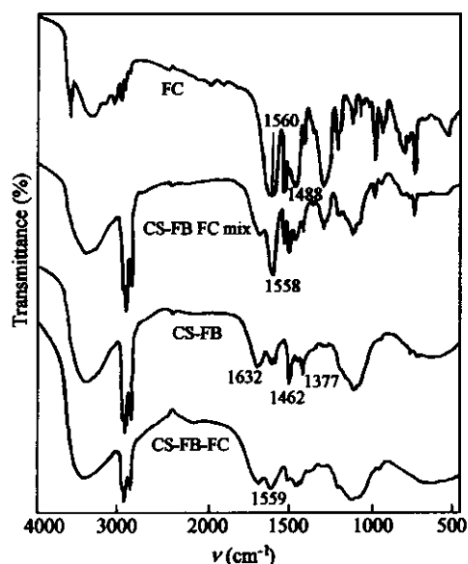


Fig. 3 IR spectra of FC, CS-FB microsphere and FC mixture, CS-FB microsphere, CS-FB-FC

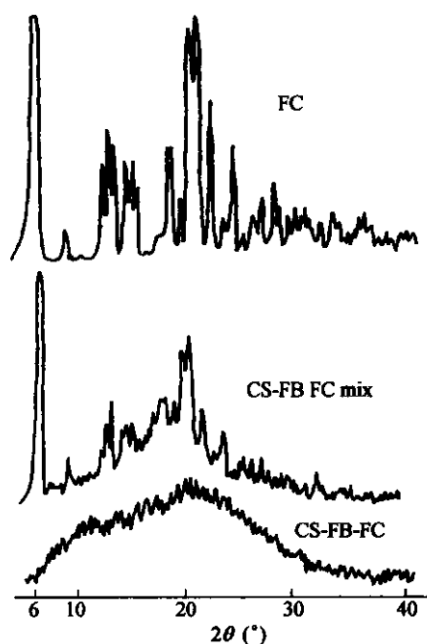


Fig. 4 X-ray diffraction of FC, CS-FB and FC mixture, CS-FB-FC

X-ray 衍射结果示于图 4. 非诺洛芬钙与未包药微球的混合物基本显示出非诺洛芬钙晶体的各个特征峰 ($2\theta = 6.4^\circ, 13.0^\circ, 14.5^\circ, 19.8^\circ, 20.4^\circ, 21.7^\circ, 23.7^\circ$). 在包药微球中非诺洛芬钙的结晶峰基本消失呈现非晶型化合物特征图. 表明非诺洛芬钙在包合物中与壳聚糖和丝心蛋白形成强分子间力作用而破坏它的结晶结构.

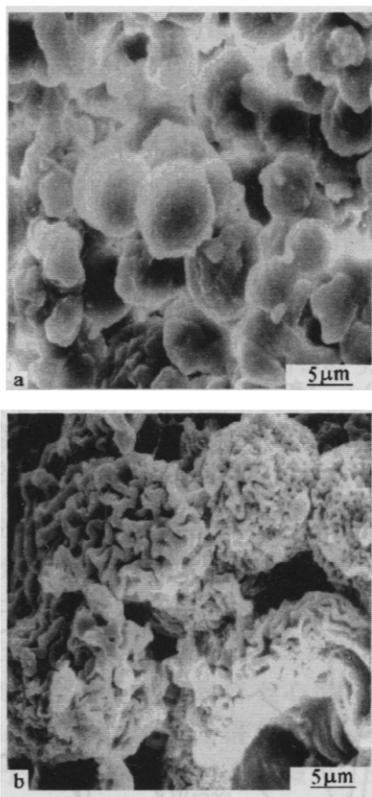


Fig. 5 SEM of the CS-FB (a), CS-FB-FC (b)

图 5 示出壳聚糖-丝心蛋白微球和包药微球的扫描电镜相片 (SEM). 显然, 壳聚糖, 丝心蛋白和非诺洛芬钙共混形成较大的均匀包药微球 (平均直径约 $35\mu\text{m}$), 而且示出腔体. 而用壳聚糖与丝心蛋白共混只能得到较小的微球 (平均直径约 $8\mu\text{m}$). 且球形也不如包药微球规整. 包药微球表面是一种较均匀的结构也表明它们共混相容性好, 进一步表明非诺洛芬钙在包药微球中与壳聚糖和丝心蛋白之间形成强的分子间力, 可聚集成较大的球体.

REFERENCES

- 1 Thomas C, Daniel L M, Gundu H R. J Appl Polym Sci, 198, 70: 2143~2153
- 2 Lin S Y, Lin P C. Chem Pharm Bull, 1992, 40(9): 2491~2497
- 3 Polk A, Amsden B, Yao K D, Peng T, Goosen M F A. J Pharm Sci, 1994, 83(2): 179~185
- 4 Liu Yongcheng(刘永成), Shao Zhengzhong(邵正中), Sun Yuyu(孙玉宇). Polym Bull(高分子通报), 1998, 9: 17~23
- 5 Li Wenju(李文俊), Wang Hanfu(王汉夫), Lu Yuhua(卢玉华). Acta Polym Sci(高分子学报), 1997, (2): 106~110
- 6 Zhang L, Yang G, Xiao L. J Membrane Sci, 1995, 103: 65~71
- 7 Zhang L, Zhou D, Cheng S. J Membrane Sci, 1997, 124: 195~201
- 8 Yang G, Zhang L. J Membrane Sci, 1999, 161: 31~40
- 9 Zhang L N(张俐娜), Peng X H(彭湘红). CN patent 99120027. 6. 1999-11-02
- 10 Sugibayashi K, Akimoto M, Morimoto Y. J Pharmacobiodyn, 1979, 2: 350~355
- 11 Hari P R, Thomas C, Chanda P. J Appl Polym Sci, 1996, 59: 1795~1801

STUDIES ON THE STRUCTURE AND CONTROLLED RELEASE OF CHITOSAN/FIBROIN MICROSPHERE INCLUSION DRUG

PENG Xianghong

(Department of Chemical Engineering, Hankou Branch Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430012)

ZHANG Lina

(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

PAN Xuelong

(Kunshang Double-Crane Pharmaceutical Company, Jiangsu 215315)

Abstract Miscibility of the fibroin, which was soluble in $\text{CaCl}_2\text{-H}_2\text{O-C}_2\text{H}_5\text{OH}$ aqueous solution, mixed with chitosan was investigated, and its microspheres were prepared. The chitosan (CS)/fibroin (FB) microsphere inclusion fenoprofen calcium (CS-FB-FC) was prepared, and its structure was analyzed by FTIR, X-ray and SEM. The results indicated that blend of chitosan, fibroin and fenoprofen calcium in aqueous solution is miscible, and strong interaction caused by intermolecular hydrogen bonding exists in CS-FB-FC. It was indicated that approximately 77% of fenoprofen from the microsphere were released in phosphate-buffered saline (pH = 7.4) within the initial 6h, and with increasing the glutaraldehyde concentration, the release of fenoprofen decreased.

Key words Chitosan, Fibroin, Fenoprofen calcium, Blend microsphere, Controlled release