

烷基甜菜碱/果胶球的结肠定位给药释放行为

谭丽珠,王丽娟,张分地,何婷香,赵基思,武文洁*

(天津科技大学化工与材料学院,天津 300457)

摘要:利用单因素法分别以氯化钙、氯化锌为交联剂,载荷吲哚美辛,复合十二烷基甜菜碱与果胶制备凝胶球。考察十二烷基甜菜碱、药物和交联剂质量分数对小球的形态、载药量、包封率和在模拟胃肠道中释药性能的影响,并比较钙锌体系的释药性能。结果表明:添加十二烷基甜菜碱可以提高凝胶球的载药量和包封率,减缓药物释放;吲哚美辛质量分数过高时会导致凝胶球的释药性能变差;交联剂质量分数的增加使凝胶球性能均呈现增长的趋势。2 个体系的释药性能研究结果显示,添加十二烷基甜菜碱对果胶锌体系的释药性能影响较大。

关键词:果胶;凝胶球;结肠定位;十二烷基甜菜碱;吲哚美辛

中图分类号: O636.1+3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)04-0126-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2018.04.029

Release behavior of alkyl betaine/pectin beads on colon positioning

TAN Li-zhu, WANG Li-juan, ZHANG Fen-di, HE Ting-xiang, ZHAO Ji-si, WU Wen-jie*

(College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Gelatin beads are prepared via a single-factor method by using calcium chloride and zinc chloride as crosslinking agent respectively, and loading indomethacin and combining dodecyl betaine with pectin. The effects of the concentrations of dodecyl betaine, drug and crosslinking agent on the morphology, drug loadings, entrapment efficiency and the release performance in the simulated gastrointestinal tracts are explored. The release behaviors of calcium and zinc system are compared. The results show that the addition of dodecyl betaine can help gelatin beads to increase the drug loading and entrapment efficiency and slow down the release rate of drugs. When the content of indometacin is too high, the release performance of the beads will become worse. The increase of concentration of crosslinking agent shows a tendency to increase the release performance of gelatin beads. The results of the study on the release properties of these two systems show that the addition of dodecyl betaine has a great effect on the release performance of pectin zinc.

Key words: pectin; gelatin bead; colon positioning; dodecyl betaine; indometacin

口服结肠靶向给药系统近 20 年来倍受关注,尤其在蛋白、多肽类生物药物口服给药上具有广阔的应用前景。具有针对性地治疗结肠疾病,有利于多肽蛋白质类药物吸收,增加药物在目标部位的利用度,减少药物剂量并降低对身体的不良反应等优点^[1-2]。结肠定位给药的方法主要有前药型、时间依赖型、pH 依赖型、压力依赖型和酶解型^[3]。与其他口服结肠靶向给药系统相比,酶解型给药系统在体内不受饮食、疾病、个体差异等因素的影响,只能被结肠段特有菌群产生的酶所降解,从而具有特异性好、定位准确可靠等优点,是口服结肠靶向给药系统的研究热点。

果胶是从植物组织中提取的一种天然高分子酸性多糖聚合物,具有稳定性高、对人体安全无毒、生物相容性好、体内可降解等优点。果胶基载药制剂在胃肠道上段形成凝胶并长时间保持完整,起到缓

释作用。当到达结肠后,在结肠菌群所产生的 β -葡萄糖苷酶特异性降解,药物制剂崩解而释放药物。另外,果胶和钙能同时降低结肠癌的严重性,显示出果胶作为药物载体的双重优势^[3]。但是,果胶的亲水性和高溶胀度造成载药体系凝胶层厚重,大体积的载药体系在肠胃的运动中更易与肠胃内容物发生碰撞而导致凝胶层的耗损,造成部分药物的过早释放。这是果胶作为结肠定位给药载体的一个有待改进的问题^[4-6]。针对以上问题,本课题组从提高果胶疏水性能出发,利用具有特殊结构的两性表面活性物质十二烷基甜菜碱对其进行改性,制备具有结肠定位给药潜力的口服结肠定位制剂,达到了预期效果。

笔者在课题组前期研究基础上,在果胶体系中添加十二烷基甜菜碱(十二烷基二甲基胺乙内酯,BS-12),研究 BS-12 对果胶结肠定位给药体系的改性效果。通过以果胶(Pectin)为载体,吲哚美辛

收稿日期:2017-09-21

基金项目:天津科技大学大学生实验室创新基金(1503A208)

作者简介:谭丽珠(1992-),女,在读硕士,研究方向为天然物提取与改性研究,13682106389@163.com;武文洁(1963-),女,硕士,教授,研究方向为天然物提取与改性研究,通讯联系人,022-60601172,wwjie@tust.edu.cn。

(IDM)为模型药物,氯化钙或氯化锌为交联剂,BS-12为改性物质,制备出烷基甜菜碱果胶凝胶球,并考察其载药和释药性能以及BS-12对体系的改性效果。同时,对BS-12/果胶钙凝胶球和BS-12/果胶锌凝胶球的性能进行比较研究,对BS-12改性果胶球在结肠定位给药系统中的应用进行探索。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

果胶,酯化度为62.04%,三门峡富元果胶工业有限公司生产;十二烷基甜菜碱(BS-12),分析纯,上海楚星化工有限公司生产;吡啶美辛(IDM),纯度为99%,河北永丰药业有限公司生产;氯化钙,分析纯,天津大学科威公司生产;氯化锌,分析纯,天津大学科威公司生产;氢氧化钠,分析纯,天津市化学试剂一厂生产。

ZRS-8G-智能溶出度测定仪,天津海益达科技有限公司生产;UV-1800型紫外可见分光光度计,上海美普达仪器有限公司生产;JSM-6380扫描电子显微镜,FEI公司生产。

1.2 凝胶球的制备及粒径粒重的测定^[7]

向4%(w/v)果胶液中加入0.5 mol/L NaOH溶液,降酯30 min,随后加入一定浓度的十二烷基甜菜碱并使其分散,然后加入一定量的吡啶美辛原料药,超声10 min分散成均匀的混悬液;用注射器(针头直径为0.8 mm,针头高度约2 cm)将均匀的混悬液滴入到一定浓度的CaCl₂溶液后胶凝固化10 min,过滤,洗涤,将所得凝胶球在50℃的电热板上干燥24 h后得到成品。取同一批次50颗干微球,精密称定,测定其颗粒的质量,再用直尺测量粒径,计算平均值。

烷基甜菜碱-果胶锌凝胶球按同样的方法制备。

1.3 载药量与包封率的测定^[8]

称取干燥凝胶球样品约100 mg,在研钵中充分研磨,用甲醇充分萃取吡啶美辛。萃取完成后,将萃取液在4 000 r/min下离心10 min,使其分离充分,得到上清液。以甲醇为空白对照液,在特征吸收波长320 nm处测定样品溶液的吸光度值,代入标准方程进行计算得到凝胶球中吡啶美辛的含量,最后计算载药量(drug loading, DL)和包封率(encapsulation efficiency, EE):

$$DL = (M_{AQ}/M_{WP}) \times 100\%$$

$$EE = (M_{AQ}/M_{TQ}) \times 100\%$$

其中: M_{AQ} 为载入凝胶球的药物质量, M_{WP} 为凝胶球总质量, M_{TQ} 为投入的药物质量。

1.4 体外模拟小肠液中释药性能的测定^[9]

按《中华人民共和国药典》,采用浆法在转速50 r/min、温度(37±0.2)℃下进行体外释放研究。将300 mg凝胶球放入盛有900 mL小肠模拟液(pH=6.8的磷酸盐缓冲溶液)的溶出杯中,考察KTP的释放。每隔一定时间取样5 mL(同时补加5 mL相应缓冲液),透过0.45 μm的过滤膜,稀释定容滤液,在320 nm波长处对KTP进行紫外吸光度测定,计算释药率(drug release, DR):

$$DR = (W_r/W) \times 100\%$$

其中: W_r 为凝胶球中释放出的药物质量; W 为凝胶球中药物的初始质量。

1.5 凝胶球表观形态观察

将制备好的样品用KYKY SBC-12小型离子溅射仪进行喷金处理,喷金完成之后,放在JSM6380LV扫描电子显微镜下进行扫描。

2 结果与讨论

2.1 钙、锌体系凝胶球的性能研究

2.1.1 钙体系凝胶球的性能

将果胶与十二烷基甜菜碱复合,以氯化钙为交联剂,根据1.2中所述的方法制备载荷吡啶美辛钙体系凝胶球,采用单因素法考察BS-12质量分数、药物质量分数、交联剂质量分数对凝胶球粒径、粒重、载药和包封等性能指标的影响。结果如表1所示。

由表1中可以看出,随着BS-12质量分数的增加,凝胶球的平均粒径与平均粒重逐渐增加,载药量和包封率均呈先增加再降低的趋势,且比未加入BS-12有明显提高;随着吡啶美辛质量分数的增加,凝胶球的平均粒径和粒重变化不大,载药量和包封率均先增加再下降,药物质量分数为1.8%时得到的凝胶球具有最高的载药量和包封率,分别为12.09%和55.67%;随着氯化钙质量分数的增加,凝胶球粒径和粒重均逐渐增加,载药量和包封率均先增加再下降,与添加BS-12对凝胶球性能的影响一致。

2.1.2 锌体系凝胶球性能

将果胶与十二烷基甜菜碱复合,以氯化锌为交联剂,根据1.2中所述方法制备载荷吡啶美辛锌体系凝胶球,考察BS-12质量分数、药物质量分数、交联剂质量分数对凝胶球粒径、粒重、载药和包封等性能的影响,结果如表2所示。

表 1 十二烷基甜菜碱加入量对钙体系凝胶球性能的影响

 $(\bar{x} \pm s, n=3)$

变量(w/v)	取值	平均粒径/mm	平均粒重/mg	载药量/%	包封率/%	8 h 释药率/%
BS-12 质量分数/%	0	0.86±0.22	0.53±0.12	8.52±0.17	33.89±0.11	59.34±0.19
	1.5	0.98±0.23	0.61±0.12	9.17±0.34	38.61±0.25	45.55±0.12
	2.1	0.94±0.20	0.68±0.11	12.09±0.20	55.67±0.12	27.11±0.15
	2.7	0.98±0.21	0.83±0.12	11.09±0.14	47.58±0.22	44.68±0.21
药物质量分数/%	1.4	0.90±0.23	0.69±0.12	4.82±0.09	28.18±0.13	46.72±0.22
	1.8	0.94±0.20	0.68±0.11	12.09±0.20	55.67±0.12	27.11±0.15
	2.2	0.92±0.25	0.61±0.21	8.44±0.12	26.43±0.22	47.69±0.16
CaCl ₂ 质量分数/%	4	0.96±0.21	0.72±0.21	7.74±0.11	21.91±0.12	53.42±0.21
	6	0.94±0.20	0.68±0.11	12.09±0.20	55.67±0.12	27.11±0.15
	7	1.12±0.23	1.00±0.13	7.03±0.16	37.05±0.14	28.83±0.21

表 2 十二烷基甜菜碱加入量对锌体系凝胶球性能的影响

 $(\bar{x} \pm s, n=3)$

变量(w/v)	取值	粒径/mm	粒重/mg	载药量/%	包封率/%	8 h 累积释药率/%
BS-12 质量分数/%	0	0.98±0.17	0.83±0.13	2.37±1.21	11.54±2.03	56.33±2.34
	1.5	1.04±0.13	0.89±0.12	2.89±1.11	14.87±2.34	24.49±2.23
	2.1	1.02±0.15	0.91±0.14	5.89±1.21	29.15±2.88	15.26±2.14
	2.7	1.10±0.13	1.16±0.16	3.02±1.07	19.30±2.32	32.35±1.98
药物质量分数/%	1.4	1.04±0.22	0.96±0.12	3.80±1.23	27.53±2.88	45.55±1.33
	1.8	1.02±0.15	0.91±0.14	5.89±1.21	29.15±2.88	15.26±2.14
	2.2	1.00±0.22	0.95±0.11	2.32±1.20	9.99±1.33	40.70±2.20
ZnCl ₂ 质量分数/%	4	0.96±0.11	0.76±0.16	2.95±1.21	13.81±2.34	40.70±2.13
	6	0.99±0.23	0.88±0.11	4.46±1.23	24.04±2.23	37.01±1.35
	7	1.02±0.15	0.91±0.14	5.89±1.21	29.15±2.88	15.26±2.14

由表 2 可以看出,随着 BS-12 质量分数的增加,凝胶球的平均粒径与平均粒重逐渐增加,载药量和包封率均呈先增加再降低的趋势;随着吡啶美辛质量分数的增加,凝胶球的平均粒径和粒重变化不大,载药量和包封率均先增加后下降,药物质量分数为 1.8% 时,凝胶球具有最高的载药量和包封率,分别为 5.89% 和 29.15%;随着氯化锌质量分数的增加,凝胶球粒径和粒重均逐渐增加,载药量和包封率均逐渐增加。十二烷基甜菜碱是一种天然的小分子两性表面活性物质,在酸性及碱性条件下均具有优良的稳定性、配伍性。这是十二烷基甜菜碱提高果胶凝胶球对药物的载药能力的原因。

综合表 1、表 2 可以看出,添加 BS-12 后,果胶钙体系和果胶锌体系的粒径、粒重均增大;在果胶钙体系中,载药量从 8.52% 增加到 12.09%,包封率从 33.89% 增加到 55.67%;在果胶锌体系中,载药量从 2.37% 增加到 5.89%,包封率从 11.54% 增加到

29.15%。所以,添加 BS-12 对果胶钙体系与果胶锌体系的载药量及包封率都有显著地提高,并且对果胶锌体系(增大 2 倍以上)的影响更大。

2.2 钙、锌体系凝胶球的释药性研究

2.2.1 钙体系凝胶球的释药性

载荷吡啶美辛果胶钙体系球的释药曲线如图 1 所示。由图 1(a) 可以看出,当 BS-12 质量分数为 0 时,快速释药,3 h 达到最大释药率;加入 BS-12 后,凝胶球药物释放速率减缓,当 BS-12 质量分数为 1.5% 和 2.7% 时,减缓药物释放的程度较弱,但当 BS-12 质量分数为 2.1% 时能明显减缓药物释放,凝胶球 8 h 累积释药率下降了 27.11%。表明 BS-12 的添加一定程度上减缓钙体系凝胶球药物释放,适当添加 BS-12 能减缓药物的释放,BS-12 添加量过高或者过低减缓药物释放的效果较弱,这是由于 BS-12 质量分数过高时,过多的 BS-12 会造成 Ca²⁺ 与果胶的交联疏松,使整个凝胶球的凝胶骨架松散,

导致药物提早释放。由图 1(b)可以看出,当吡啶美辛质量分数为 1.4% 和 2.2% 时,凝胶球 8 h 释药率分别为 46.72% 和 47.69%,十分接近;当吡啶美辛质量分数为 1.8% 时,释药率为 27.11%。由图 1(c)可以看出,当氯化钙质量分数为 4% 时,8 h 释药率为 53.42%,当氯化钙质量分数为 6% 和 7% 时,释药率分别为 27.11% 和 28.83%。综上所述,钙体系凝胶球的最佳配方为:BS-12 质量分数为 2.1%,吡啶美辛质量分数为 1.8%,氯化钙质量分数为 6%。

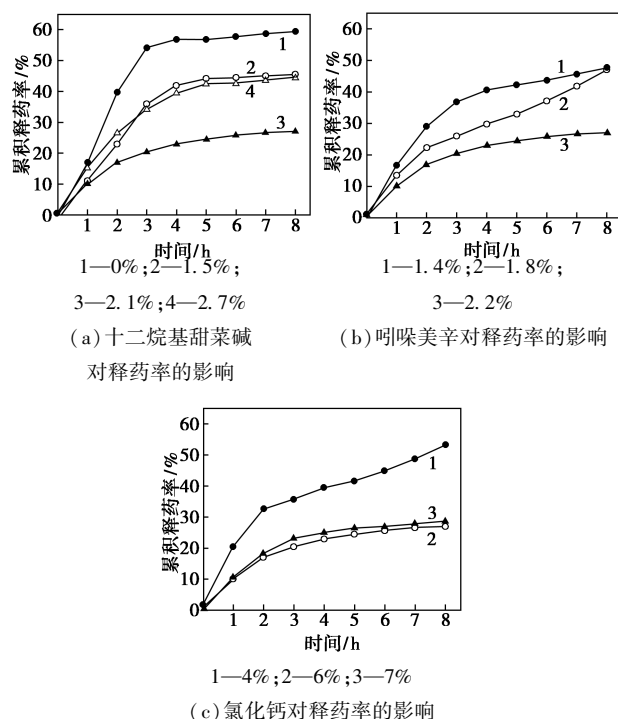


图 1 不同条件下制备的载吡啶美辛果胶钙凝胶球的释药曲线 ($n=3$)

2.2.2 锌体系凝胶球的释药性

载吡啶美辛果胶锌体系球的释药曲线如图 2 所示。由图 2(a)可以看出,BS-12 质量分数为 0 时,凝胶球的释药率为 56.33%;加入 BS-12 后,凝胶球药物释放速率减缓,当 BS-12 质量分数为 2.1% 时,凝胶球的 8 h 释药率为 15.26%,表明 BS-12 的添加一定程度上减缓锌体系凝胶球药物释放,具有一定的缓释潜能。因此 BS-12 的最佳质量分数为 2.1%。由图 1(b)可以看出,当吡啶美辛质量分数为 1.4% 和 2.2% 时,凝胶球 8 h 释药率分别为 45.55% 和 40.70%,十分接近;当吡啶美辛质量分数为 1.8% 时,释药率为 15.26%。由图 1(c)可以看出,当氯化锌质量分数为 4% 时,8 h 释药率为 40.7%,当氯化锌质量分数为 6% 和 7% 时,释药率分别为 37.01% 和 15.26%。综上所述,锌体系凝胶球

的最佳配方:BS-12 质量分数为 2.1%,吡啶美辛质量分数为 1.8%,氯化锌质量分数为 7%。

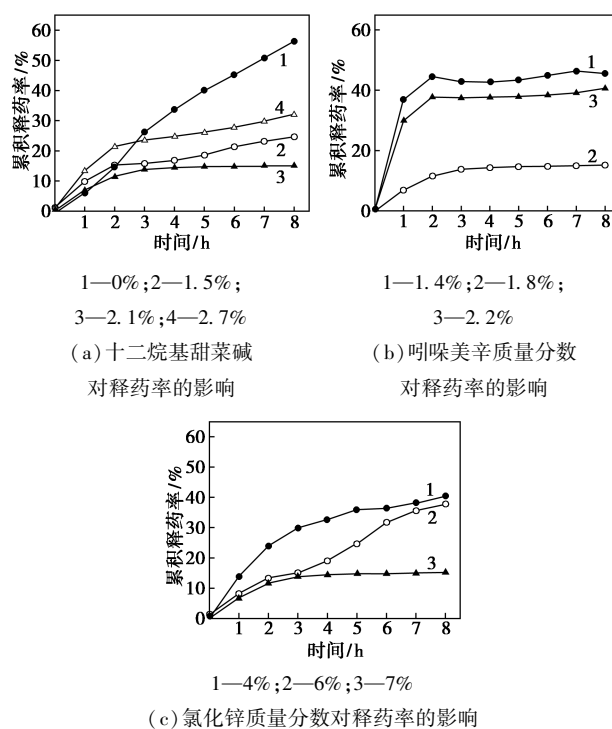


图 2 不同条件下制备的载吡啶美辛果胶锌凝胶球的释药曲线 ($n=3$)

果胶钙体系和果胶锌体系的性能对比:在果胶钙体系中,BS-12 质量分数为 0 时,8 h 累积释药率为 59.34%,加入 BS-12 后,释药率最低下降为 27.11%;在果胶锌体系中,BS-12 的加入使 8 h 累积释药率从 56.33% 降到 15.26%。所以,BS-12 的加入对果胶锌体系的释药性能影响较大。小分子表面活性物质十二烷基甜菜碱和果胶复合能降低药物在上消化道的释放速率,这是由于十二烷基甜菜碱的引入提高了果胶的疏水性,降低了药物的释放速度,使药物更少地渗漏在释放介质中^[10]。

吡啶美辛质量分数对两体系释药性能一致,吡啶美辛质量分数过高或过低,凝胶球的释药率变化不大,释药率较高。当吡啶美辛质量分数过高时会导致凝胶球的释药率增大即释药性能变差,这是因为包载过多的药物时会减弱果胶与锌离子的交联作用力^[11],水分子一旦进入就会令凝胶球胀破崩解释药。

交联剂与果胶通过静电作用形成蛋盒结构,凝胶网状结构更紧密,减少其通透性,从而影响药物释放。交联剂质量分数较低时,交联不充分,因此导致药物无法牢固地固定在凝胶网络中。交联剂质量分数过高时又会导致凝胶网络过紧,会将药物分子挤到凝胶球的表面,从而在胶凝过程中散落到交联溶

液中。

此外,钙体系的释放速率整体比锌体系快,这是由钙和锌离子的结构特性决定^[12]。

2.3 凝胶球的形态特征

果胶钙凝胶球与烷基甜菜碱果胶钙凝胶球电镜扫描图如图 3 所示。由图 3 可以看出,果胶钙凝胶球表面粗糙不平,加入烷基甜菜碱后表面光滑圆整度好。放大至 3 000 倍,观察凝胶球切面图,果胶钙凝胶球内部显示出明显的空洞,而加入烷基甜菜碱后空洞明显减少。果胶锌凝胶球与烷基甜菜碱果胶锌凝胶球电镜扫描图如图 4 所示。由图 4 可以看出,果胶锌体系凝胶球表面及切面的电镜图均与相应条件下果胶钙体系凝胶球相似。因此,添加

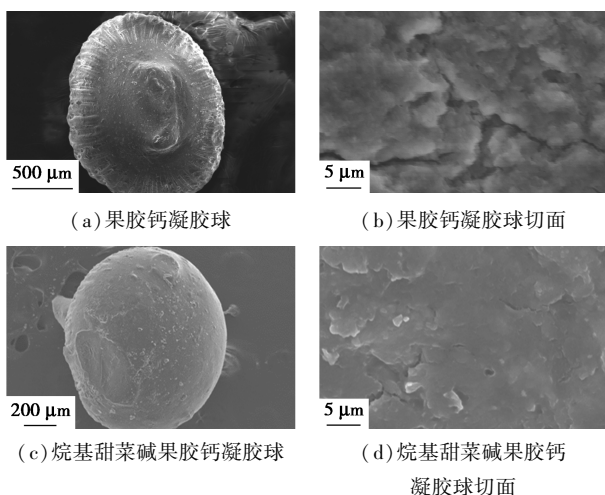


图 3 果胶钙凝胶球与烷基甜菜碱果胶钙凝胶球电镜扫描图

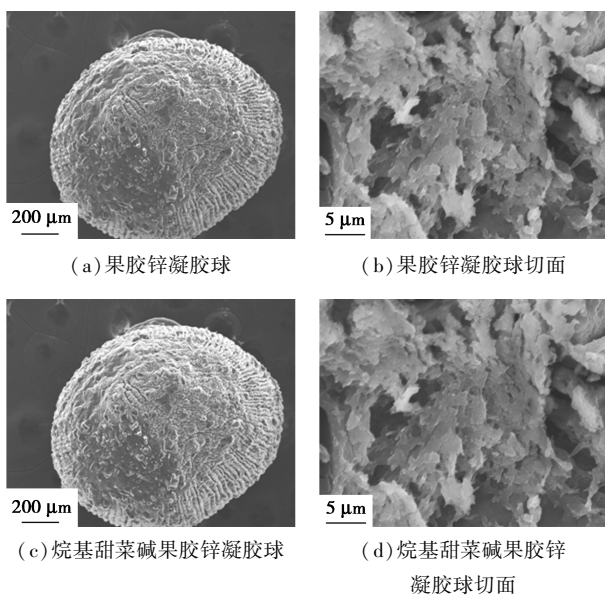


图 4 果胶锌凝胶球与烷基甜菜碱果胶锌凝胶球电镜扫描图

BS-12 后,凝胶球表面改善,内部空洞减少,这是药物释放减缓的直接原因。

3 结论

(1) 十二烷基甜菜碱质量分数为 2.1% 时的效果最好且比未加入 BS-12 释药率减低。

(2) 对于凝胶球的载药量来说药物质量分数为 1.8% 时性能最佳,由累积释药率可以看出,当吡哆美辛质量分数过高时会导致凝胶球的释药性能变差。

(3) 6% 的氯化钙溶液载药和释药均最佳。7% 的氯化锌载药和释药性能最佳。

(4) 果胶钙和果胶锌凝胶相比,加入 BS-12 后两体系的载药量和包封率都显著地提高,且果胶钙体系均大于果胶锌体系;加入 BS-12 后两体系释药均下降,十二烷基甜菜碱的加入对果胶锌体系的释药性能影响较大。果胶锌体系的缓释潜能稍强。

参考文献

- [1] 王勤,李华文,彭新生.蛇床子素微乳透皮吸收的研究[J].西北药学杂志,2010,25(4):286-287.
- [2] 王永辉,房树标,高丽,等.蛇床子素微乳的制备及其理化性质研究[J].世界中西医结合杂志,2014,(3):257-259.
- [3] 刘晓谦,王锦玉,仝燕,等.脂质体制备技术及其研究进展[J].中国药理学杂志,2011,46(14):1084-1088.
- [4] 邵红霞,奉建芳,龙晓英.脂质体包封率的测定方法[J].中南药学,2009,7(3):212-215.
- [5] 邱颖,朱玲,孙晓英.星点设计-效应面优化法与正交设计和均匀设计的比较及其在药剂研究中的应用[J].海峡药学,2011,23(2):18-20.
- [6] 龚素娟,蒋艳博,杨琳琳,等.冬凌草甲素脂质体的制备及影响因素考察[J].沈阳药科大学学报,2010,27(2):87-92.
- [7] 武文洁,李维爽,赵远航,等.卵磷脂/果胶锌复合卵磷脂果胶锌凝胶球的制备及性能[J].复合材料学报,2013,30(3):142-147.
- [8] Das S, Kayun N. Colon-specific delivery of resveratrol: Optimization of multi-particulate calcium-pectinate carrier [J]. Int J Pharm, 2010, 385(1):20-28.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版.四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [10] Liu L S, Fishman M L, Hicks K B, et al. Pectin/zein beads for potential colon-specific drug delivery: Synthesis and in vitro evaluation[J]. Drug Delivery, 2006, 13(6):417-423.
- [11] Wong T W, Colombo G, Sonvico F. Pectin matrix as oral drug delivery vehicle for colon cancer treatment [J]. Aaps Pharmscitech, 2011, 12(1):201-214.
- [12] Assifaoui A, Chambin O, Cayot P. Drug release from calcium and zinc pectinate beads: Impact of dissolution medium composition [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(2):388-393. ■