

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00723

失水山梨醇脂肪酸酯-聚乙二醇嫁接的 聚乙烯醇化磁性药物载体的制备及应用

金谷* 姚剑侠 姚奇志
(中国科学技术大学化学系, 合肥 230026)

摘 要 通过丁二酸酐将失水山梨醇脂肪酸酯 (Span80 和聚乙二醇 (PEG400 联接在一起, 合成了一种新的非离子表面活性剂。然后将其嫁接在聚乙烯醇 (PVA 化的 Fe_3O_4 磁性粒子上, 合成了一种新型靶向药物载体。这种载体兼备了 Span80/PEG400 类脂囊泡和磁性材料的特点, 具有良好的稳定性和靶向作用。将这种新型载体用于两性霉素的包封, 包封率可达 96.6%, 且方法简便。实验过程中采用了 FTIR, NMR, XRD 和 TEM 等多种手段进行表征。

关键词 失水山梨醇脂肪酸酯; 聚乙二醇; 聚乙烯醇; 药物载体; 磁性粒子

1 引言

纳米微粒四氧化三铁是一种磁性强、制备相对简单且生物相容性较好的磁性粒子, 是生物医学领域常采用的磁性载体材料^[1]。将有机高分子和这种磁性物质结合后会形成具有一定磁相应性及特殊结构的微球, 其既可以通过共价键来结合酶^[2-3]、细胞^[4]等生物活性物质, 或作为药物的载体^[5]和固相吸附材料^[6-8]等; 又可对外加磁场表现出强烈的磁相应性。目前, 用于磁性材料的有机高分子主要有壳聚糖^[9]、血清白蛋白^[10]等。而用非离子表面活性剂改性的磁性材料少有报道^[11]。

失水山梨醇脂肪酸酯 (Span80 和聚乙二醇 (PEG400 复配形成的类脂囊泡可作为药物助剂, 长期稳定存在^[12]。本实验合成了 Span80-PEG400 将其成功地嫁接在磁性粒子上。将聚乙烯醇 (Polyvinyl alcohol) PVA 羧基化 (PVAc, 然后将 PVAc 涂层在磁性粒子表面, 制备出一种新型的靶向药物载体, 并将此载体用于两性霉素的包封, 效果良好。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

EQUINX55 傅立叶变换红外光谱仪 (德国 Bruker 公司; UltraShield 300M 核磁共振谱仪 (瑞士 Bruker 公司; X-PERTPRO X 射线衍射仪 (荷兰飞利浦公司; TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器公司; H800 透射电子显微镜 (日本 Hitachi 公司)。

聚氧乙烯 (20 失水山梨醇单月桂酸酯 (Tween 20、Span80、PEG400、PVA 和丁二酸酐为分析纯试剂; 4-二甲氨基吡啶 (4-DMAP, 99%, N,N' -二环己基碳二亚胺 (DCC, 99% 购于上海 Medpep 公司; 其它试剂均为分析纯, 实验用水为去离子水。

2.2 磁性微球的制备

2.2.1 Span80-PEG400 的合成 取干燥圆底烧瓶, 加入反应溶剂二氯甲烷 (CH_2Cl_2 200 mL, Span80 21.4 g (0.05 mol, 丁二酸酐 (Succinic anhydride 15 g (0.15 mol, 及催化剂 4-DMAP 6.1 g (0.05 mol, 于 65 °C 水浴搅拌下反应 12 h。冷却后抽滤除去未反应的丁二酸酐, 旋转蒸发滤液除去 CH_2Cl_2 后得 Span80 的酯化产物。在 200 mL CH_2Cl_2 中, 按照摩尔比 1:1:1:1 分别加入 PEG400、Span80 的酯化物、DCC 及催化剂 4-DMAP, 室温下磁力搅拌 24 h。反应结束后抽滤除去 DCC, 滤液旋转蒸发, 然后加几滴四氢呋喃于冰箱中保存过夜。

2009-07-10 收稿; 2010-01-12 接受

本文系国家自然科学基金 (No. 29405038) 资助项目

* E-mail: gjj@ustc.edu.cn

($-O-CO-CH_2-CH_2-COOH$ 的化学位移出现在 δ 2.61 处, 与文献 [13] 报道的结果一致, 证实了 B 的存在。产物 C 的红外谱图与 B 相比, 多了 1109 cm^{-1} 处的 $\nu_{as}(C-O-C)$ 和 952 cm^{-1} 处的 $\nu_s(C-O-C)$ 。此外, 在 Span80-PEG400 的 $^1\text{H NMR}$ (CDC1₃) 谱图上 (未列出, δ 4.21 处出现的亚甲基源于 PEG400 且与琥珀酰基 (Succinyl group) 相连, 而 δ 3.56 处的峰则为 PEG400 分子结构中的重复单元。证实了通过丁二酸酐 Span80 已成功连接上 PEG400。在靶向制剂 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PVA-}\epsilon\text{-Span80-PEG400}$ 的红外图谱中, Fe-O 键 (570 cm^{-1}), 羰基 (1680 cm^{-1}), 特别是醚键的 ($1100\sim 1200\text{ cm}^{-1}$) 峰明显增强, 由此可知已成功制备了改性的磁性微球。

3.2 新型靶向制剂包封两性霉素及结果分析

两性霉素是治疗深部真菌感染的首选药物之一, 但该药物具有严重毒性, 使临床应用受到很大限制。由此, 对这类药物的包封和控制释放是提高疗效、降低毒副作用最有效的方法。按照 2.3 节所述方法, 用 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PVA-}\epsilon\text{-Span80-PEG400}$ 作为两性霉素药物的载体进行实验, 为了解其包封效果, 需建立在此体系下两性霉素药物的检测方法。由于是磁性载体, 在磁场作用下, 很容易实现载体与未包封药物的分离和测定。

3.2.1 脂质体的吸收光谱和标准曲线 以无水乙醇为溶剂配制较低浓度的两性霉素溶液, 以无水乙醇为参比, 紫外可见分光光度计在 $300\sim 700\text{ nm}$ 内扫描, 在 407 nm 处出现最大吸收。而空白脂质体和包封药物的脂质体的紫外吸收光谱表明, 在 407 nm 处测定时, 空白脂质体几乎无吸收, 故不影响药物的测定 (见图 3)。

配制浓度分别为 0.5、1.0、2.0、3.0 和 4.0 mg/L 的两性霉素标准溶液, 在 407 nm 处测定吸光度。以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标进行线性回归得标准曲线。测定两性霉素的线性回归方程为: $A = -0.3818 + 0.08866c$ ($r = 0.99883$, $n = 5$)。

3.2.2 两性霉素的包封及误差分析 当 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PVA-}\epsilon\text{-Span80-PEG400}$ 和 0.25 g/L 两性霉素 (AmB) 的药物溶液按照不同质量体积比配制时, 包封率见表 1。随着质量体积比的增加, 包封率也在逐渐增大; 但质量体积比达到一定值后再增大, 包封率变化不大, 最大包封率为 96.6%, 高于 Span80 和 PEG400 制备的囊泡 [12] 的包封率 95.2%。但由于其具有磁铁靶向性, 结果令人满意。需要说明的是, 由于这种新型磁性粒子具有两性分子的特点, 可用于磁性囊泡等的自组装 [15] 和作为分离富集的载体等, 相关的工作有待于进一步的研究。

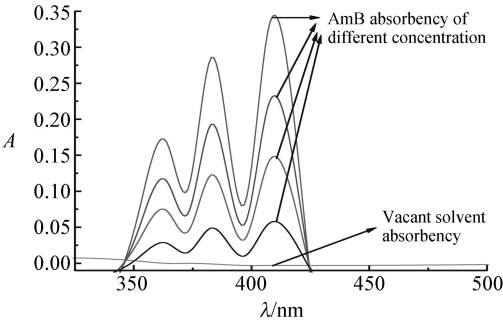


图 3 脂质体和空白脂质体的紫外吸收光谱图
Fig. 3 UV spectra of liposome and blank liposome

表 1 在不同质量体积比条件下 AmB 药物在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PVA-}\epsilon\text{-Span80-PEG400}$ 中的包封率

Table 1 Envelope percent of amphotericin B (AmB) in $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PVA-}\epsilon\text{-Span80-PEG400}$ at different mass and volume ratio					
质量体积比 Mass/volume (g/mL)	1:10	1:33	1:66	1:99	1:150
包封率 Envelope percent (%) $\pm$ SD	78.89 $\pm$ 0.04	90.75 $\pm$ 0.04	94.51 $\pm$ 0.03	96.60 $\pm$ 0.03	96.82 $\pm$ 0.04

References

1 GAO Hu-Ling (高会玲), LI Jian-Ping (李建平). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2008**, 36(12): 1614~1618
2 Hu F L, Deng C H, Zhang X M. *J. Chromatogr. B*, **2008**, 871(1), 67~71
3 YUAN Yong-Hai (袁永海), LI Jian-Ping (李建平). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(7): 1078~1082
4 Chu L Y, Li Y, Zhu J H, Wang H D, Liang Y J. *Journal of Controlled Release*, **2004**, 97(1): 43~53
5 Qi D, Deng C, Zhang X. *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216(29): 5533~5539
6 Qi D, Mao Y, Liu J, Deng C, Zhang X. *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1217(16): 2606~2617
7 WU Shao-Xiong (吴少雄), XING Zhi (邢志), CHEN Hong-Bing (陈红兵), WANG Juan (王娟), FENG Lu (冯璐). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(5): 711~714

- 8 Yao G P, Qi D W, Deng C H, Zhang X M. *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1215(1-2 : 82~ 91
- 9 Li G Y, Jiang Y R, Huang K L, Ding P, Chen J. *Journal of Alloys and Compounds*, **2008**, 466(1-2 : 451~ 456
- 10 Zhang C F, Cao J Q, Yin D Z, Wang Y X, Feng Y L, Tan J J. *Applied Radiation and Isotopes*, **2004**, 61(1-2 : 1255~ 1259
- 11 Manuel A, Rodrigo F P, Ricardo I, Santanarria J. *Nanobday*, **2007**, 2(3 : 22~ 32
- 12 Hua W, Liu T Q. *Physicochem. Eng. Aspects*, **2007**, 302(1-3 : 377~ 382
- 13 Schulte D M, Brunner H. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 711(1 : 53~ 60
- 14 WU Chang-Cheng(武长城), LI Lan-Ying(李兰英), ZHANG Dong(张栋), Song Hui(宋惠). *Journal of Tianjin Institute of Textile Science and Technology*(天津工业大学学报), **2005**, 24(6 : 27~ 30
- 15 J C Bacri, V Cabuil, A Cebers, Menager C, Perzynski R. *Materials Science and Engineering: C*, **1995**, 2(4 : 197~ 203

Preparation and Application of Polyvinyl Alcohol Magnetic Drug Carrier Modified by Sorbitan Monooleate-Polyethylene Glycol

JIN Gu^{*}, YAO Jian-Xia, YAO Qi-Zhi

(Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

Abstract A new non-ionic surfactant was synthesized by using Span 80 and polyethylene glycol 400(PEG 400) in the presence of succinic anhydride. Then, the surfactant was grafted onto PVA-coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. As a result, a kind of new drug carrier with magnetic targeting was prepared. Several instruments, such as FTIR, NMR, XRD, TEM were used to characterize the carrier. Finally, the targeting carrier was applied to envelop the amphotericin. The envelopment was up to 96.6%, and the method was handy.

Keywords Sorbitan monooleate; Polyethylene glycol; Polyvinyl alcohol; Drug carrier; Magnetic nanoparticles

(Received 10 July 2009; accepted 12 January 2010)

《色谱定性与定量》(第二版)

该书主要介绍了色谱分析中常用的定性和定量方法。在定性分析中除了介绍经典的保留值定性的各种方法外,对近年来在色谱定性分析中使用的质谱和红外光谱的谱图解析作了较详细的介绍。定量分析中除了介绍各种定量分析方法外,对数据处理中的误差分析、定量结果的评价和表达方法作了详细介绍。该书还对色谱定性定量分析常用的积分仪和色谱工作站作了介绍,并对保证色谱定性和定量结果准确的优良实验室规范及实验室认可制度作了介绍。与第一版相比,该书的第二版增加了色谱峰纯度检验、色谱指纹图谱分析、实验室能力验证等新内容。

该书是《色谱技术丛书》之分册,在第一版基础上作了修改和充实,补充了新近发展的仪器、技术与应用实例。

该书可供从事色谱分析的人员及大专院校分析化学相关专业师生学习参考。该书由汪正范编著,化学工业出版社出版,定价 39.00 元。