

工艺·试验

《Technology & Experiment》

doi: 10. 3969/j. issn. 1002 - 154X. 2009. 09. 007

# CS/PLLA/TPP 纳米微胶囊的制备 及体外释放

付 静 杨文静\* 何 磊 何农跃\*

(东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210096; \* 东南大学生物科学与医学工程学院, 江苏 南京 210096)

**摘 要** 主要考察负载雷帕霉素 (Rapamycin, RAPA) 的壳聚糖 (Chitosan, CS) 微球在加入左旋聚乳酸 (L - polylactic acid, PLLA) 时的载药量, 包封率及在不同溶剂中的缓释性能。采用三聚磷酸钠 (Sodium tripolyphosphate, TPP) 作为离子交联剂, 应用离子凝聚法制备 CS/PLLA/TPP 纳米微胶囊, 用透射电镜和粒径分析仪进行了表征。结果表明: 离子凝胶法可以得到粒径约 300 ~ 400 nm 均匀分散的壳聚糖纳米微胶囊; 微胶囊包封率可达 84.25%, 微胶囊载药量可达 30.22%, 雷帕霉素在不同溶剂中的缓释性能有很大不同。

**关键词** 壳聚糖 载药量 缓释溶液

## Preparation of Chitosan / L - polylactic Acid / sodium Tripolyphosphate Microcapsules and in vitro release

Fu Jing Yang Wenjing\* He Lei He Nongyue\*

(School of Public Health Southeast, Jiangsu Nanjing 210096;

\* School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Jiangsu Nanjing 210096)

**Abstract** The RAPA - loading efficiency of CS/PLLA/TPP nano - sized microcapsules after addition of the PLLA and the release performance of the CS/PLLA/TPP nano - sized microcapsules under different conditions were studied. CS/PLLA/TPP nano - sized microcapsules were prepared by ionic gelation of CS with TPP. The obtained CS nano - sized microcapsules were characterized with the scanning electron microscope (SEM) and the particle size analyzer. The average diameter of the obtained nano - sized microcapsules was around 300 ~ 400 nm, and a homogeneous size distribution and good dispersion were observed. The efficiency of encapsulation reached as high as 84.25% and the RAPA - loading reached 30.22%, and the distinct release performances of the CS nano - sized microcapsules in the different solutions is discussed.

**Keywords** chitosan loading efficiency solution of sustained - release

收稿日期: 2009 - 09 - 14

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 60121101, 60571032, 90606027), 国家重点基础研究发展计划——纳米研究重大科学研究计划项目课题 (批准号: 2007CB936104) 资助

作者简介: 付静 (1985 ~), 女, 硕士生, 研究方向为血管支架的药物缓释; 何农跃 (1958 ~), 男, 教授, 博导, 长期从事生物芯片、纳米生物材料等的研究

壳聚糖 (CS)是天然生物大分子甲壳素通过脱乙酰而得到的衍生物。它不仅具有优良的生物可降解性、生物相容性和生物黏附性<sup>[1]</sup>,而且还具有消炎、抗菌、止血、抑制癌细胞转移等大多数聚合物所不具有的功能<sup>[2]</sup>。以 CS为原料而制备的微胶囊<sup>[3-5]</sup>日益成为药物控释的新热点。

研究发现壳聚糖微胶囊对于蛋白质类药物<sup>[6-7]</sup>的载药量和包封率较大。杨文静等<sup>[7]</sup>用离子凝胶法合成的载牛血清蛋白的 CS/TPP的微胶囊的载药量达到了 79.74%。壳聚糖微胶囊对于难溶性药物雷帕霉素的载药量相对较低, Yuan等<sup>[8]</sup>制备的负载雷帕霉素的壳聚糖微胶囊的载药量只有 3.2%,其对该方法进行了改进加入一定量的聚乳酸,随着雷帕霉素加入量的增加载药量随之增大。由于雷帕霉素是难溶性药物,单纯的使用 PBS溶液作为缓释溶剂使得体外释放曲线与体内释放曲线相差较大,因此我们尝试加入不同的有机溶剂以改变负载雷帕霉素的壳聚糖微胶囊的缓释曲线。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

壳聚糖 (CS),购自济南海得贝公司,相对分子质量为 550 000,脱乙酰度 (DD)为 90%;三聚磷酸钠 (TPP),购自中国医药集团上海试剂公司;雷帕霉素 (RAPA),购自常州市华人化工有限公司;左旋聚乳酸 (PLLA),购自济南健宝开元生物材料有限公司;冰醋酸、二氯甲烷、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaH}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、乙醇、己腈、甲醇均为分析纯试剂。

粒径分析仪 (ELS - 800, 日本),扫描电镜 (Hitachi - s100,日本)

磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer solution, PBS): 80 g NaCl, 2 g KCl, 15.36 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 2 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

利用 UV - 3150紫外 - 可见分光光度计 (日本岛津)对雷帕霉素进行定量分析。

### 1.2 实验过程

#### 1.2.1 微胶囊的制备与表征

室温下制备浓度为 0.33% CS的醋酸溶液和相同浓度的 TPP溶液 30 mL。在室温磁力搅拌下加入 RAPA及 0.03 g二氯甲烷溶液搅拌 1 h,后取 TPP溶

液逐滴加入 CS溶液中,调节 pH值至 5.7,1 h后高速离心 20 min,分别以蒸馏水洗之,冷冻干燥即得 CS/PLLA/TPP纳米颗粒。CS/PLLA/TPP微球载药量、包封率的测定参照文献<sup>[8]</sup>。采用红外光谱仪考查微胶囊的基团,用粒径分析仪考查微胶囊的粒径大小,用扫描电镜考查微胶囊的形貌特征。

#### 1.2.2 微胶囊的体外释药试验

取 3份干燥微胶囊 (0.01 g)分别于 3只 50 mL离心管中,再分别移取 20 mL含 0.5%甲醇、0.5%乙醇、0.5%己腈的 PBS (100 mmol/L phosphate buffer solution, pH = 7.4)于各离心管中,放置于 140 r/min、37 的恒温摇床中。每隔一定时间分别从离心管中取出 10 mL的 PBS同时加入相同量的 PBS,用紫外分光光度计分析含量并计算微胶囊的累计释放百分率。

## 2 结果与讨论

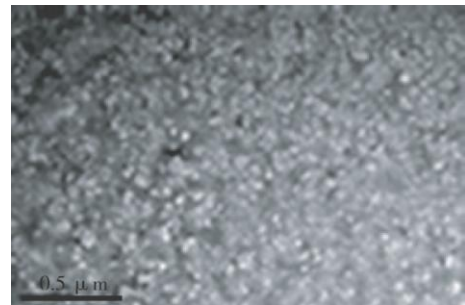


图 1 微胶囊的透射电镜图

Fig. 1 TEM image of nanoparticles

由图 1可以看出颗粒大小均匀,呈规则的圆形,分散良好,里面只有少量片层存在,原因可能是洗涤时未洗干净。

表 1 纳米微胶囊的相关参数

Table 1 Properties of nanoparticles

CS纳米微胶囊	载药量 (%)	包封率 (%)	粒径 (nm)
加入 PLLA	30.22 ± 1.26	84.25 ± 2.41	375 ± 7
未加入 PLLA	3.94 ± 0.87	6.89 ± 0.93	310 ± 11

表 1可以看出未加入 PLLA的 CS/TPP纳米微胶囊的载药量和包封率很低,加入 PLLA后包封率和载药量都在增加,其原因可能是 CS和 TPP为水溶性化合物对于疏水性药物 RAPA的亲合力较小,而 PLLA为疏水性化合物且相对分子质量较大容易吸附 RAPA同时也容易被纳米微胶囊包被。

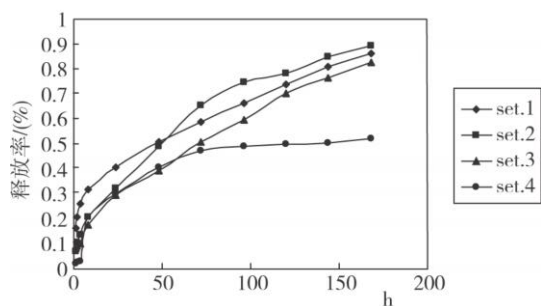


图 2 微胶囊在不同溶剂中的缓释曲线

Fig. 2 Release curve of nanoparticles in different solutions

由图 2 可以看出在纯 PBS(系列 4)溶液中雷帕霉素的释放率较低,而在含有助溶剂甲醇(系列 1)、乙醇(系列 2)和己腈(系列 3)的 PBS 溶液中雷帕霉素的释放率较高,但是在含甲醇的 PBS 溶液雷帕霉素突释现象明显。

### 3 小 结

(1) 使用离子凝胶法成功制备了含有 PLLA 的雷帕霉素纳米微胶囊,与单纯的雷帕霉素纳米微胶囊相比载药量和包封率有很大的提高,可以节省药物的使用量,使得颗粒的合成成本进一步下降。

(2) 结果表明该颗粒在含有助溶剂甲醇、乙醇或己腈的 PBS 溶液中的释放率增大。

### 参考文献

- [1] 莫名月,李国明,方雷.壳聚糖载药微囊的制备及应用研究进展[J].天津化工,2005,19(6):1~3
- [2] 肖航.甲壳质、壳聚糖及其衍生物的免疫与抗癌活性[J].海洋科学,1999,3(13):30~32
- [3] 查瑞涛,贺晓婷,杜田.肝靶向甘草次酸修饰的壳聚糖纳米粒子的合成和表征[J].高等学校化学学报,2007,28(6):1098~1100
- [4] Mitra S, Gaur U, Ghosh P C. Tumour targeted delivery of encapsulated dextran - doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier[J]. Control Release, 2001, 74(1~3):317~323
- [5] Corsi K, Chellat F, Yahia L. Mesenchymal stem cells, MG63 and HEK293 transfection using chitosan - DNA nanoparticles[J]. Biomaterials, 2003, 24(7):1255~1264
- [6] 徐淑芳,徐咏梅,陈建钢.壳聚糖季铵盐纳米粒子的制备、表征及其缓释蛋白质药物性能[J].武汉大学学报(理学版),2004,50(6):721~725
- [7] 杨文静,王婷,何农跃. CS/TPP 纳米微胶囊的制备及其载药性能研究[J].高等学校化学学报,2008,25(7):997~1000
- [8] Xu - Bo Yuan, Yan - Bo Yuan, Wei Jiang, et al Preparation of rapamycin - loaded chitosan/PLA nanoparticles for immunosuppression in corneal transplantation[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2008, 349, 241~248

### 简 讯

#### 生物燃气产业技术创新战略联盟北京成立

国家科技部有关负责人日前指出:生物燃气产业技术创新战略联盟,已在北京正式成立。新成立的生物燃气产业技术创新战略联盟对于推动产业技术创新、突破产业发展的技术瓶颈、提升产业核心竞争力、促进能源结构转变有重要意义。

目前生物燃气产业技术创新战略联盟成员单位共有 19 家,包括 13 家行业内龙头企业,以及中国科学院、清华大学等 6 家科研院所和高等院校。

生物燃气产业技术创新战略联盟理事长,杭州能源环境工程有限公司董事长、总经理蔡昌达指出:我国已成为世界第二大石油消费国和第一大二氧化硫排放国,在应对全球气候变暖和摆脱对石化能源依赖方面形势严峻局面,生物燃气正是在这一大背景下诞生的新兴产业。生物燃气具有清洁、高效、安全和可再生四大特征。生物燃气产业技术创新战略联盟以国家战略目标、生物燃气产业的发展需求和产学研各方的共同利益为基础,以提升产业技术创新能力为目标,紧紧围绕生物燃气产业技术创新链。

摘自《科技日报》8.31P3