

壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的 制备及体外释放研究

甄洪鹏 杨冬芝 郭爽 聂俊*
(北京化工大学材料科学与工程学院, 北京 100029)

摘要: 以静电纺丝法制备了具有抗菌性能的壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布,测定了共混无纺布的力学性能,通过红外光谱(FT-IR)、X-射线衍射(XRD)和扫描电子显微镜(SEM)对其结构性能进行了表征,选出了载药量较大、力学性能较好(壳聚糖/聚乙烯醇质量比为7,氧氟沙星质量分数为4%)的共混无纺布,在不同pH值的缓冲溶液中对其进行了体外药物释放实验。结果表明,所得的无纺布纤维直径均匀,平均为200 nm。聚乙烯醇可以改善氧氟沙星/壳聚糖/聚乙烯醇共混无纺布的力学性能;氧氟沙星在壳聚糖/聚乙烯醇共混膜中有良好的相容性;氧氟沙星在pH为7.40的缓冲溶液中达到释放平衡时需要6 h。

关键词: 电纺丝;壳聚糖;聚乙烯醇;氧氟沙星;无纺布

中图分类号: O636.9

引言

电纺丝是一种借助外加高压电场形成连续纤维的加工技术。通过调节电纺丝的工艺参数,可制备出具有很高比表面积和孔隙率的纳米级纤维,该纳米纤维可用在生物材料、传感器、功能纳米管等领域^[1]。目前对该领域的研究主要集中在电纺丝过程的理论模型、电纺丝的工艺参数对纤维形貌的影响、电纺丝纤维在生物医药和组织工程等领域中的应用等方面^[2]。几种生物大分子(如DNA、蚕丝蛋白、胶原、纤维蛋白原、明胶和透明质酸等)溶解在三氟乙醇、六氟异丙醇和甲酸等溶剂中后可通过电纺丝法制成纳米纤维^[3],但由于生物大分子在大部分有机溶剂中难溶解,溶液具有聚电解质特性以及分子成三维网络结构产生很强的分子内及分子间氢键,因而生物大分子成纤的难度较大^[2]。

壳聚糖(chitosan, CS)是一种丰富的天然碱性多糖,是自然界仅次于纤维素的第2大生物资源,具有良好的生物相容性、生物可降解性、人体亲合性、抗菌、止血和促进伤口愈合等优异性能。壳聚糖纳米纤维膜在皮肤敷料、止血材料、组织工程支架及药

物释放等领域有广泛的应用前景^[4]。聚乙烯醇(PVA)是一种具有生物可降解性和生物亲和性的水溶性高分子,对人体无毒害,是一种良好的生物医用材料。鉴于纯壳聚糖纤维的机械性能较差,作为医用纤维的应用受到限制,因而本文采用聚乙烯醇与壳聚糖共混。由于2种分子间的氢键作用及良好的相容性,将二者溶液共混制备电纺纤维,可望达到2种材料生理功效协同增效且使纤维的机械性能得到改善^[2]。

氧氟沙星(ofloxacin, OFX)是第3代氟喹诺酮类抗菌药,具有抗菌谱广、高效、低毒的特点,通过作用于细菌DNA螺旋酶的A亚单位,抑制DNA的合成和复制而导致细菌死亡,主要用于治疗敏感菌所引起的生殖、呼吸、消化系统、骨和关节、皮肤软组织等急慢性细菌感染,也可用于伤寒、败血症等病人的治疗。近年来,壳聚糖和氧氟沙星在研究药物控制释放体系中的应用,一直是医学领域研究的热点。Peng^[5]和沈宏亮^[6]等人均以氧氟沙星为模型药物,分别研究了用戊二醛交联和乳化交联壳聚糖载药微球的体外缓释行为。

本文采用电纺丝法制备壳聚糖/聚乙烯醇共混无纺布为药物载体,制备具有抗菌性能的氧氟沙星/壳聚糖/聚乙烯醇共混无纺布,并在不同pH值的缓冲液中进行体外药物释放研究。所得无纺布纤维直径均匀,氧氟沙星在壳聚糖/聚乙烯醇共混膜

收稿日期: 2006-06-15

第一作者: 男, 1981年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: niejun@mail.buct.edu.cn

中有良好的分散性。该无纺布有较好的缓释性能,有望作为伤口敷料和止血材料。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

壳聚糖,黏均分子量为 1.2×10^5 ,脱乙酰度 82.5%,浙江金壳生物化学有限公司;聚乙烯醇 JP-33,聚合度 3500,醇解度 88%,日本可乐丽公司;氧氟沙星, (±)-9-氟-2,3-二氢-3-甲基-10-(4-甲基-1-哌嗪基)-7-氧代-7H-吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噻-6-羧酸, 昆山双鹤药业有限公司,产品批号 0507232。其他试剂为分析纯。

Instron 1185 型万能材料试验机,美国 Instron 公司; Nicolet-5700 型红外光谱仪,美国 Thermo 公司; D/Max2500 VB2+/PC 型 X-射线衍射仪,日本 Rigaku 公司; S-4500 型扫描电子显微镜,日本 Hitachi 公司; U-3010 型紫外分光光度计,日本 Hitachi 公司。

1.2 壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的制备

将壳聚糖溶解在质量分数为 90% 的浓醋酸中制备成质量分数为 7% 的溶液,加入不同体积的质量分数为 10% 聚乙烯醇水溶液,制备 m_{CS}/m_{PVA} 依次为 5/1、7/1 和 9/1 的混合溶液。在其共混溶液中分别加入质量分数为 1%~5% 的氧氟沙星。在 25 kV 静电电压及喷丝口距接受板为 10 cm 的条件下通过静电纺丝制备了不同 m_{CS}/m_{PVA} 及不同氧氟沙星含量的共混纳米无纺布膜。

1.3 共混无纺布的表征

采用美国 Instron-1185 型万能材料试验机测壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的抗张强度 (b),按照国家标准 GB3354—82 进行测量,拉伸速率为 10 mm/min;用红外光谱仪 (KBr 压片法)对壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布进行红外分析 (FT-IR);用 X-射线衍射仪在 40 kV、200 mA 和 2° 为 $5^\circ \sim 50^\circ$ 的条件下进行 X-射线衍射分析 (XRD);喷金后,在 Hitachi S-4500 扫描电子显微镜 (SEM) 下观察样品的形貌,采用图像分析软件在各样品图中分别取 30 根纤维,测量直径并计算其平均值。

1.4 共混无纺布的体外药物释放

1.4.1 标准曲线的绘制 称取适量氧氟沙星粉末,分别用 pH 值为 4.10 和 7.40 的缓冲溶液配成浓度为 1.6、4、8、12 和 16 $\mu\text{g/mL}$ 的氧氟沙星溶液,在紫

外分光光度计上测定其最大吸光度 (pH = 4.10, 在 294.20 nm 处; pH = 7.40, 在 288.60 nm 处)。经线性回归后得到标准曲线方程。 $A = 0.04868 + 0.01146 \cdot \text{pH} = 4.10, r = 0.9999, n = 5$; $A = 0.04053 + 0.01570 \cdot \text{pH} = 7.40, r = 0.9980, n = 5$ 。标准曲线方程中, A 为吸光度, 为质量浓度 (mg/L), r 为线性相关系数, n 为取样个数。

1.4.2 共混无纺布体外释放的测量方法 体外释放实验在温度为 $(37 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 及转速为 100 r/min 的恒温振荡箱里进行。定时取样,每次 1 mL,定容至 50 mL,测定其最大紫外吸光度 A ,由各自标准曲线计算不同时间的药物累积释放量。

2 结果与讨论

2.1 共混无纺布的力学性能

聚乙烯醇的质量分数对共混无纺布力学性能的影响如表 1 所示。由于壳聚糖纤维的脆性大,因此随着 m_{CS}/m_{PVA} 比值的增大,共混膜的抗张强度下降。将聚乙烯醇与壳聚糖共混,由于 2 种分子间的氢键作用,良好的相容性,使纤维的机械性能得到了改善。但另一方面,由于加入的氧氟沙星在纤维中属于小分子,造成了一定的结构缺陷,从而使共混膜的抗张强度下降。另外,聚乙烯醇为水溶性的高分子,含量越大溶胀变形越大,纤维之间存在的孔隙就越少。所以本文选用 m_{CS}/m_{PVA} 为 7/1 及 $w_{OFX} = 4\%$ 的组分进行研究。

表 1 不同 m_{CS}/m_{PVA} 及 OFX 含量对共混无纺布抗张强度的影响

Table 1 Effect of different m_{CS}/m_{PVA} ratios and ofloxacin loading on the tensile strength of nanofibrous mats

m_{CS}/m_{PVA}	σ/MPa				
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 % *
5/1	4.70	4.05	3.02	2.94	2.61
7/1	4.12	3.80	2.95	2.70	2.40
9/1	3.95	3.23	2.87	2.32	2.14

*指 OFX 的质量分数

2.2 共混无纺布的结构

图 1 是壳聚糖/聚乙烯醇共混纤维膜、壳聚糖-聚乙烯醇-氧氟沙星共混无纺布和氧氟沙星的红外谱图。从图 1 中可以看出,在 1716.5cm^{-1} 处出现的是氧氟沙星的 COOH 特征峰, 1620.2cm^{-1} 处是苯

环骨架振动峰, 1053.2 cm^{-1} 处是 C—F 伸缩振动峰, 芳环上的 C=CH 面外弯曲振动峰出现在 803.8 cm^{-1} 处。壳聚糖/聚乙烯醇共混无纺布的红外光谱中, 在 3424.7 cm^{-1} 处有强而宽的归属于羟基和氨基的伸缩振动峰, 2926.5 cm^{-1} 处为 C—H 的伸缩振动峰, 1079.5 cm^{-1} 处为 -D 吡喃葡萄糖苷的伸缩振动峰, 1562.1 cm^{-1} 处为 N—H 的变形振动峰。而壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的红外光谱中则在 1718.4 、 1618.6 和 807.1 cm^{-1} 处出现吸收峰。这些吸收峰分别与氧氟沙星的在 1716.5 、 1620.2 和 803.8 cm^{-1} 处的特征峰对应, 但出现了不同程度的红移和紫移。在 1053.2 cm^{-1} 处的氧氟沙星的 C—F 伸缩振动的特征峰则和壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布中壳聚糖的在 1079.5 cm^{-1} 处的 -D 吡喃葡萄糖苷的伸缩振动峰叠加成一个宽的缔合峰 (1077.8 cm^{-1})。红外谱图分析结果表明, 氧氟沙星中的 COOH 键和壳聚糖中的羟基、氨基及聚乙烯醇中羟基之间可能形成了较强的分子间的氢键。

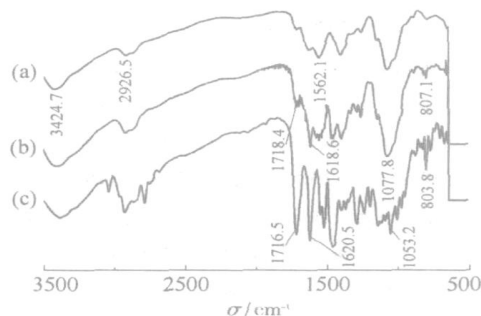


图1 CS/PVA 共混纤维膜(a)、CS/PVA/OFX(b)共混无纺布和 OFX(c)的红外光谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of CS/PVA nanofibers(a), CS/PVA/OFX(b) nanofibrous mats and OFX(c)

为进一步说明氧氟沙星在壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布中的存在状态, 本文对其进行 XRD 分析, 图 2 为氧氟沙星晶体、壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布和壳聚糖/聚乙烯醇共混纤维膜的 XRD 谱图。其中氧氟沙星晶体的 XRD 曲线中, 特征峰的衍射角为 6.00° 、 10.90° 、 13.90° 、 15.82° 、 20.66° 、 21.92° 和 26.64° , 与文献报道的一致^[5]; CS/PVA 共混纤维膜的 XRD 曲线中, 仅在 $2\theta = 19.90^\circ$ 处出现一宽而平的非晶态弥散峰; CS/PVA/OFX 共混纤维膜的 XRD 曲线中, OFX 的特征峰基本消失。这说明在此共混体系中, 由于 CS 和 PVA 的引入导致 OFX 的结晶度明显降低, CS/

PVA/OFX 共混纤维膜中 OFX 以无定形存在, 分散性比较好。

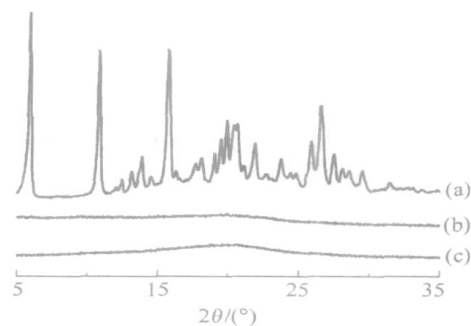


图2 OFX(a)、CS/PVA/OFX 共混无纺布(b)和 CS/PVA 共混纤维膜(c)的 XRD 谱图

Fig. 2 XRD patterns of ofloxacin(a), CS/PVA/OFX nanofibrous mats(b) and CS/PVA nanofibers(c)

2.3 共混无纺布表面的形态

图 3 是壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的扫描电镜照片。图 3(a) 为壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的表面图。放大倍数为 5000 倍, 其纤维的直径平均为 200 nm。从图 3(a) 中可以看出, 纤维表面较为光滑且无明显的药物晶体析出, 说明氧氟沙星在共混纤维中有良好的相容性。图 3(b) 为药物释放实验后的扫描电镜照片, 放大倍数为 5000 倍。从图 3(b) 中可以看出药物释放实验后, 纤维溶胀变粗, 但纤维之间仍然存在孔隙, 可以保持较好的透气性。这在伤口敷料和止血材料方面的应用具有重要的意义。

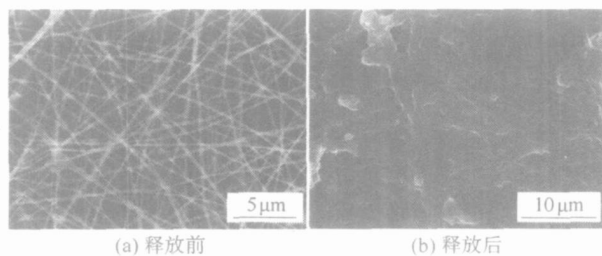


图3 CS/PVA-OFX 共混无纺布药物释放前后的扫描电镜照片

Fig. 3 SEM micrographs of CS/PVA/OFX nanofibrous mats before and after drug release

2.4 共混无纺布的体外释放性能

壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布在不同 pH 值缓冲溶液中的释放曲线如图 4 所示。在 pH 为 4.10 的缓冲溶液中, 释放速度较快, 20 min 时的累积释放量就达到 50%, 300 min 时共混无纺布已

完全溶解在缓冲溶液中。而在 pH 为 7.40 的缓冲溶液中,累积释放量达到 50 % 时需要 60 min,360 min 时才能达到释放平衡。在 2 种不同 pH 缓冲溶液中,氧氟沙星释放速率差别很大,这与共混无纺布中的壳聚糖容易在酸性溶液中溶解有关。

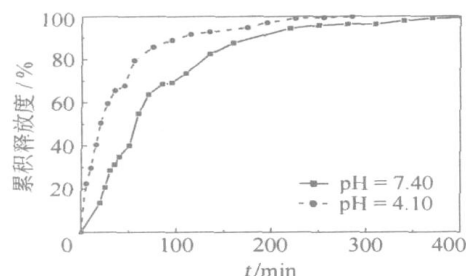


图4 壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布在不同 pH 值缓冲溶液中的释放曲线

Fig.4 Time dependence of ofloxacin release from CS/PVA/ OFX nanofibrous mats at different pH

3 结论

(1) 通过电纺丝技术,制备了平均直径为 200 nm、直径分布均匀的壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星杂化纳米纤维无纺布。壳聚糖、聚乙烯醇、氧氟沙星在共混无纺布中有很好的相容性。

(2) PVA 可以改善壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星共混无纺布的力学性能,该无纺布的拉伸强度可达到 4.70 MPa。药量较大、力学性能较好的壳聚糖/聚乙烯醇/氧氟沙星纳米纤维无纺布的组分为

$m_{CS}/m_{PVA} = 7:1$, $w_{OFX} = 4\%$ 。

(3) 氧氟沙星在 pH 为 7.40 的缓冲溶液中达到释放平衡时需要 6 h,说明以壳聚糖/聚乙烯醇为基质的药物载体对氧氟沙星具有一定的缓释作用。

参考文献:

- [1] DERSCH R, STEINHART M, BOUDRIOT U, et al. Nanoprocessing of polymers: Applications in medicine, sensors, catalysis, photonics[J]. Polym Adv Technol, 2005,16(2-3):276-282.
- [2] 甄洪鹏, 聂俊, 孙俊峰, 等. 壳聚糖/聚乙烯醇共混超细纤维的制备及紫外光交联的研究[J]. 高分子学报, 2007(3):230-234.
- [3] MIN B M, LEE S W, LIM J N, et al. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers[J]. Polymer, 2004,45(21):7137-7142.
- [4] YOU Y, YOU K J H, LEE S W, et al. Preparation of porous ultrafine PGA/PLA blend fibers[J]. Mater Letters, 2006,60(6):757-760.
- [5] PENG Xianhong, ZHANG Lina, KENNEDY J F. Release behavior of microspheres from cross-linked N-methylated chitosan encapsulated ofloxacin[J]. Carbohydrate Polymers, 2006,65(3):288-295.
- [6] 沈宏亮, 王强, 钱方, 等. 左氧氟沙星羧甲基壳聚糖缓释微球的制备及其体外释放研究[J]. 第二军医大学学报, 2004,25(5):482-484.

Preparation and sustained release in vitro of ofloxacin loaded in chitosan/ poly(vinyl alcohol) blend nanofibrous mats

ZHEN HongPeng YANG DongZhi GUO Shuang NIE Jun

(College of Material Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Nanofibrous mats of chitosan/poly(vinyl alcohol) (CS/PVA) loaded with the antiseptic ofloxacin were prepared by electrostatic spinning. The structure and morphology of the nanofibrous mats were characterized by FTIR, X-ray diffraction and SEM. The results indicated that the average diameter of the hybrid fibers obtained was about 200 nm, and that there was good compatibility between chitosan, poly(vinyl alcohol) and ofloxacin molecules in the blended nanofibrous mats. Nanofibrous mats obtained using a CS/PVA weight ratio of 7:1 and an ofloxacin loading of 4% were used to investigate the sustained release behavior at different pH. The release time of ofloxacin from the hybrid nanofibrous mats reached a maximum of 6 h at pH 7.40.

Key words: electrospinning; chitosan; poly(vinyl alcohol); ofloxacin; nanofibrous mats