

文章编号:1009-038X(2004)01-0005-04

羟乙基纤维素接枝聚丙烯酸纳米颗粒的 制备及药物缓释

张彩华^{1,3}, 刘晓亚¹, 陈明清¹, 杨成¹, 顾正彪²

(1. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 3. 萍乡高等专科学校 化工系, 江西 萍乡 337055)

摘 要: 羟乙基纤维素接枝聚丙烯酸共聚物(HEC-g-PAA)在选择性溶剂中进行自组装,制备了具有良好分散稳定性的纳米颗粒,用动态激光光散射和透射电子显微镜对纳米颗粒大小分布和形态进行了表征. 以生物可降解的 HEC-g-PAA 接枝共聚物负载模型药物布洛芬(Ibuprofen),制备载药纳米颗粒(Ib-HEC-g-PAA). 在 37 ℃于不同 pH 的缓冲溶液中进行体外释放研究. 药物释放速率的测定结果表明,以 HEC-g-PAA 作为布洛芬的载体,可以在选择性条件下实现药物可控释放的目的.

关键词: 羟乙基纤维素接枝聚丙烯酸; 纳米颗粒; 布洛芬; 药物缓释

中图分类号:O 631

文献标识码: A

Preparation of Poly(acrylic acid) Grafted Hydroxyethylcellulose Nanoparticles and Drug Delayed Release

ZHANG Cai-hua^{1,3}, LIU Xiao-ya¹, CHEN Ming-qing¹, YANG Cheng¹, GU Zheng-biao²

(1. School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 3. Department of Chemical Engineering, Ping Xiang College, Pingxiang 337055, China)

Abstract: Hydroxyethylcellulose grafting poly(acrylic acid) can self-assemble nanoparticles with narrow size distribution and stability in selective solvent. The size and morphology of the nanoparticles were characterized by Laser Light Scattering and Transmission Electron Microscope. The nanoparticles containing drug (Ib-HEC-g-PAA) were prepared by Ibuprofen as a model drug and then the biodegradable HEC-g-PAA was taken in buffered solutions at different pH and body temperature (37 ℃) to release. The release rates of the drug were examined in vitro. It was identified that as Ibuprofen carriers Hydroxyethylcellulose grafting poly(acrylic acid) could deliver the drug much longer and more validly.

Key words: hydroxyethylcellulose grafting poly(acrylic acid); nanoparticles; ibuprofen; drug delayed release

收稿日期:2003-05-12; 修回日期:2003-07-14.

基金项目:国家自然科学基金项目(NSSC:20276027)资助课题.

作者简介:张彩华(1973-),女,江西萍乡人,讲师,应用化学专业硕士研究生.

高分子自组装纳米材料及其制备技术是当前的研究热点之一。聚合物胶束是近几年新发展起来的一类新型纳米材料。通常由含有亲水和疏水基团的嵌段共聚物或接枝共聚物在水溶液中自组装形成。高分子胶束(polymeric micelles)具有亲水性外壳及疏水性内核,能对药物增溶和包裹,并适合于携带不同性质的药物,亲水性的外壳还具备“隐形”的特点^[1]。目前研究较多的是聚乳酸与聚乙二醇的嵌段共聚物,壳聚糖及其衍生物等天然高分子的自组装胶束化也受到密切关注^[2~4]。

目前,用于药物载体的聚合物大多是天然或人工合成的可生物降解材料,如白蛋白^[5]、明胶、多糖类天然高分子化合物,或聚氰基丙烯酸酯、聚乳酸、聚乙醇酸、聚己内酯及其共聚物等合成高分子。纳米颗粒(nanoparticles)作为抗癌药、抗生素药物的载体,通过静脉给药表现出明显的肝、脾、骨髓等器官与组织的分布靶向性,即天然靶向性^[6]。经过表面修饰的纳米颗粒还具有定位靶向作用,并能延长其在血液系统的循环时间^[7],还可以进入毛细血管,从而可降低其毒副作用,大大提高药物的生物利用度^[8]。

作者以可降解的羟乙基纤维素为基本原料,将其与丙烯酸接枝共聚制备羟乙基纤维素接枝聚丙烯酸(HEC-g-PAA),并以布洛芬为模型药物,在水溶液中自组装,形成稳定的具有一定核壳结构的高分子胶束——载药纳米颗粒,并在与人体体温相同但 pH 不同的缓冲溶液中进行药物释放的初步研究。结果表明,该接枝共聚物可以负载活性物质,避免胃酸对活性物质的破坏,从而在小肠部位实现靶向释放。

1 材料与方法

1.1 试剂

羟乙基纤维素接枝聚丙烯酸(HEC-g-PAA):按文献^[9]制备;布洛芬原药(Ibuprofen):上海医药工业研究院提供;透析膜:日本三光纯药株式会社生产;氯化钠:分析纯,上海试剂公司生产;盐酸:分析纯,上海振兴化工二厂生产;超纯水:无锡华晶集团生产。

1.2 仪器

UV1100 型紫外可见分光光度计:北京瑞利分析仪器公司制造;激光光散射仪(LLS):德国 ALV 公司制造;透射电子显微镜(TEM):日本日立公司制造;pHS-3T(0.01 级)型精密数显酸度计:上海天达仪器有限公司制造;HJ-3 型恒温磁力加热搅

拌器:江苏省金坛市荣华仪器厂制造。

1.3 接枝共聚物载药(布洛芬)纳米颗粒的制备

先将质量比为 1:25 的布洛芬与接枝共聚物 HEC-g-PAA 溶解在 2 g/dL 的氢氧化钠溶液中,配成一定浓度的布洛芬/HEC-g-PAA 混合溶液,过滤后使用。在匀速搅拌下,将一定浓度的盐酸溶液逐滴滴入已过滤的布洛芬/HEC-g-PAA 混合溶液中,继续搅拌 24 h 后,得接枝共聚物载药布洛芬(Ib-HEC-g-PAA)纳米颗粒水溶液。

1.4 纳米颗粒的表征

激光光散射仪(LLS)测试条件为:温度 298.15 K,波长为 632.8 nm,入射光角度为 90°。在该条件下对纳米颗粒流体力学直径(D_h)进行测定,用透射电子显微镜对纳米颗粒的形态进行表征。

1.5 布洛芬标准曲线的建立

准确称量 5.0 mg 布洛芬溶于 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液中,于 50 mL 容量瓶中定容后,再分别移取 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加超纯水稀释至刻度,得到布洛芬质量浓度为 5,10,15,20,25,30 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,定容后待测。取最小质量浓度 5 $\mu\text{g/mL}$ 溶液先于 200~400 nm 进行紫外扫描,确定 222 nm 为布洛芬水溶液的检测波长。以浓度 c 对吸光度 A 作直线回归,得标准曲线方程: $A = 0.0528c + 0.0263$ ($R = 0.9996$, $n = 3$)。

1.6 载药纳米颗粒释放试验

参考中国药典(1995 年版)附录中 X_D 释放度的测定法。将一定量的载药纳米颗粒水溶液置于纤维素透析袋中(相对分子质量分割范围为 12 000~14 000),然后置于盛 200 mL 不同 pH 值缓冲溶液的烧杯中(必要时用盐酸、氢氧化钠和氯化钠等调整,以保持离子强度相等),在 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温下以动态渗析法测定体外释药性能,搅拌转速为 100 r/min,每隔固定时间取 5 mL 透析液,随即补加等量的新鲜缓冲溶液。在 222 nm 处用 UV1100 型分光光度计测定,由标准曲线方程计算得累积释放百分率。

2 结果与讨论

2.1 HEC-g-PAA 纳米颗粒的热敏性

一般来说,温度对聚合物纳米颗粒的直径有不同的影响。用 LLS 对制备的 HEC-g-PAA 纳米颗粒在不同温度下的直径进行表征,结果见图 1。从图 1 可以看出,随着温度的升高,自组装形成的 HEC-g-PAA 纳米颗粒直径减小。该现象可解释为:随着体

系温度的升高,颗粒表面的亲水链段与溶剂水分子之间的氢键作用受到破坏,亲水性链段逐步变得疏水,发生收缩,从而使纳米颗粒粒径减小. 结果表明, HEC-g-PAA 纳米颗粒有一定的热敏性.

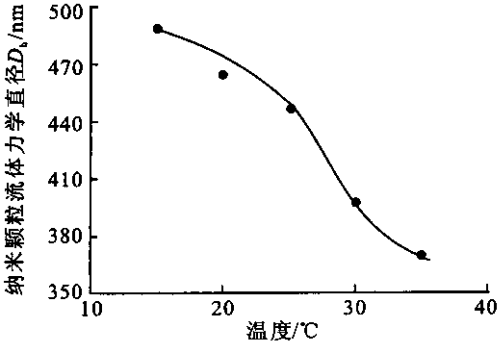


图 1 温度对纳米颗粒流体力学直径 (D_h) 的影响
Fig. 1 The effect of temperature on the hydrodynamics diameter (D_h) of nanoparticles

2.2 聚合物质量浓度对纳米颗粒的影响

从激光光散射仪对纳米颗粒粒径的表征结果看,随着聚合物质量浓度的增大,通过自组装形成的纳米颗粒粒径也随之增大,结果见图 2. 此现象可解释为自组装形成纳米颗粒过程是一个动态力学平衡过程,聚合物质量浓度增大,进入单个胶束纳米颗粒的高分子链也增多,胶束纳米颗粒聚集数增大,从而使得纳米颗粒粒径增大.

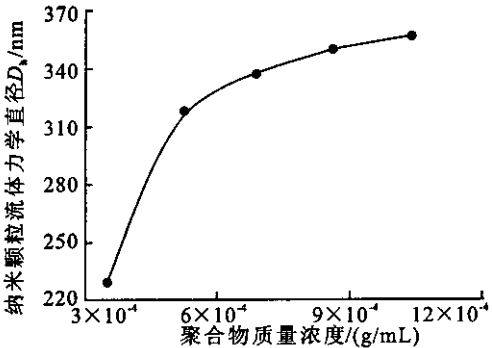


图 2 聚合物质量浓度对纳米颗粒流体力学直径 (D_h) 的影响
Fig. 2 The effect of polymer concentration on the hydrodynamics diameter (D_h) of nanoparticles

2.3 纳米颗粒的形态与大小分布

用透射电子显微镜 (TEM) 对纳米颗粒的形态进行了观察,结果见图 3. 从 TEM 照片可以看出,由自组装得到的纳米颗粒基本呈花朵状,由疏水链形成致密的内核和亲水链形成疏松的外壳结构,这也与图 1 中颗粒直径随着温度升高而减小的结果相吻合. 同时由 LLS 得到的纳米颗粒大小分布 (见图 4) 可看出,纳米颗粒粒径分布较窄,颗粒大小较均匀.

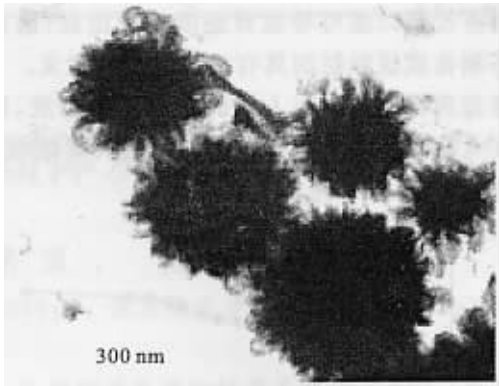


图 3 纳米颗粒的电镜照片
Fig. 3 TEM image of nanoparticles

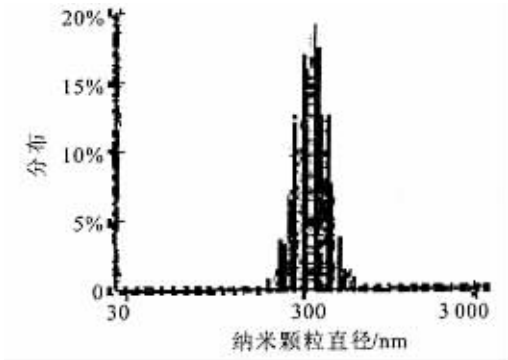


图 4 纳米颗粒粒径分布图
Fig. 4 The Size distribution of nanoparticles

2.4 纳米颗粒的稳定性

纳米颗粒的流体动力半径 (R_h) 及分布随时间的变化见图 5. 可以看出,在制备 30 d 以后,纳米颗粒的粒径及分布系数 (PD. I) 基本不变. R_h 与 PD. I 分别由刚制备的 167.2 nm 和 0.043 6 到 30 d 后的 168.5 nm 和 0.046 2,基本没有改变,证实了该纳米颗粒具有很好的稳定性.

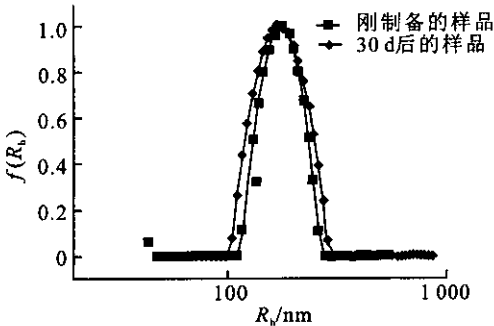


图 5 纳米颗粒的流体动力半径及分布函数关系
Fig. 5 Hydrodynamic radius (R_h) and distributions $f(R_h)$ of nanoparticles

2.5 药物缓释实验

布洛芬 (Ibuprofen) 为非甾体抗炎药物,具有较好的解热、镇痛作用,主要用于风湿、类风湿性关节炎的治疗;还广泛用于感冒、发烧等临床应用^[10]. 但布洛芬生物半衰期较短 (1.8~2.0 h),需频繁用药,

且布洛芬长期口服可导致胃肠溃疡及出血,因此将布洛芬制备成缓释制剂具有很好的实际意义。

考虑药物应主要在小肠部位释放,因此选择在人体的体温(37℃)下,模拟肠、胃液的 pH 条件进行释放,结果见图 6,7。

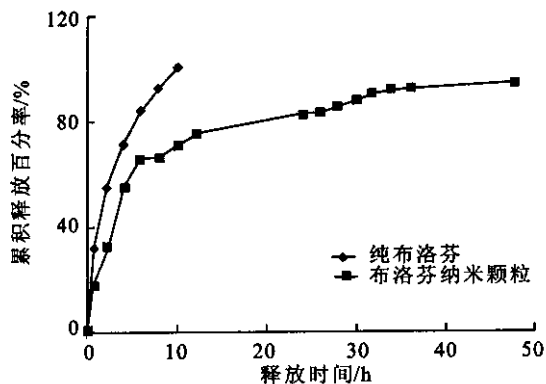


图 6 在 pH 7.4 的缓冲溶液中的释放曲线

Fig. 6 The release curves in buffered solutions at pH 7.4

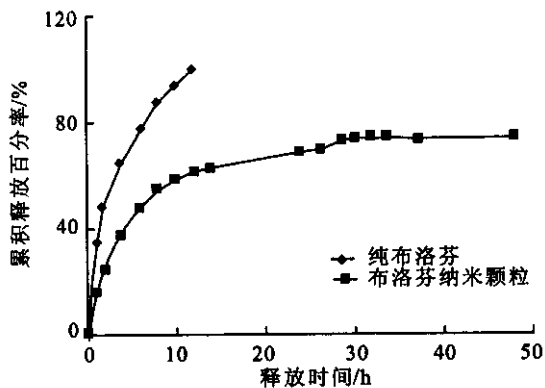


图 7 在 pH 1.5 的缓冲溶液中的释放曲线

Fig. 7 The release curves in buffered solutions at pH 1.5

从图 6,7 的释放曲线看,未经缓释制剂的布洛芬在不同的 pH 缓冲溶液中,经过 10 和 12 h 后已释放完毕;而负载布洛芬的纳米颗粒在相同的条件

下进行释放,经过 48 h 后,累积释放百分率分别达 93.8% 和 74.4%。还可看出:布洛芬的体外释放曲线可分为突释和平衡缓释两个阶段,初期为突释阶段,布洛芬药物累积释放百分率约为 47%~60%,维持时间大约为 6~8 h。在平衡缓释阶段,布洛芬药物释放量约占总量的 28%~35%,维持时间约为 38~40 h。从总体上看,布洛芬纳米颗粒的释放快慢还与释放介质的酸碱度有密切关系,在较低的 pH 环境中(如 pH 1.5)释放速度较慢,而在弱碱性环境中(如 pH 7.4)释放较快。这种情况可解释为:以 HEC-g-PAA 为载体材料制备的载药布洛芬纳米颗粒,在 pH 值增大时,HEC-g-PAA 的接枝链段聚丙烯酸主要以阴离子的羧基形式存在,电荷间的排斥作用使得载药纳米颗粒结构疏松,易于溶胀,从而更易释放出药物小分子;反之, pH 值减小,HEC-g-PAA 的接枝链段聚丙烯酸不易发生电离,纳米颗粒亲水壳层上的电荷排斥作用减小,故此条件下载药纳米颗粒结构趋于紧密,不易于溶胀释放出药物小分子。

3 结 论

以 HEC-g-PAA 为载体,制备了载药布洛芬纳米颗粒,用激光光散射仪考察了温度、聚合物质量浓度对纳米颗粒粒径的影响。随着温度的升高,纳米颗粒粒径减小;而随着聚合物质量浓度的增加,纳米颗粒粒径增大。通过透射电子显微镜和激光光散射表征,纳米颗粒基本呈球形且分布较均一。载药纳米颗粒在不同 pH 缓冲溶液中释放表明,HEC-g-PAA 作为布洛芬缓释材料具有明显的缓释效果,该生物可降解材料作为药物缓释载体具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Jones M C, Leroux J C. Polymeric micelles—a new generation of colloidal drug carriers [J]. *Eur J Pharm Biopharm.* 1998, 48: 101–111.
- [2] Liu Hongbo, Farrell S, Uhrich K. Drug release characteristics of unimolecular polymeric micelles[J]. *J Controlled Release*, 2000, 68:167–174.
- [3] Kima S Y, Shina I L G, Leea Y M, *et al.* Methoxy poly(ethylene glycol) and-caprolactone amphiphilic block copolymeric micelle containing indomethacin. II. Micelle formation and drug release behaviours[J]. *Jcontrolled Release*, 1998, 51:13–22.
- [4] Calvo E, Remunan-Lopez C, Vila-Jato J L, *et al.* Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers[J]. *J Applied Polymer Sci*, 1997, 63:125–132.
- [5] Muller B G, Leuenberger H, Kissel T. Albumin nanospheres as carriers for passive drug targeting: an optimized manufacturing technique[J]. *Pharm Res*, 1996, 13(1):32–37.
- [6] Kreuter J. Drug targeting with nanoparticles[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 1994, 19(3):253–256.

始含水量的影响最大,这更加说明了固体发酵中起始含水量是最关键的影响因素. 最佳培养基配方为 $A_3B_4C_2$, 这个结果基本与单因子试验结果一致,即甘油和玉米浆的质量分数以 0.2%和 0.15%最好,起始含水量 50%最好. 根据以上分析,最佳的发酵培养基配方为:500 mL 三角瓶中装 20 g 大米,甘油

质量分数 0.2%、玉米浆质量分数 0.15%,起始含水量 50%;采用以上优化配方,结合最佳的培养条件进行补充试验,重复 3 次实验,结果表明,Monacolin K 产量基本稳定在 1.4 mg/g 左右,最高产量为 1.6 mg/g.

参考文献:

[1] Endo A, Kuroda M, Tusija Y. ML- 336, ML- 236B and ML- 236C, new inhibitors of cholesterogenesis produced by *Penicillium citrinum*[J]. **J Antibiot**, 1976,29:1346—1348.

[2] Masao Kuroda, Kazuhiko Tanzawa, Yoshio Tsujita,*et al.* Mechanism for elevation of hepatic cholesterol synthesis and serum cholestrol levels in triton wr- 1339- induced hyperlipodemia[J]. **Biochimica Biophysica Acta**, 1977,489:119—125.

[3] Takumi K, Nobukazu T. *Manascus koji* rich in monacolin k, its manufacture, and products using the koji[J]. **Jpn Kokai Tokkyo Koho**, 2000,106:835.

[4] Endo A. Monacolin K—— A new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species[J]. **J Antibiot**,1979,32:852—854.

[5] Jones K D, Couldwell W T, Hinton D R, *et al.* Lovastatin induces growth inhibition and apoptosis in human malignant glioma cells[J]. **Biochem Biophys Res Commum**, 1994,205: 1681—1688.

[6] 张萍,糜漫天,韦娜,等. 洛伐他汀对 MCF- 7 细胞 pRb 蛋白表达及增殖功能的影响[J]. 中国公共卫生,2002,18(10): 1198—1200.

[7] 张小茜,周富荣,石济民. 高效液相色谱法测血脂康胶囊及红曲中洛伐他汀的含量[J]. 中国中药杂志,1997,22(40):222—224.

[8] 宋洪涛,宓鹤鸣,郭涛,等. HPLC 法对不同来源红曲中洛伐他汀的定量分析[J]. 中草药,1999,30(2):100—102.

[9] 高嘉安,郭东,王德辉,等. 产 Monacolin K 红曲霉的筛选及发酵条件的研究[J]. 吉林农业大学学报,1997,19(3):85—90.

(责任编辑:李春丽)

(上接第 8 页)

[7] Bazile D, Prud'homue C, Bassoullt MT, *et al.* PEG-PLA nanoparticles avoid uptake by the mononuclear phagocytes system[J]. **J Pharm Sci**, 1995, 84(4):493—498.

[8] Damage C, Vonderscher J,Marbach P, *et al.* Poly(alkylcyanoacrylate) nanospheres for oral administration of insulin[J]. **J Pharm Sci**, 1997, 86(2):1403—1409.

[9] V D Athawale, V Lele. Syntheses and characterization of graft copolymers of maize starch and methacrylonitrile[J]. **Carbohydr Polym**, 2000, 41:407—408.

[10] Kantor T G. Summary: Ibuprofen-past,present, and future [J]. **Am J Med**,1984, 77(1A):121.

(责任编辑:李春丽)