

可降解瓜尔胶载药微胶囊的聚乙二醇修饰^{*}

张黎明¹, 欧富初¹, 陈汝福²

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

2. 中山大学附属第二医院, 广东 广州 510120)

摘要: 通过将三聚磷酸钠溶液滴加到阳离子瓜尔胶和聚乙二醇(PEG)混合水溶液中, 利用多糖聚电解质的离子凝胶化反应首次制得经PEG修饰的可降解瓜尔胶微胶囊, 并用扫描电镜对其表面形态和粒径大小进行了考察; 通过对不同浓度牛血清白蛋白和阿司匹林二种模型药物的负载实验, 发现修饰后的微胶囊比未经修饰的微胶囊有增大的负载百分率和载药量。

关键词: 微胶囊; 药物载体; 瓜尔胶; 聚乙二醇; 牛血清白蛋白; 阿司匹林

中图分类号: O636.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2005)01-0045-04

药物在体内的吸收、分布、代谢及排泄是一个连续变化的动态过程。普通制剂中药物被体内吸收后, 血药浓度容易发生波动起伏, 出现所谓“峰谷”现象; 当血药浓度达高峰时, 有可能引发某些毒副作用; 而当其处于低谷时, 亦可能低于有效浓度。因此, 研究和开发新型药物输送和控释载体材料, 对于临床医疗水平的提高具有重要意义^[1]。

载药聚合物微胶囊是近年发展起来的一类现代药物新剂型, 利用其对特定器官、组织的靶向性和对药物的缓释性, 可有效地降低药物的毒副作用并提高药物的生物利用度, 而借助共价交联、溶剂挥发、相分离和乳化法等合成技术则可制备出各种微胶囊。目前, 该类药物载体的研究和发展主要集中在以下方面^[2-3]: ①优选聚合物原材料, 使之具有优良的生物相容性, 最好是释放药物后能在体内完全生物降解, 且聚合物及降解产物对人体均无毒副作用; ②探索新的制备技术, 在提高药物包埋率的同时最大限度地保留药物特别是多肽、蛋白类药物的完整性和活性; ③对载药微胶囊进行表面修饰, 以期增强药物的包封和运载性能、提高与生物表面相互作用的敏锐性。

瓜尔胶(guar gum)是一类分子结构类似于纤维素的天然聚多糖, 具有来源丰富、可生物降解和生物相容性好等优点, 主要由 β (1 $\rightarrow$ 4)键连接的聚-D-吡喃甘露糖主链和以 α (1 $\rightarrow$ 6)键连接的D-吡喃半乳糖支链构成, 其中甘露糖与半乳糖的摩尔

比约为2:1, 相对分子质量约为20万~30万^[4]。目前, 该类天然高分子主要改性用作工业用增稠剂、纸张增强剂、纺织助剂和油田处理剂, 很少研究涉及用作药物控释载体^[5]。在本工作中, 首次选用阳离子瓜尔胶为主要原料, 利用该种多糖衍生物在三聚磷酸钠溶液中的离子凝胶化反应, 在避免高温、有机溶剂及其它苛刻条件下制得经聚乙二醇表面修饰或未经修饰的可降解瓜尔胶载药微胶囊。本文主要报道聚乙二醇修饰对瓜尔胶微胶囊载药性能的影响。

1 实验部分

1.1 原料与试剂

阳离子瓜尔胶: 美国ECONOMY化学公司产品, 商品代号为ECOPOL-14S, 其分子结构如图1所示; 三聚磷酸钠: 分析纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心; 聚乙二醇(PEG): 相对分子质量为10 000, 上海化学试剂公司(进口分装); 考马斯亮蓝G250: 上海伯奥生物科技有限公司(进口分装); 牛血清蛋白(BSA): 进口分装; 阿司匹林(乙酰水杨酸): Alfa Aesar[®]产品; 乙醇95%、无水乙醇、NaOH, 磷酸: 分析纯, 广州化学试剂厂; 磷酸: $\varphi=85\%$, AR, 郑州市德众化学试剂厂。

1.2 微胶囊制备

取20 mL的阳离子瓜尔胶溶液($w=0.5\%$)稀

^{*} 收稿日期: 2004-06-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20273086, 30470476); 国家“863”计划资助项目(2002AA214061); 广东省自然科学基金资助项目(021769, 039184); 广东省科技计划资助项目(2004B33101003, 2003A031700)

作者简介: 张黎明(1964年生), 男, 教授, 博士生导师, E-mail: ceszhlm@zsu.edu.cn

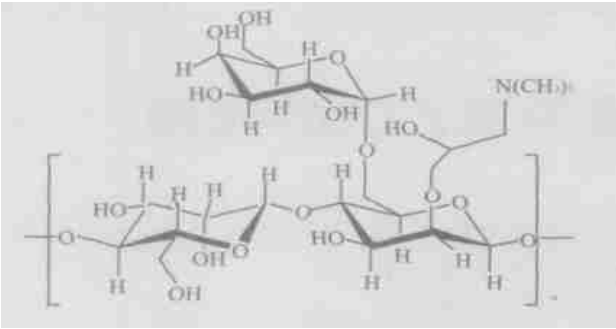


图 1 阳离子瓜尔胶链节分子结构

Fig 1 The molecular structure of cationic guar gum segments

释至 194 mL，室温搅拌下缓慢滴加 60 mL 的三聚磷酸钠水溶液（10 mg/mL），即得瓜尔胶微胶囊悬浮液。离心，收集沉淀，冷冻干燥得瓜尔胶微胶囊。在滴加三聚磷酸钠溶液之前，在阳离子瓜尔胶溶液中加入 8 mL 浓度为 10 mg/mL 的 PEG 溶液，重复上述过程即得经 PEG 修饰的瓜尔胶微胶囊。

1.3 微胶囊形貌观察

用胶头滴管取少量未经修饰的和经 PEG 修饰的瓜尔胶微胶囊悬浮液至载玻片上，干燥后真空镀白金，然后在日本 Hitachi 公司 S-520 扫描电子显微镜下观察微胶囊表面形态和粒径大小。

1.4 药物负载及性能分析

相应于未经修饰的和经 PEG 修饰的瓜尔胶微胶囊制备条件，往初始瓜尔胶溶液体系中分别加入所需浓度的牛血清蛋白和阿司匹林，制得相应的载药瓜尔胶微胶囊样品液。然后将样品液在室温下高速离心 5 min，取其上清液分别测定游离药物浓度，再按下面式子计算微胶囊对药物的负载百分率和载药百分率：

负载百分率(EP) = $\frac{\text{药物初始质量} - \text{游离药物质量}}{\text{药物总质量}} \times 100\%$

载药百分率(IP) = $\frac{\text{药物初始质量} - \text{游离药物质量}}{\text{微胶囊质量}} \times 100\%$

1.5 测定牛血清蛋白含量标准曲线的绘制

称取 100 mg 考马斯亮蓝 G250，溶于 50 mL $\varphi=95\%$ 的乙醇溶液中，并与 100 mL $\varphi=85\%$ 磷酸混合，加水至 1 000 mL，制得考马斯亮蓝显色液；在 1—11 号锥形瓶中依次加入 0.5 mg/mL 的牛血清蛋白水溶液 0, 10, 20, ..., 100 μL ，并依次加入蒸馏水定容为 100 μL ，再分别加入 5 mL 上述显色液，充分振荡均匀，以 1 号锥形瓶内的混合液为参比，采用可见分光光度计在 2~15 min 内分别测定 2—11 号锥形瓶内混合液在 595 nm 处的光透过率 (T)，然后以蛋白质浓度 (CBSA) 为横坐标， T 为纵坐标，得到如图 2 所示的标准曲线图。

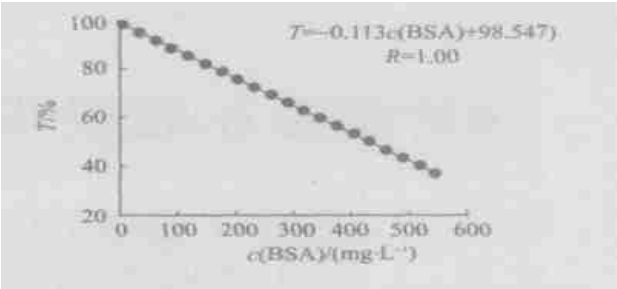


图 2 测定牛血清蛋白 (BSA) 含量标准曲线

Fig 2 Standard curve for the measurement of BSA content

1.6 测定阿司匹林含量标准曲线的绘制

准确称取适量阿司匹林标样，用无水乙醇溶解并稀释，制成 0.00~40.00 mg/L 的溶液，在波长 λ 为 296 nm 处测定体系的光透过率 (T)，然后以阿司匹林浓度 ($c(\text{aspirin})$) 为横坐标， T 为纵坐标，得到如图 3 所示的标准曲线图。

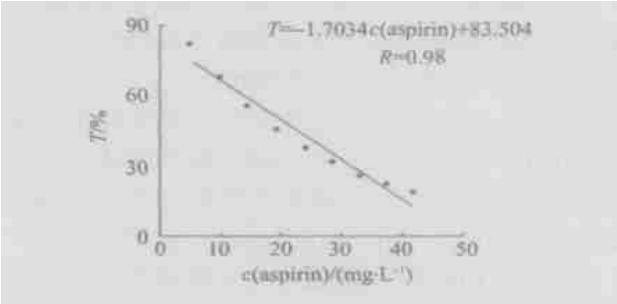


图 3 测定阿司匹林含量标准曲线

Fig 3 Standard curve for the measurement of aspirin content

2 结果与讨论

2.1 电镜照片观察

图 4a、b 给出了不同放大倍数下经 PEG 修饰后的瓜尔胶微胶囊 SEM 图，从中看出修饰后的微胶囊表现出近似球形的表面形态，且图中微胶囊的粒径小于 10 μm 。图 4c 给出了与图 4b 放大倍数相同的未经修饰瓜尔胶微胶囊 SEM 图，发现未经修饰的微胶囊有相对较小的粒径，且其表面相对光滑，而修饰后的瓜尔胶微胶囊（图 4b）外表较模糊，好象包裹上一层结构相对疏松的“外壳”，这在一定程度上说明 PEG 分子链已黏附在瓜尔胶微胶囊表面。究其原因，可能是由于瓜尔胶与 PEG 分子之间发生了氢键相互作用。Calvo 等^[6]曾用聚氧化乙烯改性壳聚糖微粒表面，亦观察到微粒粒径增大、表面结构疏松化的类似现象。

2.2 药物负载性能比较

图 5、6 给出了未经修饰瓜尔胶 (GT) 和经 PEG 修饰瓜尔胶 (GTP) 微胶囊对不同浓度 BSA 和

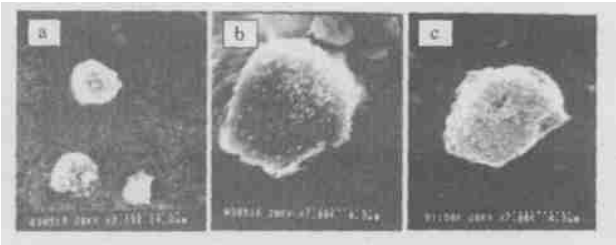


图 4 经 PEG 修饰前后的瓜尔胶微胶囊 SEM 图

Fig 4 SEM photographs of guar gum microcapsules before and after modification using PEG
a 修饰后 (× 2 190); b: 修饰后 (× 7000);
c: 修饰前 (× 7000)

阿司匹林两种模型药物的负载和载药百分率。与 GT 微胶囊相比，GTP 微胶囊对考察的 BSA 和阿司匹林两种药物均有增大的负载百分率：如对 0.10 mg/mL 的 BSA 药物，微胶囊的负载百分率可由修饰前的 84.8% 提高到修饰后的 99.5%；而对 0.020 mg/mL 的阿司匹林药物，微囊的负载百分率可由修饰前的 32.0% 提高到修饰后的 51.0%；不仅如此，微胶囊相应的载药百分率亦有不同程度的提高。这表明采用亲水性 PEG 修饰瓜尔胶微胶囊可以提高其对药物的负载和载药百分率，其原因可能是黏附在瓜尔胶微胶囊表面的 PEG 链对体系中 BSA 或阿司匹林产生吸附作用所致。由于 BSA 大分子链中含有大量氨基和羧基、阿司匹林分子中含有酚羟基和甲酸基，因此它们均有可能与 PEG 分子之间产生不同程度的氢键相互作用。王向涛等^[7]曾探讨了 PEG 修饰脂质体对阿霉素载药量的影响，发现借助阿霉素的羟基或氨基与 PEG 链上氧原子之间的氢键作用可使其包封率从原来的 50% 提高至 98%。另外，Yeh 等^[8]曾用 PEG 修饰可降解乙交酯和丙交酯的无规共聚物（PLGA）微粒，其结果使卵清蛋白的负载百分率从修饰前的 10% 以下增加至修饰后的 50% 以上。事实上，作为一种生物相容性好且无毒副作用的非离子型高聚物，PEG 常用来修饰用作药物缓释体系的 PLGA 微球，以解决单一 PLGA 微粒负载蛋白药物过低的难题^[9]。与这些文献工作相比，本文报道的经 PEG 修饰的可降解瓜尔胶微胶囊对模型蛋白药物有更好的负载效果，在考察的实验条件下其负载百分率可高达 90% 以上（见图 5），而且制备条件温和、原材料来源丰富。另外由图 5、6 比较发现，微胶囊对 BSA 的负载和载药百分率均高于对阿司匹林的负载和载药百分率，这主要是由于 BSA 的亲水性好于阿司匹林所致。

此外，从图 5、6 还可看出，药物的初始浓度

对 PEG 的修饰改性有一定的影响：当 BSA 初始浓度从 0.10 mg/mL 增至 0.25 mg/mL 时，其负载百分率有一定程度的下降；而当阿司匹林初始浓度从 0.02 mg/mL 增至 0.10 mg/mL 时，其负载百分率先增加后下降。这似乎表明药物的初始浓度对于考察的改性瓜尔胶微胶囊有一最佳值。有关这方面及其药物控释方面的深入研究，我们将另文报导。

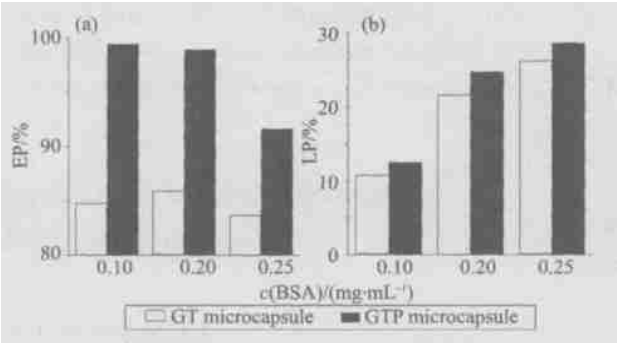


图 5 未经修饰瓜尔胶(GT)和经 PEG 修饰瓜尔胶(GTP)微胶囊对不同浓度 BSA 药物的负载百分率(a)和载药百分率(b)

Fig 5 The encapsulation percentage(a) and loading percentage(b) of unmodified(GT) and PEG-modified(GTP) guar gum microcapsules for the BSA drug with various concentrations

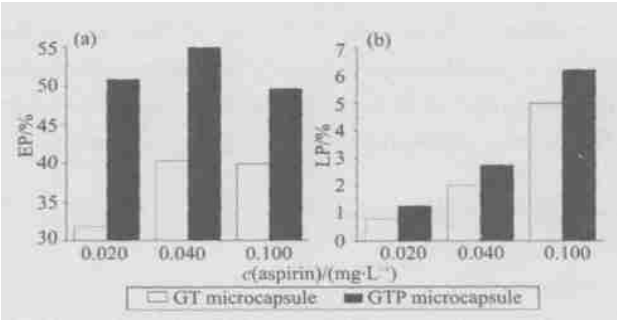


图 6 未经修饰瓜尔胶(GT)和经 PEG 修饰瓜尔胶(GTP)微胶囊对不同浓度阿司匹林药物的负载率(a)和载药率(b)

Fig 6 The encapsulation percentage (a) and loading percentage (b) of unmodified (GT) and PEG-modified (GTP) guar gum microcapsules for aspirin drug with various concentrations

致谢：感谢中山大学学生科研计划资助项目和化学学院创新化学实验与研究基金项目对本实验工作的大力支持。

参考文献:

[1] 邹立家. 药剂学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.
[2] 黄小龙, 张黎明. 壳聚糖基载药纳米微粒制备研究进展[J]. 功能高分子学报, 2003, 16(4): 593-598.
[3] 黄小龙, 张黎明. 一种制备多糖凝胶纳米微粒的有效

方法[J] . 中山大学学报(自然科学版), 2003, 42(5): 125—126.

[4] CASAS J A, MOHEDANO A F, GARCIA O. Viscosity of guar gum and xanthan/huar gim mixture solutio [J] . J Science of Food and Agriculture, 2000, 80: 1722—1727.

[5] 周建芳, 张黎明, HUI P S. 两性瓜尔胶衍生物溶液的流变特征[J] . 物理化学学报, 2003, 19(11): 1081—1084.

[6] CALVO P, REMUNAN-LOPEZ C, VILA-JATO J L, et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers[J] . J Applied Polymer Science, 1997, 63: 125—132.

[7] 王向涛, 李沙, 张小滨, 等. PEG 修饰脂质体对阿霉素载药量的影响[J] . 北京大学学报(医学版), 2002, 34(3): 286—289.

[8] YEH M K, JENKINS P G, DAVIS S S, et al. Improving the delivery capacity of microparticle systems using blends of poly (DL -lactide-co-glycolide) and poly (ethylene glycol)[J] . J Controlled Release, 1995, 37: 1—9.

[9] QUELLEC P, GREF R, PERRIN L, et al. Protein encapsulation within poly (ethylene glycol) -coated nanospheres [J] . J Biomed Mater Res, 1998, 42(1): 45—54.

Modification of Biodegradable Drug loaded Guar Gum Microcapsules by Poly (ethylene glycol)

ZHANG Li ming¹, OU Fu chu¹, CHEN Ru fu²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;
2. The Affiliated Second Hospital, Sun Yat sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: By adding tripolyphosphate solution dropwise into the mixed solutions of a cationic guar gum and poly (ethylene glycol) (PEG), the PEG modified guar gum microcapsules with good biodegradability were prepared, resulting from the ionotropic gelation of the polyelectrolytes. The morphology and particle size of the resulting guar gum microcapsules were investigated by electron transmission microphotography. By investigating the encapsulation and loading percentages of the unmodified and PEG modified guar gum microcapsules for two model drugs with various concentrations, bovine serum albumin and aspirin, an enhanced encapsulation and loading capacity was found for the PEG modified guar gum microcapsules in comparison with the unmodified guar gum microcapsule.

Key words: microcapsule; drug carrier; guar gum; poly (ethylene glycol); bovine serum albumin; aspirin

(上接第 40 页)

Numerical Simulation for a Typical Tunnel of Mei He Express Way

WANG Chun sheng^{1,2}, ZHOU Cui ying³

(1. Guangdong Meihe Expressway Co. Ltd., Xingning 514500, Guangdong, China;
2. Gungdong Provincial Commuication Investgation Company, Guangzhou 510101, China;
3. Department of Applied Mechanics and Engineering, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Displacements and stability analysis of the surrounding rocks of Huangniuaotunnel of Meihe express way are studied by selecting a section of LK74+613 sgment, which is one of the most typical tunnels of Mei He express way. Numerical simulation by finite element method (FEM) in different places of the section is conducted according to the constnution process, and the whole constructing process is dynamically simulated. The results provid a scientific references for the design and construction of the tunnel engineering in Mei He express way or any other similar engineerings.

Key words: express way; tunnel; surrounding rocks; numerical simulation; FEM