

文章编号: 1000-324X(2005)01-0077-06

诺氟沙星明胶磁性微球的研制及表征

王彦卿, 张朝平

(贵州大学化学与生化学院化学系, 贵阳 550025)

摘 要: 利用明胶的生物相容性及戊二醛处理可使其固化的特性, 以 Fe_3O_4 作为磁性内核, 以液体石蜡为有机分散介质, 通过反相悬液冷冻凝聚法制备了强磁性的诺氟沙星明胶核壳微球, 用 IR、SEM、TEM、UV/Vis 等技术对微球进行了性能表征, 结果表明: 微球成球性好, 无粘连, 平均直径为 $5\sim 10\mu\text{m}$, Fe_3O_4 的含量为 19%, 明胶的含量为 74.3%, 微球载药率 (w/w) 为 6.2%, 药物包裹率为 61.4%, 5h 释放药物为 74.4%, 微球具有较好的缓释性。

关 键 词: 明胶; 诺氟沙星; 磁性微球; 控制释放

中图分类号: TM 277, TQ 174 **文献标识码:** A

1 引言

自 70 年代 Pilwat^[1] 及 Widder^[2] 等提出磁控靶向药物传递系统的概念以来, 磁性微球的研究一直是当前药物新型制剂最活跃的领域之一。它是将铁磁粒子和药物共同包入白蛋白, 明胶或其他高分子物质中制成微球, 该制剂注入组织后, 可在外磁场引导下, 磁性药物微球在发病部位较长时间滞留定位, 以发挥药物的最大功效和减少药物的副作用。已有较多文献报道关于脂溶性药物磁性微球的制备, 而在制备水溶性药物磁性微球的文献中, 多以壳聚糖^[3]、葡聚糖^[4]、白蛋白^[5] 作为载体, 以明胶作为载体少有报道。本文选用具有良好生物相容性的明胶作为载体, 以诺氟沙星为水溶性模型药物, Fe_3O_4 作为磁性内核, 采用反相悬液冷冻凝聚法, 制备了强磁性的诺氟沙星明胶微球, 并用 IR 和 SEM、TEM、UV/Vis 等技术对微球进行了性能表征。

2 实验

2.1 试剂与仪器

明胶 (上海生物工程有限公司); 诺氟沙星 (中国贵阳制药厂); 戊二醛 (中国医药集团上海化学试剂公司, BR)、 $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NH}_3\cdot \text{H}_2\text{O}$ 、Span-85、石油醚、乙醚均为分析纯试剂; 水为二次蒸馏水。

超声波振荡器 (SG2200HE 型, 上海冠特超声仪器有限责任公司); 离心机 (TGL-168 型, 上海安亭科学仪器厂); 透析袋 (美国); 真空干燥箱 (上海市实验仪器总厂); JEM-2000FX-II 型高分辨率透射电镜 (日本电子公司); KYKY-1000B 扫描电子显微镜 (中国科学院科学仪器

收稿日期: 2003-12-01, 收到修改稿日期: 2004-03-22

基金项目: 贵阳市科技开发基金 [2001(01)]; 贵州省教育厅科技基金 [2002(101)]

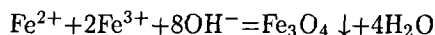
作者简介: 王彦卿 (1976-), 男, 硕士研究生。通讯联系人: 张朝平。E-mail: cpingzhang@163.com

厂); Vector 22 红外光度计 (Bruker 公司, 德国); 岛津 UV-265 紫外可见光谱仪 (岛津, 日本); Nikon MODEL ECLIPSE E-400 光镜 (日本).

2.2 实验步骤

2.2.1 Fe_3O_4 磁性微粒内核的制备^[6,7]

分别称取 0.01mol 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($n\text{Fe}^{2+}/n\text{Fe}^{3+}=1:1$) 置于 100mL 的锥形瓶中, 加入 50mL 的二次蒸馏水, 控制温度在 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 搅拌, 使 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 充分均匀混合、自然静置冷却、滤掉杂质部分. 然后控制温度 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、剧烈搅拌下向滤液中快速加入 8mL 浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 直至 Fe_3O_4 完全生成, 然后晶化 1h. 用蒸馏水洗涤, 过滤而得. 主体反应为:



2.2.2 诺氟沙星磁性明胶微球制备^[8]

取定量的上述制备出的 Fe_3O_4 微粉加入到 10mL 由 3%(w/w) 诺氟沙星, 25%(w/w) 明胶配成的水溶液中, 控制温度为 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、搅拌, 形成 A 液, 作为水相; 另在 100mL 的液体石蜡中加 2mL Span-85, 搅拌均匀, 配成 B 液, 作为油相; 再将 A 液缓慢匀速滴入 B 液中, 剧烈搅拌 10min, 形成 C 液, 将 C 液置于 4°C 的水浴中, 搅拌, 滴加 1mL 戊二醛, 固化 1h, 分别用石油醚、乙醚洗涤数次, 40°C 真空干燥, 无需粉碎即得药物微球. 改变诺氟沙星浓度为 2%(w/w), 保持其余条件不变, 重复实验, 得另一样品.

2.2.3 药物微球中载药率及包封率的测定

精密称取微球 10mg 溶于 10mL 0.1mol/L 的乙酸水溶液中, 超声波振荡 5min, 高速离心分离, 把上层清液过滤后用岛津 UV-265 紫外可见光谱仪在波长 272nm^[9] 下测其吸光度, 根据药物的标准吸收曲线的线性回归方程, 计算微球表面吸附药物的含量. 把离心后的残留物再次用 10mL 0.1mol/L 的乙酸水溶液溶解, 在 4°C 下密封保存 24h 后在波长 272nm 下测其吸光度, 计算微球内所包药物的含量. 用下式计算药物载药率及包裹率:

载药率 = (药物的质量 / 磁性明胶药物微球质量) $\times 100\%$; 包裹率 = (药物的质量 / 明胶微球中药物的理论质量) $\times 100\%$.

根据药物微球的 EDS 谱图中 Fe 原子的含量, 用 $\text{Fe}_3\text{O}_4 = 1.381 \times \text{Fe}$ 原子的含量, 换算出药物微球中 Fe_3O_4 的含量. 微球中明胶的含量为减去 Fe_3O_4 的含量和药物的含量所得.

2.2.4 药物微球的体外释放

采用动态透析法测定. 精密称取磁性明胶药物微球 50mg 置于透析袋内, 加入磷酸缓冲液 (pH=7.4) 5.0mL. 透析袋外为磷酸缓冲液 (pH=7.4) 250mL, 置于 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温水浴中, 磁力搅拌, 每隔 30min 取 10mL 磷酸缓冲液进行药物含量的测定, 每次取样后立即补给 10mL 磷酸缓冲液 (pH=7.4).

3 结果和讨论

3.1 Fe_3O_4 粒子的 TEM 形貌和诺氟沙星明胶核壳微球的 SEM 形貌

图 1 为 Fe_3O_4 粒子的 TEM 照片, 从图 1 看出 Fe_3O_4 粒子粒径分布窄, 大多在 20nm 以下, 且 Fe_3O_4 粒子的分散性好, 大部分微粒呈球状. 通过图 (2) 诺氟沙星明胶核壳微球的 SEM 形貌看出, Fe_3O_4 粒子、诺氟沙星已经被明胶复合成球体, 且成球性好, 大小均匀, 无粘连, 大部分在 $5 \sim 10\mu\text{m}$.

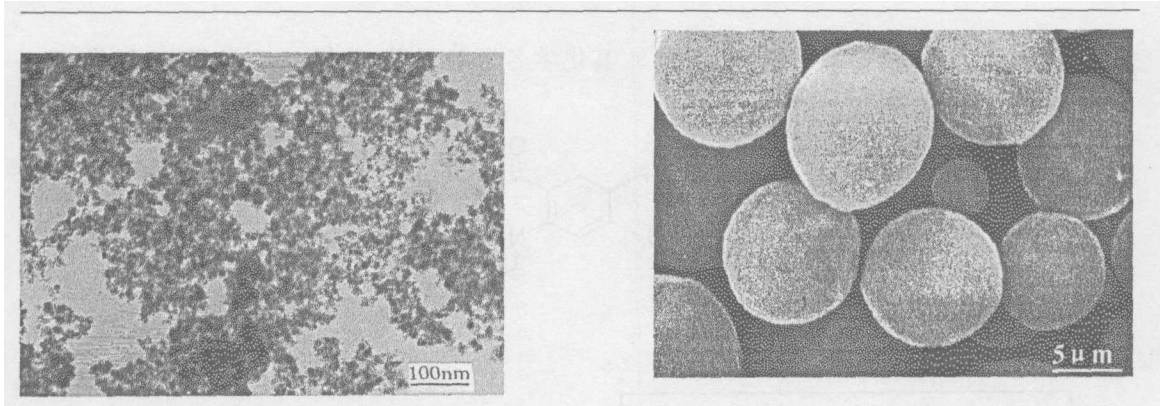
图 1 Fe_3O_4 粒子的 TEM 形貌Fig. 1 TEM image of Fe_3O_4 nanoparticles

图 2 诺氟沙星明胶核壳微球的 SEM 形貌

Fig. 2 SEM image of norfloxacin gelatin microspheres

3.2 诺氟沙星明胶核壳微球红外 (IR) 和 UV/Vis 光谱

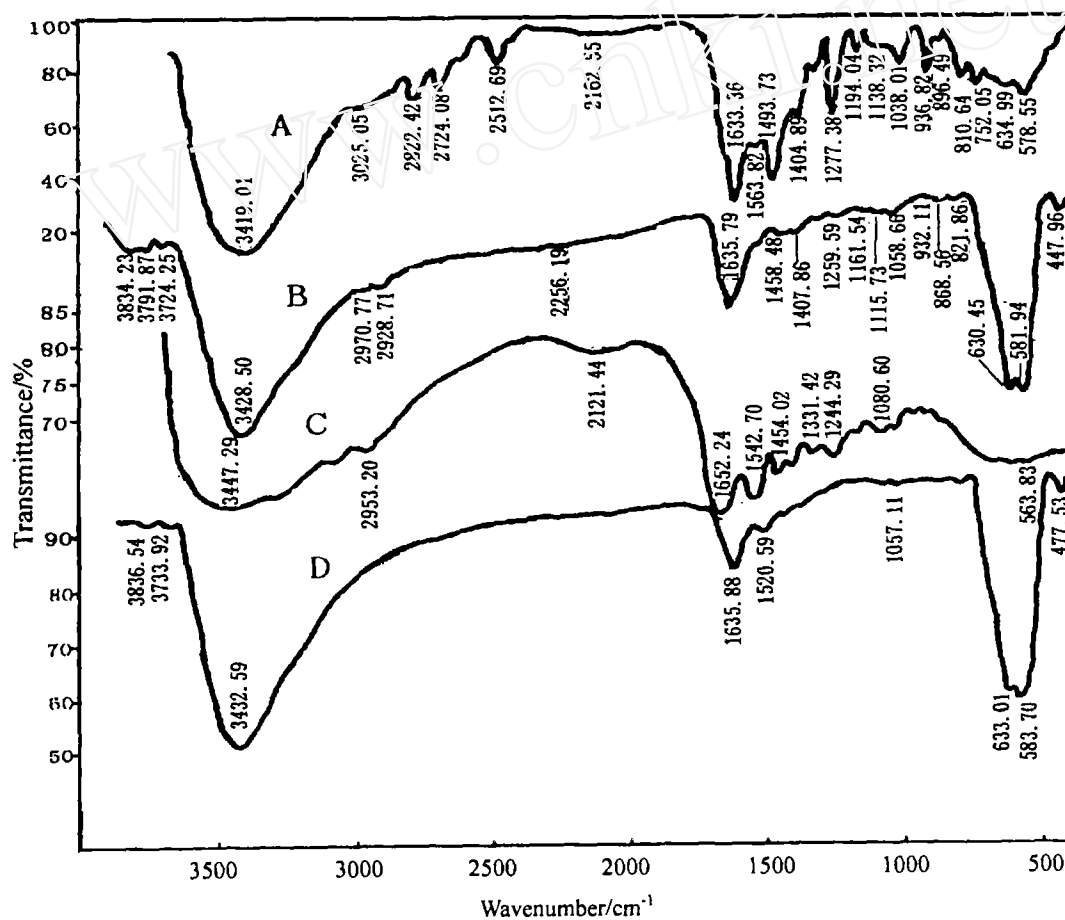
图 3 纯诺氟沙星 A、诺氟沙星明胶核壳磁性微球 B、纯明胶 C、纳米 Fe_3O_4 微粒 D 的红外光谱Fig. 3 IR spectra of norfloxacin (A), norfloxacin gelatin magnetic microspheres (B), gelatin (C), Fe_3O_4 nanoparticles

图 3A~D 分别为纯的诺氟沙星、诺氟沙星明胶核壳微球、纯明胶、纳米 Fe_3O_4 微粒在

4000~400 cm^{-1} 区域的 IR 光谱. 诺氟沙星其化学名为 1- 己基 -6- 氟 -1,4- 二氢 -4- 氧代 -7-(1- 哌嗪基)-3- 喹啉羧酸, 结构式如下:

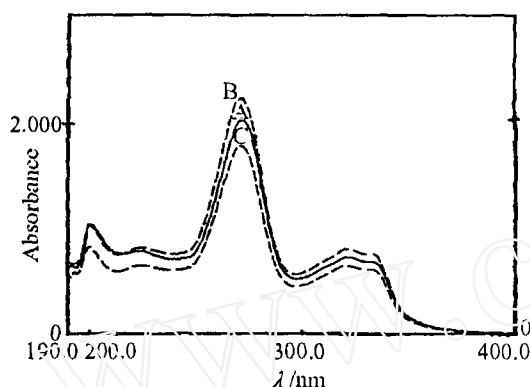
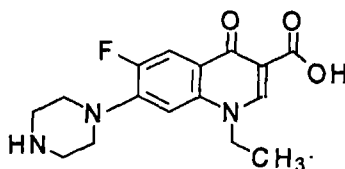


图 4 纯诺氟沙星 A 和诺氟沙星明胶核壳磁性微球 B、C 的 UV/Vis 光谱

Fig. 4 UV/Vis spectra of norfloxacin (A) and norfloxacin gelatin microspheres(B, C)

在 B 中找到与 A 相对应的诺氟沙星的大部分红外振动峰, 另外 B 中 2970.77 cm^{-1} 与 C 中明胶蛋白上 $\nu_a(\text{CH}_3)$ 伸缩振动相对应; 1458.48、1259.59 cm^{-1} 的谱带对应于 C 中明胶蛋白的酰胺 II 和酰胺 IV 伸缩振动. 同时 B 中诺氟沙星和明胶蛋白的部分振动峰发生拟合, 因而大部分的 IR 振动峰虽然存在, 但由于与 Fe_3O_4 微粒发生吸附作用, 对诺氟沙星和明胶的振动产生一定的束缚作用, 使二者的振动强度减弱, 峰值减小, 大多成为弱而宽的肩峰. 另外 B 中 630.45、581.81 和 447.91 cm^{-1} 的谱带与 D 中 Fe-O-Fe 的特征振动峰相对应^[10], 故而判断出 Fe_3O_4 粒子和诺氟沙星药物已经被包埋在明胶蛋白中, 形成磁性药物微球.

图 4 中 A 为纯诺氟沙星的紫外吸收光谱, B、C 分别为 3% 和 2%(w/w) 诺氟沙星制得的诺氟沙星磁性明胶微球的药物释放紫外吸收光谱, 可以看出, 微球中药物与纯药物比较, 吸收峰的位置没有发生改变, 说明微球中药物与明胶、 Fe_3O_4 并没有发生化学反应, 只是药物被包埋在明胶蛋白中, 药物一旦被释放出来, 它的吸收、代谢和排泄情况与原物完全一样, 生理作用也应完全相同.

3.3 药物微球载药率及包裹率

对诺氟沙星的浓度为 3%(w/w) 条件下制得的药物微球进行载药率及包裹率的测定. 根据诺氟沙星药物在 $\lambda=272\text{nm}$ 的标准曲线得线性回归方程: $A=0.0962571 C+0.0195714$, $R=0.999786$, 计算出 10mg 微球表面吸附药物为 381 μg , 内包药物为 239 μg , 微球载药率 (w/w) 为 6.2%, 微球包裹率为 61.4%, 其中表面吸附药物为 37.7%, 内包药物为 23.7%. Fe_3O_4 的含量为 19%, 明胶的含量为 74.8%. 一般认为微球中 Fe_3O_4 的含量在 20%~50% 为最佳, 微球的磁响应性较好^[11]. 有研究表明, 单个微球在磁场中受到的磁场吸引力与微球半径的三次方成正比, 所以微球半径的小幅增大, 即可大大提高它在磁场中受到的吸引力^[12]. 因此, 本文制得的微球与国内相关报道^[13] 比较, 制备方法更为简便, 粒径小, 成球性好, 包裹率高等优点.

3.4 药物微球的体外释放

对诺氟沙星的浓度为 3%(w/w) 条件下制得的药物微球进行了体外释放实验. 从图 5 中

看出微球中的药物在前 60min 内溶出较多, 约占总含药量的 58.6%, 这是因为药物由进入微球的溶剂溶解后, 经明胶包裹材料的空隙而扩散到介质中, 而微球表面吸附药物的溶解及扩散则形成释药的突释效应, 而后随着明胶材料的降解, 明胶分子缓慢伸展呈纤维状, 长时间维持球形作为 Fe_3O_4 和药物的骨架, 且分子间隙增宽, 使药物均匀缓慢的释放, 5h 内药物释放约占总含药量的 74.4%, 表明本研究制得的微球具有较好的缓释性. 取出释放 5h 后的药物微球, 用显微镜观察, 仍成球状, 说明微球结构较稳定. 图 6 为药物微球降解 240h 后的光镜照片, 微球的体系几乎完全崩解, 明胶分子已经完全伸展呈网络式纤维状, Fe_3O_4 粒子依然嵌在纤维状的明胶中, 而药物已经完全释放降解.

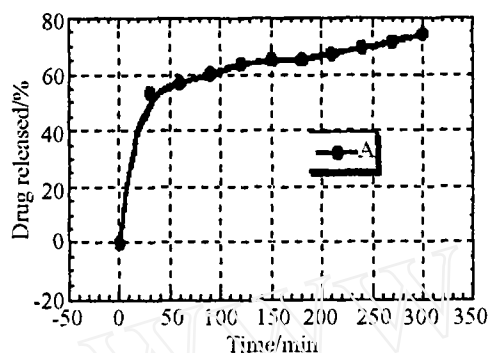


图 5 诺氟沙星明胶药物微球的体外释放曲线
Fig. 5 *In vitro* released profiles of norfloxacin drug from magnetic gelatin drug microspheres

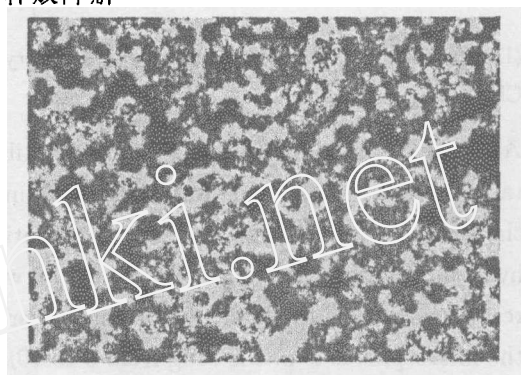


图 6 药物微球降解 240h 后的光镜照片
Fig. 6 Light microphotograph of magnetic gelatin drug microspheres taken after 240h degradation

4 结论

1. 运用共沉淀法制备的 Fe_3O_4 粒子的平均粒径在 20nm 以下, 而且分散性好, 大部分微粒都呈球状.

2. 使用反相悬液冷冻凝聚法制备的诺氟沙星磁性明胶微球, 制备方法简便, 粒径小, 大部分在 5~10 μm , 成球性好, 能够很好地把诺氟沙星和 Fe_3O_4 包埋在明胶蛋白之中, 药物与明胶、 Fe_3O_4 并没有发生化学作用, 药物微球具有较好的缓释性, 结构较稳定, 可用作为靶向给药和磁性控制给药.

参考文献

- [1] Gupta P K, Hung C T. *Life Sci* 1989, **44**: 175.
- [2] Widder K J, Senyei A E, Scarpelli D G. *Proc. Soc. EXP. Biol. Med.*, 1978, **58**: 141-146.
- [3] Emad E H, Roy C. Parish, *et al. Pharm. Res.*, 1992, **9** (3): 390-397.
- [4] James M, Gallo, Emad E H. *Pharm. Res.*, 1988, **5** (5): 300-304.
- [5] Sussan G, Turaj E, Seyed M F, *et al. Int. J. Pharm.*, 1996, **130**: 49-55.
- [6] 英廷照, 沈 辉, 等. 机械科学与技术, 1998, **17**: 147-148, 151.
- [7] 丁 明, 曾恒兴 (DING Ming, *et al.*). 无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials), 1998, **13** (4): 619-623.
- [8] Selma S, Handan S, Gilles P, *et al. J. Controlled Release.*, 2002, **82**: 345-358.
- [9] 韦平原, 曾 毅, 等. 中国药事, 2003, **17** (4): 238-239.
- [10] Shafi k.v.p.m, Wize s, Prozorov T, *et al. Thin Solid Film.*, 1998, **318**: 38.

- [11] Ranney D F, Huffaker H H. *J. Ann N Y. Acad Sci.*, 1987, **507**: 104-107.
[12] Driscoll C F, Morris R M, Senyei A E, *et al.* *J. Microvasc. Res.*, 1984, **27**: 353-355.
[13] 张 胜, 吴汉江, 等. 湖南医科大学学报, 2002, **28** (2): 191-193.

Preparation and Characterization of Magnetic Norfloxacin Gelatin Microspheres

WANG Yan-Qing, ZHANG Chao-Ping

(Department of Chemsitry, College of Chemistry and biochemistry, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Based on the biological compatibility of gelatin in water and its solidification by glutaraldehyde, the magnetic norfloxacin gelatin core-shell microspheres were prepared by means of the reverse phase suspension cold-condensation method using Fe_3O_4 as core and glutaric dialdehyde as dispersed medium. The products were characterized by IR, SEM, TEM, UV/Vis. The results show that the microspheres are spherical in shape with smooth surfaces. The diameter of the microspheres is in the rang from 5 to $10\mu\text{m}$, The content of drug in microspheres is 6.2% and of Fe_3O_4 is 19%. The drug encapsulation efficiency is 61.4%, the quantity of drug released from microspheres in 5 hours is 74.4%. The microspheres have good properties of drug sustain releasing.

Key words gelatin; norfloxacin; magnetic microsphere; controlled release