

对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管凝胶微球的制备及体外释药性能考察

万洪善*, 袁芹, 赵威洋

(连云港职业技术学院, 江苏 连云港 222006)

[摘要] 目的:制备对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管(MWCNT)凝胶微球,并考察其体外释药性能。方法:以对乙酰氨基酚(PCM)为模型药物,1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳化二亚胺(EDC)为相偶联剂,通过海藻酸钠(SAL)对碳纳米管(CNTs)进行修饰和改性,制备碳纳米管-海藻酸钠凝胶微球。借助 FTIR 分析、扫描电子显微镜表征修饰后 MWCNTs 的表面形貌,探讨 PCM-SAL-MWCNT 凝胶微球在人工肠液(SIF)中释放机制。结果:修饰后的 MWCNT 凝胶微球载药量及在介质中释放量随凝胶微球中 MWCNT 含量的增加而减少,在模拟肠液中释放时间长且药物释放完全。结论:MWCNT 可作为药物缓释载体材料。

[关键词] 对乙酰氨基酚; 海藻酸钠; 多壁碳纳米管; 凝胶微球; 缓释

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0004-04

[doi] 10.11653/syfy2013110004

Preparation and *in vitro* Release Properties Investigation of Acetaminophen-Sodium Alginate-Carbon Nanotube Gels Microsphere

WAN Hong-shan*, YUAN Qin, ZHAO Wei-yang

(Lianyungang Technical College, Lianyungang 222006, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare acetaminophen-sodium alginate-carbon nanotubes gels microsphere, and investigate its *in vitro* release properties. **Method:** With acetaminophen as a model drug, 1-ethyl-3-(3-

[收稿日期] 20121227(007)

[基金项目] 连云港市 2011 年科技攻关项目(CG1111);连云港市 2012 年科技攻关项目(CN1211)

[通讯作者] * 万洪善, 硕士, 副教授, 从事生物制药教学与研究, Tel:13851288799, E-mail:wanhs9799@126.com

使得膜材质与待分离体系间存在相对适宜性。因此,在超滤技术的应用过程中,膜材质的选择应引起重视。

[参考文献]

- [1] 李存玉,郑云枫,李红阳,等. 细菌内毒素定量法研究活性炭与超滤法热原去除工艺[J]. 医药导报, 2010, 29(2):142.
- [2] 熊海伟,彭国平,过科家,等. 超滤工艺对丹参注射液中有有效成分的影响研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12):34.
- [3] 孙永成,郭传宝,王伟,等. 大孔树脂使用次数对羟基红花黄色素 A 吸附率的影响[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2011, 13(4):697.
- [4] 王培培,许杜娟,夏泉. 黄芪皂苷的提取及含量测定

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):27.

- [5] 张金红,周晶,吴志丽,等. HPLC-ELSD 法测定黄芪及金芪降糖片中黄芪甲苷的含量[J]. 天津医科大学学报, 2010, 16(1):26.
- [6] 郭宝林,张兰涛,刘京晶,等. 蒙古黄芪不同种质黄芪甲苷含量比较[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24):3292.
- [7] 李森,徐玉玲,宋娟,等. 热毒宁注射液生产过程中关键工序对细菌内毒素去除效果研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6):663.
- [8] 王莉,张红宇,赵祎左,等. 卡尼汀注射液细菌内毒素检查法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10):50.

[责任编辑 仝燕]

dimethylamino-propyl) carbodiimide as a coupling agent, and surface properties were improved by sodium alginate in order to prepare acetaminophen-sodium alginate-carbon nanotubes gels microsphere. Surface morphology of modified acetaminophen-sodium alginate-carbon nanotubes gels microsphere was analysed by FTIR and characterized by scanning electron microscope, release mechanism of acetaminophen-sodium alginate-carbon nanotubes gels microsphere artificial intestinal fluid was investigated. **Result:** After modified, drug loadings and release amount in medium of acetaminophen-sodium alginate-carbon nanotubes gels microsphere decreased with increasing the content of carbon nanotubes in this gels microsphere, and this gels microsphere showed a long time of release and drug release completely in simulated intestinal fluid. **Conclusion:** Multi-walled carbon nanotubes could be used as a drug delivery carrier for sustained-release preparations.

[**Key words**] paracetamol; sodium alginate; multi-walled carbon nanotubes; gels microsphere; sustained release

微球作为一种典型的药物载体形式^[1],可改善药物口味、延长药效、减少药物过敏反应、降低给药次数,从而提高患者顺应性^[2],达到有效治疗。碳纳米管(CNTs)自从被发现以来,由于其独特结构、优异性能及在材料领域的潜在应用,引起研究者广泛关注,其中以生物医学药用载体为目标的探索性研究正迅速形成一个新发展方向,但CNTs不溶于有机溶剂和水,从而极大限制了其在药物载体领域的应用^[3],对CNTs进行功能化以提高其分散性和生物相容性,并引入功能团用作载药研究,是未来几年的重要发展方向^[4]。海藻酸钠(SAL)别名褐藻酸钠,是从褐藻细胞壁中提取的天然多糖,无毒、易降解,具有生物相容性,因其独特的物理和化学特性被广泛用于生物技术和生物医学领域^[5]。

对乙酰氨基酚(PCM)化学名为*N*-(4-羟基苯基)乙酰胺,是最常用的非甾体抗炎解热镇痛药。本实验选择PCM为模型药物,1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳化二亚胺(EDC)为相偶联剂,水溶性高分子修饰的多壁碳纳米管(SA-MWNT)凝胶微球作为药物载体,采用浸泡法制备载药水凝胶,考察不同MWCNT-COOH含量凝胶微球的载药率、包封率和体外释药情况,为以CNTs为药物载体的缓释制剂的进一步研究与开发提供实验依据^[6]。

1 材料

Nicolet 5700型智能傅立叶红外光谱仪(FTIR,美国尼高力公司),S-3000N型扫描电子显微镜(SEM,日本日立公司),79HW-1型恒温加热磁力搅拌器(上海维城仪器有限公司),RC-8型溶出度测试仪(天津天光光学仪器有限公司)。

羧基化多壁碳纳米管(MWCNT-COOH,直径10~20 nm,长度10~30 μm 纯度≥95%,南京先丰纳米科技材料有限公司),对乙酰氨基酚原料药

(PCM,河北冀衡药业有限公司),海藻酸钠(SAL,国药集团化学试剂有限公司),碳二亚胺盐酸盐(EDC,Sigma-aldrich公司),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 MWCNT-SAL凝胶微球的制备 配制3份2%的SAL水溶液各100 mL,称取不同质量MWCNT-COOH和微量EDC混合加入水中,超声分散30 min,使碳纳米管均匀分散于水溶液中,制备不同质量比MWCNT-COOH分散液。将MWCNT液体加至SAL溶液中,混合超声40 min,室温磁力搅拌均匀,用7号注射针头将此混合溶液注射滴加至5%氯化钙溶液中,伴以轻微搅拌。滴加结束后稳定搅拌30 min,取出微球,表面用去离子水反复冲洗,脱盐2 h,去除表面残留的无机盐和其他杂质,于真空烘箱中50℃干燥24 h,即得直径约1.5 mm的凝胶球。MWCNT-COOH在总量(MWCNT-COOH+SAL)中质量分数依次为0%,10%,20%时,分别编号为C₁,C₂,C₃。

2.2 PCM药物的包埋 采用浸泡法,将定量干燥至恒重的各水凝胶在0.05 g·mL⁻¹PCM的40%乙醇溶液中浸泡2 d,将吸附药物的水凝胶在真空下干燥至恒重,即得载药凝胶。

2.3 载药微球性能考察

2.3.1 标准曲线的制备 精密称取于104℃干燥至恒重的PCM原料药40 mg,置250 mL量瓶中,用人工肠液(SIF)^[7]稀释至刻度,摇匀,即得0.16 g·L⁻¹的对照品储备液。分别精密量取该储备液2,4,6,8,10,12 mL,置100 mL量瓶中,用SIF稀释至刻度,摇匀。照分光光度法,于257 nm测定吸收度(A),以质量浓度为横坐标,A为纵坐标,得线性回归得方程 $Y = 0.0718X - 0.0547$ ($r = 0.9999$),线性范围3.2~19.2 mg·L⁻¹。

2.3.2 载药率和包封率的测定 载药前后干凝胶的质量差即为载药量,载药量与干凝胶质量的比值为载药率。

$$\text{包封率} = (\text{系统中总药量} - \text{液体介质中未包封的药量}) / \text{系统中总药量} \times 100\% \quad [8]$$

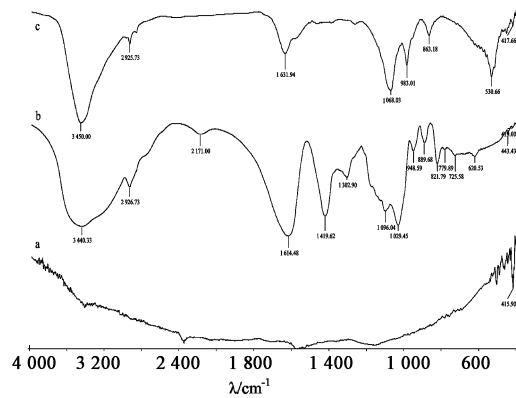
2.3.3 溶出试验 采用转篮法,以 SIF 为释放介质,转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,体系温度控制在 $(37 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$ 。分别称取载药复合微球 0.15 g ,置于转篮中定时取样 5 mL ,并即时补加等量介质,以 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤。精密量取滤液 1 mL ,用 SIF 稀释至 50 mL ,测定取样溶液在 257 nm 处 A ,计算各时间点的累积释药量,绘制释放曲线。

$$\text{累积释药量} = m_i / (m_0 \times L) \times 100\% \quad [9]$$

式中 m_i 为第 i 个时间点测得的溶液中 PCM 质量, m_0 为凝胶微球的总质量, L 为载药率。

2.4 测试与表征 [10]

2.4.1 FTIR 图谱 采用 FTIR 以溴化钾压片法测定。由图 1 可知,纯 MWCNT-COOH 的红外光谱几乎是一条直线,无可辨认的吸收峰。SAL 中含有大量羟基,即 3440 cm^{-1} 处较强的吸收峰归属于 -OH 的伸缩振动; 2926 cm^{-1} 处较强的吸收峰归属于 -C-H 的伸缩振动; 1614 cm^{-1} 的反对称及 1419 cm^{-1} 对称峰,归属于 SAL 中羧酸盐,偶合产生的羰基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动吸收双峰;而 1029 cm^{-1} 处则属于羟基的 C-O 的伸缩振动吸收峰。SAL 和 MWCNT-COOH 发生交联后,碳纳米管海藻酸钠复合材料的 -OH 拉伸峰较复合前向高频移动至 3450 cm^{-1} 处, -COOH 拉伸峰较复合前向高频移动至 1631.94 cm^{-1} 处, C-O 的伸缩振动吸收峰较复合前向高频移动至 1068.03 cm^{-1} 处。

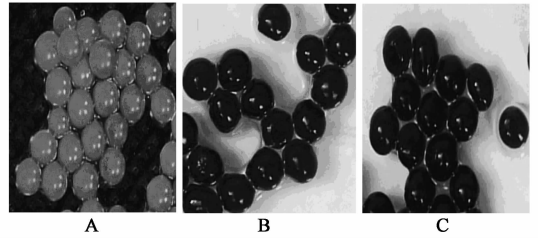


a. 羧基化多壁碳纳米管; b. 海藻酸钠;
c. 海藻酸钠修饰的多壁碳纳米管

图 1 对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管凝胶微球 FTIR

2.4.2 复合物的形貌分析 采用生物显微镜和

SEM 电镜观察,见图 2~4。



A. C₁; B. C₂; C. C₃ (图 3,4 同)

图 2 对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管凝胶微球光学照片

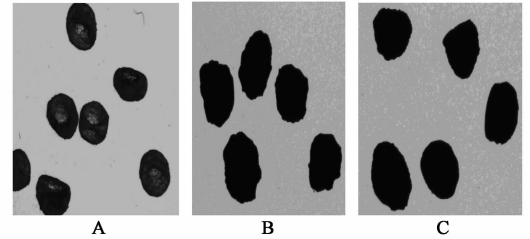


图 3 对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管凝胶微球形态

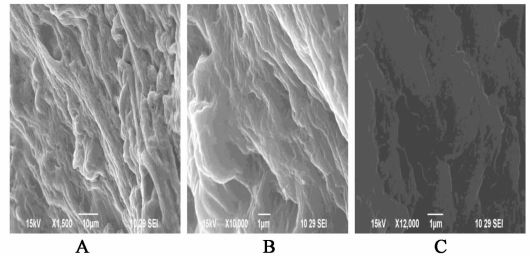


图 4 对乙酰氨基酚-海藻酸钠-碳纳米管凝胶微球 SEM 剖面形貌

由图 2 可知, MWCNT-COOH 含量对微球的形态影响不大,均呈圆球形。由图 3 可知,不同质量配比的 MWCNT-COOH 微球形态有所不同, C₁ (图 3A) 有塌陷现象,且随 MWCNT-COOH 配比的增加,微球的球形较完好 (图 3C)。由图 4 可知,微球内部不光滑,有孔洞存在,孔洞是由于 CaCl₂ 水溶液在和 MWCNT-SAL 羧基发生交联后水分出去时留下的;但随 MWCNT-COOH 含量的增多,孔洞有所减少,有利于药物缓释。

2.5 MWCNT-COOH 含量对凝胶微球性能的影响

2.5.1 载药性能 计算得出 3 种凝胶微球的载药率分别为 96.6% (C₁), 90.9% (C₂), 85.6% (C₃), 载药量均较大。凝胶的载药性能与凝胶的溶胀性能、吸附性能密切相关。MWCNT-SAL 凝胶微球含有大量的网络结构,PCM 分子易随溶剂分子进入微球凝胶的网络空隙。但随 MWCNT-COOH 含量的增多,凝胶微球的载药率反而下降,这可能是由于凝胶微球的溶胀度与凝胶的亲水性有关,亲水性越强,溶胀度越大,由于碳纳米管自身纳米特性及其疏水性

质,使得修饰后的 MWCNT-SAL 凝胶微球溶胀速度变缓,故而 MWCNT-SAL 凝胶微球随 MWCNT-COOH 含量的增多,凝胶微球的载药率下降。同时也说明碳纳米管微球具有可用作药物控释载体的潜力。计算得药物包封率分别为为 73.5% (C_1), 85.4% (C_2), 92.6% (C_3)。

2.5.2 体外释药性能 载药水凝胶在 SIF 溶液(37℃)中 PCM 累积释放速率与时间关系见图 5。

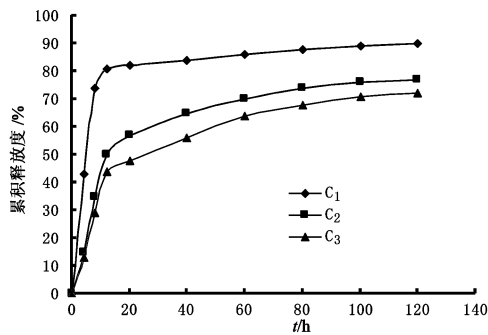


图 5 不同含量的羧基化多壁碳纳米管对乙酰氨基酚凝胶微球体外释放曲线

由图 5 可知,释放速率随时间延长而增大,但最后释放速率趋于恒定。在相同时间内,药物释放率与凝胶中 MWCNT-COOH 含量有关,即 MWCNT-COOH 含量越高,释放率越小。因为凝胶溶胀度越大,溶胀速率也越大,越有利于药物溶出,与文献[11]报道内容相吻合。

载药凝胶 C_1 的药物释放迅速,初期出现了明显的暴释现象,8 h 约释放 74%,与文献[12]相符,随后释药速率几乎趋于恒定。而凝胶 C_2 和 C_3 虽在前期也出现了短暂的暴释现象,但很快趋向平缓增长期,最后达到释药速率恒定。这可能是由于一些药物吸附在微球表面,或以分子形式沉淀在微球表面,一旦放入介质中,由于凝胶微球内外药物的浓度差,表面药物易从凝胶微球表面脱离,产生释放初期的突释现象。而更多的药物则分散在载体基质中,药物分子所受到的吸附力不仅有氢键和范德华力,还与碳纳米管管壁对药物分子吸附力及凝胶微球中网状结构的存在有关,这些均限制了药物的释放和扩散速率,使药物释放呈现缓慢和持续性的特点。因此微球中药物释放为由快变慢,既可保证短时间内有大量释药,又可维持一定量药物持续释放,以体现缓释效果。

3 讨论

为进一步说明实验制得的载药凝胶释药情况,与正常水凝胶的药物释放情况进行了比较试验,结果表明 2 种方法制得的载药凝胶中药物释放情况基

本相似,因为纳米效应的发挥使得药物更好地包封于载体基质内部;另外从图 4 可看出,随碳纳米管含量的增加,载药微球表面结构趋向光滑,可很好控制药物的释放。

本实验将均一分散于 EDC 水溶液中的碳纳米管与 SAL 联系在一起,成功研制了 PCM-SAL-MWCNT 凝胶微球,其药物载药量及在介质中释放量随凝胶微球中 MWCNT 含量的增加而减少,故可通过控制 MWCNT-COOH 含量来制备相应水凝胶,以实现药物缓释、控释目的。但该凝胶材料的体内试验、细胞毒性试验和生物相容性试验还在研究中,还需要大量的试验严谨考证其生物安全性。

[参考文献]

- [1] 惠忠英. 碳纳米管改性生物高分子材料的结构与性能研究[D]. 武汉:武汉理工大学,2009.
- [2] 刘文勇,李东勳,关志宇,等. 小金缓释微丸的制备及其体外释放度考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(18):22.
- [3] Nakashima N. Solubilization of single walled carbon nanotubes with condensed aromatic compounds[J]. Sci Technol Adv Mater,2006,7(7):609.
- [4] 邬伟奎,张海燕,杨明,等. 碳纳米管的载药及安全研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(15):261.
- [5] 刘富强. 碳纳米管海藻酸钠复合材料对污水中重金属离子的吸附性能研究[D]. 青岛:青岛大学,2010.
- [6] 万洪善. 阿德福韦酯-海藻酸钠-多壁碳纳米管复合物的体外缓释行为[J]. 中国生化药物杂志,2012,33(4):358.
- [7] 刘辉,潘卫三,聂淑芳,等. 布地奈德结肠定位片的体外释放度实验方法及其释药机制研究[J]. 药学报,2008,43(11):1147.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 XIXE.
- [9] 崔园园,陈红,周丰,等. 海藻酸钠-胰蛋白酶微球的制备及药物释放性能[J]. 复合材料学报,2011,28(2):117.
- [10] 丁贇立,王庚超,王贵友,等. 水性聚氨酯/聚邻氨基苯磺酸修饰碳纳米管复合材料的制备与性能[J]. 高分子材料科学与工程,2010,26(8):128.
- [11] 于金刚. 碳纳米管的化学修饰及对甲磺酸帕珠沙星的缓释研究[D]. 长沙:中南大学,2008.
- [12] 高健,许同桃,杨月明,等. 正辛胺改性海藻酸钠凝胶微球的制备及其性质研究[J]. 中国药房,2012,23(25):2353.

[责任编辑 仝燕]