第 13 卷 第 33 期 2013 年 11 月
1671—1815(2013)33-9890-04

科 学 技 术 与 工 程
Science Technology and Engineering

Vol. 13 No. 33 Nov. 2013
© 2013 Sci. Tech. Engrg.

化学

食用醛应用于壳聚糖载药微球的研制

罗华丽 高维锡
(烟台职业学院食品与生化工程系, 烟台 264670)

摘 要 为了开发绿色安全的壳聚糖载药基材,尝试以食品级肉桂醛为交联剂,采用乳化交联法制备壳聚糖载药微球。本研究采用 FTIR、SEM、UV-VIS 等手段探究该微球的结构及载药性能。结果表明:载药微球 SEM 形貌圆整,表面致密;FT-IR 光谱证实壳聚糖的氨基与肉桂醛的醛基发生交联反应;载药性能良好,其载药量和包封率分别可达 22.3% 和 91.2%。与甲醛、戊二醛相比,肉桂醛是制备壳聚糖载药微球的一种新型安全的交联剂。

关键词 壳聚糖 肉桂醛 微球 载药
中图法分类号 O636.13; **文献标志码** A

壳聚糖是自然界存在的唯一碱性多糖,其化学名为(1,4)-2-氨基-2-脱氧-β-D-葡萄糖,其结构类似于纤维素。壳聚糖安全无毒,具有良好的生物相容性[1]、可生物降解[2]、抗菌止血[3]和促进药物吸收的作用[4]等,因此,壳聚糖作为药物载体[5]日益成为医药研究工作者的热点。壳聚糖载药微球常见的制备方法主要以甲醛[6]、戊二醛、三聚磷酸钠[7]为交联剂制备而成。可是甲醛、戊二醛具有毒性,而使用三聚磷酸钠制备的微球结构过于松散,所以缓释效果不理想[7];因此,尝试采用绿色安全的交联剂制备壳聚糖微球[8]是未来研究的趋势。肉桂醛是一种食用香精,化学名为 3-苯基-2-丙烯醛,广泛应用于牙膏、洗涤剂、糖果、调味品、水果保鲜剂和药物原料药等方面。鉴于肉桂醛的醛基和壳聚糖的氨基会发生反应,从而使壳聚糖的大分子链形成交联结构,利用乳化交联法有望制备新型壳聚糖载药微球。

本研究首次选择肉桂醛为交联剂制备壳聚糖载药微球,用扫描电镜观察其形态,并利用傅里叶变换红外光谱(FT-IR)对其进行表征。以盐酸左氧氟沙星(levofloxacin hydrochloride)为目标药物制备了壳聚糖载药微球,考察了微球的产量、载药率和包封率的影响因素,对其作为药物载体进行了初步评价。

1 实验

1.1 实验材料和仪器

壳聚糖(浙江金壳生物化学有限公司,医药级,脱乙酰度 90%,黏均分子量为 34 万),肉桂醛、丙酮、乙醚、醋酸、无水乙醇、异丙醇、石油醚、span-80(上海国药集团化学试剂有限公司,分析纯),盐酸左氧氟沙星(浙江京新药业股份有限公司,原料药),花生油(市售)。

数显恒速搅拌器(JJ—1 型,巩义市英峪予华仪器厂);扫描电镜(SEM, S—4800, HITACHI, JAPAN);FT-IR 型红外光谱仪(VECTOR22 型,德国 Brucker 公司);紫外分光光度计(UV—4100,优尼柯上海有限公司);低温高速离心机(Sigma3K15,北京时代北利离心机有限公司)。

1.2 壳聚糖微球的制备

将 10 mL 0.05 g/mL 的壳聚糖醋酸溶液(2% 醋酸溶液配制)和 50 mL 油相(花生油,含有 2% span-80),在 2 000 r/min 转速下搅拌 60 min,形成黄色乳状 W/O 乳液后,缓慢向乳液中滴加 20 mL 0.04 g/mL

2013 年 7 月 12 日收到 山东省自然科学基金资助项目(ZR2011BQ028)资助

第一作者简介:罗华丽(1978—),女,回族,四川省达州市人,讲师,硕士。研究方向:天然高分子材料。E-mail: 13356981989@163.com。

肉桂醛丙酮溶液,继续搅拌,室温下反应 4 h 后停止搅拌。采用低温高速离心机在 10 000 r/min 离心分离 10 min,收集所制备的壳聚糖微球,依次用石油醚、异丙醇充分洗涤,冷冻干燥后得到黄色壳聚糖微球。

1.3　壳聚糖微球的表征

1.3.1　壳聚糖微球的形貌

用 S—4800 扫描电镜观察壳聚糖微球的形貌。

1.3.2　粒度仪测量微球的粒度及其分布

将壳聚糖微球分散于去离子水中,用 Mastersizer2000 (Malvern,UK) 粒度分析仪测定测定微球粒径 d_i,根据下式计算微球粒径分布($\bar{d}$ 为平均粒径,n 为微球数)。

$$CV = \frac{1}{\bar{d}}\left[\sum_{i=1}^{n}\frac{(d_i-\bar{d})^2}{n}\right]^{\frac{1}{2}} \times 100\%。$$

1.3.3　壳聚糖微球的 FT-IR 表征

将肉桂醛交联壳聚糖微球磨碎后与 KBr 混合,用 VECTOR 傅里叶变换红外光谱仪(Brucker)测其红外光谱。

1.4　壳聚糖载药微球的制备

将 0.4 mg 盐酸左氧氟沙星溶于 10 mL 0.05 g/mL 的壳聚糖醋酸溶液,充分溶解后作为水相缓慢滴加到 50 mL 含有 2% span-80 的花生油中,在 2 000 r/min 转速下搅拌 60 min,形成黄色乳状 W/O 乳液后,再向乳液体系缓慢滴加 20 mL 0.04 g/mL 肉桂醛丙酮溶液,继续搅拌,室温下反应 4 h 后停止搅拌。采用低温高速离心机在 10 000 r/min 离心分离 10 min,收集所制备的壳聚糖微球,依次用石油醚、异丙醇充分洗涤,冷冻干燥后得到壳聚糖载药微球。

1.5　壳聚糖载药微球的载药量和包封率测定

设计盐酸左氧氟沙星(LVFX)与壳聚糖(CTS)质量比为 1∶2、1∶1、2∶1,3∶1,依次按照上述载药微球制备工艺得到四份载 LVFX 壳聚糖微球。然后顺次精确称取适量的载 LVFX 壳聚糖微球,加 5 mL 0.1 mol/L HCl,于 60 ℃水浴加热 6 h,用微孔过滤器过滤,取续滤液 5 mL,定容至 50 mL。于最佳测定波长 293 nm 处测 LVFX 吸光度 A。

使用 UV—4100 型紫外分光光度计在 293 nm 处测量,绘制盐酸左氧氟沙星标准曲线。盐酸左氧氟沙星在 0.1 mol/L HCl 中标准曲线的回归方程是

$C = 11.4A + 0.354\ 8$; $r = 0.996\ 94$ ($n = 5$)。

根据绘制的 LVFX 标准曲线可以推出盐酸左氧氟沙星的浓度。再根据下式计算壳聚糖微球的载药率和包封率

微球的载药量 = (微球内药量/微球的总质量) ×100%;

微球的包封率 = (微球内药量/制备中加入的总药量) ×100%。

2　结果与讨论

2.1　肉桂醛交联壳聚糖微球成球机理

由于肉桂醛的醛基和壳聚糖的氨基反应(如图 1),使得壳聚糖大分子链之间发生交联,在 W/O 型乳液体系里水相的壳聚糖大分子链交联固化,加之丙酮的脱水作用,从而形成微球。

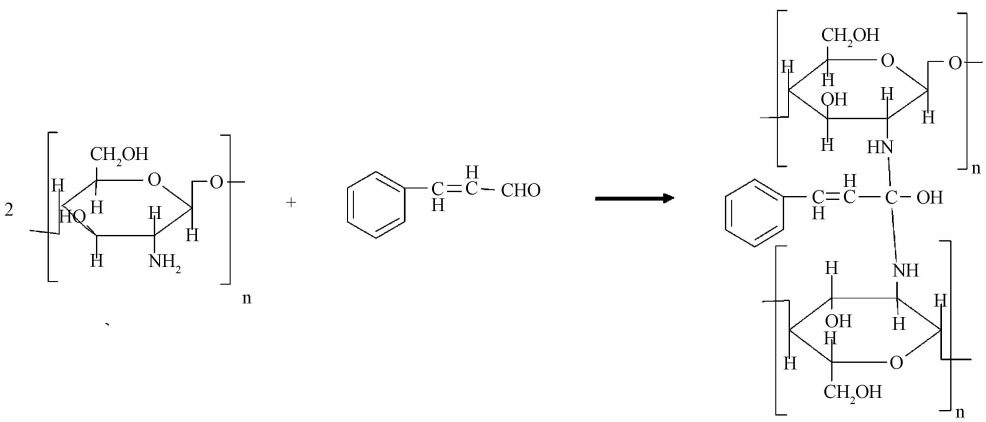

图 1　肉桂醛与壳聚糖反应机理

图 2 为肉桂醛交联壳聚糖微球外部形貌 SEM 图,球形度较好,表面致密。这是因为肉桂醛微溶于水,易溶于醚和醇等有机溶剂中。将肉桂醛溶于丙酮后滴入体系,由于丙酮的溶解扩散作用可以使得肉桂醛更易到达乳液表面,使得肉桂醛的醛基和壳聚糖的氨基接触几率增加从而发生交联反应,最终形成结构致密的肉桂醛交联壳聚糖微球。

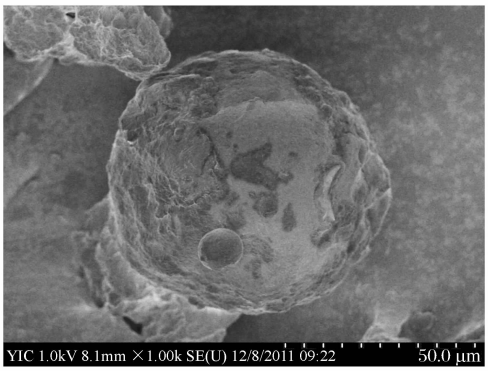

图 2 肉桂醛交联壳聚糖微球 SEM 图

2.2 壳聚糖微球的红外光谱分析

采用德国系列傅里叶型红外光谱仪,利用 KBr 压片法分别测定壳聚糖红外光谱(谱图见图 3)和肉桂醛交联壳聚糖微球的红外光谱(谱图见图 4)。

从图 3 和图 4 中可以发现:壳聚糖的红外谱图中 1 636.34 cm^{-1}处出现 C—N 伸缩振动峰和 N—H 变形振动峰;2 866.70 cm^{-1}处为 C—H 伸缩振动吸收峰;3 428.81 cm^{-1}处属于壳聚糖分子中 O—H 伸缩振动和 N—H 伸缩振动的吸收峰;1 064.5 cm^{-1}处为 C—OH 的吸收峰;748.25 cm^{-1}和 686.53 cm^{-1}处是单取代苯环的 C—C 伸缩振动峰。3 035.02 cm^{-1}处是衍生物中不饱和双键 =C—H 伸缩振动峰。说明壳聚糖上的氨基与肉桂醛上的醛基发生了交联反应,从而将肉桂醛的苯环引入到壳聚糖大分子链上。

2.3 壳聚糖微球粒度分布

壳聚糖载药微球表面积平均粒径 92.9 μm,体积平均粒径 193 μm。进一步提升微球分散性,为载药微球的临床应用提供基础。

2.4 壳聚糖载药微球

实验选用的是盐酸左氧氟沙星,盐酸左氧氟沙星易溶于水,也就很容易和壳聚糖醋酸溶液混合均匀。以负载盐酸左氧氟沙星的壳聚糖溶液,再与肉桂醛交联形成网状结构,从而使得盐酸左氧氟沙星被留存于壳聚糖微球内部,最终达到药物包载的目的。

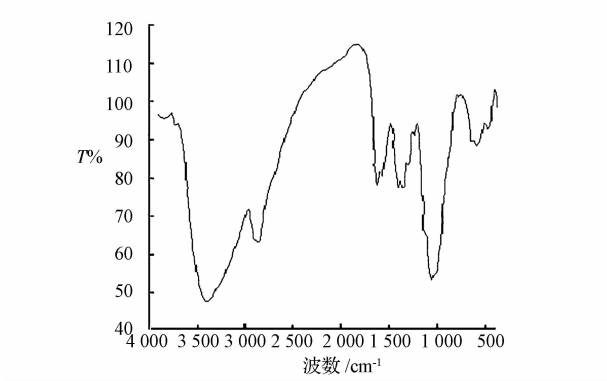

图 3 壳聚糖红外光谱

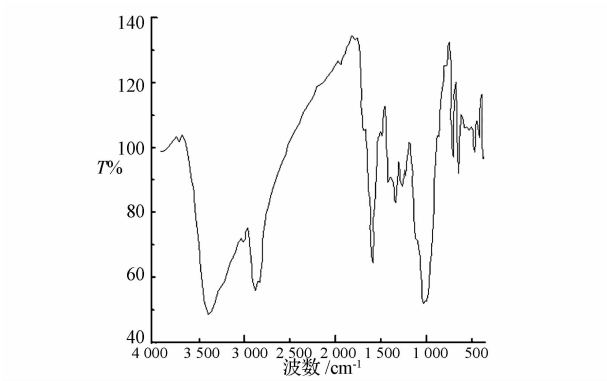

图 4 壳聚糖微球红外光谱

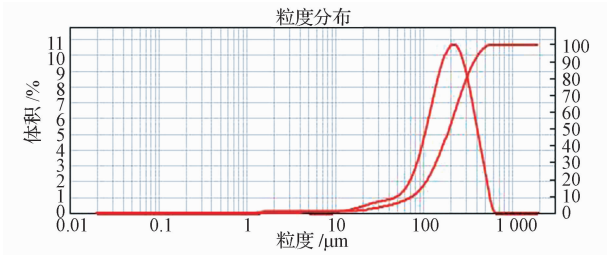

图 5 壳聚糖载药微球粒度分布

尝试采用盐酸左氧氟沙星/壳聚糖(LVFX/CTS)质量比为 1∶2、1∶1、2∶1、3∶1 四种配方,考察包封率和载药量的差异。

由表 1 可知,盐酸左氧氟沙星/壳聚糖(LVFX/CTS)质量比为 3∶1 时,包封率和载药量最高,分别

为 91.2% 和 22.3%,可见随着目标药物与载药基材的比例的提升,包封率和载药量也随着增加。

表 1　载药壳聚糖微球的载药量和包封率对比表

M_{LVFX}/m_{CTS}	包封率	载药量
1:2	86.5%	15.6%
1:1	89.3%	18.8%
2:1	90.2%	21.6%
3:1	91.2%	22.3%

3　结论

以食品级肉桂醛为交联剂,将壳聚糖醋酸溶液分散于花生油中,采用乳化交联法制备肉桂醛交联壳聚糖微球,圆整致密,这是因为壳聚糖的氨基与肉桂醛的醛基发生反应使得 W/O 型乳液中水相的壳聚糖液滴能交联固化,从而形成微球。以盐酸左氧氟沙星为目标药物,进行肉桂醛交联壳聚糖载药微球的制备,发现盐酸左氧氟沙星/壳聚糖(LVFX/CTS)质量比为 3:1 时,其载药量和包封率最高,分别为 21.6% 和 90.2%。整个实验方案所采用的实验原料尽量选择天然无毒的材质,这样制备的肉桂醛壳聚糖微球产物才能更安全,具有生物相容性好等特点,有望进一步应用于临床研究。

参　考　文　献

1　Peniche C, Arguelles-Monal W, Peniche C, *et al.* Chitosan: an attractive biocompatible polymer for microencapsulation. Macromolecular Bioscience, 2003; 3(10): 511—520

2　Struszczyk H, Wawro D, Niekraszewicz Z. Biodegradability of chitosan fibers. Brine C J, Sandford P A, Zikakis J P. Advances in Chitin and Chitosan. London: Elsevier Applied Science, 1991; (2): 580—585

3　李德平,黄　河,夏曙辉. 壳聚糖口腔止血海绵的研制. 中国生化药物杂志,2005;26(4):238—239

4　He P, Davis S S, Illum L. In vito evalution of the mucoadhensive properties of chitosan microspheres. Int J Pharm, 1998; 166: 75—88

5　唐红波,冯　欣,张　彤,等. 壳聚糖及其衍生物作为纳米药物载体的研究与应用. 中国组织工程研究,2012;16(38):7145—7150

6　Blanco M D, Gomez C, Olmo R, *et al.* Chitosan Microspheres in PLG Films as Devices for Cytarabine Release . Int J Pharm, 2000; 202:29—39

7　Mi F L, Shyu S S, Kuan C Y, *et al.* Chitosan-polyelectrolyte complexation for the preparation of gel beads and controlled release of anticancer drug: I. effect of phosphorous polyelectrolyte complex, and enzymatic hydrolysis of polymer. J Appl Polym Sci, 1999; 74: 1868—1879

8　李巧霞,宋宝珍,仰振球,等. 香草醛交联的壳聚糖微囊的制备及表征. 过程工程学报,2006;6(4):608—613

Research on Edible Aldehyde Applied to Drug-loaded Chitosan Microsphere

LUO Hua-li, GAO Wei-xi

(Department of Food and biochemical Engineering, Yantai Vocational College, Yantai 264670, P. R. China)

[**Abstract**]　To develop a green and safe drug-loaded carrier of chitosan, it is prepared with emulsion crosslinked by cinnamaldehyde of food grade. The resultant products and drug-loaded property were characterized by FTIR, SEM, UV-VIS and so on. The results are as follows: SEM shows microsphere good sphericity and dense surface; the crosslink reaction between the amino groups on chitosan and the aldehyde on cinnamaldehyde was confirmed in FT-IR spectrum. The drug-loaded property was good, and the drug-loaded content and entrapment efficiency are respectively 22.3% and 91.2%. To compare formaldehyde and glutaraldehyde, Cinnamaldehyde is a new and safe crosslinking agent for drug-loaded chitosan microsphere.

[**Key words**]　chitosan　cinnamaldehyde　microsphere　drug-loaded