

DOI: 10.13475/j.fzxb.20181006406

紫外-可见分光光度法在定量监测 2,3,5-三碘苯甲酸缓释中的应用

刘来俊^{1,2}, 徐海燕^{1,2}, 赵帆^{1,2}, 王富军^{1,2}, 王璐^{1,2}

(1. 东华大学 纺织学院, 上海 201620; 2. 东华大学 纺织面料技术教育部重点实验室, 上海 201620)

摘要 为研究显影剂 2,3,5-三碘苯甲酸(TIBA)在显影纤维聚对二氧环己酮(PPDO)降解液中的缓释规律,采用紫外可见分光光度法探究了 TIBA 在不同体积比的磷酸盐缓冲溶液(PBS)和乙醇共混降解液($V_{\text{PBS}}:V_{\text{乙醇}}$ 分别为1:3、1:1和3:1)中的紫外-可见分光光谱和回归曲线。根据回归曲线,测定降解液的吸光度值及计算 PPDO 纤维在降解过程中显影剂 TIBA 的释放量,借助药物缓释理论模型进行拟合,并分析相应的释放规律。结果表明:在 3 种共混溶液中,均能得到回归关系明显的线性方程,考虑到乙醇用量,选择 PBS 与乙醇的体积比为 3:1 的溶液作为标准液,并且溶液在 37 °C 的环境中静置 8 d 后仍能保持一定的稳定性;模型拟合结果表明 TIBA 的释放规律符合一级释放的函数模型。

关键词 紫外-可见分光光度法; 显影纤维; 纤维降解; 2,3,5-三碘苯甲酸; 释放模型

中图分类号: TS 101 文献标志码: A

Application of UV-Vis spectrophotometry in quantitative monitoring sustained release of 2,3,5-triiodobenzoic acid

LIU Laijun^{1,2}, XU Haiyan^{1,2}, ZHAO Fan^{1,2}, WANG Fujun^{1,2}, WANG Lu^{1,2}

(1. College of Textiles, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Key Laboratory of Textile Science & Technology, Ministry of Education, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract In order to study the sustained release rules of 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) in degradation solution of radiopaque poly-p-dioxanone (PPDO) filaments, the UV spectrums and regression curves of TIBA in different volume ratio blend degradation solutions of phosphate buffered saline (PBS) and ethanol ($V_{\text{PBS}}:V_{\text{ethanol}}$ were 1:3, 1:1 and 3:1) were explored by UV-Vis Spectrophotometry. According to regression curve, the release amount of TIBA in the degradation period was measured and calculated and then fitted with a drug release models and the corresponding release rules were analyzed. The results show that ideal spectrums and regression curves could be obtained in three kinds of blend solution. Considering the amount of ethanol used, the volume ratio of 3:1 was selected as the standard solution and it can still maintain stability after placing in an environment of 37 °C for 8 d. The results of model fit show that the release rule of TIBA is in consistence with the first-order release model.

Keywords ultraviolet-visible spectrophotometry; developing fiber; fiber degradation; 2,3,5-triiodobenzoic acid; release models

聚对二氧环己酮(PPDO)是一种半晶质的脂肪族聚酯醚,其分子主链中含有酯键,完全降解时间在

6~12月之间,降解产物为水和二氧化碳,对人体没有毒害^[1-2]。此外,PPDO大分子链中含有独特的醚

收稿日期: 2018-10-31 修回日期: 2018-11-16

基金项目: 高等学校学科创新引智计划资助项目(b07024); 上海市科技支撑计划资助项目(16441903803,18441902600)

第一作者: 刘来俊(1992—),男,博士生。主要研究方向为生物医用骨修复纺织材料。

通信作者: 王富军(1981—),男,副研究员,博士。主要研究方向为生物医用纺织材料的设计、成型及功能评价。E-mail: wfj@dhu.edu.cn。

键,使其具有强度高、柔韧性好、刚度小等优点,是理想的医用生物降解材料^[3]。目前,PPDO 单丝已成功运用于医用可吸收缝合线^[4],同时在血管支架^[5]、组织工程支架^[6]、下腔静脉滤器^[7]、食道管支架^[8]、气管支架^[9]等方面也有广泛的应用前景;但 PPDO 中仅含有 C、H、O 元素,没有高电子云密度的元素(如卤素或金属元素),几乎不吸收电磁光谱,无法在手术中或术后通过 X 光成像技术检测,因此需赋予 PPDO 单丝显影性能,以满足其在手术时定位及手术后监测的需求。

2,3,5-三碘苯甲酸(TIBA)是一种油性物质,几乎不溶于水,能溶于碱性溶液(NaOH、KOH 等)和一些有机溶剂(乙醇、二甲基亚砷等)。其分子中含有碘原子,且单位摩尔的 TIBA 中碘原子的含量较高,具有很强的显影效果,是很多商用显影剂的主要成分^[10-11]。与同为油性物质的 PPDO 通过熔融共混挤出的方式可一体化得到 PPDO 显影纤维,并且其显影性能取决于共混材料中 TIBA 含量的多少。而 PPDO 是可降解的聚合物材料,一旦用于体内,其显影特性会随着 PPDO 的降解和 TIBA 的溶出而降低,因此通过体外模拟来研究 PPDO 显影纤维中 TIBA 的释放规律,建立体外降解与显影效果之间的联系是极其重要的。TIBA 的热分解温度与 PPDO 较为接近,因而无法采用热重分析(TGA)的方式来分析释放量。此外,TIBA 密度较小,不易分离,常规的称量法不仅在操作存在一定的难度,并且在测量上也会有较大的误差。

紫外-可见分光光度计具有灵敏度高、准确度好、易于操作等优点,广泛应用于无机和有机物的定性和定量检测^[12]。基于此,本文采用分光光度法测量 PPDO 显影纤维降解液中 TIBA 的含量,研究了 PPDO 显影纤维在不同降解周期内 TIBA 的释放规律。

1 实验部分

1.1 实验仪器与试剂

DHY4/12 型微型锥共混仪(上海德弘橡塑机械有限公司);TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);CHP-80Q 型二氧化碳培养箱(上海三发科学仪器有限公司);1000~10 000 μL 移液枪(德国普兰德公司);FA2004 型精密电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。

无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),中性的磷酸缓冲溶液 PBS(成分包括 NaCl 137 mmol/L, KCl 2.7 mmol/L, Na_2HPO_4 10 mmol/L,

KH_2PO_4 2 mmol/L),其 pH 值为 7.2 ± 0.2 ;2,3,5-碘苯甲酸(TIBA,纯度大于 98%,南京奥多福尼生物科技有限公司);聚对二氧环乙酮(PPDO,实验室自制)。

1.2 显影纤维的制备

将干燥后的 PPDO 和 TIBA 按照质量比为 90:10 在微型双锥共混仪中进行共混,经过加热和螺杆的剪切作用,使 2 种组分混合均匀。本实验采用 $130\text{ }^\circ\text{C}$ 的共混温度,共混时间为 30 min,转速为 20~30 r/min,制备 PPDO/TIBA 共混物。共混结束后,材料通过直径为 1 mm 的挤出口挤出。采用手动牵伸,拉伸成长丝,常温冷却固化。

1.3 降解液的测试方法

1.3.1 TIBA 标准曲线的绘制

利用紫外-可见分光光度法可以准确分析降解液中析出的微量 TIBA,前提是 TIBA 要能够均匀、稳定地分散在稀溶液中,但 TIBA 是油性物质,不溶于水,也不溶解于 PBS 缓冲溶液。由于生物材料的降解一般采用的是 PBS 磷酸缓冲溶液,而随着 PPDO 显影纤维的降解,释放的 TIBA 不易在降解液中得到较好的溶解和分散,因而不能直接通过测试降解液的吸光度值来获知显影剂 TIBA 的释放量。通过前期探索,并考虑到 TIBA 能够完全溶解于乙醇溶液,乙醇与水能够以任意比例互溶,本文配制了 3 种比例的 PBS 和乙醇共混溶液,分别制备梯度含量的 TIBA 溶液,通过测定溶液的吸光度值,绘制吸光度与 TIBA 质量浓度散点曲线,并进行线性回归拟合。

对相同质量浓度的 TIBA 乙醇溶液和 TIBA-PBS 乙醇溶液进行光谱扫描发现,2 种溶液均在 232 nm 附近出现峰值,这表明 TIBA 的特征峰值在 232 nm 左右,PBS 溶液中的溶质 Na_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、NaCl 和 KCl 对 TIBA 的吸收峰基本没有影响。

称取 0.1 g TIBA 粉末加入到 50 mL 无水乙醇中,超声溶解 5 min。用移液枪分别吸取体积为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 的 TIBA 无水乙醇溶液,向其中加入 PBS 缓冲溶液,使得体系中 PBS 缓冲溶液与无水乙醇的体积比分别为 1:3、1:1 和 3:1。不同 PBS 与乙醇体积比的溶液分别记为 R_1 、 R_2 和 R_3 。每种比例下,配制成质量浓度分别为 5、10、15、20、25、30、35 mg/L 的待测溶液。取上述待测溶液约 3 mL 于比色皿中,采用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描和光度测量,每种试样测量 3 次以保证实验的准确性。

1.3.2 标准液稳定性的测定

为研究 TIBA 在体积比为 3:1 的 PBS 和乙醇共混溶液中的稳定性,将 TIBA 质量浓度分别为 5、10、

15、20、25、30、35 mg/L 的溶液静置于 37 °C 培养箱中,以模拟体外降解的环境。8 d 后测试溶液的吸光度值,以判断其稳定性。

1.3.3 TIBA 体外累积释放率的测定

降解实验前,用去离子水清洗样品,在 40 °C 真空干燥箱干燥 24 h 至恒态质量,取干燥后试样 3 根,分别用精密电子天平称量并记录每根纤维的质量。将试样放置于离心管中,加入 pH 值为 7.2±0.2 的 PBS 溶液 10 mL,密封后置于(37±1) °C 恒温培养箱中进行体外释放实验。图 1 示出为降解液的收集流程图。在 1、3、6、10、16、22、30 d 收集 10 mL 降解液,向离心管中加入 4 mL 无水乙醇,用于溶解黏附在离心管内壁以及纤维表面的 TIBA,最后再向离心管中加入 2 mL 磷酸缓冲溶液,这样收集到的溶液中 PBS 与无水乙醇的体积比为 3:1。每次提取后,向离心管中补充 10 mL 相同 pH 值的 PBS 溶液。将提取后的溶液中加入 PBS 和无水乙醇体积比为 3:1 的共混液进行一定倍率的稀释,充分搅拌以保证均匀混合。取上述溶液 3 mL 于比色皿中,用紫外可见分光光度计测试吸光度,每种浓度含量的溶液测定 3 次,以保证测定结果有效。结合 TIBA 质量浓度与吸光度标准曲线,利用下式计算 TIBA 的累积释放率:

$$Q = \frac{X_n \sum_{i=1}^n C_n V}{m_c} \times 100\%$$

式中: Q 为 TIBA 在 n 个时间节点的累积释放率,%; X_n 为 n 个时间节点的稀释倍率; C_n 为 n 个时间节点的释放浓度,mg/L; V 为体积,L; m_c 为共混纤维中 TIBA 的计算质量,mg。

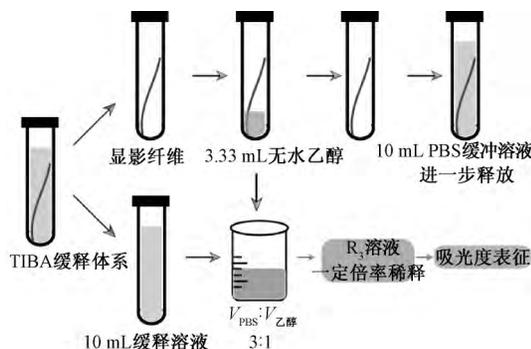


图 1 降解液收集流程图

Fig.1 Schematic diagram of degradation fluid collection process

2 结果与讨论

2.1 不同 PBS/乙醇共混比下 TIBA 回归曲线

图 2~4 分别示出 TIBA 在 R_1 、 R_2 和 R_3 标准液的光谱图和质量浓度-吸光度拟合曲线。

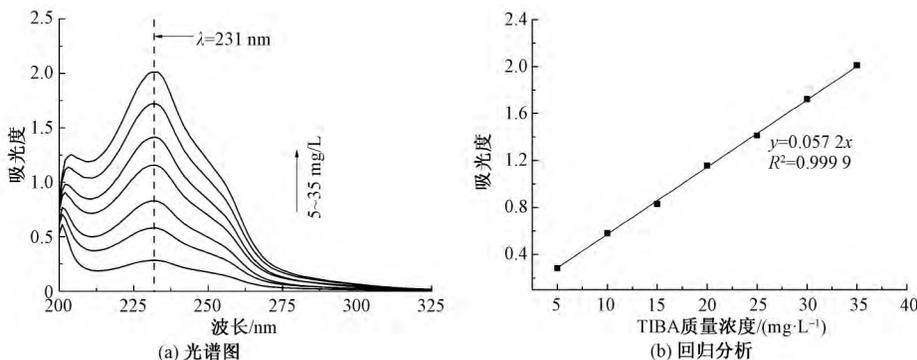


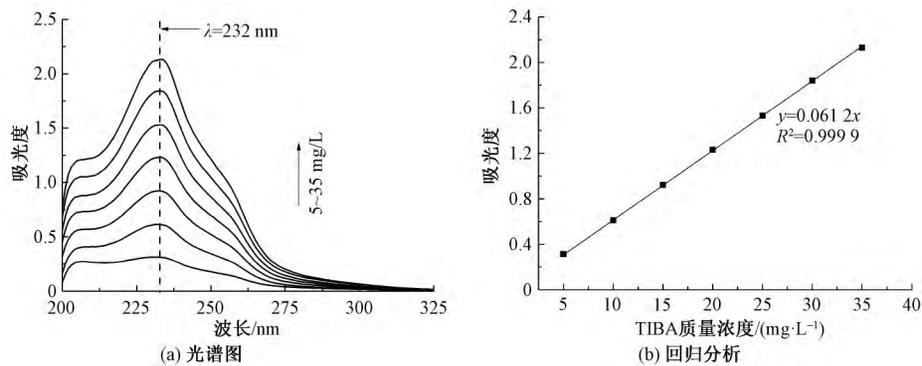
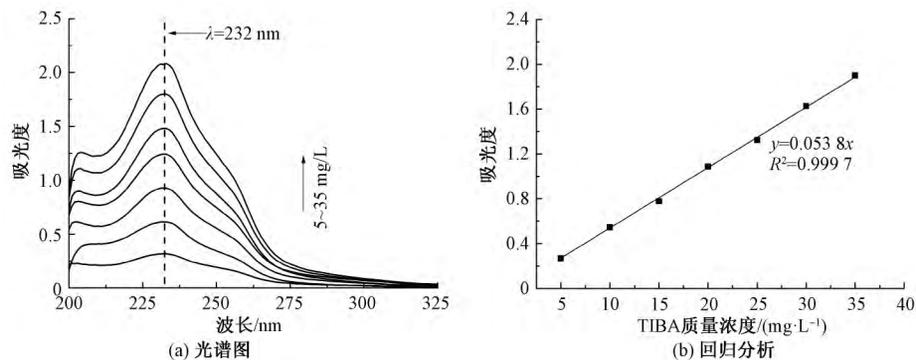
图 2 TIBA 在 R_1 溶液中的光谱图和回归分析

Fig.2 Spectrum (a) and regression analysis (b) of TIBA in solution R_1

以 TIBA 的质量浓度为自变量,吸光度值为因变量进行线性拟合,得到 TIBA 溶液浓度和吸光度之间的线性拟合函数关系。结果表明:TIBA 的 R_1 标准液在波长为 231 nm 处测得最大吸收峰,回归方程为 $y=0.0572x$; TIBA 的 R_2 标准液在波长为 232 nm 处测得最大吸收峰,回归方程为 $y=0.0612x$; TIBA 的 R_3 标准液在波长为 232 nm 处测得最大吸收峰,回归方程为 $y=0.0583x$ 。回归直线的线性范围在 [0, 35 mg/L] 3 种共混比例的溶液的拟合度均达到了 0.999,接近 1,说明这 3 种共混比例的溶液其质量浓度-吸光度线性回归关系十分明显,即在

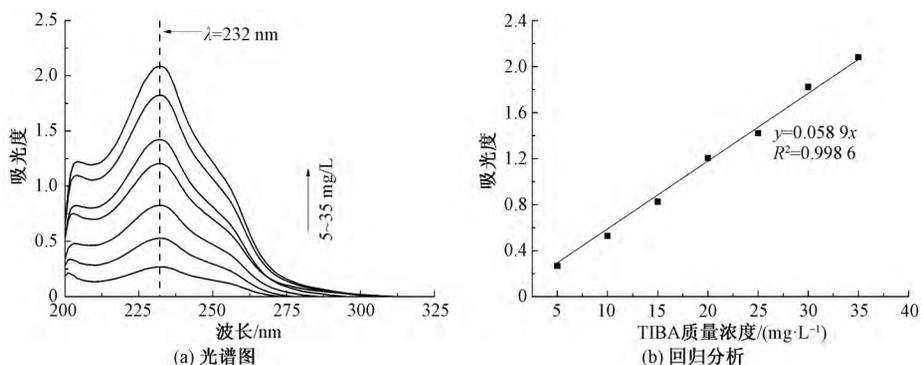
上述 3 种共混比下,其拟合曲线均可用于估算降解液中 TIBA 的含量。考虑到乙醇的用量,后续实验采用 PBS 和乙醇的体积比为 3:1。

图 5 示出为 8 d 后标准液 R_3 的光谱图和回归分析。其中回归分析中的散点为吸光度的实测值,直线为标准状态下的回归方程 $y=0.0589x$ 。结果表明,静置 8 d 后,共混溶液依然在波长为 232 nm 处测得最大吸收峰。测试值与回归方程 $y=0.0589x$ 相比,低质量浓度区域 5、10、15、20、25 mg/L 偏差较小,而在高质量浓度区域 30、35 mg/L 处存在一定程度的偏差,这可能是由于共混液在保

图 3 TIBA 在 R₂ 溶液中的光谱图和回归分析Fig.3 Spectrum(a) and regression analysis(b) of TIBA in solution R₂图 4 TIBA 在 R₃ 溶液中的光谱图和回归分析Fig.4 Spectrum(a) and regression analysis(b) of TIBA in solution R₃

存过程中,存在少量溶剂挥发逸散的现象,导致测试值的吸光度值增加,与回归曲线的结果存在少量偏差。通过线性拟合得出的散点与回归方程 $y = 0.0589x$ 的偏差为 0.9886,即 R^2 为 0.9986,接近于 1,偏差较

小,可认为 TIBA 的浓度和吸光度值依然遵循最初的回归曲线。实验设计的最长换液周期为 8 d,能够保证析出的 TIBA 在共混液中保持稳定,因此可用最初的回归方程 $y = 0.0538x$ 计算 TIBA 的浓度。

图 5 8 d 后 TIBA 在 R₃ 溶液中的光谱图和回归分析Fig.5 Spectrum(a) and regression analysis(b) of TIBA in solution R₃ after 8 days

2.2 TIBA 累积释放率测试结果分析

TIBA 与大多数药物一样,属于小分子物质,PPDO 属于可降解的高分子材料。PPDO 与 TIBA 复合的材料体系与很多药物缓控释体系类似,TIBA 从 PPDO 基质中释放可以参考药物释放的模式^[13]。为更加直观地描述 TIBA 在磷酸缓冲溶液的体外模

拟环境中的释放情况,建立 TIBA 的释放行为与显影效果的关系,借助表 1 所示的药物释放常规模型进行 TIBA 的累积释放率-降解周期拟合,以进一步探究显影剂 TIBA 中的释放规律^[14-16]。根据 TIBA 累积释放率和时间关系拟合各个函数模型。 R^2 表示判定系数, R^2 的值越接近于 1,则表示拟合程度

越高。一般而言,拟合曲线与实测曲线的特征一致,则拟合程度越高,且各个参数的物理意义明确,则是比较理想的函数模型^[17]。

表 1 药物释放常规模型

Tab.1 Common drug release kinetics

释放模型	函数模型	释放机制
零级释放	$M_t/M_0 = kt$	恒速释放
一级释放	$\ln(1 - M_t/M_0) = -kt$	一级释放
Peppas-Korsmeyer 方程	$M_t/M_0 = kt^n$	扩散和溶蚀
Higuchi 方程	$M_t/M_0 = k_t^{1/2}$	Fick 扩散

注: M_t 为时间节点 t 的药物累积释放量; M_0 为初始的药物上载量; M_t/M_0 为时间节点 t 的药物累积释放率; k 为释放动力学常数。

通过测量不同降解周期的降解液吸光度值,按照回归方程 $y = 0.0538x$ 计算 TIBA 的质量浓度,然后根据公式计算出 TIBA 的累积释放率,如图 6 所示。可以看出,标准液 R_3 中的 3 个试样 (S_1 、 S_2 、 S_3)

的 TIBA 累积释放规律较为相似,现以 S_2 试样为例进行说明。表 2 示出 S_1 、 S_2 和 S_3 中 TIBA 的累积释放率的拟合参数。

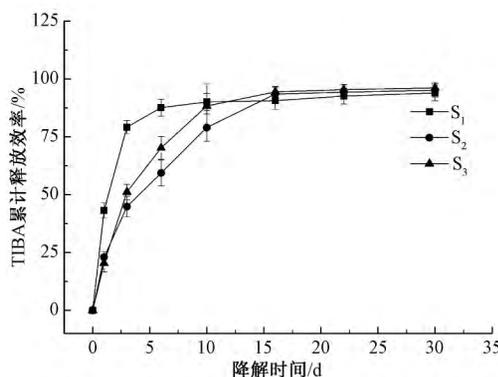


图 6 S_1 、 S_2 和 S_3 中 TIBA 的累积释放率

Fig.6 Cumulative release ratio of TIBA in S_1 、 S_2 and S_3

表 2 S_1 、 S_2 和 S_3 中 TIBA 缓释拟合参数

Tab.2 TIBA release fitting parameters in S_1 、 S_2 and S_3

释放模型	释放动力学系数 k			R^2		
	S_1	S_2	S_3	S_1	S_2	S_3
零级释放	0.044 9	0.043 3	0.044 7	0.687	0.837	0.802
一级释放	0.506 2	0.168 1	0.216 0	0.958	0.985	0.995
Peppas-Korsmeyer 方程	0.588 1	0.316 0	0.362 9	0.925	0.958	0.925
Higuchi 方程	0.226 3	0.208 3	0.217 3	0.432	0.912	0.848

注: Peppas-Korsmeyer 方程中 S_1 、 S_2 和 S_3 的释放动力学系数分别为 0.157 2、0.352 7、0.318 5。

S_2 采用 4 种释放模型拟合时, R^2 值分别为 0.837、0.985、0.958 和 0.912, 其中一级释放模型的 R^2 值最接近于 1。图 7 示出 4 种模型的拟合曲线。可以看出,一级释放模型的拟合效果最好,因此认为,一级释放是 S_2 的主要拟合模型。观察图 7 中的拟合曲线可知,PPDO 显影纤维中 TIBA 的释放主要分为 2 个阶段,初期的快速释放和后期的缓慢释放,这主要是与共混样品为纤维形态相关。样品为纤维形状,其外周与 PBS 缓冲溶液的接触面积较大,不

断受到溶液的侵蚀,其中的 TIBA 和 PPDO 的无定型区易受 PBS 溶液的侵蚀,从纤维当中释放出来。

3 结 论

1) 在 PBS 缓冲溶液与无水乙醇的体积比分别为 1:3、1:1 和 3:1 的 3 种共混溶液中,以 TIBA 的质量浓度为自变量、吸光度值为因变量进行线性拟合,均能得到回归关系明显的线性方程,故 3 个拟合曲线均可用于估算降解液中 TIBA 的含量。

2) 共混液在 37 °C 的环境中静置 8 d,仍能保证析出 TIBA 在共混液中保持稳定,并确定最长换液周期为 8 d。

3) 采用 4 种药物释放常规模型对 TIBA 的累积释放量进行拟合发现,其符合一级释放模型。FZXB

参考文献:

[1] QIU Z C, ZHANG J J, HUANG C L, et al. The influence of the surface character of the clays on the properties of poly (p-dioxanone) /fibrous clay nanocomposites [J]. Journal of Applied Polymer Science , 2012 , 125 : 247-259.

[2] ZHAO F, XUE W, WANG F J, et al. A new approach

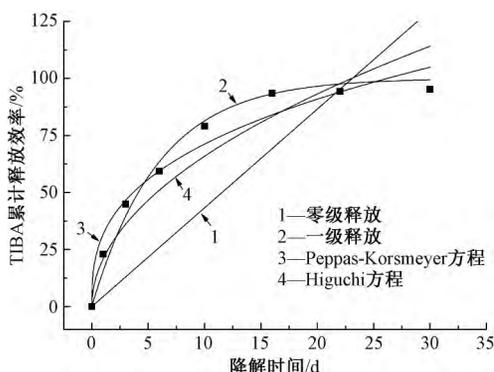


图 7 S_2 中 TIBA 的累积释放率-时间拟合结果

Fig.7 Cumulative release rate-time fitting results of TIBA in S_2

- to improve the local compressive properties of PPDO self-expandable stent [J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2017, 68: 318-326.
- [3] ZHAO Y Q, DING S D, YUAN Y, et al. Enhanced degradation stability of poly (p-dioxanone) under different temperature and humidity with bis-(2,6-diisopropylphenyl) carbodiimide [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2014, 131(6): 596-602.
- [4] 李利发, 张井潇, 陈小波, 等. 三种不同缝合线对腹壁手术切口愈合质量影响的研究 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2016, 23(4): 445-449.
- LI Lifa, ZHANG Jingxiao, CHEN Xiaobo, et al. Study on the effect of three kinds of different suture on the healing quality of abdominal incision [J]. *Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery*, 2016, 23(4): 445-449.
- [5] ZHAO F, XUE W, WANG F J, et al. Composite self-expanding bioresorbable prototype stents with reinforced compression performance for congenital heart disease application: computational and experimental investigation [J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2018, 84: 126-134.
- [6] TANG H, XU Z, QIN X, et al. Chest wall reconstruction in a canine model using polydioxanone mesh, demineralized bone matrix and bone marrow stromal cells [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(19): 3224-3233.
- [7] SINGHANA B, CHEN A, SLATTERY P, et al. Infusion of iodine-based contrast agents into poly(p-dioxanone) as a radiopaque resorbable IVC filter [J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2015, 26(3): 124.
- [8] 曲乐, 曹江, 黄新苗. 可降解聚对二氧环己酮材料的临床应用 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(3): 527-530.
- QU Le, CAO Jiang, HUANG Xinmiao. Clinical application of biodegradable polydioxanone [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(3): 527-530.
- [9] SERIO P, FAINARDI V, LEONE R, et al. Tracheobronchial obstruction: follow-up study of 100 children treated with airway stenting [J]. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 2014, 45(4): 100-109.
- [10] LEON C M, LEE B H, PREUL M, et al. Synthesis and characterization of radio-opaque thermosensitive poly N-isopropylacrylamide-2, 2'-(ethylenedioxy) bis (ethylamine)-2, 3, 5-triiodobenzamide [J]. *Polymer International* 2009, 58(8): 847-850.
- [11] STURZU A, VOGEL U, GHARABAGHI A, et al. Cell nucleus directed 2, 3, 5-triiodobenzoic acid conjugates [J]. *Medicinal Chemistry*, 2009, 5(4): 385-391.
- [12] MARTYNENKO A, CHEN Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing [J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 171(4): 44-51.
- [13] 陈力, 刘砚韬, 黄亮, 等. 缓控释系统药物释放的数学模型研究进展 [J]. *中国药业*, 2008, 17(11): 1-4.
- CHEN Li, LIU Yantao, HUANG Liang, et al. Research progress of mathematic model of sustained and controlled release system of drug release [J]. *China Pharmaceuticals*, 2008, 17(11): 1-4.
- [14] TABANDEH H, MORTAZAVI S A. An investigation into the drug release from ibuprofen matrix tablets with ethylcellulose and some poly-acrylate polymers [J]. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 27(3): 495-503.
- [15] KAFFASHI B, DAVOODI S, OLIAEI E. Poly(epsilon-caprolactone)/triclosan loaded polylactic acid nanoparticles composite: a long-term antibacterial bionanocomposite with sustained release [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 508(1/2): 10-21.
- [16] KARAMI Z, REZAEIAN I, ZAHEDI P, et al. Preparation and performance evaluations of electrospun poly(epsilon-caprolactone), poly(lactic acid), and their hybrid (50/50) nanofibrous mats containing thymol as an herbal drug for effective wound healing [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 129(2): 756-766.
- [17] 钟萌, 谭群友, 冯悦, 等. 阿奇霉素囊泡体外释放行为的初步研究 [J]. *中国抗生素杂志*, 2012, 37(6): 476-480.
- ZHONG Meng, TAN Qunyou, FENG Yue, et al. Preliminary study on the release of azithromycin niosomes in vitro [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2012, 37(6): 476-480.