

壳聚糖/聚乙烯醇/三聚磷酸钠三元复合微球的制备及其表征

黄琼瑜 张明霞 刘芳 肖秀峰 刘榕芳*

(福建师范大学化学与材料学院, 高分子材料重点实验室 福州 350007)

摘要 由壳聚糖(CS)、聚乙烯醇(PVA)和三聚磷酸钠(TPP)制备了壳聚糖/聚乙烯醇/三聚磷酸钠三元复合微球,探讨了体系中壳聚糖含量对复合微球的影响,以及离子种类及浓度和pH值对复合微球溶胀度的影响。采用XRD、FTIR和SEM等测试技术对微球的组分、结构和形貌进行了表征。结果表明,CS和PVA具有良好的相容性,随着CS含量的增加,PVA的结晶性逐渐降低,复合微球的粒径约为400~950 μm ,表面较为粗糙;随着CS添加量的增加,凝胶平衡溶胀度先增大再减小,CS/PVA/TPP复合微球在pH值为3~8的溶胀度最大,且在同一种溶液中,随着离子浓度的增加,其溶胀度明显降低;复合微球具有溶胀-收缩可逆性,显示CS/PVA/TPP复合微球是pH/离子敏感型凝胶,可为药物缓释系统提供实验和理论依据。

关键词 壳聚糖,聚乙烯醇,相容性,平衡溶胀度,药物载体

中图分类号:O636.1

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)01-0021-06

微球不仅具有控制药物释放速度、延长药物作用时间、减少药物不良反应、降低用药剂量的特点,还可以实现特定组织和器官的靶向释放^[1]。壳聚糖(chitosan,CS)是甲壳素部分或全部脱乙酰基的产物,作为一种新型的药物载体,具有无毒、无刺激性、良好的生物相容性和生物可降解性,可提高药物的稳定性和生物利用度,降低药物的毒副作用等特点^[2,3]。但壳聚糖($\text{pK}_a = 6.5$)在中性和碱性介质中不溶于水,黏附性差,难于打开胃肠壁上的紧密连接,药物不能由细胞间通道进入人体内发挥作用^[4]。高亲水性高分子材料在与黏膜接触过程中除吸收水分产生黏附作用外,还使上皮细胞失水而可逆收缩,使间隙扩大,有利于药物的吸收^[5]。聚乙烯醇(PVA)无毒性,无刺激性,具高亲水性^[6],有良好的生物相容性,能够在体内缓慢降解,也可以作为药物缓释载体材料制备微球^[7],但在水中易溶解流失。黄循明等^[8]以壳聚糖为原料、液体石蜡为悬浮介质,加入适量的交联剂戊二醛和少量的改性剂聚乙烯醇,采用悬浮交联工艺制备了微球,其中加入少量PVA有利于吸附血脂。Zheng等^[9]采用离子诱导法制备了壳聚糖纳米粒子,将pH值为7~9的三聚磷酸钠(Sodium tripolyphosphate,TPP)溶液滴加到pH=5的壳聚糖乙酸溶液中,通过带负电的磷酸根离子与壳聚糖分子链上带正电的质子化氨基发生分子内和分子间交联反应,迅速生成纳米粒子。本文利用PVA的高亲水性改性CS,以增加微球对黏膜的黏附性及吸收性,提高药物利用率;并利用CS的聚阳离子特性与聚阴离子电解质TPP,通过离子化凝胶反应形成微球,其载药过程工艺简单、条件温和及无需化学反应,有助于保持药物活性,特别适合于蛋白和基因药物的包载和释放^[10]。目前,尚无与此类似的制备三元复合微球的相关报道。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

壳聚糖(CS),脱乙酰度为85%;冰乙酸,分析纯,三聚磷酸钠(TPP),纯度>98%,二次蒸馏水。Nicolet Avatar 360 FTIR型傅立叶红外光谱仪(美国),分辨率4 cm^{-1} ,扫描次数64;Philips X'Pert MPD型衍射仪(荷兰),铜靶($\lambda = 0.154\ 06\ \text{nm}$),管压40 kV,管流40 mA,扫描速率3°/min,步长0.02°;Philips Series XL30 ESEM型环境扫描电子显微镜(荷兰)。

1.2 微球的制备

将 CS 溶解于体积分数为 1% 的醋酸中配成质量分数为 2% 溶液,然后按照 $m(\text{CS}):m(\text{PVA} + \text{CS})$ 为 40:100、60:100、80:100、100:100 加入适量 PVA 微热至溶解,配成一系列溶液。将配制好的溶液滴加到质量分数为 5% TPP 凝结液中,静置陈化成型,取出,用二次蒸馏水洗涤至中性,50 °C 干燥 10 h 得微球样品。

1.3 微球溶胀率 (swelling ratio, R_s) 测定

以微球吸水的能力衡量微球溶胀的程度^[11]。将约 50 mg 干燥微球准确称其质量(m_d)后,置于不同溶液中,每 24 h 取出 1 次,用滤纸拭去溶胀微球表面的水,迅速用电子天平称其质量(m_w),直至恒重,溶胀率 $R_s = [(m_w - m_d)/m_d] \times 100\%$ 。

2 结果与讨论

2.1 微球的结构表征

2.1.1 XRD 分析 从图 1 中可看出,纯 PVA 在 19.7° 处有强的衍射峰,是 (101) 和 (200) 晶面的交叠峰^[12,13],CS 在 20° 附近有强的衍射峰(图 1 谱线 *b*)。在 CS/PVA/TPP 中,此峰随着 CS 含量的增加而逐渐减弱。这可能是由于 CS 与 PVA 之间产生了氢键,破坏了 PVA 原有的结晶结构。

2.1.2 红外光谱分析 图 2 为 PVA、CS 以及不同 CS 含量的红外谱图。从图中可以看到,PVA 在 1 091 cm^{-1} 处有强的尖峰,为 C—OH 的吸收峰,此峰与结晶相关;2 941 和 2 908 cm^{-1} 处分别为 —CH₂ 和 —CH 的吸收峰,在 3 100 ~ 3 500 cm^{-1} 范围有强的宽吸收峰,为 —OH 的伸缩振动峰^[14](图 2 谱线 *a*),说明 PVA 有大量氢键,因为随羟基与氧缔合度的加大,此吸收峰移向低波数区,且峰变宽。纯的 CS 在 3 200 ~ 3 600 cm^{-1} 范围有强的宽峰,为 —NH 和 —OH 的伸缩振动,在 1 620 cm^{-1} 处为 —NH 的变形振动,在 1 383 cm^{-1} 处为 —OH 的弯曲振动^[15],1 069 cm^{-1} 附近为 CS 的结晶敏感带^[16](图 2 谱线 *b*)。纯 PVA 中添加 CS 后,PVA 的 —OH 与 CS 的 —OH 和 —NH₂ 峰相重叠,随着 CS 的增加,峰宽逐渐变宽;1 091 cm^{-1} 处与结晶相关的峰在复合过程中也发生了很大变化,这可能是 PVA 与 CS 之间的相互作用所引起。纯 CS 于 1 069 cm^{-1} 处的结晶敏感带在复合过程中与 PVA 的结晶带相互重叠,且峰的强度随着

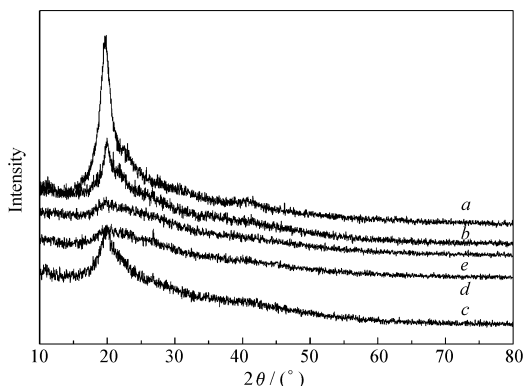


图 1 不同 CS 含量的 CS/PVA/TPP 的 XRD 图
Fig. 1 XRD patterns of CS/PVA/TPP composite microspheres with different CS contents
 $\omega(\text{CS})/\%$: a. 0; b. 100; c. 40; d. 60; e. 80

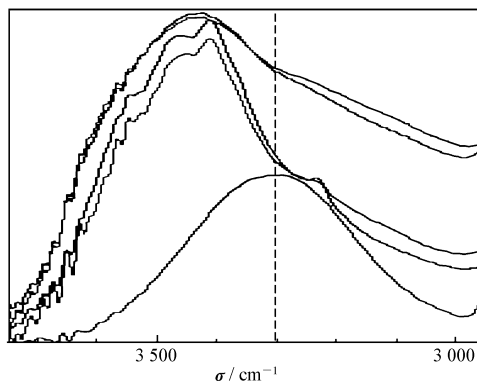
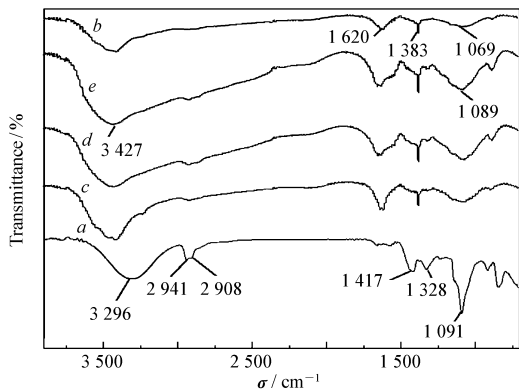


图 2 不同 CS 含量的 CS/PVA/TPP 的红外谱图

Fig. 2 FTIR spectra of CS/PVA/TPP composite microspheres with different CS contents
 $\omega(\text{CS})/\%$: a. 0; b. 100; c. 40; d. 60; e. 80

CS 的增加而增强;复合微球在 $3\,600\sim3\,200\text{ cm}^{-1}$ 的 —NH 和 —OH 伸缩振动峰,随着 CS 含量的增加,明显变宽,且在 $3\,463$ 和 $3\,415\text{ cm}^{-1}$ 处的 2 个峰合并成 1 个宽的肩峰($3\,427\text{ cm}^{-1}$),进一步证实了二者之间强烈的氢键作用。

2.1.3 微球的形貌观察 图 3 为不同 CS 含量复合微球的 SEM。图中可见,所得复合微球为空心的较为规整的微球,其球径为 $400\sim950\text{ }\mu\text{m}$,某些不规则微球及局部的塌陷可能是微球在干燥过程中收缩所致;复合微球的表面较粗糙,有褶皱出现,且其粗糙度随 CS 含量的变化而变化,当 $\omega(\text{CS})=60\%$ 时,微球表面较光滑,说明此时 CS 与 PVA 混合较均匀,但继续增大 CS 质量分数,微球表面变得粗糙(图 3h)。

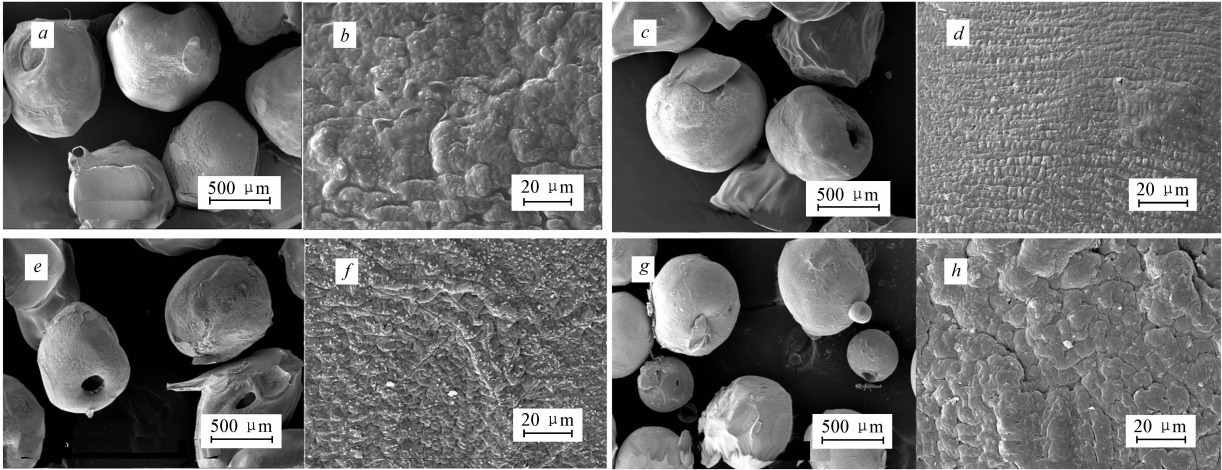


图 3 不同 CS 含量的 CS/PVA/TPP 的 SEM

Fig. 3 SEM of CS/PVA/TPP composite microspheres with different CS contents
 $\omega(\text{CS})/\%$: a, b. 40; c, d. 60; e, f. 80; g, h. 100

2.2 微球的制备条件

表 1 为不同 CS 浓度对微球成型的影响。表中可见,微球的颜色随 CS 浓度的增大逐渐变深,微球的粒径在 $400\sim950\text{ }\mu\text{m}$ 。当 CS 质量分数较小时,混合溶液的黏度较大,液滴下落的速度较慢,在针头出现黏结现象,导致出现少量椭圆形的微球;当 CS 质量分数增大时,混合溶液的黏度减小,液滴下落速度快,因此出现 $d<400\text{ }\mu\text{m}$ 的微球;当 $m(\text{CS}):m(\text{PVA}+\text{CS})=40:100$,滴入的 $\omega(\text{TPP})<5\%$ 时,可以形成微球;当 $\omega(\text{TPP})>5\%$ 时,则不能形成微球,而是粘结成一片;气泡影响着微球的成型,用超声波不能有效地除去混合溶液中的气泡,因此不能成球。而用减压法能有效地除去混合溶液中的气泡,可以成球。

表 1 不同 CS 浓度对微球的影响

Table 1 Effect of the concentration of CS on the microspheres			
$\omega(\text{CS})/\%$	$d/\mu\text{m}$	$d<400\text{ }\mu\text{m}$ microspheres	Microspheres colour
100	$400\sim950$	a few	filemot
80		none	filemot
60		none	filemot
40		none	light yellow

2.3 微球的溶胀率

2.3.1 壳聚糖对溶胀率的影响 图 4 为复合微球的溶胀率随 CS 含量的变化。从图中可以看出, $\omega(\text{CS})=60\%$ 时,微球的吸水率达 898% 。聚乙烯醇在形成凝胶的过程中,链间羟侧基间形成的氢键缔合可形成缠结结构,其作用类似于交联网络结构中的交联点。 $\omega(\text{CS})<40\%$ 时,单位体积内聚乙烯醇分子数增多,形成链间氢键缠结点增多^[17],因此凝胶溶胀度增加;当 CS 含量过多时,过多的 CS 游离氨基可以直接与 PVA 反应形成网状结构而导致吸水率下降。

2.3.2 离子种类及浓度对溶胀率的影响 图 5 为 $\omega(\text{CS})=60\%$ 的复合微球在不同种类离子及不同浓度下的溶胀率。图中可见,在同一浓度下,复合微球在酸性溶液中的溶胀率最大。在同一种溶液中,溶胀率随离子浓度的增加而明显降低。这是因为壳聚糖分子链上 —NH_2 在强酸作用下可形成 —NH_3^+ ,聚乙烯醇的 —OH 在强酸作用下可部分质子化 —OH ,整个高分子凝胶网络带正电荷而使分子链间相互排

斥,易于伸展,从而表现出较高的溶胀率。而带有负电荷的 Cl^- 将聚集在 $-\text{NH}_3^+$ 和部分质子化 $-\text{OH}$ 的附近,中和高分子链上的正离子,随着离子浓度的增加,高分子链上的正离子之间的斥力被相反的电荷 Cl^- 所抵消,导致凝胶体系呈收缩状态,因此,溶胀度随着 HCl 浓度的增大而降低。在碱性环境中,游离的氨基 ($-\text{NH}_2$) 含量增多,氨基之间及氨基与羟基之间形成的氢键增加,致使聚合物分子链排列致密;此外,电解质效应随着 NaOH 浓度的增大而增大,使得凝胶体积收缩,从而导致高分子网络收缩,溶胀度下降。 Na^+ 、 Cl^- 既不发生质子化反应,也无去质子化作用^[18]。因此,复合微球的溶胀率在盐酸溶液中最大,氯化钠溶液中次之, NaOH 溶液中最小。

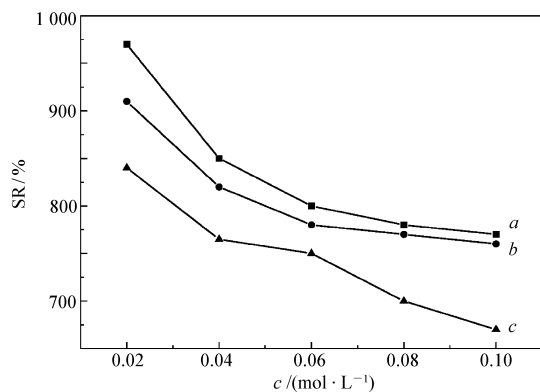


图 5 不同离子及浓度对 CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 溶胀率的影响

Fig. 5 Swelling ratios of CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) immersion in different ion solvents with different concentrations
a. HCl ; b. NaCl ; c. NaOH

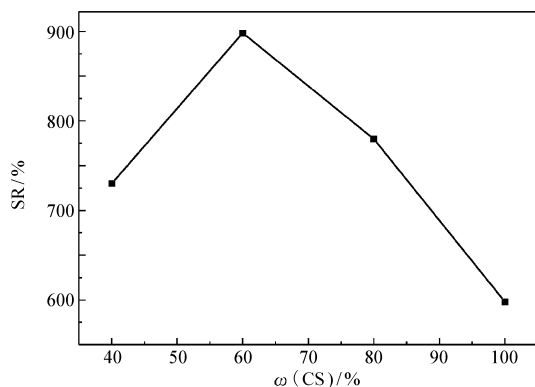


图 4 不同 CS 含量的 CS/PVA/TPP 的溶胀率

Fig. 4 Swelling ratio of CS/PVA/TPP composite microspheres with different CS contents

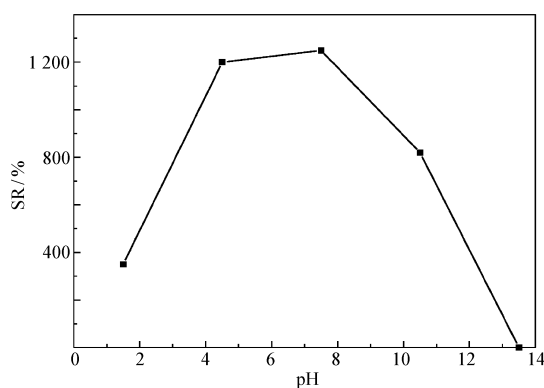


图 6 不同 pH 对 CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 溶胀率的影响

Fig. 6 Effect of pH value on the swelling ratio of CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$)

2.3.3 溶液 pH 值对溶胀率的影响 图 6 为溶液 pH 值对 $\omega(\text{CS}) = 60\%$ 的复合微球溶胀率的影响。从图中可以看出,复合微球的溶胀率具有显著的 pH 值敏感性, pH 值为 3~8 时凝胶的溶胀率最大。凝胶的溶胀主要由凝胶内外自由离子浓度差产生的渗透压所决定。所有 pH 敏感性高分子水凝胶均含有酸性或碱性离子解离基团(如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{N}(\text{R})_2$ 等),其网络结构和电荷密度随介质 pH 值而变化,并对凝胶的渗透压产生影响;此外,离子强度的变化也引起体积变化^[18]。

CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 在不同 pH 值的溶液中有不同的微球直径,在 pH 值为 1.5、7.5 和 13.5 的溶液中,其球径分别为 1 100~1 300、1 500~2 000 和 1 000~1 200 μm 。图 7 为 CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 在不同 pH 值下的 SEM 照片。从图中可以看出,其球径均有所收缩,只是收缩的程度不同。在 pH 值为 1.5 和 13.5 时的球径大多数在 900~1 100 μm ,而在 $\text{pH} = 7.5$ 时,其球径收缩至 1 100~1 400 μm 。图 7d 为 CS/PVA/TPP ($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 在 $\text{pH} = 7.5$ 的溶液中浸泡后置于 $\text{pH} = 13.5$ 的溶液中再浸泡后的 SEM 照片。图中可见,其粒径从溶胀前的 1 500~2 000 μm 收缩至约 970 μm ,与在 $\text{pH} = 13.5$ 时的球径差不多,由此可见, CS/PVA/TPP 微球具有 pH 值敏感性。其原因可能是阳离子型聚电解质壳聚糖的分子链上大量的亲水性氨基基团 ($-\text{NH}_2$) 对 pH 值刺激具有响应性。而聚乙烯醇分子链上不含有离子基团,但含有较多的亲水性羟基。在 pH 值为 1~7 时聚乙烯醇分子链中的 $-\text{OH}$ 部分质子化

而带正电荷,当 $\text{pH} < 4$ 时由于溶剂中的 H^+ 和 Cl^- 较多, Cl^- 对壳聚糖分子链上的氨基离子($-\text{NH}_3^+$)和部分质子化 $-\text{OH}$ 的屏蔽作用较大,凝胶的溶胀度较小。随 Cl^- 减少,屏蔽作用减弱,凝胶的溶胀度逐渐增大, pH 值为 $4 \sim 8$ 时 Cl^- 数量进一步减少,同时因高分子凝胶网络带正电荷而使分子链间相互排斥,

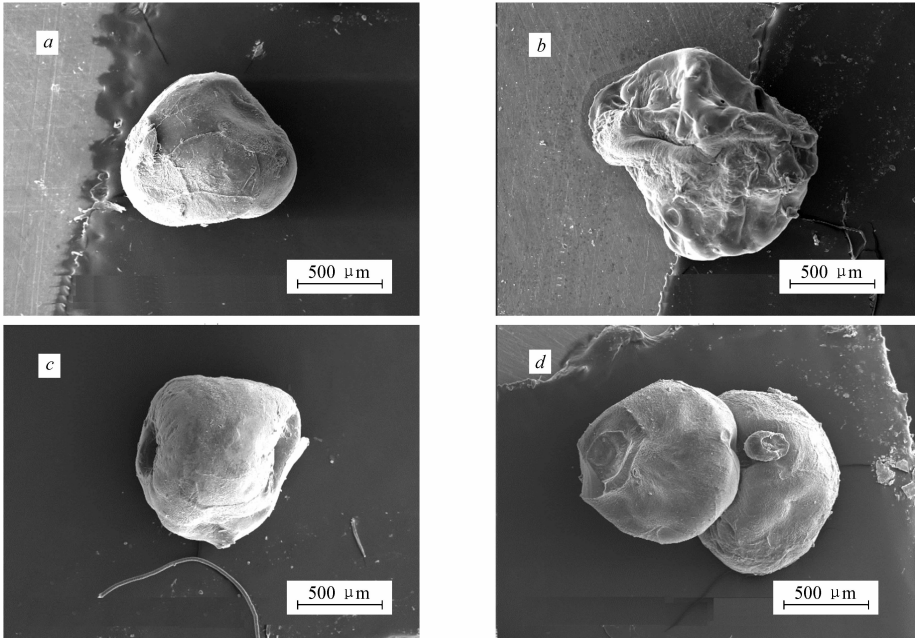


图 7 CS/PVA/TPP($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 在不同 pH 值下的 SEM

Fig. 7 SEM images of CS/PVA/TPP($\omega(\text{CS}) = 60\%$) in solutions with different pH values

$a. \text{pH} = 1.5; b. \text{pH} = 7.5; c. \text{pH} = 13.5; d.$ immersion in solution with $\text{pH} = 7.5$ first, then immersion in solution with $\text{pH} = 13.5$

易于伸展,表现出较高溶胀度。当 $\text{pH} > 9$ 时,游离的氨基($-\text{NH}_2$)含量增多,氨基之间及氨基与羟基间形成的氢键增加,致使聚合物分子链排列致密;此外,电解质效应较大也使得凝胶体积收缩,导致溶胀度下降。

图 8 为在不同 pH 值溶液中浸泡后 $\omega(\text{CS}) = 60\%$ 的复合微球的 FTIR。与图 2 谱线 d 比较可以看出,在 $3\,387$ 和 $1\,634\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰明显增强,说明复合微球吸附了大量的水,与 $-\text{NH}$ 和 $-\text{OH}$ 峰相重叠。但其特征吸收峰在不同 pH 值溶液中的强度有所不同。在 $\text{pH} = 7.5$ 时, $3\,387$ 和 $1\,634\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰强度最大,而在 pH 值为 13.5 和 1.5 时,该峰明显减弱,并发生了一定程度的偏移。由图 2 谱线 d 中可以看到, $1\,089\text{ cm}^{-1}$ 处的 PVA 的 $-\text{OH}$ 与 CS 的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 的重叠峰;而在图 8 中,这一重叠峰又分裂成 2 个峰($1\,089$ 和 $1\,049\text{ cm}^{-1}$),分别为 PVA 和 CS 的特征吸收峰,且峰的强度随着 pH 值的不同而不同,在 $\text{pH} = 7.5$ 时最强。由此可见,复合微球溶胀之后的组成结构也发生了变化。

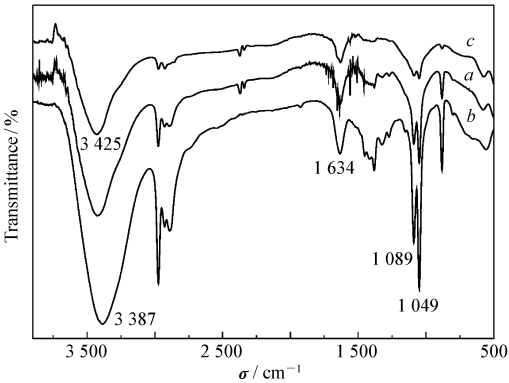


图 8 不同 pH 值下,CS/PVA/TPP($\omega(\text{CS}) = 60\%$) 的红外谱图

Fig. 8 FTIR spectra of CS/PVA/TPP($\omega(\text{CS}) = 60\%$) after immersion in different pH solvents
 $\text{pH}: a. 1.5; b. 7.5; c. 13.5$

参 考 文 献

1 QIAN Jun-Min(钱军民),ZHANG Xing(张兴),LV Fei(吕飞),LI Xu-Xiang(李旭祥). *Adv Fine Petrochem*(精细石油化工进展)[J],2002,3(3):22

2 WANG Fang(王芳),LI Dong(李东),YU Hua-Yun(于华芸). *Chinese J Practice Medicine*(中华医学实践杂志)[J],

- 2004, **12**(3):1 082
- 3 YAO Kang-De(姚康德), YIN Yu-Ji(尹玉姬). Biomaterials Related to Tissue Engineering(组织工程相关生物材料) [M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2003:61
- 4 MA Guang-Hui(马光辉), SU Zhi-Guo(苏志国). Macromolecule Microspheres Material(高分子微球材料) [M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2005:244
- 5 Bjork E, Edman P. *Int J Pharm*[J], 1990, **62**:187
- 6 MOU Yuan-Hua(牟元华), LI Yu-Bao(李玉宝), ZHANG Xiang(张翔), LV Guo-Yu(吕国玉), ZUO Yi(左奕), XU Feng-Lan(许凤兰). *J Funct Mater*(功能材料)[J], 2005, **36**(10):1 578
- 7 WANG Ding-Guo(王定国), ZHENG Hua(郑华), HU Ying-Jia(胡颖嘉), QIU Shu-Ming(邱书明). *Beijing Biomed Eng*(北京生物医学工程)[J], 1996, **15**(3):165
- 8 HUANG Xun-Ming(黄循明), WANG Min(王敏), HUANG Liang-Min(黄良敏). *Chinese J Marine Drugs*(中国海洋药物)[J], 2003, **3**:25
- 9 Zheng A P, Wang J C, Lu W L, Zhang X, Zhang H, Wang X Q, Zhang Q. *J Nanosci Nanotechnol*[J], 2006, **6**(9-10):2 936
- 10 Downs E C, Robertson N E, Riss T L, Plunkett M L. *J Cell Physiol*[J], 1992, **152**:422
- 11 Denkbaz E B, Seyyal M, Piskin E. *J Membr Sci*[J], 2000, **172**(1-2):33
- 12 Sarkhel D, Roy D, Bandyopadhyay M, Bhattacharya P. *Sep Purif Technol*[J], 2003, **30**:89
- 13 Pandey L K, Saxena C, Dubey V. *J Membr Sci*[J], 2003, **227**(1-2):173
- 14 YU Ruo-Bing(余若冰), YOU Hua-Yan(游华燕), XU Xiong-Li(徐雄立), LI Hua-Xing(酆华兴). *Mod Plast Proc Appl*(现代塑料加工与应用)[J], 2000, **13**(2):16
- 15 Sannan T, Kurta K, Ogura K, Inakura Y. *Polymer*[J], 1978, **19**:458
- 16 Mima S, Miya M, Iwamoto R, Yoshikawa S. *J Appl Polym Sci*[J], 1983, **28**:1 909
- 17 LIU Ming-Zhu(柳明珠), QIAN Ren-Yuan(钱人元). *Acta Polym Sin*(高分子学报)[J], 1996, (2):234
- 18 WU Guo-Jie(吴国杰), CUI Ying-De(崔英德). *J Chem Ind Eng*(China)(化工学报)[J], 2006, **57**(9):2 223

Preparation and Performance of Chitosan-Polyvinyl Alcohol-Sodium Tripolyphosphate Complex Microparticles

HUANG Qiong-Yu, ZHANG Ming-Xia, LIU Fang, XIAO Xiu-Feng, LIU Rong-Fang*
(College of Chemistry and Materials Science, Key Laboratory of Polymer Science,
Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

Abstract Chitosan/polyvinyl alcohol/sodium tripolyphosphate complex microparticles were prepared from chitosan(CS), polyvinyl alcohol(PVA) and sodium tripolyphosphate(TPP). The effects of CS content on complex microparticles and different ions, pH on the degree of equilibrium swelling were investigated. The component, structure and morphology of the complex microparticles were characterized by means of X-ray diffraction(XRD), Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR), scanning electron microscopy(SEM). The results indicate that the CS-PVA is a compatible system; the crystallization of PVA declines with the increase of CS content; the particle size is about 400~950 μm with rough surfaces. The equilibrium swelling tests show that with the increase of CS content, the equilibrium swelling ratio increases firstly then decreases. The CS/PVA/TPP complex microparticles show highest equilibrium swelling ratio in a pH 3~8 solution and tend to decrease with the increase of ion content in the same aqueous solution. The microparticles have swelling-shrinking reversibility, implying that CS/PVA/TPP complex microparticles are pH/ion-sensitive and could provide experimental and theoretical basis for drug delivery system.

Keywords chitosan, polyvinyl alcohol, compatibility, degree of equilibrium swelling, drug carriers