

# 碳酸钙纳米结构多孔空心微球的制备及其药物缓释性能研究

李亮, 朱英杰, 曹少文, 马明燕

(中国科学院上海硅酸盐研究所 高性能陶瓷和超微结构国家重点实验室, 上海 200050)

**摘要:** 以  $\text{CaCl}_2$  和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  为反应物, 十二烷基硫酸钠(SDS)为表面活性剂, 在室温水溶液中制备了纳米结构碳酸钙空心球. 用 TEM 和 SEM 对其进行形貌观察发现, 所制备的碳酸钙空心球的球壁由纳米粒子组成, 具有多孔形貌特征. 分别在模拟胃液( $\text{pH} = 1.2$ )以及模拟肠液( $\text{pH} = 7.4$ )中对制备的纳米结构碳酸钙空心球进行了药物装载和缓释性能的研究, 选用的药物为布洛芬(ibu). 研究表明,  $\text{ibu}/\text{CaCO}_3$  多孔空心微球药物传输体系具有较高的药物装载量和良好的药物缓释性能, 纳米结构碳酸钙空心球中  $\text{ibu}$  的装载量可以达到  $195\text{mg/g}$ , 且连续释药时间能持续 53h 以上; 除去表面活性剂后, 载体中  $\text{ibu}$  的装载量可达到  $130\text{mg/g}$ , 药物释放率为 100% 时, 持续释药时间可达到 40h. 纳米结构碳酸钙多孔空心球作为药物载体材料在药物缓释体系中具有潜在的应用前景.

**关键词:** 碳酸钙; 纳米结构; 多孔空心微球; 药物传输

中图分类号: R318

文献标识码: A

## Preparation and Drug Release Properties of Nanostructured $\text{CaCO}_3$ Porous Hollow Microspheres

LI Liang, ZHU Ying-Jie, CAO Shao-Wen, MA Ming-Yan

(State Key Laboratory of High Performance Ceramics and Superfine Microstructure, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

**Abstract:**  $\text{CaCO}_3$  nanostructured porous hollow microspheres were synthesized using  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , SDS in aqueous solution at room temperature. The products were characterized by X-ray powder diffraction (XRD), transmission electron microscope (TEM) and scanning electron microscope (SEM). The drug loading and release properties of  $\text{CaCO}_3$  nanostructured porous hollow microspheres were investigated in artificial gastric juice ( $\text{pH} = 1.2$ ) and simulated intestinal fluid ( $\text{pH} = 7.4$ ). Ibuprofen (ibu) was used as a model drug. The drug delivery system constructed by  $\text{ibu}/\text{CaCO}_3$  porous hollow microspheres exhibits high drug loading capacity and good drug release property. The  $\text{ibu}$  loading amount reaches  $195\text{mg/g}$  and its release time can last for more than 53h. In comparison, the  $\text{ibu}$  loading amount reaches  $130\text{mg/g}$  in thermally treated  $\text{CaCO}_3$  hollow microspheres in which SDS is eliminated, and the drug release time can reach 40h when  $\text{ibu}$  release percentage is 100%. The produced  $\text{CaCO}_3$  nanostructured porous hollow microspheres have the potential application in the sustained drug delivery.

**Key words:**  $\text{CaCO}_3$ ; nanostructure; hollow sphere; drug delivery

碳酸钙( $\text{CaCO}_3$ )是石灰石的主要无机成分, 在自然界中大量存在并广泛应用于工业生产<sup>[1]</sup>. 由于其良好的生物活性, 成为重要的研究对象<sup>[2,3]</sup>. 碳酸钙是一种无毒且生物相容性良好的材料, 具有生物降解性而且降解速率适宜, 因此在制药学、生物学及化妆品工业等方面具有潜在的应用前景<sup>[4,5]</sup>.  $\text{CaCO}_3$  除了直接作为药物应用于补钙、抑制胃酸等, 近年来将其应用

于药物传输的研究也越来越引起人们的兴趣<sup>[4,6-8]</sup>. 在药物治疗领域, 尤其是口服药物的研究中, 药物载体材料能有助于药物释放至有效血药浓度范围, 并能长时间地将血药浓度维持在该范围内, 以减少给药次数、减轻患者痛苦. 为了适应实际应用需要, 还要求药物载体材料具有较高的药物装载量以及适当缓慢甚至稳定的释放速率.

收稿日期: 2008-05-04, 收到修改稿日期: 2008-06-03

基金项目: 上海市优秀学科带头人计划(07XD14031); 上海市纳米科技专项(0852nm05800); 国家自然科学基金(50772124); 上海硅酸盐研究所生物材料与组织工程研究中心主任基金

作者简介: 李亮(1981-), 女, 博士研究生. 通讯联系人: 朱英杰, 研究员. E-mail: y.j.zhu@mail.sic.ac.cn

布洛芬(ibu)是一种消炎镇痛药物.由于它在水溶液中的低溶解度以及小分子量等特性适用于药物装载,它常被用作药物控释实验中的典型药物.ibu在酸性溶液中的溶解度极小( $\text{pH} = 1.2$ 时的饱和溶解度仅为 $0.036 \text{ mg/mL}$ ),但却较易溶解于碱性溶液中( $\text{pH} = 7.4$ 时的饱和溶解度为 $6.14 \text{ mg/mL}$ )<sup>[9,10]</sup>.

纳米结构多孔空心球由于其高比表面积和内孔结构,有可能成为具有高药物装载量的载体材料.对于碳酸钙空心球的制备已有报道,但制备方法较复杂,例如使用复杂的双亲嵌段共聚物<sup>[11,12]</sup>,多种添加剂共同作用<sup>[13-15]</sup>、在复杂体系中进行反应<sup>[16]</sup>.本工作采用一种简单的方法,即使用SDS作为唯一添加剂在室温水溶液中制备碳酸钙纳米结构多孔空心球,并研究了其药物缓释性能.实验选用了极性较弱的正己烷作为药物装载介质以获得较大的装载量<sup>[9]</sup>.

## 1 实验部分

### 1.1 $\text{CaCO}_3$ 多孔空心微球的制备

无水氯化钙( $\text{CaCl}_2$ ),分析纯,用作 $\text{Ca}^{2+}$ 源;碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ),分析纯,用作 $\text{CO}_3^{2-}$ 源;十二烷基硫酸钠(SDS),化学纯,用作表面活性剂;ibu,化学纯,用作装载药物;正己烷,分析纯,用作药物装载溶剂.实验中其它溶剂均为去离子水.所有化学试剂均未经过进一步提纯而直接使用.

$\text{CaCO}_3$ 空心微球可通过室温迅速混合同等体积的 $\text{CaCl}_2$ (含SDS)和 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 水溶液来制备.首先,在剧烈搅拌下,将相同体积的 $0.2 \text{ mol/L}$   $\text{CaCl}_2$ 溶液和 $0.1 \text{ mol/L}$  SDS溶液快速混合,持续搅拌并加入与混合溶液等体积的 $0.2 \text{ mol/L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液.离心收集沉淀,用去离子水与无水乙醇分别洗三次, $60^\circ\text{C}$ 烘箱中干燥.干燥所得粉体记为样品A.将样品A在 $350^\circ\text{C}$ 下煅烧3h以除去样品中残留的表面活性剂SDS,煅烧后所得的 $\text{CaCO}_3$ 粉末记为样品B.样品A与B均被用作药物载体材料,以进行其药物的装载及释放性能研究.

### 1.2 药物ibu的装载

样品A与样品B用乙醇洗涤后放入 $120^\circ\text{C}$ 的真空干燥箱中预处理以尽可能地去除水份.将预处理后的样品A、B各称取1g分别与50mL的ibu正己烷溶液一起放入烧瓶中,封好瓶口以防止正己烷挥发,然后将烧瓶放入台式恒温振荡仪中以 $170 \text{ 次/min}$ 的速率在 $37^\circ\text{C}$ 下振荡24h.药物装载前后,分别取一定量装载溶液迅速稀释,然后放入封闭的石英比色皿中用紫外可见分光光度计测试其吸光度.根据吸光度的变化可以计算出相应载体中的药物装载量.装载ibu后

的 $\text{CaCO}_3$ 粉末通过离心分离收集,并在 $60^\circ\text{C}$ 烘箱中干燥,然后依次用 $\text{pH} = 7.4$ 的稀氨水和去离子水洗涤以除去 $\text{CaCO}_3$ 微球表面吸附的ibu.洗涤后的样品在 $60^\circ\text{C}$ 烘箱干燥以备下一步药物释放使用.

### 1.3 体外药物释放

装载有ibu的 $\text{CaCO}_3$ 空心微球被压制成 $0.3 \text{ g/片}$ 的小药片以便于进行药物释放过程中的实验操作,压片时所加垂直压力为 $3.75 \text{ MPa}$ ,压制得到的药片尺寸为 $\phi 9.98 \text{ mm} \times 2.25 \text{ mm}$ .将每片药片都放入200mL模拟胃液或模拟肠液释放介质中<sup>[17,18]</sup>,并随容器放入 $37^\circ\text{C}$ 恒温振荡仪中振荡.每隔一定时间取出2mL释放介质,用UV分光光度计测其吸光度,同时补入相同体积的同类释放介质.纯ibu也压片并在同等条件下释放以作比较.

### 1.4 样品表征与测试

利用Rigaku D/max 2550V X射线单色衍射仪(XRD)进行样品的物相分析.样品的形貌则在JEOL JEM-2100F场发射透射电子显微镜(TEM)以及JEOL JSM-6700扫描电子显微镜(SEM)上进行观察.热重分析(TG)曲线由STA 409/PC同步热分析仪(Netzsch,德国)在空气气氛、 $10^\circ\text{C/min}$ 升温速率下测得.紫外(UV)吸收光谱由UV 2300分光光度计(Techcomp)测试得到.样品的BET比表面、BJH孔容以及孔径分布在Micromeritics Tristar 3000型比表面上测定并作相应计算得到.

## 2 结果与讨论

图1(a)和1(b)给出了样品A的SEM和TEM照片.从图中可以看出,制备的 $\text{CaCO}_3$ 具有纳米结构多孔外壳的空心微球,空心微球的尺寸在 $2 \sim 4 \mu\text{m}$ 之间,球壁是由尺寸约为30nm的颗粒堆积而成.XRD图谱(图1(d))表明实验制备的 $\text{CaCO}_3$ 空心微球是单相的方解石.在样品A的TG曲线中(图1(e)), $200 \sim 315^\circ\text{C}$ 之间出现了约2.65%的失重,这对应于SDS的热分解.从样品B对应的TG曲线(图1(e))可以看出在 $200 \sim 600^\circ\text{C}$ 的温度区间内都没有失重,由此可知,通过热处理,样品B中的SDS已经被除去.从图1(c)可以看出,样品B具有与样品A类似的微观形貌,也是多孔外壳的空心微球.测试所得样品A与样品B的比表面积分别为 $68.97$ 和 $49.27 \text{ m}^2/\text{g}$ ,孔容分别为 $0.608$ 和 $0.640 \text{ cm}^3/\text{g}$ .与样品A相比,样品B的比表面积减少,而孔容则有所提高.这是由于经过煅烧以后,样品B中除去了SDS,因此孔容相对于样品A有所增大;然而,SDS的分解同时也导致了碳酸钙空心球壳壁孔隙中及内壁上SDS分子形成的表面消失,样品B的比表面积也因此降低.样品A与样品B中,碳

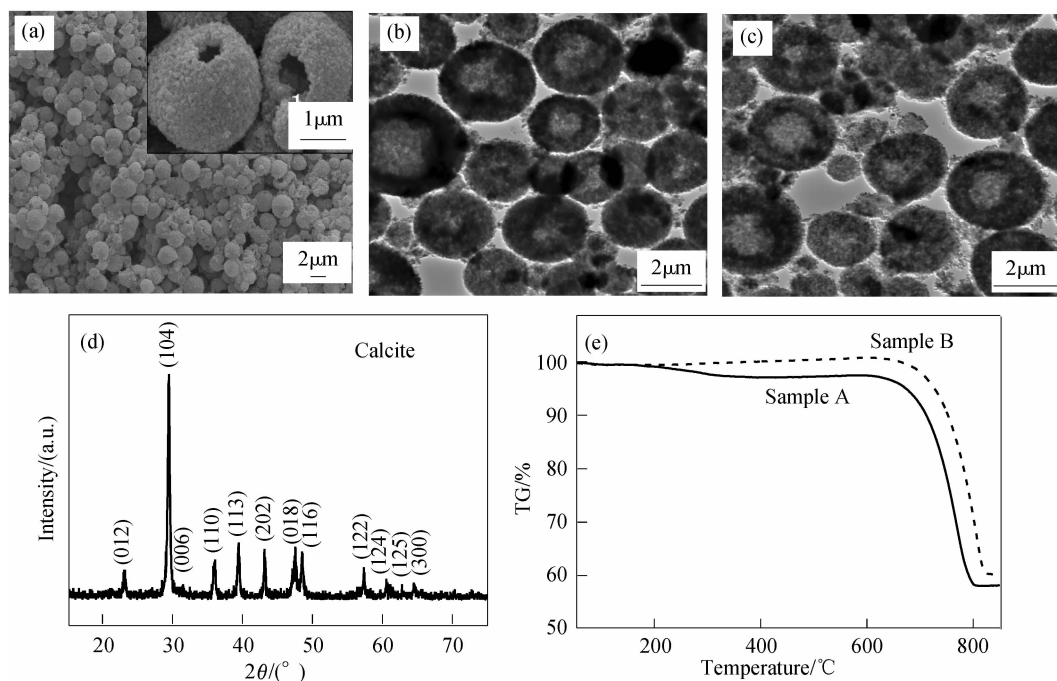


图1 样品A的SEM照片(a); TEM照片(b); (c) 样品B的TEM照片; (d) 样品A的XRD图谱; (e) 样品A和样品B的TG曲线

Fig. 1 SEM (a) and TEM (b) images of sample A; (c) TEM image of sample B; (d) XRD pattern of sample A; (e) TG curves of samples A and B

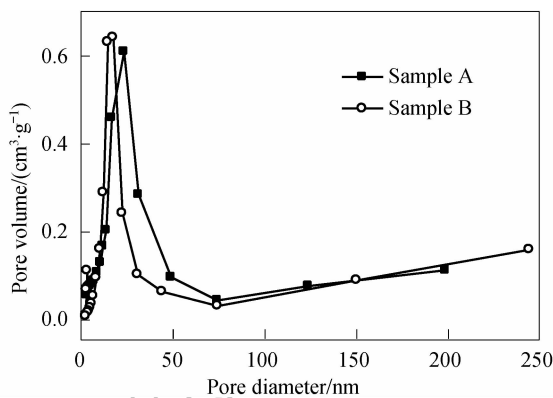


图2 样品A与B的孔容及孔径分布曲线

Fig. 2 The pore volumes and pore size distributions of samples A and B

酸钙微球的多孔壳壁孔径最大分布分别在 23nm 及 18nm 左右 (如图 2 所示). Wang 等<sup>[9]</sup> 也制备了由纳米粒子组成的  $\text{CaCO}_3$  微球, 但是球体为实心而非空心的, 不过其颗粒尺寸 (4 ~ 6 μm) 与比表面积 (40.02 m²/g) 都与本实验制得的样品接近.

分别在 100 和 40 mg/mL 的 IBU 正己烷溶液中进行样品 A 的药物装载, 相应的样品分别记为 A-100 与 A-40. 样品中的药物装载量由紫外吸收光谱 (分别如图 3(a) 和 3(b) 中所示) 中吸光度的变化计算得出. IBU 的装载量在很大程度上受装载溶液中 IBU 浓度的影响, 在较高 IBU 浓度的装载溶液中所得到的 IBU 装载量也相对较高. 例如, 样品 A-100 中的 IBU

装载量为 195 mg/g, 远远高出样品 A-40 中 72 mg/g 的装载量. 样品 B 的药物装载是在 100 mg/mL 的 IBU 正己烷溶液中进行的, 装载后的样品记为 B-100. 样品 B-100 药物装载前后的紫外吸收光谱如图 3(a) 中所示, 根据吸光度变化计算所得的 IBU 装载量为 130 mg/g. 与文献 [9] 中的报道结果 (正己烷中 87.3 mg/g) 相比, 样品 A-100 与 B-100 的装载量都有显著提高. 这说明, 具有纳米结构的  $\text{CaCO}_3$  多孔空心微球能够装载更多的药物, 为获得更长时间的药物释放提供了可能. 样品 A 的 IBU 装载量比样品 B 的高, 我们认为一方面是由于样品 A 的比表面积比较大, IBU 分子吸附过程中的接触面也大, 易于吸附更多的 IBU; 另一方面是样品 A 内含有 SDS, SDS 分子在装载过程也与 IBU 分子之间发生相互作用, 这可能促进载体对 IBU 的吸附.

在典型的消化过程中, 药物在胃中先停留约 1h, 然后转入肠道, 在那里, 食物的停留时间要长得多 (约 70h). 因此, 在体外实验中, 一般集中于模拟肠液中药物释药行为的研究. 实验用稀盐酸 (pH = 1.2) 作为模拟胃液, 而用模拟体液 (SBF, pH = 7.4) 作为模拟肠液, 在此所用的 SBF 是根据文献 [19] 配置而成.

图 4(a) 给出了样品 A-40 在模拟胃液 (pH = 1.2) 中的 IBU 体外释放曲线. 纯 IBU (30mg) 也压制成片, 并记作样品 IBU-30, 也同样进行了模拟胃液中 IBU-30 的体外释放 (如图 4(b) 所示). 由图 4(a) 可知, 在

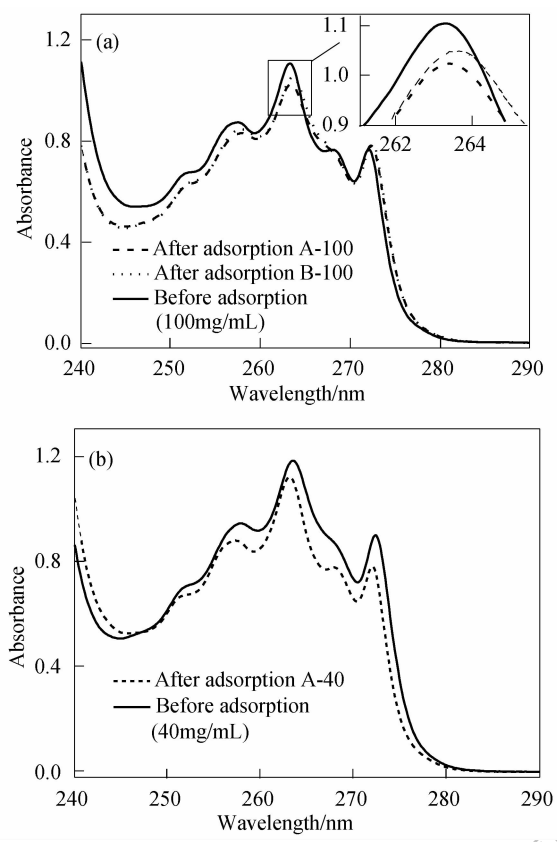


图 3 IBU 吸附前后的 UV 吸收光谱  
Fig.3 UV absorption spectra before and after IBU adsorption  
(a) Measured after 100-fold dilution; (b) Measured after 40-fold dilution

pH 为1.2时,装载于  $\text{CaCO}_3$  多孔微球中的 IBU (样品 A-40) 其释药速率比纯 IBU (样品 IBU-30) 中的要高得多,这与 Wang 等报道的相似<sup>[9]</sup>. 出现这一情形的可能原因是,  $\text{CaCO}_3$  微球在酸性介质中溶解导致释放介质中的 pH 值升高,从而引起了 IBU 溶解度的提高. 因此装载于  $\text{CaCO}_3$  样品中的 IBU 释放速率提高,远高于同样条件下纯 IBU 的释放速率. 经过约 10h, 样品 A-40 中的 IBU 在模拟胃液中已基本释放完全 (见图 4(a)).

图 4(c) 给出了不同样品在模拟肠液中 (pH = 7.4) 的 IBU 体外释放曲线. 纯 IBU (IBU-30) 2h 内就基本释放完全. 而与之形成鲜明对比的是,  $\text{CaCO}_3$  空心微球中 IBU 的释放速率要慢得多. 例如, 样品 A-100 在约 53h 的释放百分比为 76%; 而对于样品 B-100, 达到其最高释放量需要经过 40h, 对应的释放百分比约为 100%; 样品 A-40 达到 50% 的释放百分比需要约 40h.  $\text{CaCO}_3$  空心微球中的 IBU 释放时间比纯 IBU 样品要长得多, 这说明  $\text{CaCO}_3$  空心微球作为药物载体时能明显地延长药物释放时间. 另外, 药物释放时间还受到药物装载量的影响. 使用同样载体材料的情形下, 载药量越大则药物释放时间越长. 从图 4(c) 中还发现, 样品 B-100 的药物释放百分比要高于样品

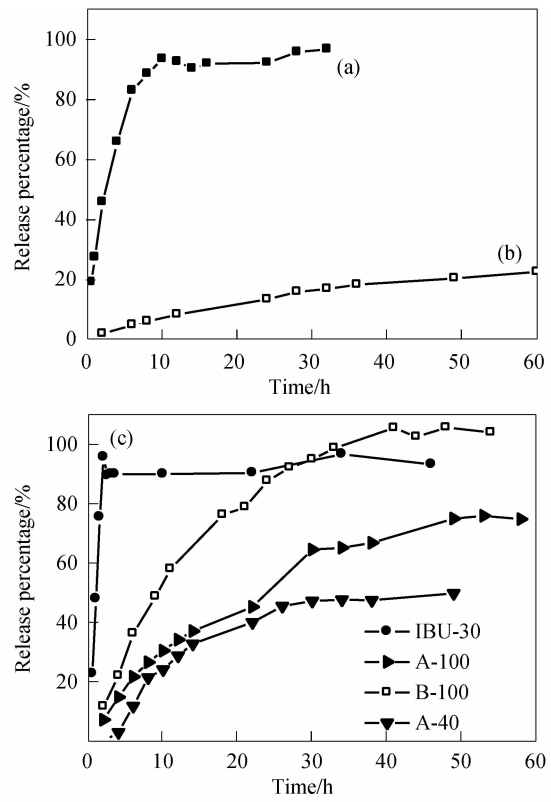


图 4 (a) 样品 A-40 和 (b) 样品 IBU-30 在模拟胃液中的体外释放曲线 (pH = 1.2); (c) 各样品在模拟肠液中的体外释放曲线 (pH = 7.4)  
Fig.4 The *in vitro* IBU release curves: (a) and (b) sample A-40 and sample IBU-30mg in artificial gastric juice (pH = 1.2); (c) samples in simulated intestinal fluid (pH = 7.4)

A-100, 这是由于样品 A 中所含的 SDS 分子与 IBU 药物分子具有一定的相互作用, 影响了其中的药物溶出, 所以降低了药物释放速率.

3 结论

用简单的方法在室温制备出了  $\text{CaCO}_3$  纳米结构多孔空心微球, 微球尺寸为 2 ~ 4  $\mu\text{m}$ , 其多孔球壳的孔径主要分布在 10 ~ 50nm 之间. 将该  $\text{CaCO}_3$  微球及其去除表面活性剂以后的产物分别作为药物载体, 以 IBU 为典型药物进行了药物装载和释放的研究, 研究表明,  $\text{CaCO}_3$  纳米结构多孔空心微球作为药物载体能获得较高的 IBU 装载量和明显的药物缓释效果. 药物装载量很大程度上受吸附溶液中 IBU 浓度的影响. IBU 浓度越高, 样品中 IBU 的装载量越大. 在典型实验中, 吸附 IBU 溶液浓度为 100mg/mL 时, IBU 在  $\text{CaCO}_3$  纳米结构多孔空心微球中的装载量可以达到 195mg/g, 且药物连续释放时间可以持续到 53h 以上; 除去表面活性剂 SDS 后, 载体中的 IBU 装载量可达 130mg/g, 药物释放率为 100% 时的持续释药时间达到 40h.

纳米结构碳酸钙多孔空心球作为药物载体材料在药物缓释体系中具有潜在的应用前景.

#### 参考文献:

- [1] Addadi L, Weiner S. *Nature*, 1997, **389**(6654): 912-915.
- [2] Hanein D, Sabanay H, Addadi L, *et al.* *J. Cell Sci.*, 1993, **104**(2): 275-288.
- [3] Ohgushi H, Okamura M, Yoshikawa T, *et al.* *J. Biomed. Mater. Res.*, 1992, **26**(7): 885-895.
- [4] BrannonPeppas L. *Int. J. Pharm.*, 1995, **116**(1): 1-9.
- [5] Böttcher H, Shwik P, Suss W. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 1998, **13**(1-3): 277-281.
- [6] Li Z Z, Wen L X, Shao L, *et al.* *J. Control. Release*, 2004, **98**(2): 245-254.
- [7] Kreuter J. *J. Control. Release*, 1991, **16**(1-2): 169-176.
- [8] Ueno Y, Futagawa H, Takagi Y, *et al.* *J. Control. Release*, 2005, **103**(1): 93-98.
- [9] Wang C Y, He C Y, Tong Z, *et al.* *Int. J. Pharm.*, 2006, **308**(1-2): 160-167.
- [10] Zhao Q H, Zhang S A, Tong W J, *et al.* *Eur. Polym. J.*, 2006, **42**(12): 3341-3351.
- [11] Colfen H, Antonietti M. *Langmuir*, 1998, **14**(3): 582-589.
- [12] Qi L M, Li J, Ma J M. *Adv. Mater.*, 2002, **14**(4): 300-303.
- [13] Deng S G, Cao J M, Feng J, *et al.* *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**(23): 11473-11477.
- [14] Shen Q, Wei H, Wang L C, *et al.* *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**(39): 18342-18347.
- [15] Wei H, Shen Q, Zhao Y, *et al.* *J. Cryst. Growth*, 2005, **279**(3-4): 439-446.
- [16] Wit G X, Ding J, Xue J M. *J. Mater. Res.*, 2008, **23**(1): 140-149.
- [17] Falk G W, Chey W Y, Owyang C, *et al.* *Gastroenterology*, 1986, **90**: 1410.
- [18] Evans D F, Pye G, Bramley R, *et al.* *Gut*, 1988, **29**(8): 1035-1041.
- [19] Kokubo T, Takadama H. *Biomaterials*, 2006, **27**(15): 2907-2915.