



## 负载喜树碱两亲性接枝聚天冬氨酸胶束研究

郭艳玲<sup>1</sup>, 孙娜娜<sup>2</sup>, 赵香玉<sup>2</sup>, 张晨曦<sup>1</sup>

(1. 天津科技大学理学院, 天津 300457; 2. 天津科技大学材料科学与化学工程学院, 天津 300457)

**摘要:** 喜树碱(CPT)是一种具有良好抗癌性能的植物性抗癌药. 由于其水溶性较差,在临床上的应用受到一定的限制,因此以自制的苜蓿基-聚乙二醇-g-聚天冬氨酸为载体,采用溶剂挥发法制备喜树碱载药胶束. 结果表明,两亲性接枝聚天冬氨酸胶束对抗癌药物喜树碱具有一定的载药能力,并具有良好的水溶性,其体外释药曲线符合 Fick II 扩散动力学模型.

**关键词:** 接枝聚天冬氨酸; 胶束; 喜树碱; 控制释放

**中图分类号:** O631.3      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1672-6510(2010)05-0006-04

## Study on Amphiphilic Grafted Polyaspartic Acid Micelles Loaded with Camptothecin

GUO Yan-ling<sup>1</sup>, SUN Na-na<sup>2</sup>, ZHAO Xiang-yu<sup>2</sup>, ZHANG Chen-xi<sup>1</sup>

(1. College of Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. College of Material Science and Chemical Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Camptothecin (CPT), a plant alkaloid, was found as a new type of antitumor agent with pharmacologically effect. However, CPT's extremely insolubility severely restrict its clinical applications. So new type of amphiphilic grafted polyaspartic acid was applied as carrier to encapsulate CPT by solvent evaporation method. It shows that the prepared micelles can be used as carriers of CPT and has good water solubility, the drug-loading micelles released drug in PBS under the rule of Fick II diffusion model.

**Keywords:** grafted polyaspartic acid; micelles; camptothecin (CPT); controlled release

两亲性聚合物由于其在选择性溶剂中各个链段溶解性的不同,能够发生缔合形成聚合物胶束. 聚合物胶束具有较低的临界胶束浓度、较大的增溶空间,结构稳定并且依据聚合物疏水链段的不同性质可以通过化学、物理以及静电作用等方法包裹药物<sup>[1-2]</sup>. 聚合物胶束作为抗癌药物载体,可使难溶于水的药物有效增溶,同时降低毒副作用. 因此,聚合物胶束在抗癌药物载体领域具有广泛的应用前景<sup>[3]</sup>.

聚氨基酸是一类具有类似蛋白质的酰胺结构的生物可降解材料,将亲水基团与疏水基团引入聚天冬氨酸侧链,可得到两亲性接枝聚天冬氨酸. 两亲性聚合物在水中可自组装形成纳米级核-壳结构的胶束,

其中疏水片段聚集成核,亲水片段构成胶束的外壳,难溶性药物可通过物理包埋的方式进入两亲性聚合物胶束内核<sup>[4-5]</sup>.

喜树碱是从我国南方特有的树种喜树中提取分离得到的纯天然抗肿瘤药物. 目前,喜树碱作为临床治疗中广泛使用的植物性抗癌药,是继紫杉醇后又一具有发展前途的植物性抗癌药物<sup>[6]</sup>. 研究发现,喜树碱在治疗肝癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌等均有疗效. 虽然喜树碱具有良好的抗癌性能,但喜树碱在临床上的应用受到了一定的限制,其原因主要是喜树碱为水不溶、脂难溶的药物,俗称“砖头末”,难以制备药物制剂<sup>[7]</sup>. 因此,如何提高喜树碱的水溶性及稳定性是临

收稿日期: 2010-03-30; 修回日期: 2010-07-06

基金项目: 天津科技大学引进人才科研启动基金资助项目(20090404)

作者简介: 郭艳玲(1966—),女,河南内黄人,副教授,博士, guoyl@tust.edu.cn.

床上所面临的首要问题. 本文以自制的两亲性聚天冬氨酸为载体, 制备了载有喜树碱的水溶性胶束, 并对载药胶束的体外释药性能进行研究.

## 1 材料与方 法

### 1.1 试剂与仪器

两亲性接枝聚天冬氨酸: 苄基-聚乙二醇-g-聚天冬氨酸, 实验室自行合成<sup>[8]</sup>; 喜树碱 (Camptothecin, CPT), Fluka Aldrich Germany; *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), 分析纯, 天津市永大化学试剂开发中心; 二氯甲烷 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )、甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), 分析纯, 天津市北方天医化学试剂厂.

透析袋 (MWCO = 1 000), 美国 Sepctral/Por; 二次蒸馏水由 SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器 (上海亚荣生化仪器厂) 蒸馏; TU-1901 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; 90Plus 激光粒度仪, 美国 Brookhaven 公司.

### 1.2 两亲性接枝聚天冬氨酸胶束的制备及表征

称取接枝聚天冬氨酸 25.3 mg, 溶于 5 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  和 5 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  的混合溶剂中, 搅拌至全溶, 将得到的溶液逐滴滴入 10 mL 不断搅拌的二次蒸馏水中. 将制得的上述溶液在 25 °C 下旋转蒸发 2 h, 将有机溶剂从上述溶液中除去, 得透明溶液.

采用 90Plus 激光粒度仪, 在 25 °C 下取适量的胶束溶液过膜除尘, 放入样品池进行胶束粒径大小及分布的扫描测试.

### 1.3 喜树碱 (CPT) 标准曲线的绘制

配制一系列浓度的 CPT 的 DMF 溶液, 以 DMF 作参比液, 在波长 366 nm 下测定 CPT 标准溶液系列的吸光度, 得到 CPT 的 DMF 溶液质量浓度与吸光度的关系图.

配制一系列浓度的 CPT 的 DMF 和水的混合溶液, 以  $V_{\text{DMF}} : V_{\text{水}} = 1 : 9$  的混合溶剂作参比液, 在波长 366 nm 下测定 CPT 标准溶液系列的吸光度, 得到 CPT 的 DMF 和水的混合溶液质量浓度与吸光度关系图.

### 1.4 两亲性接枝聚天冬氨酸载药胶束的制备

分别称取一定量接枝聚天冬氨酸和 CPT 放于样品瓶中, 溶于 8 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  和 5 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  的混合溶剂中, 搅拌至全溶. 将得到的溶液逐滴滴入 10 mL 不断搅拌的二次蒸馏水中. 旋转蒸发, 将有机溶剂彻底挥发, 4 000 r/min 离心 8 min, 取上清液冷冻干燥. 称取一定量上述冷冻干燥得到的纳米载药微粒溶于

5 mL DMF 中, 在波长 366 nm 下测定其紫外吸光度, 根据 1.3 的方法得到标准曲线, 按公式 (1) 和 (2) 分别计算载药量和载药率<sup>[9]</sup>.

$$\text{载药量} = \frac{\text{胶束中药的质量}}{\text{胶束质量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{载药率} = \frac{\text{胶束中药的质量}}{\text{初始投药质量}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.5 载药胶束体外释药动力学<sup>[2,9]</sup>

将用溶剂挥发法得到的聚合物纳米载药胶束溶液置于透析袋 (MWCO = 1 000) 中, 将其放入 100 mL 磷酸盐缓冲溶液 (PBS, pH 7.4) 的烧杯里, 37 °C 恒温搅拌下进行体外释放实验. 在预先设定的时间间隔内, 每次从烧杯中取出 10 mL 释放液, 并置换 10 mL 新鲜的 PBS 溶液. 将取出的释放液经 DMF 稀释 ( $V_{\text{DMF}} : V_{\text{释放液}} = 1 : 9$ ), 在波长 366 nm 下, 测定其紫外吸光度, 根据 1.3 的方法得到标准曲线, 近似计算累积释药率.

## 2 结果与讨论

### 2.1 两亲性接枝聚天冬氨酸胶束的制备及表征

两亲性聚合物由于亲水片段和疏水片段溶解性的差异, 在水中自组装形成胶束. 选用  $\text{CH}_3\text{OH}$  和  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  混合溶剂作为两亲性接枝聚天冬氨酸亲水片段和疏水片段的共溶剂, 将两亲性接枝聚天冬氨酸溶液滴入搅拌的二次蒸馏水中, 发生分子自组装, 疏水作用力使疏水片段成核, 亲水片段成壳, 形成核-壳结构的胶束.

图 1 为两亲性接枝聚天冬氨酸胶束的粒径分布图, 胶束平均粒径大小为 89.0 nm, 多分散性 0.193, 符合纳米药物载体要求.

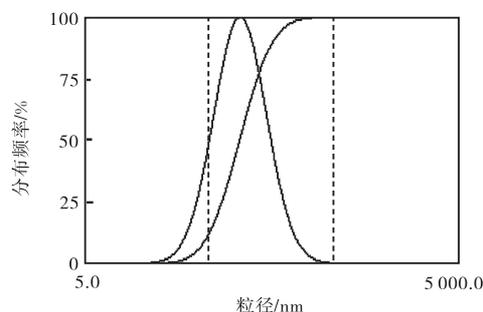


图 1 接枝聚天冬氨酸胶束粒径分布

Fig.1 Size distribution of grafted polyaspartic acid micelles

### 2.2 喜树碱 (CPT) 标准曲线

图 2 为 CPT 的 DMF 溶液质量浓度与吸光度关系 (标准曲线 I), 图 3 为 CPT ( $V_{\text{DMF}} : V_{\text{水}} = 1 : 9$ ) 溶

液质量浓度与吸光度关系(标准曲线 II).

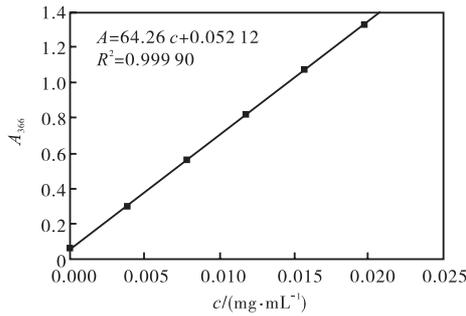


图2 CPT 的 DMF 溶液质量浓度与吸光度的关系

Fig.2 Relationship between concentration and absorbance of CPT in DMF solution

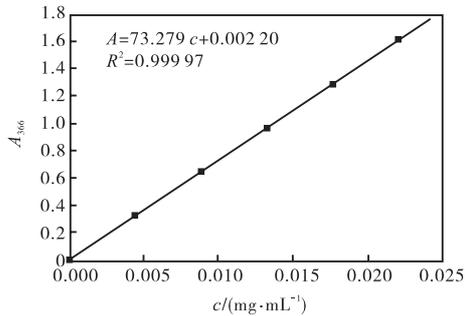


图3 CPT 的 DMF 和水 (V<sub>DMF</sub> : V<sub>水</sub> = 1 : 9) 的混合溶液质量浓度与吸光度关系

Fig.3 Relationship between concentration and absorbance of CPT in DMF and water (V<sub>DMF</sub> : V<sub>水</sub> = 1 : 9) solution

### 2.3 接枝聚天冬氨酸包载喜树碱胶束的载药量与载药率

根据标准曲线 I ,计算得到载药胶束的载药量和载药率见表 1.

表 1 载药胶束对不同投药量的载药量和载药率

Tab.1 Drug loading contents and efficiency of micelles at different feed ratios

接枝聚天冬氨酸/ mg	CPT/ mg	载药量/ %	载药率/ %
33.1	3.6	6.87	34.70
32.5	4.2	8.67	39.52
32.8	5.1	8.53	32.64

由表 1 可以看出,适当增加投药量可以提高载药胶束的载药量和载药率,但超过一定量影响明显降低. 苄基-聚乙二醇-g-聚天冬氨酸对水溶性和脂溶性较差喜树碱有一定的载药能力,其原因应是两亲性聚合物链上所支载的芳环与喜树碱有一定的结构相似性,从而提高了药物与聚合物疏水链段的相容性<sup>[10]</sup>.

### 2.4 接枝聚天冬氨酸包载喜树碱胶束的体外释放动力学

由标准曲线 II 可以计算出释放液中 CPT 的含

量,进而得出累积释放率. CPT 累积释放率对时间作图,得到载药胶束的体外释药曲线,如图 4 所示.

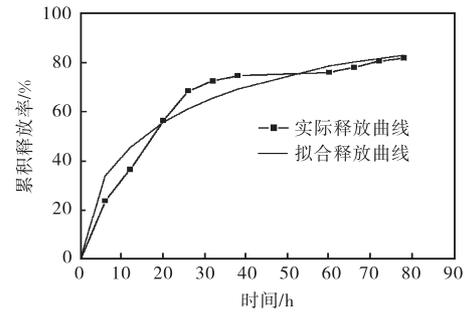


图4 接枝聚天冬氨酸包载 CPT 胶束体外释药曲线

Fig.4 In vitro accumulated release amount of CPT from drug-loading micelles

聚合物载药胶束呈球形结构,药物的释放过程以径向扩散为主,可由 Fick 第二扩散定律推导出药物释放动力学方程<sup>[9]</sup>:

假定扩散系数 D 为常数,可由 Fick 第二扩散定律得到

$$M_t = \frac{300}{a} \sqrt{2kDt} + \frac{400kDt}{3a^2} \left( \frac{k}{2} - 3 \right)$$

式中:  $M_t$  为  $t$  时刻的累积释放率;  $a$  为胶束半径;  $k$  为速率常数. 利用该动力学方程对苄基-聚乙二醇-g-接枝聚天冬氨酸载药胶束的体外释药曲线进行拟合,结果表明拟合所得理论值与实验值基本相符,说明喜树碱从载药胶束中的释放过程受药物扩散控制,其释放曲线符合 Fick 第二扩散定律.

## 3 结论

以自制的两亲性接枝聚天冬氨酸为药物载体,采用溶剂挥发法制备了聚合物胶束,结果显示苄基-聚乙二醇-g-聚天冬氨酸能够形成平均粒径在 89.0 nm 的胶束溶液,符合载药胶束的要求.

苄基-聚乙二醇-g-聚天冬氨酸聚合物胶束对抗癌药物喜树碱具有一定的载药能力,载药胶束具有良好的水溶性,其体外释药曲线符合 Fick II 扩散动力学模型.

### 参考文献:

[1] Kwon G S, Forrest M L. Amphiphilic block copolymer micelles for Nanoscale drug delivery[J]. Drug Development Research, 2006, 67(1): 15-22.

[2] 郭艳玲,冯玉梅. 作为抗癌药物载体的高分子研究进展[J]. 天津科技大学学报, 2004, 19(3): 11-15.

- [3] Adams M L, Lavasanifar A, Kwon G S. Amphiphilic block copolymers for drug delivery[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 92(7):1343-1355.
- [4] 汤谷平, 陈启琪. 聚氨基酸材料在药物控释系统中的应用[J]. *生物医学工程学杂志*, 2001, 18(2):280-284.
- [5] Xiong M P, Forrest M L, Ton G, et al. Poly(aspartate-g-PEI800), a polyethylenimine analogue of low toxicity and high transfection efficiency for gene delivery[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(32):4889-4900.
- [6] Zunino F, Pratesi G. Camptothecins in clinical development[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2004, 13(3):269-284.
- [7] Bhatt R, de Vries P, Tulinsky J, et al. Synthesis and *in vivo* antitumor activity of poly(L-glutamic acid) conjugates of 20S-camptothecin[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2003, 46(1):190-193.
- [8] 郭艳玲, 赵军, 任翔宇, 等. 两亲性接枝聚天冬氨酸的合成与降解性能研究[J]. *天津科技大学学报*, 2008, 23(3):49-51.
- [9] 王彩霞. 紫杉醇聚合物胶束给药系统的研究[D]. 天津:天津大学, 2006.
- [10] 施斌, 方超, 裴元英. 两亲性嵌段共聚物胶束的研究进展[J]. *中国医药工业杂志*, 2005, 36(4):239-243.

## 《天津科技大学学报》2011年征订启事

《天津科技大学学报》创刊于1986年,其前身是《天津轻工业学院学报》,由于主办单位的更名,经主管部门批准,从2004年更名为《天津科技大学学报》.本刊主要刊登轻工技术与工程、食品工程与生物技术、材料科学与化学工程、机械及自动化、海洋科学与工程等学科的理论及应用的研究论文、研究报告,已被国内外多家重要文献检索系统收录,是中国科技核心期刊.本刊为双月刊,逢双月末25日出版,2011年定价上调为8元/期(全年48元),其邮发代号6-196.欢迎读者通过邮局订阅.

未及时订阅本刊者,可与本刊编辑部联系订阅事宜.

地 址:天津市河西区大沽南路1038号《天津科技大学学报》编辑部

邮 编:300222

电 话:(022)60273316

电子信箱:tjkdx@tust.edu.cn

本刊编辑部