

文章编号: 1004-1656(2010)07-0858-06

基于埃洛石的载药凝胶小球的制备及性能研究

汪 琴^{1,2}, 张俊平¹, 王爱勤^{*}

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 采用离子凝胶法制备了一种新的壳聚糖-g-聚丙烯酸/埃洛石/海藻酸钠 (CTS-g-PAA/HT/SA) 凝胶小球。研究了 HT 含量对载药凝胶小球的溶胀性、封装效率和释放性能等的影响; 同时也讨论了凝胶小球的 pH 敏感性和双氯芬酸钠 (DS) 的释放行为。结果表明: HT 含量对载药凝胶小球的溶胀率、封装效率和累积释放率有明显的影响, 在 HT 含量为 30% 时, 溶胀率、封装效率和 12h 累积释放率分别达到 32.84%、91.07% 和 100%; 另外, 载药凝胶小球具有较好的 pH 敏感性; 在 pH = 2.1 的释放介质中 DS 几乎不释放, 而在 pH = 6.8 的释放介质中缓慢释放; DS 释药机理为溶胀控释。

关键词: 埃洛石; 凝胶小球; pH 敏感性; 控制释放; 双氯芬酸钠

中图分类号: O636.1 **文献标识码:** A

Preparation and properties of drug loaded hydrogel beads based on halloysite

WANG Qin^{1,2}, ZHANG Jun-ping¹, WANG Ai-qin^{*}

(1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract A novel hydrogel bead chitosan-g-poly(acrylic acid)/halloysite/sodium alginate was prepared by the ionic gelation method. Effects of halloysite content on swelling property, encapsulation efficiency and drug release for drug loaded in the composite hydrogel beads were investigated. A pH-sensitive and the release kinetics of diclofenac sodium from the hydrogel beads were also studied. The results indicated that the halloysite content obviously influenced the swelling ratio, encapsulation efficiency and diclofenac sodium cumulative release of the diclofenac sodium-loaded hydrogel beads. The biggest swelling ratio was 32.84, the encapsulation efficiency was 91.07% and the cumulative release after 12h was 100% when HT content was 30%. In addition, the hydrogel beads had good pH-sensitive. Diclofenac sodium (DS) in the hydrogel beads was hardly released in pH 2.1 buffer solution, but slowly in pH 6.8 phosphate buffer solution. The drug release behaviour of the composite hydrogel beads in pH 6.8 PBS was swelling-controlled mode.

Key words halloysite; hydrogel bead; pH-sensitive; controlled release; diclofenac sodium

敏感聚合物水凝胶是一类对外界刺激能产生敏感响应且具有三维网络结构的水凝胶^[1]。近年

来,它在医药方面的应用越来越受到人们的重视^[2,3]。随着敏感水凝胶研究的深入,聚合物黏土复合敏感水凝胶成为当前研究的热点。在聚合

收稿日期: 2010-02-08; 修回日期: 2010-05-17

基金项目: 中国科学院“优秀博士学位论文、院长奖获得者科研启动专项资金”资助项目

联系人简介: 王爱勤 (1963-), 男, 研究员; 主要研究方向: 功能高分子材料。Email: aqwang@licp.cas.cn

物水凝胶中加入黏土, 即可以提高聚合物水凝胶的机械强度和热稳定性, 也可以改善水凝胶的网络结构和载药水凝胶中药物的释放速度等^[4, 5]。

埃洛石 (Halloysite, HT) 是一种天然的沉积铝硅酸盐, 化学结构类似于高岭石。由于天然 HT 具有纳米级的中空管状结构、高比表面、较强的热稳定性和生物相容性等特点, HT 作为药物输送载体可实现靶向给药治疗。但是 HT 对药物的吸附效率较低, 而且释放速度较快, 药物突释明显^[6, 7]。HT 晶层中含有大量的 -OH, 可与烯径单体如丙烯酸和丙烯酰胺等反应形成水凝胶。当聚合物水凝胶中加入 HT 后, 其表面结构变得疏松多孔, 而且其吸附性明显增强^[8]。为此, 本文在复合水凝胶研究工作的基础之上^[9, 10], 制备了含双氯芬酸钠 (DS) 壳聚糖接枝聚丙烯酸 埃洛石 海藻酸钠 (CTS-g-PAA/HT/SA) 复合凝胶小球。考察了 HT 含量对载药凝胶小球溶胀性、包封效率和累积释放率的影响; 同时也讨论了凝胶小球的 pH 敏感性和凝胶小球中 DS 的释放行为, 研究结果为 CTS-g-PAA/HT/SA 复合凝胶小球在药物缓释中的应用奠定了实验基础。

1 实验部分

1.1 原料和仪器

埃洛石 (郑州金阳光陶瓷有限公司); 双氯芬酸钠 (DS 山东省兖州制药厂); 丙烯酸 (AA, 使用前减压蒸馏); 过硫酸铵 (APS 分析纯, 使用前重结晶); *N, N'*-亚甲基双丙烯酰胺 (MBA, 分析纯); 壳聚糖 (CTS 脱乙酰度 90%, 分子量 30 万, 浙江玉环金壳有限公司); 海藻酸钠 (SA, 上海化学试剂厂); 实验中所用其它试剂均为分析纯。

SPECORD 200 紫外分光光度仪 (德国耶拿分析化学股份公司); ZRS-8G 型智能溶出试验仪 (天津大学无线电厂); JSM-5600LV 扫描电镜 (JEOL 股份有限公司); 红外光谱仪 (美国 Thermo Nicolet NEXUS), 溴化钾压片; Mettler Toledo 320 型 pH 计 [梅特勒-托利多 (上海) 有限公司]。

1.2 CTS-g-PAA/HT 复合水凝胶的制备

参照文献^[7], 将 0.5 g CTS 溶解在 30 mL 浓度为 1% 乙酸溶液中, 转入配有机械搅拌器、回流冷

凝管和氮气导管的四颈瓶中, 通氮气并升温至 60 °C 后, 向体系中加入 0.10 g APS 引发剂, 10 min 后向体系中加入 3.55 g AA、0.15 g MBA 和计算量的 HT。60 °C 恒温反应 3 h 后用 2 mol/L 氢氧化钠中和使 pH = 7.0 样品在蒸馏水中达到溶胀平衡后用甲醇脱水。然后用滤纸除去样品表面的甲醇, 将样品置于干燥箱中 70 °C 恒温干燥, 粉碎过 120 目网筛备用。

1.3 载药 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球的制备

将 0.25 g DS 溶于 100 mL 水中, 搅拌全溶后加入 0.50 g CTS-g-PAA/HT, 在室温下吸附 3 h 后加入 3.0 g SA, 在 1000 r/min 下反应 4 h 然后滴加到 300 mL 3% CaCl₂ 中进行交联, 搅拌 2 h 后过滤, 用蒸馏水冲洗表面, 70 °C 下烘干, 得载药 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球。

1.4 溶胀率的测试

准确称量 0.25 g 凝胶小球, 加入到 250 mL pH = 6.8 磷酸缓冲溶液中 (PBS), 在设定的时间内取出, 然后在直径 0.14 mm 的网筛上放置 10 min, 再用滤纸吸去溶胀凝胶小球表面多余水分, 称重。溶胀率按下式计算:

$$\text{溶胀率} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \quad (1)$$

式中: m_1 —— 干样品的质量 (g), m_2 —— 达到溶胀平衡后凝胶的质量 (g)。

用适量的 NaH₂PO₄、Na₂HPO₄、NaCl 和 NaOH 配制不同 pH 的缓冲液, 然后再按上述操作过程测不同 pH 缓冲液中凝胶小球的溶胀率。

1.5 包封效率和载药率的测试

参照参考文献^[11]的测试方法。将 0.1 g 载药 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球分散到 10 mL pH 6.8 的 PBS 中, 充分溶胀后用玻璃棒捣碎, 再用 20 mL PBS 冲液玻璃棒, 超声 30 min, 然后将混合溶液在 5000 rpm 下离心 20 min, 取上清液定容到 50 mL, 在 280 nm 处测吸光度。包封效率和载药率分别按下式计算:

$$\text{包封效率} (\%) = \frac{\text{测试样品中药物的重量} (g)}{\text{理论上测试样中药物重量} (g)} \times 100$$

$$\text{载药率} (\%) = \frac{\text{测试样品中药物的重量} (g)}{\text{测试样品的重量} (g)} \times 100$$

1.6 体外药物释放

按《中国药典》2005 年版二部附录 XC 浆法^[12]。

称取在 105 °C 下干燥至恒重的载药凝胶小球 0.50 g 加入到 500 mL 缓冲溶液中 ($\text{pH} = 2.1$ 和 $\text{pH} = 6.8$), 在温度 (37 ± 1) °C 和转速 (50 ± 1) r/min 下, 每隔一定时间取释放液 5 mL (同时补充同温的缓冲液 5 mL), 过滤, 取中间 3 mL 滤液, 然后用缓冲溶液定容至 25 mL, 于 280 nm 处测定吸光度 (以缓冲溶液作空白), 然后计算样品的累积释放率。

2 结果与讨论

2.1 红外谱图

图 1 分别为 DS、CTS-g-PAA/HT/SA 和载药 CTS-g-PAA/HT/SA 的红外谱图。图 1(a) 中 1507 cm^{-1} 和 1453 cm^{-1} 分别为 DS 分子上的 N-H 变形振动和 C-N 伸缩振动^[13]。在图 1(b) 中, 1715 cm^{-1} 和 1429 cm^{-1} 分别为 PAA 和 SA 分子结构中 -COOH 和 -COO⁻ 伸缩振动峰, 1633 cm^{-1} 和 1323 cm^{-1} 为 CTS 分子结构中酰胺 I 和酰胺 II 重叠峰, 1031 cm^{-1} 和 908 cm^{-1} 分别为 HT 晶层中 Si-O-Si 伸缩振动峰和 A-OH 弯曲振动峰^[7]。当加入 DS 后, 在图 1(c) 谱图中出现了 1507 cm^{-1} 和 1453 cm^{-1} 两个新的吸收峰, 而上述其它吸收峰基本没有变化, 这说明 DS 分子已载入到 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球中, 并且为物理包埋。

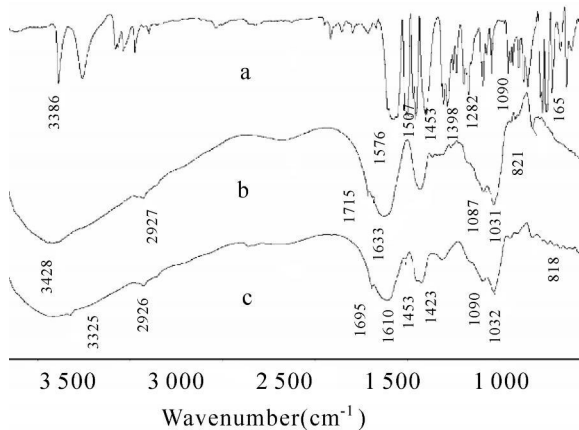


图 1 (a) DS、(b) CTS-g-PAA/HT/SA 和 (c) 载药 CTS-g-PAA/HT/SA 的红外谱图

Fig. 1 FTIR spectra of (a) DS (b) CTS-g-PAA/HT/SA and (c) drug loaded CTS-g-PAA/HT/SA

2.2 凝胶小球的形貌

图 2 是复合凝胶小球的形貌图。从图 2(a) 可见, 在溶胀状态下, CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球表面光滑, 颗粒大小约为 5 mm。室温干燥后, 颗粒

大小约为 2 mm [见图 2(b)]。扫描电镜下 CTS-g-PAA/SA 凝胶小球表面表面呈粗糙状 [见图 2(c)], 但加入 HT 的 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球的表面更疏松且呈现多孔结构 [见图 2(d)], 这说明 HT 的引入可进一步改变凝胶小球的表面结构。

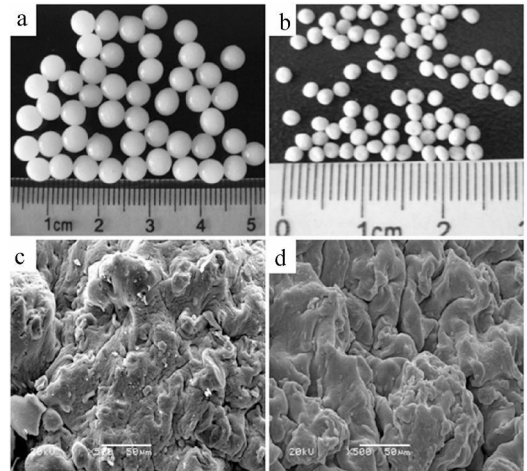


图 2 (a) 溶胀状态下 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球;

(b) 干燥状态下 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球;

(c) CTS-g-PAA/SA 凝胶小球 ($\times 500$);

(d) CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球 ($\times 500$) 的形貌图

Fig. 2 Morphology of (a) CTS-g-PAA/HT/SA hydrogel beads in a swollen state (b) CTS-g-PAA/HT/SA hydrogel beads in dried state (c) CTS-g-PAA/SA hydrogel bead ($\times 500$) and (d) CTS-g-PAA/HT/SA hydrogel bead ($\times 500$)

2.3 pH 敏感性

图 3 给出了 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球在不同 pH 缓冲介质中的溶胀率变化。从图 3 可见, 随 pH 增加, 凝胶小球的溶胀率先增加后降低。在酸性溶液中, 凝胶小球中的 -COO⁻ 转换为 -COOH, -COOH、-NHCO 和 -OH 之间的氢键作用增加了聚合物之间的物理缠绕, 从而增加了凝胶小球的物理交联密度, 溶胀率较低。随着 pH 的升高, -COOH 逐步转换成 -COO⁻, -COOH、-NHCO 和 -OH 之间的氢键作用减弱, 同时凝胶小球中静电排斥作用逐步增强, 从而促使凝胶小球快速溶胀。再进一步提高 pH, 由于缓冲液中存在大量的 PO_4^{3-} , 它可与凝胶小球中的 Ca^{2+} 反应生成沉淀。随着小球中 Ca^{2+} 含量的降低使海藻酸盐逐渐溶解, 凝胶小球破裂, 溶胀率降低。上述结果表明凝胶小球具有 pH 敏感性, 同时 pH 大于 7 后凝胶小球破裂, 有利于药物的释放。

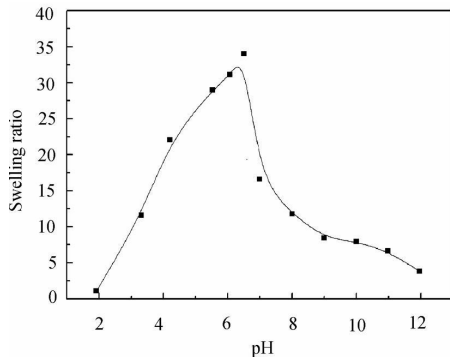


图 3 在不同 pH 缓冲介质中凝胶小球的溶胀率变化

Fig. 3 Variation of swelling ratio for CTS-g-PAA/HT/SA hydrogel beads in different pH solutions

2.4 HT 含量对溶胀率的影响

图 4 给出了在 $\text{pH} = 6.8$ PBS 中 HT 含量对载药 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球溶胀率的影响。从图 4 可以看出, 在同一时间内, 随着 HT 含量的增加, 凝胶小球的溶胀率先增加后降低, 当 HT 含量为 30% 时溶胀率最大; 同时还可以看出, 当 HT 含量相同时, 随着溶胀时间的延长, 溶胀率也是先增加后降低, 6h 达到最大。HT 的表面含有活性基团 -OH, 在复合水凝胶的制备过程中, HT 晶层表面上结构 -OH 和有机单体发生共聚, 在一定程度上起到类似交联的作用。适量地加入 HT, 可以减少线型聚合物的物理缠绕, 改善网络结构, 提高溶胀率。过量地加入 HT, 增加交联密度, 降低溶胀率; 同时, 过量 HT 也减少了聚合物中亲水基团 -COO⁻ 含量, 亦降低溶胀率。在缓冲液中凝胶小球一方面吸水溶胀, 另一方面受缓冲液中 PO_4^{3-} 离子的影响而溶蚀, 也就是说在 $\text{pH} = 6.8$ PBS 中存在三种磷酸根离子, 即 H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , 其中 PO_4^{3-} 与 Ca^{2+} 反应生成沉淀 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, (此沉淀在溶液中比海藻酸钙稳定), 由于凝胶小球中 Ca^{2+} 含量的降低而使得 SA 溶解, 从而导致凝胶小球溶蚀。溶胀率随时间的延长先增加后降低的主要原因是在 6 h 之前凝胶小球的溶胀速率大于凝胶小球的溶蚀速率, 小球吸水溶胀; 6h 之后溶胀速率小于溶蚀速率, 溶胀率降低。另外, 在溶胀率的测试过程中, 由于破裂产生的凝胶小颗粒 (直径小于 0.14mm) 被过滤掉, 溶胀后的水凝胶重量减少, 也是造成溶胀率降低的原因之一。

2.5 HT 含量对包封效率和载药率的影响

表 1 考察了 HT 含量对 DS 包封效率和载药率

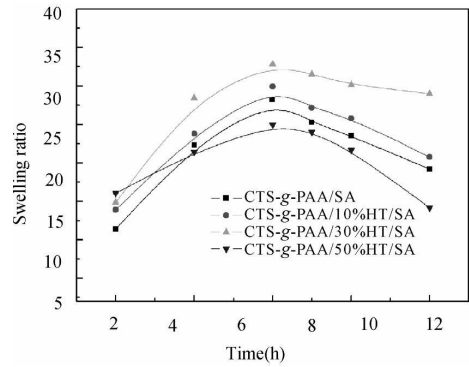


图 4 HT 含量对载药凝胶小球溶胀率的影响

Fig. 4 The effect of HT content on the swelling ratio of DS-loaded hydrogel beads

的影响。从表 1 可以看出, 随着 HT 含量的增加, 凝胶小球对 DS 的包封效率和载药率先增加后降低, 这与凝胶小球的溶胀率有关。溶胀率越大, 聚合物凝胶的粘弹性越好, 则越有利于药物进入网络结构中。

表 1 HT 含量对包封效率和载药率的影响

Tab. 1 The effect of HT content on the encapsulation efficiency and drug loading of DS

样品	包封效率 (%)	载药率 (%)
CTS-g-PAA/SA	76.05	4.14
CTS-g-PAA/10% HT/SA	87.73	4.90
CTS-g-PAA/30% HT/SA	91.03	5.05
CTS-g-PAA/50% HT/SA	72.72	4.16

2.6 HT 含量对累积释放率和释药机理的影响

图 5 给出了在 $\text{pH} = 6.8$ PBS 中 HT 含量对载药 CTS-g-PAA/HT/SA 凝胶小球中 DS 累积释放率的影响。由图 5 可见, 随 HT 含量的增加, 载药凝胶小球对 DS 的累积释放率先增加后降低, 其变化趋势与溶胀率一致。

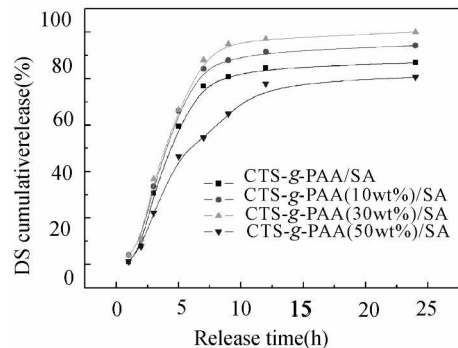


图 5 HT 含量对累积释放率的影响

Fig. 5 The effect of HT content on

Ritger^[14] 和 Siepmann 等人^[15] 的研究结果表明, 对于不同形状的药物载体, $M_t/M_\infty = k t^n$ 方程中 n 值不同。对于球形凝胶载体, 当 $n < 0.43$ 时药物

释放机理为 Fickian 扩散; 当 $0.43 < n < 0.85$ 时, 药物的释放机理既有 Fickian 扩散, 又有溶胀控制; 当 $n > 0.85$ 时, 为溶胀控制。表 2 给出了 HT 含量

对载药 CTS-g-PAA /HT /SA 凝胶小球释药机理的影响。从表 2 可见, 经计算 $n > 0.85$, 这说明凝胶小球的释药机理为溶胀控制。

表 2 HT 含量对载药凝胶小球释药机理的影响

Tab. 2 The effect of HT content on the release mechanism of DS baded CTS-g-PAA /HT /SA hydrogel beads

样品	n	k	r^2	释放机理
CTS-g-PAA /SA	0.900	0.124	0.941	溶胀控制
CTS-g-PAA /10% HT /SA	0.891	0.139	0.929	溶胀控制
CTS-g-PAA /30% HT /SA	0.873	0.152	0.954	溶胀控制
CTS-g-PAA /50% HT /SA	0.959	0.085	0.945	溶胀控制

2.7 载药凝胶小球在不同 pH 介质中的释放

在模拟体内消化道的条件下, 用 CTS-g-PAA /HT 与 SA 质量比为 1:6 DS 用量 6.0% 和 3% CaCl₂ 制得的凝胶小球进行药物释放研究, 其 DS 释放曲线如图 6 所示。从图 6 可见, 在 pH = 2.1 的缓冲液中, DS 几乎不释放; 在 pH = 6.8 PBS 中

释放 2 h 后 DS 的累积释放率达到 70% 左右, 7 h 后达到 90%, 10 h 后基本释放完。在 pH = 2.1 释放介质中, 由于凝胶小球的收缩使 DS 不能从小球中释放出来, 而在 pH = 6.8 PBS 中, 由于凝胶小球的溶胀 (见图 3) 使得 DS 有较好的释放。此实验结果表明 CTS-g-PAA /HT /SA 凝胶可作肠溶制剂。

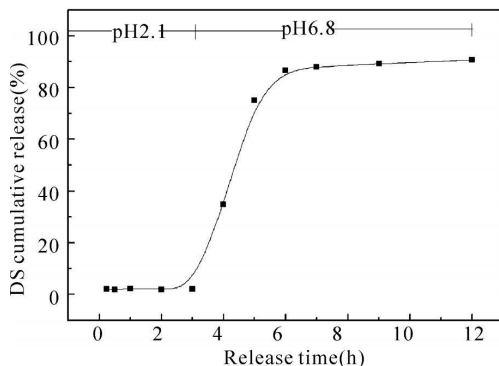


图 6 载药凝胶小球中 DS 在不同 pH 介质中连续释放

Fig. 6 The sequential release curves of DS from DS baded CTS-g-PAA /HT /SA hydrogel beads in different pH solutions

3 结论

HT 晶层结构中含有活性 -OH, 在一定的条件下可与 CTS 和 AA 发生接枝共聚反应形成 CTS-g-PAA /HT 复合凝胶, 然后再与 SA 通过离子凝胶法可得到 CTS-g-PAA /HT /SA 复合凝胶小球。此小

球不仅有疏松多孔的表面结构, 还具有 pH 敏感性, 对药物具有很好的包封和释放效果。HT 含量对凝胶小球的溶胀率、包封效率和累积释放率有明显的影响。以 DS 为药物模型, 在 pH = 2.1 的介质中 DS 不释放, 在 pH = 6.8 PBS 中有缓释效应, 该结果表明 CTS-g-PAA /HT /SA 凝胶可作肠溶制剂。

参考文献:

- [1] 何江川, 林强. 温敏水凝胶溶胀行为及其分离性能 [J]. 化学研究与应用, 2004, 16(2): 187-190
- [2] 向远清, 陈大俊. 快速响应智能水凝胶的研究进展 [J]. 化学世界, 2006, (5): 308-310
- [3] 沈海蓉, 钟明康, 李中东. 智能水凝胶在药物控释系统中的应用 [J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(7): 490-493
- [4] Xiang Y Q, Peng Z Q, Chen D J. A new polymer/clay nanocomposite hydrogel with improved response rate and tensile mechanical properties [J]. *Eur. Polym. J.*, 2006, (42): 2125-2132
- [5] 郑海芳, 成丰, 杨柳涛, 等. 丙烯酸树脂/蒙脱土纳米复合材料的制备研究 [J]. 化学研究与应用, 2008, 20(10): 1324-1326
- [6] Lewis S R, Deasy P B. Characterisation of halloysite for use as a microtubular drug delivery system [J]. *Int. J. Pharm.*, 2002, (243): 125-134
- [7] Lewis S R, Deasy P B. Use of coated microtubular halloysite for the sustained release of diltiazem hydrochloride and propranolol hydrochloride [J]. *Int. J. Pharm.*, 2003, (253): 145-157
- [8] Zheng Y A, Wang A Q. Enhanced adsorption of ammonium using hydrogel composites based on chitosan and halloysite [J]. *J. Macromol Sci A*, 2010, (47): 33-38
- [9] Wang Q, Zhang J P, Wang A Q. Preparation and characterization of a novel pH sensitive chitosan-g-poly(acrylic acid)/attapulgite/sodium alginate composite hydrogel bead for controlled release of diclofenac sodium [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2009, (78): 731-737
- [10] Zhang J P, Wang Q, Wang A Q. In situ generation of sodium alginate/hydroxyapatite nanocomposite beads as drug controlled release matrices [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, (6): 445-454
- [11] Kulkarni V H, Kulkarni P V, Keshavayya J. Glutaraldehyde crosslinked chitosan beads for controlled release of diclofenac sodium [J]. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 103: 211-217
- [12] 郑筱萸, 蒋作君, 邵明立, 等. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 二部附录: 73-74
- [13] Iliescu T, Baia M, Kiefer W. FT-Raman, surface-enhanced Raman spectroscopy and theoretical investigations of diclofenac sodium [J]. *Chem. Phys.*, 2004, 298: 167-174
- [14] Ritger P L, Peppas N A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs [J]. *J. Control Rel.*, 1987, (5): 23-36
- [15] Siepmann J, Peppas N A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) [J]. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2001, (48): 139-157

(责任编辑 罗娟)