

低分子量半乳糖化脂肪酰壳聚糖的制备及其形成胶束的性质研究

石春勤^a, 王小明^a, 胡巧红^{a,b*}, 谢智林^a (广东药学院, a.药剂系; b.临床药理学系, 广州 510006)

摘要: 目的 制备具有主动肝靶向作用的低分子量半乳糖化脂肪酰壳聚糖聚合物胶束材料并进行结构表征, 对其形成的胶束特性进行研究。方法 以甲磺酸为溶剂及反应介质, 利用脂肪酰氯(棕榈酰氯及月桂酰氯)与壳聚糖的-OH 进行酰化反应制备具有不同碳链长度及取代度的脂肪酰壳聚糖, 再利用 EDC·HCl 活化乳糖酸, 与所得的脂肪酰壳聚糖的 2 位氨基反应制备半乳糖化脂肪酰壳聚糖。用红外光谱、¹H 核磁共振谱对其结构进行表征及取代度的计算, 并考察其溶解性能; 制备其聚合物胶束, 测定临界胶束浓度(CMC)和粒径。结果 壳聚糖脂肪酰化的反应条件为 20 °C、1 h, 半乳糖化反应的条件为 30 °C、24 h; 壳聚糖棕榈酰化及月桂酰化反应中酰氯/壳聚糖的合适摩尔比分别为 2:1~8:1、2:1~10:1。此条件下制得的脂肪酰壳聚糖及半乳糖化脂肪酰壳聚糖在二甲基亚砜(DMSO)中有较好的溶解性能; 红外光谱、¹H 核磁共振光谱结果表明, 成功合成了半乳糖化脂肪酰壳聚糖; 脂肪酰基的取代度范围为 0.28~1.13 mol, 胶束的 CMC 约为 $0.39 \times 10^{-2} \sim 2.82 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 粒径大小 119.8~546.0 nm。结论 成功制备低分子量半乳糖化脂肪酰壳聚糖聚合物胶束材料。相同碳链长度条件下, 脂肪酰氯与壳聚糖摩尔比越大, 脂肪酰基的取代度越大, 所得胶束的 CMC 及粒径越小; 相同脂肪酰氯与壳聚糖摩尔比时, 制得的半乳糖化脂肪酰壳聚糖的粒径小于脂肪酰壳聚糖的粒径。

关键词: 低分子量壳聚糖; 半乳糖化; 脂肪酰; 聚合物胶束; 取代度

中图分类号: R943.42

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)12-1101-07

Synthesis and Micelle-forming Properties of Low Molecular Weight Galactosylated Fatty Acyl Chitosan

SHI Chunqin^a, WANG Xiaoming^a, HU Qiaohong^{a,b*}, XIE Zhilin^a (Guangdong Pharmaceutical University, a. Department of Pharmaceutics; b. Department of Clinical Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To synthesis a series of low molecular weight galactosylated fatty acyl chitosan as novel polymeric micellar materials for hepatocyte-targeting, and characterize their structures and properties of polymeric micelles. **METHODS** Using methanesulfonic acid as reaction medium, fatty acyl chitosans (F-CTS) with different chain length and degree of substitution (DS) of fatty acyl group were synthesized by the reactions between hydroxyl groups of chitosan and fatty acyl chloride (palmitoyl chloride and lauroyl chloride). Galactosylated fatty acyl chitosans (GF-CTS) were synthesized by reactions of lactobionic acid and 2-amino of F-CTS under the activation of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC·HCl). The structure and DS were confirmed by IR and ¹H-NMR. The critical micellar concentration (CMC) of F-CTS and GF-CTS were determined, and the particle sizes of polymeric micelles formed were measured. **RESULTS** F-CTS was synthesized by reaction of chitosan and chloride at 20 °C for 1 hour. Then GF-CTS was synthesized by reaction of lactobionic acid and F-CTS at 30 °C for 24 hours. The appropriate molar ratio of palmitoyl chloride (or lauroyl chloride) to chitosan was in the range of 2:1~8:1 (or 2:1~10:1). DS of fatty acyl group ranged from 0.28 mol to 1.13 mol. GF-CTS and F-CTS were soluble in DMSO. The CMC and particle size of polymeric micelles formed were about $0.39 \times 10^{-2} \sim 2.82 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and 119.8~546.0 nm, respectively. **CONCLUSION** Galactosylated fatty acyl chitosans (GF-CTS) are successfully synthesized. The DS of fatty acyl group and micellar properties changed regularly with the aliphatic chain length and molar ratio of chloride to chitosan. With the increase of molar ratio, the DS of fatty acyl group increased, but the CMC and micelle size decreased. With same molar ratio, the micelle size of F-CTS is bigger than that of GF-CTS.

KEY WORDS: low molecular weight chitosan; galactosylated; fatty acyl; polymeric micelles; degree of substitution

聚合物胶束由于其巨大的优越性成为新型药物传递系统的研究热点^[1]。壳聚糖具有良好的生物

可降解性、生物相容性、无免疫活性等特点^[2], 近年来被广泛用于靶向药物传递系统^[3]。有研究通过

基金项目: 广东省科技计划项目(2009B030801346); 广东省自然科学基金项目(8151022401000021); 广东药学院师资队伍建设工程资助

作者简介: 石春勤, 女, 硕士生 Tel: (020)39352117 E-mail: chunqinshi@126.com *通信作者: 胡巧红, 女, 博士, 教授 Tel: (020)39352117 E-mail: hu_qiaohong@163.com

在壳聚糖分子上接入不同的疏水链,制备具有良好特性的聚合物胶束材料^[4-6]。但这些改性材料形成的聚合物胶束不具备主动靶向作用。亦有研究单独将具有主动靶向作用的半乳糖基^[7-10]接入壳聚糖分子中,成为肝靶向药物传递的载体^[11-12]。

作为一种优越的天然聚合物材料,在壳聚糖分子中同时接入疏水链及半乳糖基团,使之成为具有良好靶向性的聚合物胶束载体材料,对药物传递系统的发展有着巨大的意义。而改性后的壳聚糖胶束载体,亦会因分子结构中各个基团或链段比例等的不同,导致聚合物胶束的性能存在较大的差异,并由此影响聚合物胶束转运进入细胞内的能力,最终影响药物的疗效。因此,以上两者结合的研究以获得具有良好胶束性能的壳聚糖胶束载体材料显得尤为重要。

本研究同时在壳聚糖分子上引入不同碳链长度的脂肪酰基及肝靶向的半乳糖基团,制备具有肝主动靶向作用的聚合物胶束载体材料 N-半乳糖化-O-脂肪酰壳聚糖。考察脂肪酰化反应及半乳糖化反应的条件,并对其形成的胶束特性[如临界胶束浓度(CMC)、粒径等]与脂肪链长度、取代度的关系进行研究,为半乳糖化脂肪酰壳聚糖聚合物胶束的合理设计提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 试剂

壳聚糖(分子量 5.0×10^3 Da,脱乙酰度 85%,山东海得贝生物技术有限公司);棕榈酰氯(上海晶纯试剂有限公司,纯度:96%);月桂酰氯(上海晶纯试剂有限公司,纯度:98%);甲磺酸(上海晶纯试剂有限公司,纯度:99%);乳糖酸(兰溪市苏格生物技术有限公司,纯度:98%);1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC·HCl,上海共价化学科技有限公司,纯度:99%);苾(上海晶纯试剂有限公司,纯度:98%);其他试剂均为分析纯试剂。

1.2 仪器

TENSOR-3 型傅立叶变换红外光谱仪(德国 Bruker 公司);500 MHz 全数字化超导核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司);RF-5301 型荧光分光光度计(日本岛津公司);Nano-ZS90 粒度测定仪(英国 Malvern 公司);JEM-100CX II 透射电子显微镜(日本电子公司);LSB-5/40 低温冷却液循环泵(郑州长城科工贸有限公司);DF-II 集热式磁力搅拌器

(金坛市富华仪器有限公司);SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);KQ5200DB 台式数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);水浴锅(上海宜昌仪器有限公司)。

2 方法

2.1 脂肪酰壳聚糖(F-CTS)的合成

称取 1.0 g 壳聚糖,缓慢搅拌溶于 25 mL 甲磺酸中,转移至 250 mL 三颈瓶中,搭好装置,加入一定量的酰氯,不同温度下反应 1 h,反应完成后加入过量的蒸馏水,与未发生反应的酰氯反应,生成脂肪酸,加入 25 mL 氨水使已成磺酸盐的氨基脱保护,过滤,用过量的丙酮回流以除去脂肪酸,抽滤,滤渣用丙酮淋洗 3 遍,干燥 12 h 即得 F-CTS。

2.2 半乳糖化脂肪酰壳聚糖(GF-CTS)的合成

将 0.8 g 乳糖酸及 0.8 g EDC·HCl 溶于 20 mL DMSO 中,得无色透明溶液(A)。于 100 mL 三颈瓶中,将 0.4 g F-CTS 溶于 20 mL DMSO 中,加入溶液 A,在不同温度下反应 24 h,反应液用蒸馏水透析 24 h,冷冻干燥,即得 GF-CTS。

2.3 结构表征

2.3.1 红外光谱表征 以 KBr 压片法制备样品,称取 0.1 g KBr 研磨均匀,加入微量样品混合均匀,压片,以 KBr 空白片为背景,在红外光谱仪上扫描,获得各种壳聚糖衍生物的红外图谱。

2.3.2 核磁共振表征 将 10 mg 样品溶于 0.5 mL 氘代试剂,用 500 MHz 全数字化超导核磁共振谱仪测定(室温,扫描次数:32),得 ^1H -NMR 图谱。

2.4 溶解性能的测定

取上述制得的各种 F-CTS 或 GF-CTS 各 0.4 g,分别置于 50 mL 锥形瓶中,加入 20 mL DMSO、氯仿或蒸馏水,室温震荡 20 min,观察其溶解情况。

2.5 胶束的制备

称取 0.2 g F-CTS 粉末溶于 20 mL DMSO 中,装入透析袋(截留分子量 1 000 Da)中,用蒸馏水透析 24 h,其中 1, 3, 5, 7, 9 h 各换水 1 次,透析液置于 100 mL 量瓶中,蒸馏水定容,摇匀,得 F-CTS 胶束母液。

将半乳糖化反应产物的溶液装入透析袋(截留分子量 1 000 Da)中,用蒸馏水透析 24 h,其中 1, 3, 5, 7, 9 h 各换水 1 次,透析液置于 250 mL 量瓶中,蒸馏水定容,摇匀,得 GF-CTS 胶束母液。取 10 mL 该胶束溶液冷冻干燥,计算母液浓度。

2.6 胶束性质测定

2.6.1 CMC 的测定 采用稳态荧光苾探针法测定聚合物的 CMC^[13]。称取 3 mg 苾于 100 mL 量瓶中, 加丙酮溶解并定容, 摇匀, 分别移取 0.01 mL 丙酮苾溶液于 10 mL 量瓶, 在 N₂ 流下低速挥干丙酮。取胶束母液, 用二次蒸馏水稀释成一系列浓度的溶液, 分别加入上述含微量苾的量瓶中, 超声处理 30 min, 60 ℃ 水浴 3 h, 放置过夜后分别测定各溶液的荧光光谱, 记录 373, 384 nm 处的荧光强度。荧光光谱条件为: 激发波长 342.0 nm, 扫描范围为 360.0~400.0 nm, 狭缝宽度为 EX 10.0 nm、EM 3.0 nm, 扫描速度为最大。

2.6.2 胶束粒径的测定 以上述各种胶束母液配制 0.1% 胶束溶液, 从中取出约 1 mL 于比色皿中, 采用粒度测定仪测定其粒径大小及分布。

2.6.3 胶束形态的观察 制备半乳糖化棕榈酰壳聚糖(P-CTS)空白胶束, 取适量该溶液样品, 加重

蒸水稀释, 利用磷钨酸负染法, 取一滴胶束溶液滴在铜网上, 1~2 min 后用滤纸条吸去残余液体, 再滴加一滴磷钨酸溶液, 30 s 后吸干多余染液, 置透射电子显微镜下观察胶束的形态。

3 结果与讨论

3.1 F-CTS 及 GF-CTS 的合成

以甲磺酸作为溶剂及催化剂, 在壳聚糖中加入甲磺酸后, 甲磺酸与壳聚糖分子中的氨基生成磺酸盐而被保护, 酰氯加入后, 酰化反应只发生在壳聚糖 3,6-OH 上, 得到 3,6-OH 取代的脂肪酰化壳聚糖, 为半乳糖化反应提供氨基反应位点。脂肪酰化反应结束后, 在反应体系中加入碱性的氨水与磺酸盐反应, 使 F-CTS 的 2 位氨基脱保护, 为半乳糖化反应做准备。以碳二亚胺类的 EDC 为催化剂, 利用乳糖酸中的羧酸与 F-CTS 的氨基缩合反应, 将半乳糖基接枝到 F-CTS 分子中。反应路线见图 1。

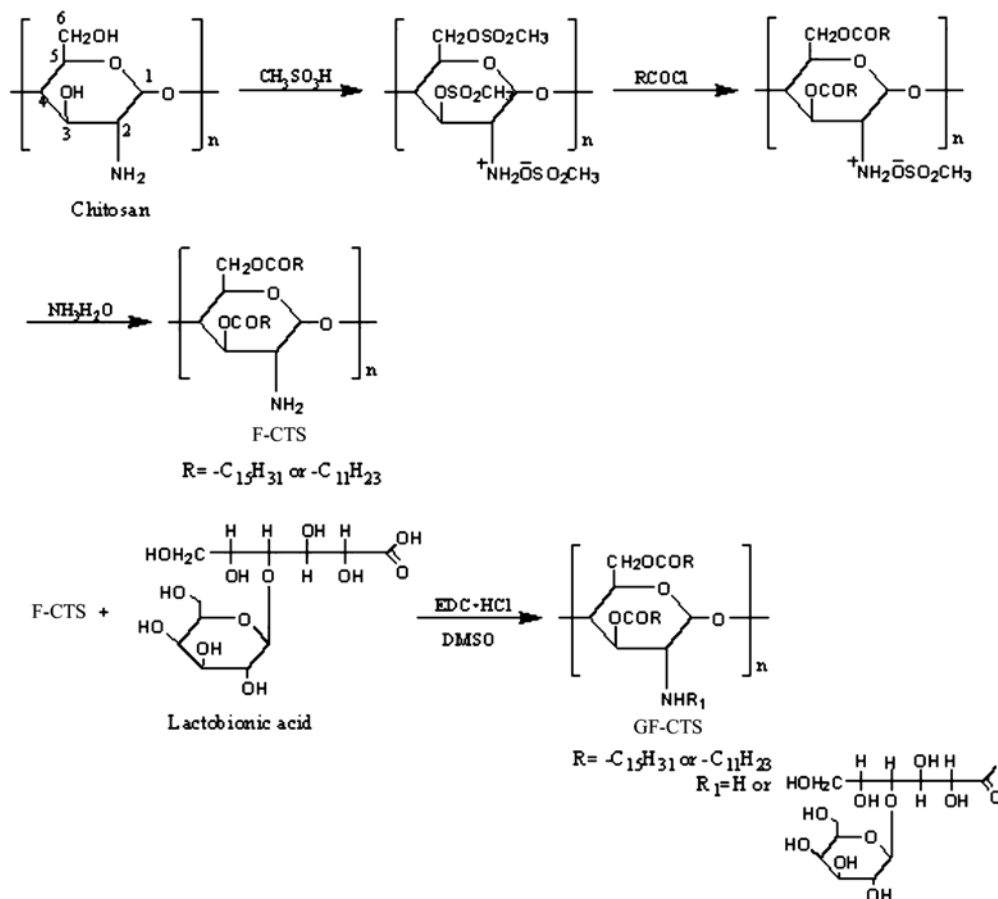


图 1 半乳糖化脂肪酰壳聚糖的反应过程

Fig 1 Reaction process of GF-CTS

F-CTS 制备中, 考察了酰氯碳链长度和反应温度对产物 F-CTS 溶解性能的影响; GF-CTS 制备

中, 考察了反应温度(30 ℃或 50 ℃)对 GF-CTS 溶解性能的影响, 结果见表 1。

表 1 F-CTS 及 GF-CTS 制备条件的筛选

Tab 1 Preparation conditions of F-CTS and GF-CTS

酰氯	酰氯/CTS 比例	酰化反应 温度/℃	F-CTS 溶解性能	GF-CTS 溶解性能	
				30 ℃	50 ℃
棕榈酰氯	6 : 1	15	—	—	—
	6 : 1	25	—	—	—
	6 : 1	10	—	—	—
	6 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	8 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	2 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	10 : 1	20	DMSO	DMSO	—
月桂酰氯	7 : 1	15	—	—	—
	7 : 1	25	—	—	—
	7 : 1	10	—	—	—
	7 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	2 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	8 : 1	20	DMSO	DMSO	—
	10 : 1	20	DMSO	DMSO	—

注：“—”代表不溶于氯仿、DMSO 及水

Note: “—” represents insoluble in CHCl₃, DMSO and H₂O

由结果可知, 对于棕榈酰氯及月桂酰氯与壳聚糖的酰化反应, 反应温度为 20 ℃ 时所得的产物 F-CTS 可溶于 DMSO 中, 其余温度下反应所得的 F-CTS 均不溶于氯仿、DMSO 及水。对于半乳糖化反应, 反应温度为 50 ℃ 时, 反应过程中有大量固体析出, 且所得产物 GF-CTS 不溶于氯仿、DMSO 及水; 而反应温度为 30 ℃ 时, 反应结束后体系仍澄清, 说明此温度所得的 GF-CTS 在 DMSO 中具有良好的溶解性能。棕榈酰氯与壳聚糖摩尔比为 2 : 1~8 : 1 时, 反应得到的棕榈酰壳聚糖(P-CTS)及半乳糖化棕榈酰壳聚糖(GP-CTS)在 DMSO 中溶解性较好; 月桂酰氯与壳聚糖摩尔比为 2 : 1~10 : 1 时, 反应得到的月桂酰壳聚糖(L-CTS)及半乳糖化月桂酰壳聚糖(GL-CTS)在 DMSO 中溶解性较好, 此为合适的摩尔比范围。

3.2 结构表征

3.2.1 红外光谱 壳聚糖、P-CTS、GP-CTS 的红外光谱图见图 2。壳聚糖图谱中, 3 378 cm⁻¹ 附近出现—OH 的强宽峰。与壳聚糖相比, P-CTS、GP-CTS 图谱中, 随着—OH 被取代, 原本宽而强的羟基峰减弱, 新出现的 2 926 cm⁻¹、2 856 cm⁻¹ 处为饱和 C-H 伸缩振动吸收峰, 1 744 cm⁻¹ 处为酯羰基的伸缩振动吸收峰, 1 402 cm⁻¹ 代表饱和 C-H 的面内弯曲振动, 721 cm⁻¹ 处为长链亚甲基的相关吸收峰, 证明脂肪酰基成功接枝至壳聚糖分子中^[12,14]。L-CTS 及 GL-CTS 的红外光谱见图 3, 结果证明脂肪酰基成功接枝至壳聚糖分子中。

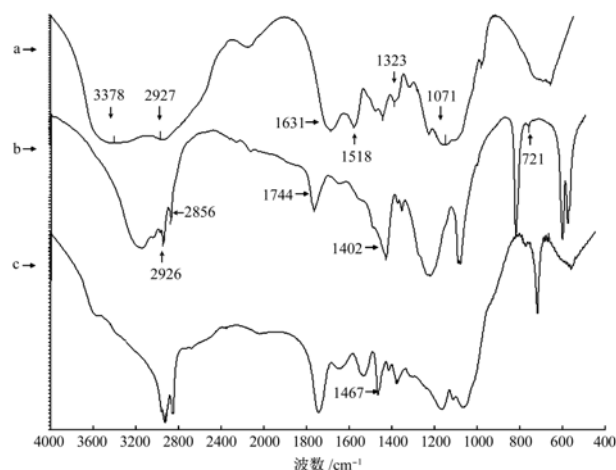


图 2 壳聚糖(a)、P-CTS(b, 棕榈酰氯/壳聚糖=2 : 1)、GP-CTS(c, 棕榈酰氯/壳聚糖=2 : 1)的红外光谱图

Fig 2 FT-IR spectra of chitosan (a); P-CTS (b, palmitoyl chloride/chitosan=2 : 1) and GP-CTS(c, palmitoyl chloride/chitosan=2 : 1)

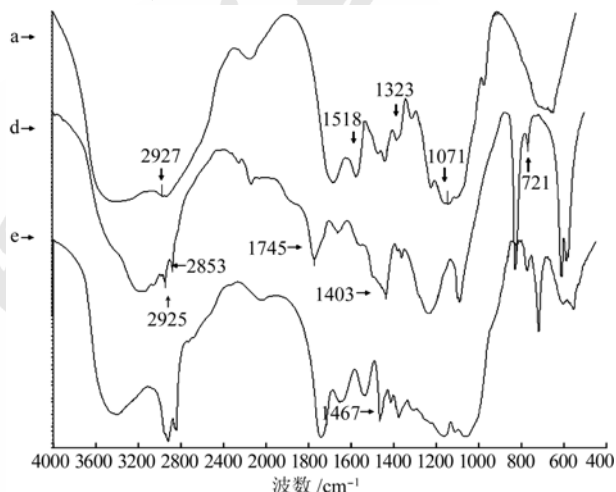


图 3 壳聚糖(a)、L-CTS(d, 月桂酰氯/壳聚糖=2 : 1)、GL-CTS(e, 月桂酰氯/壳聚糖=2 : 1)的红外光谱图

Fig 3 FT-IR spectra of chitosan (a); -CTS(d, lauroyl chloride/chitosan=2 : 1) and GL-CTS(e, lauroyl chloride/chitosan=2 : 1)

3.2.2 核磁共振谱 乳糖酸及棕榈酰氯的 ¹H-NMR 图谱见图 4 和图 5。壳聚糖、P-CTS、GP-CTS 的 ¹H-NMR 图谱见图 6。与壳聚糖原料的核磁图谱相比, P-CTS 在 δ=0.88, 1.2~1.7, 2.4 处出现新的吸收峰, 分别对应棕榈酰基的—CH₃、—CH₂、—CH₂C=O; δ=2.8~5.5 处的宽吸收峰归属于糖链 1~6 位的—CH, 与壳聚糖在 δ=2.8~5.0 处的吸收峰相比, 由于接枝的脂肪酰基含有较多的 H, 使脂肪酰壳聚糖在该处的吸收峰强度明显减弱, 与文献报道的结果一致^[15]。L-CTS 的 ¹H-NMR 也有类似现象。根据 ¹H-NMR 中糖链 1~6 位的—CH 中 H 的积分面积总和及—CH₃ 中 H 的积分面积, 可

求得脂肪酰基的取代摩尔数。

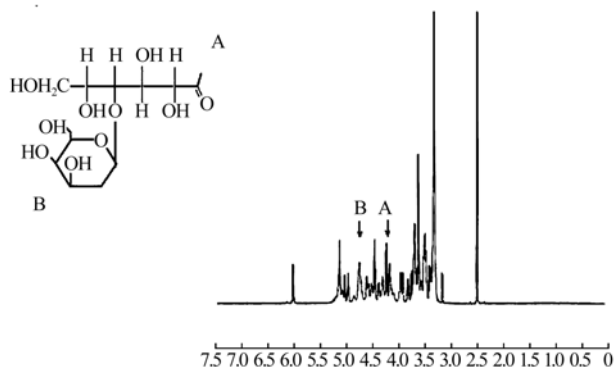


图 4 乳糖酸的 ^1H -NMR 图谱

Fig 4 ^1H -NMR spectra of LA

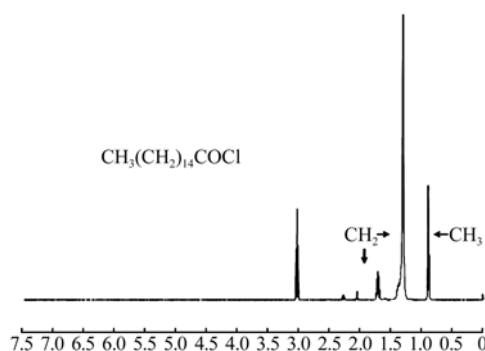


图 5 棕榈酰氯的 ^1H -NMR 图谱

Fig 5 ^1H -NMR spectra of palmitoyl chloride

表 2 F-CTS、GF-CTS 及其胶束性质

Tab 2 Properties of F-CTS, GF-CTS and micelles formed

酰氯/壳聚糖摩尔比		月桂酰氯：壳聚糖			棕榈酰氯：壳聚糖		
		2 : 1	3 : 1	5 : 1	2 : 1	3 : 1	4 : 1
		L-CTS			P-CTS		
F-CTS	溶剂	DMSO	+	+	+	+	+
	脂肪酰基取代度/mol	0.28	0.686	0.701	0.285	0.901	1.31
	CMC/mg·mL ⁻¹	1.00×10 ⁻²	0.60×10 ⁻²	0.39×10 ⁻²	1.37×10 ⁻²	0.62×10 ⁻²	0.54×10 ⁻²
	粒径/nm	546.0	325.9	268.0	199.6	151.3	149.4
		GL-CTS			GP-CTS		
GF-CTS	溶剂	DMSO	+	+	+	+	+
	CMC/mg·mL ⁻¹	2.82×10 ⁻²	0.68×10 ⁻²	1.25×10 ⁻²	1.39×10 ⁻²	0.78×10 ⁻²	0.58×10 ⁻²
	粒径/nm	398.2	157.8	206.9	150.3	119.8	135.7

3.4 胶束性质测定

3.4.1 临界胶束浓度的测定

芘是一种疏水性探针，其在水中的溶解性极小(2~3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。芘溶液荧光发射光谱有 5 个荧光峰，在溶剂环境变化的条件下，第 3 荧光峰(I_{384})的荧光强度变化最大，结果见图 7，因此，常用 I_1/I_3 (即 I_{373}/I_{384})的比值变化来考察溶剂环境的变

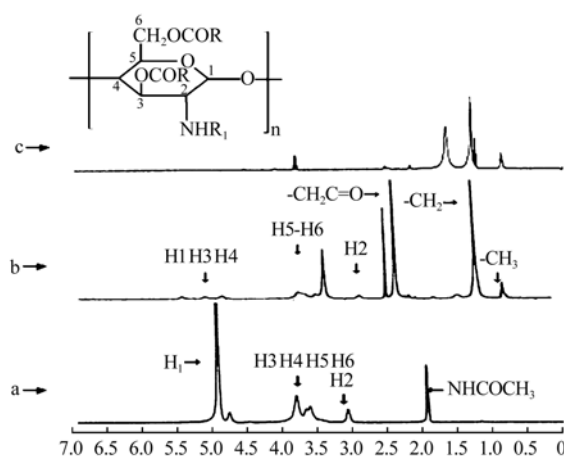


图 6 壳聚糖(a)、P-CTS(b, 棕榈酰氯/壳聚糖=2 : 1)、GP-CTS(c, 棕榈酰氯/壳聚糖=2 : 1) ^1H -NMR 图谱

Fig 6 ^1H -NMR spectra of chitosan(a), P-CTS (b, chloride/chitosan=2 : 1), GP-CTS (c, chloride/chitosan=2 : 1)

3.3 溶解性能测定

由溶解性能测定结果可知，F-CTS 及 GF-CTS 在 DMSO 中溶解性能较好，且随着酰氯与壳聚糖摩尔比的减少逐渐提高，表明较少的疏水链接枝到壳聚糖分子中，所得的 F-CTS 及 GF-CTS 极性较大，与由 ^1H -NMR 计算所得脂肪酰基取代度结果一致，结果见表 2。

化^[16]。在较低浓度时，体系中没有形成胶束，聚合物以分子状态存在溶液中，此时， I_1/I_3 保持不变。随着聚合物浓度的增加，当达到 CMC 后，芘溶解在聚合物胶束的内部疏水核中，其 I_1/I_3 值减小。以 I_{373}/I_{384} 对 F-CTS 或 GF-CTS 溶液浓度的对数($\lg C$)作图，由 2 条直线的交点可算出聚合物的 CMC，结果见图 8 和表 2。

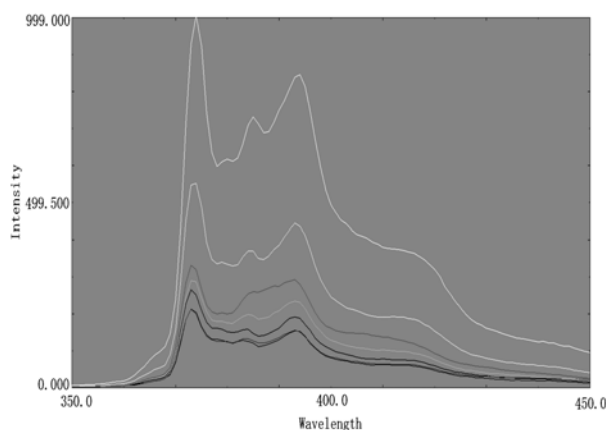


图 7 GP-CTS(棕榈酰氯/壳聚糖=2:1)胶束荧光光谱图

Fig 7 Fluorescence spectrogram of GP-CTS (chloride/chitosan=2:1) polymeric micelles

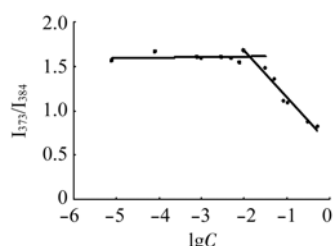


图 8 GP-CTS(棕榈酰氯/壳聚糖=2:1)胶束荧光光谱的 I_{373}/I_{384} -lgC 图

Fig 8 Plot of I_{373}/I_{384} from emission of pyrene as a function of lgC of GP-CTS (chloride/chitosan=2:1) micelles solution in distilled water

3.4.2 胶束粒径的测定 GP-CTS 胶束粒径分布见图 9, 粒径为 150.3 nm。一般认为, 纳米载体粒径在 50~150 nm, 才能通过 EPR 效应穿透肿瘤部位的毛细血管进入肿瘤组织, 蓄积在肿瘤部位。本实验选用的载体材料壳聚糖的分子量较小, 制得的胶束粒径较多大于 150 nm。由于肿瘤血管的孔径为 100~780 nm^[17], 因此, 胶束仍可以透过肿瘤血管壁进入并滞留在肿瘤部位。此外, 由于半乳糖基的接入, 胶束具备主动肝靶向作用, 也使其能够达到肝细胞部位, 此部分研究工作有待继续。

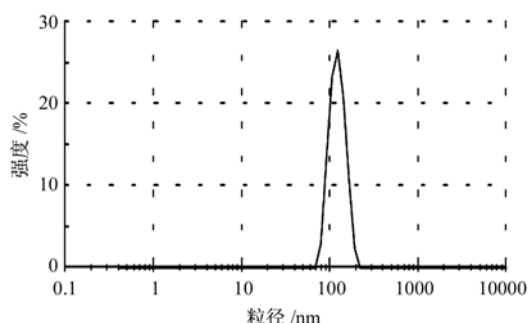


图 9 GP-CTS(棕榈酰氯/壳聚糖=2:1)胶束粒径分布图

Fig 9 Particle size and distribution of GP-CTS (chloride/chitosan=2:1) polymeric micelles

3.4.3 外观形态观察 GP-CTS 胶束的透射电镜图见图 10, 由结果可知, 制得的胶束为球形或类球形, 大小较均匀。

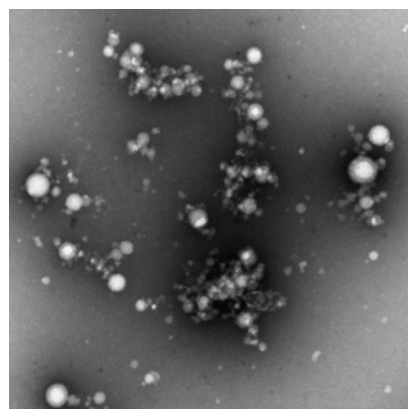


图 10 GP-CTS 胶束的透射电镜图

Fig 10 TEM micrograph of GP-CTS micelles

4 结论

GF-CTS 不仅具有良好的生物相容性及可降解性、含有肝主动靶向作用的半乳糖基, 而且可以通过调节脂肪酰基的碳链长度或取代度, 得到具有良好胶束性能及载药能力的聚合物胶束材料, 成为一种具有巨大发展潜力的主动肝靶向载体材料。在本研究中, 随着酰氯与壳聚糖摩尔比的下降, 所得到的 F-CTS 和 GF-CTS 的极性增大, 在二甲基亚砷中的溶解越好。随着脂肪酰氯/壳聚糖摩尔比的增加, 脂肪酰基取代度增加, 形成的脂肪酰壳聚糖胶束的 CMC 及粒径减小。脂肪酰氯/壳聚糖摩尔比相同的条件下, GF-CTS 胶束的粒径小于 F-CTS 胶束的粒径。这些研究可为选择、设计具有良好胶束性质及载药能力的聚合物胶束材料提供参考。

REFERENCES

- [1] ZHANG X J, WANG D K, HAN X. Progress of polymeric micelles as drug delivery carriers [J]. Chin J Pharm(中国药理学杂志), 2009, 7(3): 177-183.
- [2] CHEN R, WANG Y S, YANG X Y. The *in vitro* study of lactosylated chitosan based self-assembled nanoparticles as a drug carrier system [J]. J Functional Materials (功能材料), 2011, 42(1): 59-62.
- [3] HUANG W, WANG P, WANG W, et al. Preparation of glycyrrhetic acid-modified PEG-PLGA nanoparticles and the affinity evaluation on hepatoma cells [J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 2011, 32(2): 416-420.
- [4] ZHANG C, DING Y, PING Q N. Synthesis and characterization of a novel amphiphilic N-octyl-N-pegylated chitosan derivative [J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 2005, 36(3): 201-204.

- [5] QU G W, YAO Z, ZHANG C, et al. PEG conjugated N-octyl-O-sulfate chitosan micelles for delivery of paclitaxel: *In vitro* characterization and in vivo evaluation [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 37(2): 98-105.
- [6] LIU C, XIN M H, LI M C, et al. Preparation of fully hydrophobic acylated chitosan and effect of reaction conditions [J]. *Chin J Pharm(中国医药工业杂志)*, 2005, 36(2): 76-78
- [7] KIM T H, PARK I K, NAH J W, et al. Galactosylated chitosan/DNA nanoparticles prepared using water-soluble chitosan as a gene carrier [J]. *Biomaterials*, 2004, 25 (17): 3783-3792.
- [8] FENG Z Q, CHU X H, HUANG N P, et al. The effect of nanofibrous galactosylated chitosan scaffolds on the formation of rat primary hepatocyte aggregates and the maintenance of liver function [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(14): 2753-2763.
- [9] WU D Q, LU B, CHANG C, et al. Galactosylated fluorescent labeled micelles as a liver targeting drug carrier [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(7): 1363-1371.
- [10] YANG W, MOU T, ZHANG X, et al. Synthesis and biological evaluation of 99mTc-DMP-NGA as a novel hepatic asialoglycoprotein receptor imaging agent [J]. *Appl Radiat Isotopes*, 2010, 68(1): 105-109.
- [11] ZHANG C, CHENG Y, QU G W, et al. Preparation and characterization of galactosylated chitosan coated BSA microspheres containing 5-fluorouracil [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 72(3): 390-397.
- [12] SONG B F, ZHANG W, PENG R, et al. Synthesis and cell activity of novel galactosylated chitosan as a gene carrier [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2009, 70(2): 181-186.
- [13] WANG Y S, WANG Y M, LI R S, et al. Chitosan-based self-assembled nanomicelles as a novel carrier for paclitaxel [J]. *Chem J Chin Univ(高等学校化学学报)*, 2008, 29(5): 1065-1069.
- [14] MA G P, YANG D Z, KENNEDY J F, et al. Synthesize and characterization of organic-soluble acylated chitosan [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 75 (3): 390-394.
- [15] ZHANG C, PING Q N, DING Y, et al. Synthesis, characterization, and microsphere formation of galactosylated chitosan [J]. *J Appl Polym Sci*, 2004, 91: 659-665.
- [16] HSIUE G H, WANG C H, LO C L, et al. Environmental-sensitive micelles based on poly(2-ethyl-2oxazoline)-b-poly (L-lactide) diblock copolymer for application in drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2006, 317(1): 69-75.
- [17] MARCUCCI F, LEFOULON F. Active targeting with particulate drug carries in tumor therapy: fundamentals and recent progress [J]. *Drug discover Today*, 2004, 9(5): 219-228.

收稿日期: 2012-01-10

星点设计-效应面法优化普萘洛尔传递体的处方工艺

肖寒露¹, 何超芹¹, 陈军^{1*}, 李俊², 杨涛², 方芸³ (1.南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2.南京医科大学附属南京妇幼保健院, 南京 210004; 3.南京大学医学院附属鼓楼医院, 南京 210008)

摘要: 目的 应用星点设计-效应面法优化普萘洛尔传递体的处方工艺。方法 采用硫酸铵梯度法制备普萘洛尔传递体。将药物/磷脂摩尔比、Span-80/磷脂摩尔比、探头超声时间作为考察因素, 以包封率、载药量、平均粒径及变形性指数为效应指标, 求算总评“归一值”并采用 Design-Expert 8.0 软件进行效应面法优化, 确定最佳处方工艺并进行验证。结果 确定最优制备工艺为: 药物/磷脂摩尔比 19.83%、Span-80/磷脂摩尔比 21.08%、探头超声时间 10.29 min, 以该处方工艺制备所得传递体的包封率、载药量、平均粒径及变形性指数分别为 76.63%, 4.80%, 52.82 nm, 20.83, 且实测值与预测值的偏差均较小。结论 星点设计-效应面法适用于普萘洛尔传递体的处方工艺优化, 优化所得处方工艺稳定、可行。

关键词: 普萘洛尔; 传递体; Span-80; 星点设计; 效应面

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)12-1107-06

Study on the Optimal Formulation and Preparation Conditions of Propranolol-loaded Transfersomes by Central Composite Design and Response Surface Method

XIAO Hanlu¹, HE Chaoqin¹, CHEN Jun^{1*}, LI Jun², YANG Tao², FANG Yun³ (1. Department of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210004, China; 3. The Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the formulation and preparation of propranolol-loaded transfersomes by central composite design and response surface method. **METHODS** Transfersomes were prepared using the ammonium sulfate

基金项目: 南京医科大学科技发展基金重点项目(2010NJMUZ10)

作者简介: 肖寒露, 男, 硕士生 Tel: 15850539325 E-mail: xiaohanlu1987@126.com *通信作者: 陈军, 男, 博士, 副教授 Tel: (025)85811050 E-mail: chenjun75@163.com