

壳聚糖微球对药物缓释作用的介电监测方法

方明, 高金龙, 王胜, 连一苇, 赵孔双*

北京师范大学化学学院, 北京 100875

* 联系人, E-mail: zhaoks@bnu.edu.cn

2009-10-06 收稿, 2009-11-06 接受

国家自然科学基金(批准号: 20673014 和 20976015)资助项目

摘要 制备了包裹作为药物模型分子水杨酸的壳聚糖微球, 并测量了该微球悬浮液的介电谱, 发现了显著的介电弛豫现象, 通过对弛豫进行模型化解析获得了反映微球和连续介质电性质的参数. 进一步对该微球在水中的释放过程进行了实时监测, 即通过反映弛豫特征的参数以及组成相的电参数随水杨酸分子释放时间的变化来监测释放过程. 研究发现, 包裹了水杨酸的壳聚糖微球在水中的缓释过程分为遵循不同释放机制的 3 个阶段. 对于缓释阶段, 导出了介电解析获得的相参数和微球内所包裹的水杨酸含量之间的定量关系, 建立了通过测量和解析介电谱来获得不同时刻微球内的物质释放量的实时监测方法.

关键词

壳聚糖微球
介电解析
水杨酸钠
释放机制
介电监测

适当的药物载体所产生的药物缓释作用能够减少药物达到相同药效的剂量, 同时也减少了药物的副作用^[1]. 因此, 选择一种合适且高效的药物缓释载体至关重要, 壳聚糖因其具有良好的生物相容性和可降解性, 自然地成为了这样一种理想的载体^[2]. 近年来, 将壳聚糖作为药物载体的技术开发和理论研究受到广泛的关注^[3]. 然而, 相对其作为药物载体的广泛应用, 壳聚糖类缓释药物的缓释机制仍然没有定论. 这主要是因为壳聚糖内活性基团较多, 可以与药物分子有多种反应机制, 并且可能随着温度、pH 的变化而发生改变. 目前研究壳聚糖或类似药物缓释体系的方法很多, 应用最普遍的是紫外-可见吸光度法和荧光等监测手段^[3-6]. 还有红外光谱、射线衍射、扫描电子显微镜及电位滴定等其他方法^[7-10]. 但是, 上述方法虽然可以检测出溶液体系中药物浓度的变化, 也可以获得一些壳聚糖微球和药物作用的静态信息, 并部分地用于检测药物缓释过程, 但实验过程较为复杂, 且单独使用获得信息量较少, 无法完成对药物缓释体系的有效实时监测.

而在许多现代物理检测手段中, 介电弛豫谱(dielectric relaxation spectroscopy, DRS)方法因具有

能非入侵(non-invasive)地探测体系内部动力学和电学信息的特点^[11,12], 可在线考察和检测体系的变化过程, 并给出一些其他谱学分析方法所不能给出的参数, 因此, 近年来 DRS 法已经广泛用于包括介电监测的很多领域^[13-17]. 也正是 DRS 的上述特点, 可以弥补传统监测方法的不足, 特别是建立在物理模型上的介电解析方法能够给出体系内部各组成相的很多信息, 故在很多领域都取得了成功^[18-20], 因此该方法有望在实时监测领域成为代替传统方法的新手段. 在我们前期研究中曾考察过交联壳聚糖微球悬浮液的介电谱, 并解释了介电弛豫机制以及理论上算出的组成相参数的合理性^[21]. 这为利用介电谱方法对该体系的药物释放过程进行探索性研究作了很好的铺垫.

本文报道采用水杨酸钠作为模型药物(因其具有大多数有机药物分子所含有的羧基、羟基和疏水基团), 从实验和理论上对包裹了水杨酸钠的壳聚糖微球悬浮液进行了介电研究, 侧重于通过解析该体系的时间依赖的介电谱, 获得内部物质释放和吸附过程的信息; 并通过分析扩散机制来推测模型分子与壳聚糖的相互作用. 另一动机是探索一种能够通过

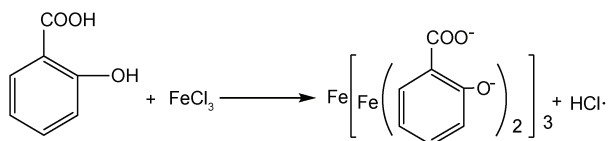
检测壳聚糖微球内部的物理参数和体系的介电参数来实时监测微球内模型分子的量变化的监测方法,从而为实际的药物释放过程的检测提供建立新方法的理论依据.

1 实验

(i) 试剂. 壳聚糖: 粉末状, 脱乙酰度 90.7%, 由山东奥康生物科技有限公司提供; 戊二醛: 50%, 分析纯, 由天津市科密欧化学试剂有限公司提供; 水杨酸钠: 分析纯, 北京化学试剂公司产品; 其他试剂如 NaOH 和冰醋酸均为分析纯, 均由北京北化精细化学品有限责任公司提供.

(ii) 壳聚糖微球的制备. 首先制备壳聚糖空白微球. 将 4 g 壳聚糖粉末溶解在质量分数为 0.5% 的醋酸溶液中配制浓度 1.0% 的壳聚糖溶液, 待溶液消泡后, 用注射器将壳聚糖溶液逐滴加入 500 mL 质量分数为 0.5% NaOH 溶液中, 有白色小球生成. 2 h 后过滤氢氧化钠溶液, 并用二次水进行冲洗至中性(用 pH 试纸检测清洗液清洗后的 pH), 至此制得壳聚糖凝胶球. 接着, 壳聚糖凝胶球与质量分数为 0.5% 的戊二醛交联, 交联时间为 1 h, 交联结束后用二次水浸泡小球 10 min, 反复 3 次后除去水, 在 40°C 下缓慢烘干, 制得褐色的壳聚糖空白微球. 按同样方法, 将 4 g 壳聚糖粉末和等质量的水杨酸钠配成溶液后经消泡、成球、交联和干燥后, 可得表面褐色坚硬的包含有水杨酸钠药物的壳聚糖小球, 用游标卡尺抽样测量微球粒径范围为(1.5 ± 0.25) mm.

(iii) 壳聚糖中水杨酸钠的检测. 水杨酸与三氯化铁会发生如下的特征显色反应,



形成的配合物显紫色, 根据此特征反应可以半定量的检测水杨酸钠的存在^[22]. 按照如下方法对载药微球中水杨酸钠进行检测: 取 0.5 g 载水杨酸钠小球于盛有 3 mL 二次水的烧杯, 浸泡 2, 4, 6, 8 h 后, 分别从烧杯中取出少量(约 0.3 mL)浸泡液, 再向其中分别滴加 0.01 mol/L 的 FeCl₃ 溶液, 出现水杨酸的特征反应, 溶液呈紫色并随浸泡时间的增长颜色逐渐加深, 这表明水杨酸钠被包裹进了微球之中, 并在浸泡在水溶液中会释放出来.

(iv) 介电测量. 测量仪器为 HP4292A Precision Impedance Analyzer (Agilent 公司, 日本制), 在 40~110 MHz 的频率范围, 直接测量各个频率下体系的电容(C)和电导(G)的值, 测量时交流电压为 500 mV. 测量池为图 1 所示的圆筒式铂电极玻璃测量池, 25°C 时该测量池的池常数(C₁)和浮游电容(C_r)经标准溶液校正分别为 0.0253 和 0.0128 pF, 根据式 C = εC₁ + C_r 和 G = κC / εε₀ (这里的 ε₀ (= 8.854 × 10⁻¹² F/m) 为真空介电常数), 将 C 和 G 转化为介电常数 ε 和电导率 κ. 所有的测量均在(25 ± 0.5)°C 下进行. 每次称取 0.2 g 载药微球放置于测量池中, 每隔 10 min 测量一次, 直至介电谱图不再变化为止.

2 结果与讨论

2.1 载药微球介电谱的时间依存性

(1) 介电谱的三维表示. 任一物质体系的复介电常数 ε* 均可以由其实部 ε 和虚部 ε'' 表示如下:

$$\epsilon^* = \epsilon - j\epsilon'' = \epsilon - j \frac{\kappa}{\omega\epsilon_0} \quad (1)$$

式中的符号同前面所定义的. 对于微球悬浮液进行时间连续的介电测量, 得到图 2 所示的包裹了水杨酸钠分子的壳聚糖微球的介电谱. 从图 2 可以清晰地看到在 10⁴~10⁶ Hz 频率段有一个因微球和溶液介质之间的界面极化所致的介电弛豫(介电常数随频率降低), 该弛豫在约 200 min 附近为最大值, 如图中箭头所示.

(2) 介电参数的获取. 为了详细考察弛豫的变

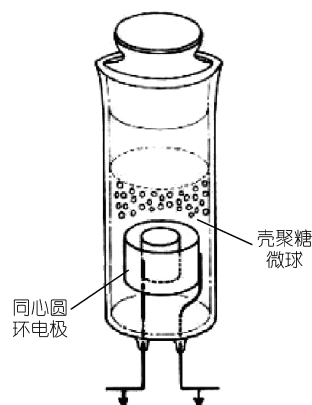


图 1 微球粒子悬浮液测量池示意图
两同心圆铂电极引出玻璃测量池外连接仪器进行测量

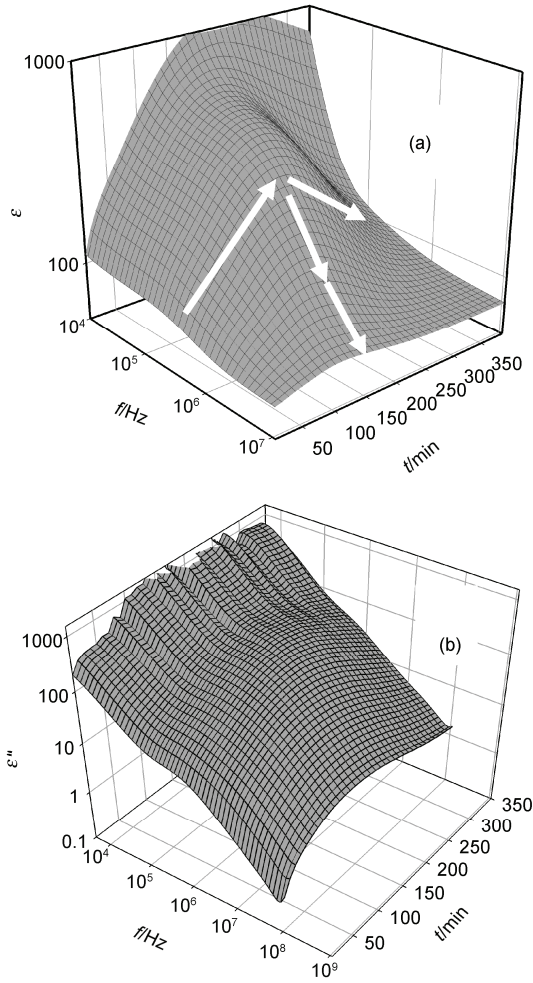


图2 载水杨酸的壳聚糖微球悬浮系复介电常数时间依存性的三维表示
(a)和(b)分别表示复介电常数的实部和虚部

化规律,了解药物释放过程中壳聚糖微球究竟发生了何种变化,需要对实验所测的介电谱进行理论解析,即获取能够反映微球内部变化的分散相的电参数.利用考虑了弛豫时间分布的 Cole-Cole 经验公式(式(2)),对所得到的介电谱进行拟合来获得准确的介电参数,即介电常数和电导率在低、高频的极限值, $\epsilon_1, \epsilon_h, \kappa_1, \kappa_h$. 部分拟合结果列于表1中.

$$\epsilon^* = \epsilon - j\epsilon'' = \epsilon_h + \frac{\epsilon_1 - \epsilon_h}{1 + (jf/f_0)^\beta} \quad (2)$$

我们关注反映弛豫特征的3个量:介电常数增量(或弛豫强度) $\Delta\epsilon$, 弛豫时间 τ ($\tau = 1/2\pi f_0$)以及弛豫时间分布参数 β . β 几乎不随时间变化,在 0.82~0.88

表1 不同时间段壳聚糖载药微球悬浮液的介电参数

| t/min | ϵ_1 | ϵ_h | $\Delta\epsilon$ | β | f_0/Hz | $\kappa_l/\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ | $\kappa_h/\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ |
|-------|--------------|--------------|------------------|---------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 10 | 106.10 | 78.29 | 27.80 | 0.876 | 280009.5 | 0.00095 | 0.00138 |
| 20 | 106.61 | 78.07 | 28.54 | 0.851 | 536455.9 | 0.00153 | 0.00238 |
| 30 | 116.32 | 78.05 | 38.27 | 0.859 | 670092.5 | 0.00199 | 0.00342 |
| 40 | 131.01 | 77.74 | 53.27 | 0.835 | 721150.9 | 0.00242 | 0.00456 |
| 50 | 146.19 | 77.47 | 68.71 | 0.826 | 724313 | 0.00285 | 0.00562 |
| | | | | | | | |
| 160 | 285.24 | 77.05 | 208.19 | 0.878 | 444117.6 | 0.0104 | 0.0155 |
| 170 | 283.88 | 77.16 | 206.73 | 0.878 | 414247.4 | 0.0112 | 0.0159 |
| 180 | 279.04 | 77.27 | 201.77 | 0.878 | 388132.8 | 0.0119 | 0.0163 |
| 190 | 269.37 | 77.38 | 191.98 | 0.878 | 365585.9 | 0.0126 | 0.0165 |
| 200 | 256.76 | 77.50 | 179.26 | 0.875 | 344738.2 | 0.0132 | 0.0166 |
| | | | | | | | |
| 260 | 168.74 | 77.89 | 90.85 | 0.827 | 248093.9 | 0.0145 | 0.0158 |
| 270 | 156.01 | 77.91 | 78.10 | 0.809 | 230885.3 | 0.0143 | 0.0153 |
| 280 | 145.60 | 77.88 | 67.72 | 0.789 | 214598.6 | 0.0142 | 0.0150 |
| 290 | 134.49 | 77.93 | 56.55 | 0.771 | 205104.3 | 0.0138 | 0.0144 |
| | | | | | | | |

之间,这暗示着微球粒子在水进入过程中其大小和结构以及电性质的分布并没有什么变化(指的是结构和性质变化对所有微球粒子来讲是均匀的);而 $\Delta\epsilon$ 和 τ 两者对时间的依存关系明显不同,这可以从水分子浸入壳聚糖微球后的结构和电性质的改变加以解释.为清楚起见,将 $\Delta\epsilon$ 和 τ 对时间 t 作图得到图3.从图3可以看出,由于壳聚糖链中存在氨基,其微球表面双电层的电性质决定于微球氨基与溶液中氢离子,或氨基中的氢与水杨酸根负离子中的羰基氧形成的氢键,从而改变双电层的性质.而随着水分子浸入微球内部,一方面壳聚糖凝胶化使得球的大小和结构都发生变化,另一方面,双电层电性质和结构性均发生变化,从而导致了介电弛豫参数也发生改变.具体地,对于弛豫强度 $\Delta\epsilon$,图3(a)表示的那样, $\Delta\epsilon$ 的变化趋势在 180 min 附近存在极大值,这意味着干态的微球在放入水中的初期没有弛豫,随着微球对水的吸收,壳聚糖球中吸附的水杨酸钠溶解下来,同时微球的结构也发生变化,使界面双电层逐渐形成,从而弛豫增大.当约 3 h 之后水分子的大量进入导致了壳聚糖凝胶化溶胀,结构变得松散,双电层厚度发生的变化导致弛豫强度减小(图3(a)).而对于随着微球浸入水中的时间增加弛豫时间 τ 单调增加这个结果,根据粒子分散系介电弛豫理论^[23,24],因界面极化(详细的论证见下节)引起的弛豫的弛豫时间与双电层厚度和微球大小有关,可以将其解释为当

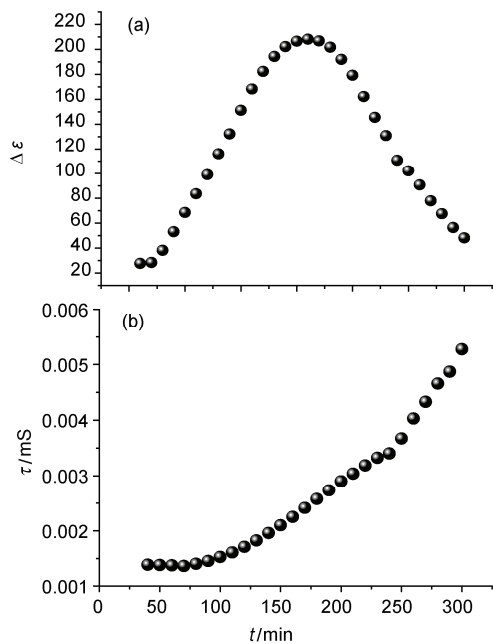


图3 介电常数增量(a)和特征弛豫时间(b)的时间依存性

水分子大量进入微球使其溶胀, 不仅微球增大而且双电层变厚, 而这种溶胀和变厚是和溶胀程度有关的, 因此弛豫频率或弛豫时间单调变化.

(3) 弛豫机制. 根据 Maxwell-Wagner 界面极化理论, 当含有 n 个相的非均匀体系中各组成相的电导率和介电常数满足 $\epsilon_1/\kappa_1 \neq \epsilon_2/\kappa_2 \neq \dots \neq \epsilon_n/\kappa_n$ 时, 便可观测到由界面极化引起的 $\leq n-1$ 个介电弛豫^[25], 该弛豫频率在 $10^5 \sim 10^6$ Hz 之间^[23,26]. 本研究体系是由壳聚糖微球和水两相所组成, 显然, 实验上观察到的一个弛豫的介电谱是源于壳聚糖微球和连续介质水溶液之间的界面极化, 而且特征弛豫频率也落在这个范围. 另一方面, 低频介电理论认为, 双电层中对离子的径向扩散或切向扩散引起还将在更低的频率段产生所谓的对离子极化, 该极化引起的弛豫大致在下式所表示的频率附近^[24]:

$$f'_0 = \frac{ukT}{\pi R^2 e}, \quad (3)$$

式(3)中的 R, e, u, k 和 T 分别表示分散粒子的半径, 对离子的电荷, 离子淌度, Boltzmann 常数和绝对温度. 本实验中壳聚糖的半径为 (1.5 ± 0.2) μm , 采用氢氧根离子的淌度(氢氧根离子的淌度在所有阴离子中数值最大, 而本体系中的阴离子主要是水杨酸根离子和氢氧根离子), 计算出 f'_0 的值为 $0.55 \sim 1.07$ mHz,

显然, 我们实验的弛豫频率 f_0 超出该值的范围, 既证实该弛豫非对离子极化所致, 而是源于界面极化. 因此, 我们可以用界面极化理论定量解析该体系.

2.2 相参数的计算及其随时间的变化

为了获得反映分散微球相和连续介质各自的电性质的相参数, 从而更详细地描述微球在介质中的缓释行为, 我们在图 4 所示的介电模型基础上, 采用建立在 M-W 界面极化理论上的 Hanai 公式(式(4))^[11,27]和相应的解析方法^[28,29], 利用表 1 给出的介电参数求解相参数, 得出的结果列于表 2 中.

$$\frac{\epsilon^* - \epsilon_i^*}{\epsilon_a^* - \epsilon_i^*} \left(\frac{\epsilon_a^*}{\epsilon^*} \right)^{1/3} = 1 - \phi. \quad (4)$$

图 4 和上式中的 ϵ^* , ϵ_i^* 和 ϵ_a^* 分别为整个壳聚糖微球悬浮液、壳聚糖微球以及连续介质水的复介电常数, ϕ 为微球粒子占悬浮液的体积分数.

为清晰起见, 同样将表 2 中的相参数对时间作图. 从图 5 可以清楚地看到释放体系内部相参数随时间变化的情况: 分散相即壳聚糖微球的内部介电常数 ϵ_i 在前 50 min 急速上升, 由最初的 51 左右升至约 68 后上升变得缓慢, 当微球浸入水中达 180 min 时其介电常数达到一个约为 73 左右的稳定值(图 5(a)), 该值接近于纯水在 25°C 时的 78.3, 说明微球浸入水中 3 h 之后溶胀达到了平衡, 内部充满了水. 图 5(b)明显表示出壳聚糖微球的电导率 κ_i 和介电常数 ϵ_i 的对应变化关系, 即 κ_i 的值也是最初急剧上升之后达到稳定并在约 180 min 后单调缓慢下降. 这可以解释为最初的急剧上升是由于水的快速浸入微球中使得吸附电

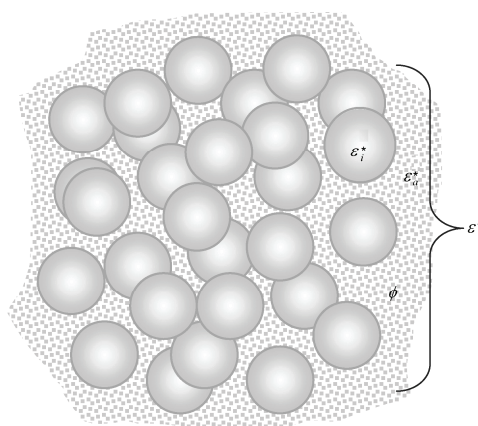


图4 微球悬浮液的介电模型

表2 利用式(4)和表1的介电参数计算的相参数

| t/min | $\kappa_i/\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ | ε_i | $\kappa_e/\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ |
|----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|
| 10 | 0.001430 | 51.605 | 0.011 |
| 20 | 0.001680 | 58.591 | 0.022 |
| | | | |
| 60 | 0.001938 | 66.971 | 0.051 |
| 70 | 0.001966 | 67.792 | 0.058 |
| 80 | 0.001939 | 69.584 | 0.064 |
| | | | |
| 140 | 0.001729 | 71.338 | 0.075 |
| 150 | 0.001685 | 71.877 | 0.076 |
| 160 | 0.001619 | 71.579 | 0.075 |
| 170 | 0.001598 | 71.607 | 0.076 |
| | | | |
| 200 | 0.001435 | 71.999 | 0.073 |
| 210 | 0.001466 | 72.671 | 0.072 |
| 220 | 0.001393 | 72.620 | 0.070 |
| | | | |
| 340 | 0.002095 | 72.164 | 0.056 |
| 350 | 0.002610 | 71.979 | 0.055 |

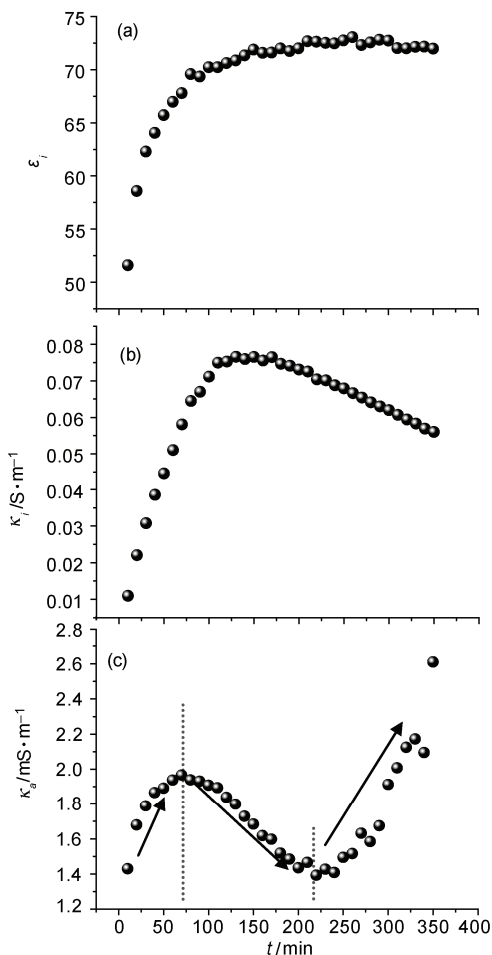


图5 相参数随时间变化曲线

(a) 微球内部介电常数; (b) 微球内部电导率; (c) 介质电导率

解质溶解下来参与导电所致, 而当溶解达到平衡时 κ_i 趋于稳定. 大约 3 h 后, 由于微球溶胀平衡且内部水杨酸根离子的外漏释放, 从而使微球内部的电导率出现逐渐的下降. 这暗示着通过观察内部电导率的变化可以在线监测微球内物质的释放或吸附过程. 最后, 考察图 5(c) 表示的载药壳聚糖微球悬浮液中连续介质的电导率 κ_e 随微球浸入水中后的时间经由的变化, 该曲线给出了在约 60 和 220 min 附近的两个拐点以及被它们分割成的 3 个阶段. 这可以解释为: 在微球被浸入水中的最初 50~60 min, 微球内吸附水杨酸钠除了增加了内部电导率之外, 也快速释放到纯水中使介质的电导率 κ_e 也急速增加; 在之后的约 120 min 内, κ_e 所表现的线性减小以及其后的再一次增加, 显然都与壳聚糖微球内的水杨酸向介质中的释放有关, 其控制释放机制可能受制于微球内部结构的改变以及参与导电的物质的溶解、吸附平衡等综合因素.

2.3 控制释放过程的微观机制

前节对相参数的时间依存关系的分析告诉我们, 载药的壳聚糖微球的释放是一个复杂的受控过程. 对此, 我们借助下图对该过程予以定性的分析和解释: 一方面因为天然的壳聚糖具有复杂的双螺旋结构, 彼此之间相互缠绕^[30]; 另一方面, 戊二醛与壳聚糖上的氨基发生反应, 则可以逐渐形成壳聚糖分子为主链, 戊二醛分子为连接链的三维网格结构^[31], 球内的离子通过这样的网格结构进行扩散. 同时, 文献报道交联后的壳聚糖微球呈空隙结构^[32], 内部存在孔道, 可以作为离子交换的通道(图 6), 文献[33]还表明带正电的壳聚糖高分子和带负电的水杨酸离子的相互作用很弱. 因此, 我们认为水杨酸离子物理吸

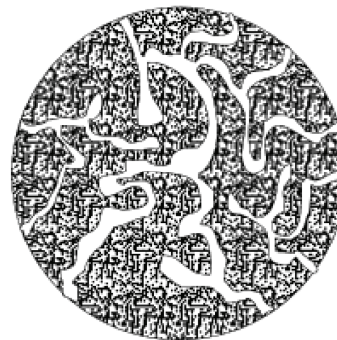


图6 壳聚糖微球孔隙结构示意图

附在壳聚糖高分子骨架上,并将壳聚糖中的水杨酸根离子分为两部分,一部分吸附在壳聚糖微球的孔道壁上,另一部分分散吸附在壳聚糖骨架上,孔道壁上的水杨酸钠可以很快地通过孔道扩散到外部,而分布在壳聚糖骨架上的水杨酸根离子则需要通过扩散进入孔道,或是直接扩散到球外.

根据图 5(c)给出的结果,我们将水杨酸的释放过程分为 3 个阶段:微球浸入二次蒸馏水中后最初的 0~80 min 时间段为水杨酸分子的快速溶解释放的所谓突释阶段.在此阶段,水通过孔道迅速进入微球,致使微球的介电常数 ϵ_i 急增(图 5(a)).此外,由于孔道内壁吸附的大量水杨酸溶解下来参与微球内的电导、同时释放到水中也对介质的电导有贡献,因此,微球和介质水相的电导率(κ_i, κ_a)均线性增加(图 5(b)和(c)).在大约 80~200 min.的时间段,由于水在最初的 100 min.左右就大量进入到微球中,因此微球发生溶胀,孔道变窄甚至消失,这样物质传输通道被阻断,因此电导率停止上升,另一方面因为水的进入变缓,微球的介电常数也趋于稳定(图 5(a)).在 200 min 以后 3 个参数给出的时间依存曲线都显示了一个水杨酸的缓慢释放过程(微球介电常数达到稳定值,电导率缓慢下降,介质水的电导率开始上升),此时的缓慢释放过程根据推测应是高分子骨架上的水杨酸根离子通过扩散作用不断进行释放的结果.

2.4 药物释放量的介电实时监测

假定在 200 min 以后水杨酸通过壳聚糖载体的释放过程是扩散决定的,根据文献[34],药物载入总量 m_0 (既释放前的药物量)和释放后 t 时刻药物释放量以及扩散系数 D 之间应满足如下关系:

$$\frac{m_t}{m_0} = \frac{6}{r} \sqrt{\frac{D}{\pi}} \cdot t^{\frac{1}{2}}, \quad (5)$$

这里的 r 为微球的半径.

配制不同浓度的水杨酸钠溶液进行标准曲线的绘制,通过得到的水相电导率 κ_a 和水杨酸钠浓度所呈线性的关系,即 $\kappa_a = \gamma C$ (其中 γ 为比例系数, C 为水杨酸的浓度),以及关系式 $m_t/m_0 = c_i V_i M / c_0 V_0 M = c_i V_i / c_0 V_0$ (M 为水杨酸分子量),推出下式:

$$\frac{\kappa_{a,t}}{\kappa_{a,0}} = \frac{6}{r} \sqrt{\frac{D}{\pi}} \sqrt{t}, \quad (6)$$

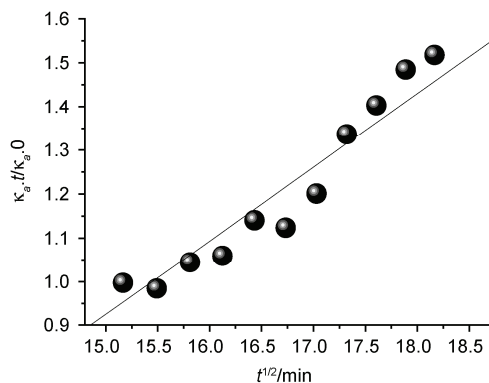


图 7 $\kappa_{a,t}/\kappa_{a,0}$ 对 $t^{1/2}$ 的图

$\kappa_{a,t}$ 和 $\kappa_{a,0}$ 分别为时刻 t 时以及所有分子都扩散到介质中时的介质所显现出的电导率.借助于标准曲线,通过监测任意时刻水相的电导率 $\kappa_{a,t}$ 便可计算出此时刻水杨酸的量.而通过任一时刻缓释药物的释药量的大小可以求得壳聚糖微球在水溶液中任一时刻的药物缓释速度,以及推断壳聚糖微球和水溶液中的水杨酸达到的扩散平衡,从而可以对缓释药物体系做到实时监测.

考虑图 5(c)示意的水杨酸缓释阶段,既考虑壳聚糖微球浸入水中后达到凝胶化平衡的约 200 min 之后的电导率变化,我们将 $\kappa_{a,t}/\kappa_{a,0}$ 对 \sqrt{t} 作图得到图 7 所示的线性关系(略微的波动是因为经过从相参数解析到前面的换算几次计算所产生的误差),从斜率求得扩散系数 $D = 9.4 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{min}$.这进一步验证了对壳聚糖微球缓释机制的推断,即 200 min 前的释放机制和 200 min 后的释放机制有明显差异,200 min 前以孔道之间的物质传输为主,而 200 min 后的释放则是以扩散为主.

3 结论

对包裹了作为药物模型分子水杨酸钠的壳聚糖微球悬浮液进行介电测量和模型解析,发现随着微球浸入水后的凝胶化而出现的显著介电弛豫现象,利用 Cole-Cole 方程拟合介电谱获得了介电参数,并利用 Hanai 理论公式解析出了壳聚糖微球悬浮液的相参数,获得了微球内部以及连续水相的电参数随其浸入水后不同时间段的变化,跟踪并检测到了微球凝胶化过程和水杨酸分子的受控释放过程.进而,根据实验结果提出了释放过程分为 3 个阶段的可能的微观机制.由于壳聚糖微球内部多孔道的结构使

得壳聚糖微球释放药物时对药物有一个自我封锁(溶胀使得孔道半径减小,水杨酸快速释放的途径受阻)的过程,这个自我封锁的过程使载药微球进入人体后长时间仍然能够正常的发挥药效成为可能。

此外,通过药物量和解析获得的体系电导率参

数的定量关系初步建立了对释放体系实施在线实时监测的方法,即只需解析介电谱便可不干扰体系地获取各阶段的内部信息,为得到详尽的药物缓释过程的细节提供了理论根据,而目前这是其他方法所不能实现的。

参考文献

- Huang X, Brazel C. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *J Control Release*, 2001, 73: 121—136
- Agnihotri S, Aminabhavi T. Controlled release of clozapine through chitosan microparticles prepared by a novel method. *J. Control. Release*, 2004, 96: 245—259
- Shu X, Zhu K, Song W. Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for drug controlled release. *Int J Pharm*, 2001, 212: 19—28
- Gupta K, Kumar M Ravi. Drug release behavior of beads and microgranules of chitosan. *Biomaterials*, 2000, 21: 1115—1119
- Shu X, Zhu K. A novel approach to prepare tripolyphosphate/chitosan complex beads for controlled release drug delivery. *Int J Pharm*, 2000, 201: 51—58
- Nunthanid J, Luangtana-anan M, Sriamornsak P, et al. Use of spray-dried chitosan acetate and ethylcellulose as compression coats for colonic drug delivery: Effect of swelling on triggering in vitro drug release. *Eur. J Pharm Biopharm*, 2009, 71: 356—361
- Mi F, Sung H, Shyu S. Release of indomethacin from a novel chitosan microsphere prepared by a naturally occurring crosslinker: Examination of crosslinking and polycation-anionic drug interaction. *J Appl Polym Sci*, 2001, 81: 1700—1711
- Calvo P, Remu an-López C, Vila-Jato J, et al. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm Res*, 1997, 14: 1431—1436
- Gupta K, Kumar M Ravi. pH dependent hydrolysis and drug release behavior of chitosan/poly (ethylene glycol) polymer network microspheres. *J Mater Sci-Mater M*, 2001, 12: 753—759
- Shamov M, Bratskaya S, Avramenko V. Interaction of carboxylic acids with chitosan: Effect of pK and hydrocarbon chain length. *J Colloid Interface Sci*, 2002, 249: 316—321
- Asami K. Characterization of heterogeneous systems by dielectric spectroscopy. *Prog Polym Sci*, 2002, 27: 1617—1659
- 赵孔双. 介电谱方法及其应用. 北京: 化学工业出版社, 2008. 273—289
- Turky G, Shaaban S, Schoenhals A. Broadband dielectric spectroscopy on the molecular dynamics in different generations of hyperbranched polyester. *J Appl Polym Sci*, 2009, 113: 2477—2484
- Katsumoto Y, Omori S, Yamamoto D, et al. Dielectric dispersion of short single-stranded DNA in aqueous solutions with and without added salt. *Phys Rev E*, 2007, 75: 11911
- Asami K, Gheorghiu E, Yonezawa T. Real-time monitoring of yeast cell division by dielectric spectroscopy. *Biophys J*, 1999, 76: 3345—3348
- Benjamin D F, Mijovic J. *In situ* monitoring of chemical reactions in and molecular dynamics of model compounds by dielectric relaxation spectroscopy. *J Phys Chem B*, 2000, 104: 12215—12223
- Wasylyshyn D A, Johari G P. Linear chain and network polymerization during pressure upstep and downstep by real-time dielectrometry. *J Phys Chem B*, 1999, 103: 3997—4005
- Han M, Zhao K. Effect of volume fraction and temperature on dielectric relaxation spectroscopy of suspensions of PS/PANI composite microspheres. *J Phys Chem C*, 2008, 112: 19412—19422
- Yang L, Zhao K. Dielectric model and theoretical analysis of cationic reverse micellar solutions in CTAB/isooctane/n-hexanol/water systems. *Langmuir*, 2007, 23: 8732—8739
- Zhao K, Li Y. Dielectric characterization of a nanofiltration membrane in electrolyte solutions: Its double-layer structure and ion permeation. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 2755—2763
- Ni N, Zhao K. Dielectric analysis of chitosan gel beads suspensions: Influence of low crosslinking agent concentration on the dielectric behavior. *J Colloid Interface Sci*, 2007, 312: 256—264
- 林水东, 肖凤英. 水杨酸快速检测管的制作. *引进与咨询*, 2004, 9: 30—30
- Schwan H P, Schwarz G, Maczuk J, et al. On the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution. *J Phys Chem B*, 1962, 66: 2626—2635

- 24 Schwarz G. A theory of the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution. *J Phys Chem B*, 1964, 68: 2407—2413
- 25 Hanai T, Zhang H Z, Sekine K, et al. The number of interfaces and the associated dielectric relaxations in heterogeneous systems. *Ferroelectric Lett Sect*, 1988, 86: 191—204
- 26 Schurr J. On the theory of the dielectric dispersion of spherical colloidal particles in electrolyte solution1. *J Phys Chem*, 1964, 68: 2407—2413
- 27 Hanai T, Koizumi N, Sugano T, et al. Dielectric properties of emulsions. II. Electrical conductivities of O/W emulsions, *Kolloid-Z*, 1960, 171: 20—23
- 28 Hanai T, Ishikawa A, Koizumi N. Systematic analysis to the dielectric phase parameters from dielectric relaxationa caused by diphasic structure of disperse systems. *Bull Inst Chem Res Kyoto Univ*, 1977, 55: 376—393
- 29 Hanai T, Imakita T, Koizumi N. Analysis of dielectric relaxation of W/O emulsions in the light of theories of interfacial polarization. *Colloid Polym Sci*, 1982, 260: 1029—1034
- 30 Kozo O, Toshifumi Y, Kenji O. Three D structures of chitosan. *Int J Biol Macromol*, 2004, 34: 1—8
- 31 Uragami T, Matsuda T, Okuno T, et al. Structure of chemically modified chitosan membranes and their characteristics of permeation and separation of aqueous ethanol solutions. *J Membrane Sci*, 1994, 88: 243—251
- 32 Shao Y, Zhu B, Li J, et al. Novel chitosan microsphere-templated microcapsules suitable for spontaneous loading of heparin. *Mater Sci Eng C*, 2009, 29: 936—941
- 33 Boonsongrit Y, Mitrevej A, Mueller B. Chitosan drug binding by ionic interaction. *Eur J Pharm Biopharm*, 2006, 62: 267—274
- 34 Grahan N B, Wood D A. Polymeric inserts and implants for the controlled release of drugs. In: Hastings G W, Ducheyne P, eds. *Macromolecular Biomaterials*. Boca Raton: CRC Press Inc, 1983