

[15] 白云娥, 袁鹏飞, 王庆辉, 等. HPLC-UV 波长转换法测定玄参药材及饮片中哈巴昔与哈巴俄昔的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36 (19): 2697-2702.

[16] 龚友兰, 刘东亮, 龙亦文, 等. 均匀试验法优选玄参总环烯醚萜昔提取工艺[J]. 中医药导报, 2016, 22 (24): 43-46.

卵磷脂/果胶锌凝胶球在3种缓冲液中的释放行为

谭丽珠, 赵基思, 张分地, 陈容容, 何婷香, 武文洁*
(天津科技大学化工与材料学院, 天津 300457)

摘要: 目的 研究卵磷脂/果胶锌凝胶球在3种缓冲液中的释放行为。方法 以酮洛芬为模型药物, 果胶、卵磷脂、氯化锌为原料, 制备凝胶球。然后, 以溶胀度、释药率、锌离子含有量为指标, 考察凝胶球在不同缓冲液 (Sorensen、Mc Ilvaine, 含磷酸盐; Tris, 不含磷酸盐) 中的溶胀及释放行为。结果 在 Mc Ilvaine 缓冲液中, 凝胶球破碎严重, 释药率高; 在 Sorensen 缓冲液中, 凝胶球逐渐变小但不破碎, 释药率低, 两者均有白色不溶物产生; 在 Tris 缓冲液中, 凝胶球形状不变, 释药率介于其他2种缓冲液之间, 无白色不溶物产生。添加卵磷脂后, 凝胶球溶胀度、释药率降低, 锌离子释放率提高。结论 卵磷脂/果胶锌凝胶球的释放行为受缓冲液组成影响, 卵磷脂对其有疏水和缓释作用。

关键词: 卵磷脂; 果胶锌; 凝胶球; 释放行为; 缓冲液

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)06-1297-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.06.014

Release behaviors of lecithin/zinc pectin gel beads in three buffer solutions

TAN Li-zhu, ZHAO Ji-si, ZHANG Fen-di, CHEN Rong-rong, HE Ting-xiang, WU Wen-jie*
(College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

KEY WORDS: lecithin; zinc pectin; gel beads; release behaviors; buffer solutions

果胶在胃肠道上部不消化, 但会被结肠菌群降解, 故其凝胶球具有结肠定位特性, 广泛用于药物制剂研究^[1-4], 然而也存在易溶胀的缺点。为了实现结肠定位给药的目的, 课题组^[5-6]前期通过添加卵磷脂与果胶复合制备凝胶球, 研究释药性能, 发现药物释放特性与凝胶球中残存金属离子含有量有一定相关性, 值得进一步深入研究。

研究表明, 体外模拟液常采用磷酸盐缓冲液^[7-9], 但仅考虑缓冲液 pH 值并不能充分反映药物释放和凝胶球溶胀行为。本实验选择含磷酸盐 (Sorensen, S; Mc Ilvaine, M)、不含磷酸盐 (Tris, T) 的缓冲液进行体外模拟释放研究, 以期可更全面地反映药物释放特点。

1 材料与仪器

果胶 (酯化度 62% ~ 66%, 半乳糖醛酸 \geq 70%, 三门峡富元果胶工业有限公司); 卵磷脂 (PC-60, 北京华清美恒天然产物技术开发有限公司); 酮洛芬 (KTP, 含有量 \geq 98%, 上海笛柏生物科技有限公司)。三羟甲基氨基甲烷、氯化锌、柠檬酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氢氧化钠均为分析纯。ZRS-8G 型智能溶出度测定仪 (天津海益达科技有限公司); UV-1800 型紫外可见分光光度计 (上海美普达仪器有限公司); TAS-990 型原子吸收分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司)。

2 方法

2.1 凝胶球制备^[10] 向 4% 果胶液中加入

收稿日期: 2017-10-23

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, 硕士生, 从事天然产物提取与改性研究。Tel: (022) 60601172, E-mail: 13682106389@163.com

* 通信作者: 武文洁 (1963—), 女, 硕士, 教授, 从事天然产物提取与改性研究。Tel: (022) 60601172, E-mail: wwjie@tust.edu.cn

0.5 mol/L NaOH 溶液降酯 30 min 后, 加入 4% 卵磷脂并使其分散, 然后加入 2% KTP, 超声至形成均一的混悬液 (a 液), 再配制用 1 mol/L HCl 调节至 pH 为 2 的 4% 氯化锌溶液 100 mL (b 液), 最后用注射器 (针头直径 0.8 mm, 针头高度约 2 cm) 将 a 液均匀缓慢地滴入 b 液中形成凝胶球, 充分搅拌进行交联反应, 过滤, 洗涤, 50 °C 下干燥 24 h。精密称取同一批 50 颗干微球, 测定其粒重, 直尺测量粒径, 计算平均值。

2.2 载药量、包封率测定^[11] 称取干燥凝胶球约 (100 ± 0.5) mg, 研钵中捣碎研细, 加入 pH 6.8 的缓冲液到研碎粉末中继续研磨, 当药物充分溶出后, 将溶液和残渣倒入 100 mL 量瓶中定容, 离心, 取上清液, 0.45 μm 微孔滤膜过滤。稀释后, 在 260 nm 波长处测定吸光度, 计算载药量 (DL) 和包封率 (EE), 公式为 $DL = M_{AQ}/M_{WP} \times 100\%$ 、 $EE = M_{AQ}/M_{TQ} \times 100\%$ (M_{AQ} 为载入凝胶球药物质量, M_{WP} 为凝胶球总质量, M_{TQ} 为投入药物质量)。

2.3 溶胀度测定^[4] 称取凝胶球 (20 ± 0.5) mg, 置于 10 mL 缓冲液中。在 (37 ± 0.2) °C 下溶胀一定时间, 取出后吸干水份, 称定质量, 计算溶胀度 (SR), 公式为 $SR = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100\%$ (W_t 为在特定时间点凝胶球质量, W_0 为凝胶球初始质量)。

2.4 释药率、锌释放率测定^[12] 采用《中国药典》中的转篮法, 转速 50 r/min, 温度 (37 ± 0.2) °C。称取凝胶球 (300.0 ± 0.5) mg, 放入盛有 900 mL 缓冲液的溶出杯中, 每隔一定时间取样 5 mL (同时补加 5 mL 相应缓冲液), 0.45 μm 微孔滤膜过滤。在 260 nm 波长处测定紫外吸光度,

计算释药率 (DR), 公式为 $DR = W_r/W \times 100\%$ (W_r 为凝胶球所释放的药物量, W 为凝胶球中药物初始质量); 采用火焰原子吸收法计算锌离子释放率 (CR), 公式为 $CR = W_r/W \times 100\%$ (W_r 为凝胶球所释放的锌离子质量, W 为凝胶球中锌离子总量, 其中后者测定方法为采用湿法消解处理样品后, 火焰原子吸收法测定总锌含量^[12])。

2.5 缓冲液组成^[13] 见表 1。

表 1 缓冲液组成 (mol/L)

Tab. 1 Compositions of buffer solutions (mol/L)

缓冲液	Tris(T)	Mc Ilvaine(M)	Sorensen's(S)
三羟甲基氨基甲烷	0.5	—	—
盐酸	0.1	—	—
柠檬酸	—	0.1	—
磷酸氢二钠	—	0.2	1/15
磷酸二氢钾	—	—	1/15

2.6 扫描电镜 (SEM) 观察 凝胶球在相应缓冲液中浸泡 1 h 后, 滤纸吸干水分, 再将样品置于离子溅射仪喷金处理后进行 SEM 观察, 加速电压 20 kV。

3 结果

3.1 凝胶球性能 表 2 显示, 添加卵磷脂后凝胶球的粒径、粒重均有所增加。由于卵磷脂会降低果胶溶液的表面张力^[5-6], 增加其黏度, 故在交联过程中果胶液与氯化锌溶液接触的瞬间具有内聚作用。凝胶球载药量下降, 可能是卵磷脂增加了凝胶球的粒重, 从而使药物占凝胶球比例; 包封率增加, 可能是加入卵磷脂时其带正电的季铵离子与果胶中的羧酸根离子结合, 形成静电引力, 增大果胶疏水性^[14], 从而促进果胶与锌离子的交联作用, 使更多药物包入凝胶球。

表 2 凝胶球性能参数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab. 2 Property parameters for gel beads ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	粒径/mm	粒重/mg	载药量/(g 药·g 小球 ⁻¹)	包封率/%	6 h 累积释药率/%
T0	1.18 ± 0.22	1.34 ± 0.14	0.206 9 ± 0.013 6	82.57 ± 2.98	32.03 ± 3.02
M0	1.19 ± 0.23	1.33 ± 0.13	0.224 6 ± 0.012 3	94.58 ± 2.57	96.36 ± 1.67
S0	1.18 ± 0.28	1.36 ± 0.15	0.220 3 ± 0.012 6	90.97 ± 1.68	93.79 ± 1.90
T4	1.35 ± 0.26	1.79 ± 0.12	0.155 0 ± 0.014 3	87.57 ± 2.67	28.83 ± 2.56
M4	1.40 ± 0.18	1.74 ± 0.16	0.167 0 ± 0.015 5	97.63 ± 1.98	59.88 ± 2.50
S4	1.38 ± 0.20	1.80 ± 0.18	0.163 5 ± 0.013 3	95.32 ± 2.32	1.17 ± 2.33

注: T0、T4 分别为空白、加卵磷脂凝胶球在 T 中测定的累积释药率, M0、M4 分别为空白、加卵磷脂凝胶球在 M 中测定的累积释药率, S0、S4 分别指空白、加卵磷脂凝胶球在 S 中测定的累积释药率

3.2 缓冲液中溶胀行为 图 1A 显示, 在 3 种缓冲液中凝胶球的溶胀度均呈先增加后下降的趋势, 初期增加是凝胶球吸收水分所致, 后期下降则是由于药物及锌离子释放溶解在缓冲液中。在 M 中,

凝胶球溶胀度的下降稍有滞后, 但速度最快, 在溶胀过程中有白色不溶物产生, 并脱落在缓冲液中, 可能是其快速下降的原因, 然后溶胀度出现负值, 最后凝胶球破碎; 在 S 中, 溶胀度下降较缓, 也有

白色不溶物产生,但附在ZPG表面,可能会减缓药物释放,凝胶球逐渐变小但不会破碎;在T中,凝胶球形状始终保持不变,既不变小也不破碎,最后达到溶胀平衡,溶胀过程中无白色不溶物产生。在M和S中,存在 $H_2PO_4^-$ 、 HPO_4^{2-} 两种磷酸根离子,与锌离子作用时,分别产生 $ZnHPO_4$ 、 $Zn_3(PO_4)_2 \cdot 2H_2O$,这可能是白色不溶物产生的原因。

图1B显示,凝胶球在3种缓冲液中的最高溶胀度(40%~60%)整体上均低于图1a(80%左右),后期溶胀度下降速度也有所减缓,表明添加卵磷脂后凝胶球疏水性增强,它在S和T中均出现溶胀平衡,在S和M中也有白色不溶物产生,凝胶球破碎情况与图1A相同。

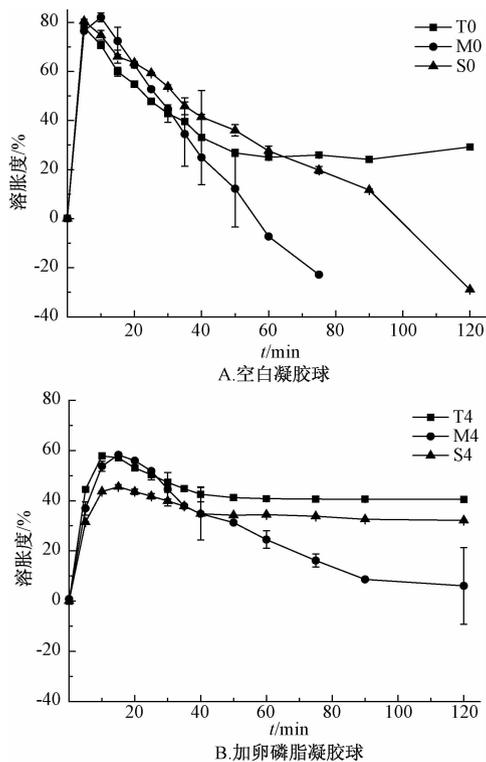


图1 凝胶球溶胀度曲线

Fig. 1 Swelling degree curves for gel beads

3.3 缓冲液中释药行为 图2A显示,在M中释药速率快,快速释放期在前3h,与凝胶球溶胀行为趋势相同;在S中,释药速率先慢后快,快速释放期在3h后,有白色物质产生附在凝胶球表面,与凝胶球溶胀行为趋势也类似;在T中,酮洛芬释放速率平缓,6h释药率也最低,可能是由于存在溶胀平衡,无浓度梯度,药物释放依靠自由扩散进行。

图2B显示,添加卵磷脂后,快速释放期消

失,6h释药率均有所下降,但程度不一,在M中下降了36.48%,在S中却下降了92.62%,而在T中仅下降了3.21%,表明卵磷脂可降低释药率,一定程度上增强凝胶球缓释性能。在M中,白色不溶物脱落在缓冲液中,可促进药物释放;在S中,白色不溶物附在凝胶球表面,从而减缓药物释放,并且在2种缓冲液中白色不溶物均是影响药物释放的主要因素。

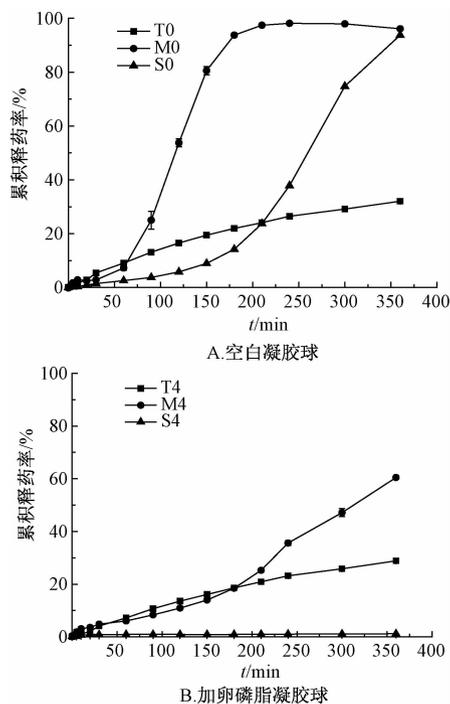


图2 凝胶球释药曲线

Fig. 2 Drug release curves for gel beads

3.4 缓冲液中锌离子释放

3.4.1 锌离子含有量 根据蛋盒结构理论,当金属离子与果胶中半乳糖醛酸的比值 R 为0.25时^[15-16],果胶中4个半乳糖醛酸单元与1个二价阳离子相互作用,形成稳定的凝胶。由表3可知,空白、加卵磷脂凝胶球中的 R 分别为0.80、1.10,远高于0.25,可认为锌离子比例高于半乳糖醛酸单元,凝胶球处于稳定状态,甚至有部分锌离子可能不在蛋盒内,而存在于外层表面,在加卵磷脂凝胶球中更加严重。

锌离子含有量对凝胶球的稳定性有重要作用,含有最小浓度(1.2 mmol/g)的锌即具有足够的稳定性^[17]。表3显示,在M中释放结束后,空白、加卵磷脂凝胶球中剩余锌离子含有量分别为0.68、0.97 mmol/g,低于1.2 mmol/g,释药后期凝胶球破碎;在S中,剩余锌离子含有量均高于

1.2 mmol/g (空白、加卵磷脂凝胶球分别为 1.13、1.67 mmol/g), 凝胶球比较稳定, 不破碎; 在 T

中, 剩余锌离子含有量均低于 1.2 mmol/g, 但凝胶球不破碎, 与上述 2 种缓冲液中的行为不同。

表 3 凝胶球中锌离子 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab. 3 Zinc ion in gel beads ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	锌离子总含有量/(mmol·g 小球 ⁻¹)	6 h 锌离子释放率/%	剩余锌离子/(mmol·g 小球 ⁻¹)	R
T0	1.90 ± 0.09	65.42 ± 2.11	0.66 ± 0.04	0.80 ± 0.04
M0	1.90 ± 0.09	48.96 ± 2.20	0.97 ± 0.04	
S0	1.90 ± 0.09	11.98 ± 1.79	1.67 ± 0.05	
T4	1.47 ± 0.10	77.17 ± 2.99	0.34 ± 0.05	1.10 ± 0.03
M4	1.47 ± 0.10	53.95 ± 1.36	0.68 ± 0.05	
S4	1.47 ± 0.10	23.23 ± 1.97	1.13 ± 0.03	

注: R = 锌离子总含有量/半乳糖醛酸含有量

3.4.2 锌离子释放行为 M 由 0.1 mol/L 柠檬酸、0.2 mol/L Na₂HPO₄ 配制, S 由 1/15 mol/L Na₂HPO₄、1/15 mol/L KH₂PO₄ 配制, 均存在 H₂PO₄⁻、HPO₄²⁻ 两种磷酸根离子, 两者组成差别不大, 并且释放过程中凝胶球均有白色不溶物生成。

图 4 显示, 在 M 中, 空白、加卵磷脂凝胶球中锌离子释放率均较高, 从凝胶球表面扩散, 然后与缓冲液中的磷酸根离子作用, 可能会产生 ZnH-PO₄^[18] (K_{sp} 为 10^{-6.6}^[19]), 释放过程中从凝胶球表面脱落, 释药率高, 促进药物释放^[4]; 在 S 中, 锌离子释放率均较低, 与缓冲液中的磷酸根离子可能形成 Zn₃(PO₄)₂·2H₂O (K_{sp} 为 10⁻³⁵^[20]), 包裹在凝胶球表面, 释药率低, 减缓药物释放; 在 T 中, 不含磷酸根离子, 锌离子释放率最高, 无白色不溶物产生, 缓冲液成分与锌离子不发生作用, 对药物释放的影响较小。

3.5 形态学分析 由图 5 可知, 与浸泡前相比, 凝胶球在 M 中发生破碎, 在 S 中完整, 在 T 中形状基本不变。在 M、S 中, 凝胶球表面的梳齿状纹路消失, 这是由于凝胶球表面存在白色不溶物, 放

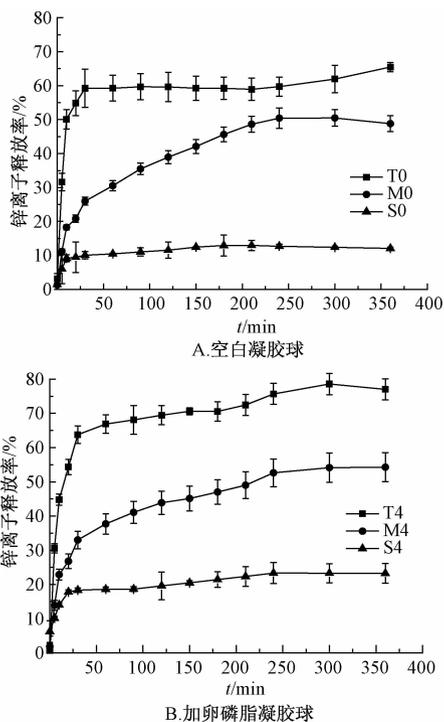


图 4 锌离子释放曲线

Fig. 4 Release curves for zinc ion

大至 1 000 倍后发现, 两者外形不一 (图 6), 白色不溶物的成分也可能不同, 与前期分析一致。

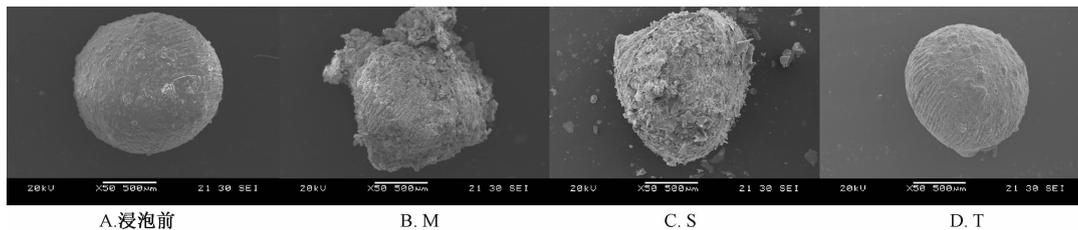


图 5 凝胶球 SEM 图 (×500)

Fig. 5 SEM images of gel beads (×500)

4 讨论

Mc Ilvaine (M)、Sorensen (S) 缓冲液均含磷酸盐, 但组成稍有不同; Tris 缓冲液 (T) 中不含

磷酸盐, 与 M、S 相比组成差异较大, 故凝胶球在 T 中的行为也与在 M、S 中明显不同。在 M 中, 锌离子释放率较高, 锌剩余量低, 小于凝胶球稳定存

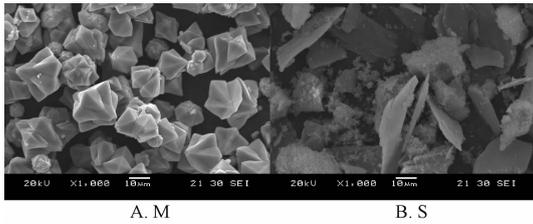


图6 凝胶球SEM图(×1 000)

Fig. 6 SEM images of gel beads (×1 000)

在所需锌离子含有量 1.2 mmol/g, 凝胶球稳定性差, 在释药过程中破碎严重, 释药较快, 白色不溶物成分可能为 $ZnHPO_4$, 释药过程中从凝胶球表面脱落, 进一步促进药物释放; 在 S 中, 锌离子释放率较低, 锌剩余量较高, 大于凝胶球稳定存在所需锌离子含有量 1.2 mmol/g, 凝胶球比较稳定, 在释药过程中逐渐变小, 并有白色沉积吸附在凝胶球表面, 可能会造成阻止释药, 白色不溶物成分可能是 $Zn_3(PO_4)_2 \cdot 2H_2O$, 并包裹在凝胶球表面, 减缓药物释放; 在 T 中, 锌离子释放率最高, 锌剩余量很低, 但在释药过程中能保持凝胶球形状, 无白色不溶物产生。

在 3 种缓冲液中, 添加卵磷脂后均导致凝胶球最大溶胀度明显下降, 在 S、M 中药物释放曲线的快速释药期消失, 6 h 累积释药率均降低 (S 中最显著, M 中次之, T 中最低), 锌离子释放率升高, 显示了卵磷脂对凝胶球的疏水和缓释作用。

参考文献:

[1] Tiwari V, Verma S, Verma S K, et al. Enhancement of site specific delivery of diloxanide furoate as an antiamebic drug [J]. *Eur J Pharm*, 2016, 86: 50-57.
[2] Chambin O, Dupuis G, Champion D, et al. Colon-specific drug delivery; Influence of solution reticulation properties upon pectin beads performance [J]. *Int J Pharm*, 2006, 321 (1-2): 86-93.
[3] Dhalleine C, Assifaoui A, Moulari B, et al. Zinc-pectinate beads as an *in vivo* self-assembling system for pulsatile drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2011, 414 (1-2): 28-34.
[4] Assifaoui A, Chambin O, Cayot P. Drug release from calcium and zinc pectinate beads; Impact of dissolution medium composition [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 85 (2): 388-393.
[5] 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

(4): 142-147.
[6] 刘敏, 赵远航, 王丽娟, 等. 载带姜黄素的卵磷脂/果胶锌卵磷脂果胶锌凝胶球的性能 [J]. *天津科技大学学报*, 2014, 29 (4): 44-47, 74.
[7] Boni J E, Brickl R S, Dressman J. Is bicarbonate buffer suitable as a dissolution medium? [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2007, 59 (10): 1375-1382.
[8] Fadda H M, Merchant H A, Arafat B T, et al. Physiological bicarbonate buffers; stabilisation and use as dissolution media for modified release systems [J]. *Int J Pharm*, 2009, 382 (1-2): 56-60.
[9] McConnell E L, Short M D, Basit A W. An *in vivo* comparison of intestinal pH and bacteria as physiological trigger mechanisms for colonic targeting in man [J]. *J Controlled Release*, 2008, 130 (2): 154-160.
[10] 武文洁, 李维爽, 赵远航, 等. 一种含有卵磷脂的果胶结肠靶向给药方法: 中国, CN102940888A [P]. 2013-02-27.
[11] Das S, N K. Colon-specific delivery of resveratrol: optimization of multi-particulate calcium-pectinate carrier [J]. *Int J Pharm*, 2010, 385 (1-2): 20-28.
[12] 马玉婷, 孙荣华, 李正. 火焰原子吸收光谱法测定咸鸭蛋中的锌 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2012, 22 (5): 1153-1154.
[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 324.
[14] 李维爽. 卵磷脂/果胶凝胶球的制备及结肠靶向性能研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2013.
[15] Khoder M, Tsapis N, Domergue-Dupont V, et al. Removal of residual colonic ciprofloxacin in the rat by activated charcoal entrapped within zinc-pectinate beads [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 41 (2): 281-288.
[16] Grant G T, Morris E R, Rees D A, et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model [J]. *Febs Lett*, 1973, 32 (1): 195-198.
[17] Xi M M, Zhang S Q, Wang X Y, et al. Study on the characteristics of pectin-ketoprofen for colon targeting in rats [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298 (1): 91-97.
[18] Fang Y P, Al-Assaf S, Phillips G O, et al. Binding behavior of calcium to polyuronates: Comparison of pectin with alginate [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 72 (2): 334-341.
[19] Zhang S L, Chen H H, Zhang X L, et al. The growth of zinc phosphate coatings on 6061-Al alloy [J]. *Surf Coat Tech*, 2008, 202 (9): 1674-1680.
[20] Fadda H M, Basit A W. Dissolution of pH responsive formulations in media resembling intestinal fluids; bicarbonate versus phosphate buffers [J]. *J Drug Deliv Sci Tec*, 2005, 15 (4): 273-279.