

陈 圆, 张 龙, 王 莹, 等. 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子体外释放动力学研究[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(11): 280–282.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.086

金雀异黄素壳聚糖纳米粒子体外释放动力学研究

陈 圆¹, 张 龙^{1,2}, 王 莹², 刘天晴²

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300; 2. 扬州大学化学化工学院, 江苏扬州 225002)

摘要:采用透析法考察不同介质 pH 值和离子浓度对金雀异黄素壳聚糖纳米粒子体外释放的影响, 并采用零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程和双相动力学方程, 对纳米粒子的体外释放动力学进行探讨。结果表明, 该纳米粒子的体外释放与介质 pH 值和离子浓度有关, 随着介质 pH 值增大, 纳米粒子中药物释放量减少; 随着介质中离子浓度的增大, 纳米粒子的释药量相应增大。释药数据拟合显示, 金雀异黄素对照品在含 40% 乙醇的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的体外释放符合零级动力学方程, 呈线性释放, 释放速率常数为 0.122 min^{-1} ; 而该纳米粒子在释放介质中的释药行为符合双相动力学方程, 先快速释药, 后缓慢释放, 释放速率常数分别为 0.110 、 0.032 min^{-1} 。

关键词:金雀异黄素; 壳聚糖; 纳米粒子; 释放动力学; 释放速率常数

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0280-03

目前, 药物释放研究大致可分为混合药膜体系和大分子药物体系, 其中, 前者是使药物物理分散在生物大分子中, 即用生物大分子来包裹药物, 这类药物在溶出过程中必须通过生物大分子载体, 并在载体完全降解后才得以全部释放; 而后者是通过可降解生物大分子与药物分子之间化学相互作用形成化学键, 这类药物释药必须通过酶解或水解来进行。

壳聚糖 (chitosan)^[1-4] 作为一种天然生物材料, 因其具有良好的生物相容性和可降解性, 在医药领域的应用研究中, 已成为新型的纳米药物载体。金雀异黄素是一种存在于豆科植物中的天然异黄酮化合物, 具有广泛的抗肿瘤药理活性。文献[5]研究了金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的制备与性能表

征, 发现该纳米粒子不仅具有良好的负载能力, 还具有良好的缓释性能。然而, 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的具体释药模型还有待进一步阐释。目前, 药物体外释放模型归纳起来可分为动力学模型、概率分布模型、多项式模型、Logistic 模型、Gompertz 模型、Higuchi 模型等。本研究运用常用的零级动力学^[6]、一级动力学^[7]、Higuchi 动力学^[8-10]和双相动力学模型对金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放进行拟合, 探讨其释放动力学行为。

1 试验部分

1.1 试剂

乙醇 (AR, 国药集团化学试剂有限公司产品), 磷酸盐缓冲液 (Sigma 公司产品), 金雀异黄素 (99%, 上海融合医药科技发展有限公司产品), 金雀异黄素壳聚糖纳米粒 (自制), 去离子水。

1.2 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放性能测定

采用透析法研究不同介质 pH 值和离子浓度对金雀异黄素纳米粒体外释放性能, 释放试验同文献[5]所述, 用 UV-2550 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司) 测定所取样液中药物的含量, 进而计算累积药物释放量 (Q)。

收稿日期: 2014-12-20

基金项目: 江苏省研究生科技创新计划 (编号: CXZZ13_0893); 江苏省 2012 年度“青蓝工程”资助项目。

作者简介: 陈 圆 (1981—), 女, 江苏泰兴人, 博士, 副教授, 研究方向为药物新剂型。E-mail: jstzchenyuan@163.com。

通信作者: 张 龙 (1966—), 男, 江苏靖江人, 教授, 研究方向为药物新剂型, E-mail: longz98@163.com; 刘天晴 (1959—), 男, 江苏淮安人, 博士, 教授, 研究方向为胶体与界面化学, E-mail: tqliu@yzu.edu.cn。

[6] 车 达, 金 鑫, 陈莹莹, 等. 延边黄牛气肿疽间接 ELISA 诊断方法的建立[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(2): 1042–1044.

[7] Uzal F A, Hugenholtz P, Blackall L L, et al. PCR detection of *Clostridium chauvoei* in pure cultures and in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J]. Veterinary Microbiology, 2003, 91(2/3): 239–248.

[8] Halm A, Wagner M, Küfer J, et al. Novel real-time PCR assay for simultaneous detection and differentiation of *Clostridium chauvoei* and *Clostridium septicum* in clostridial myonecrosis[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2010, 48(4): 1093–1098.

[9] 姜丹丹, 金 鑫, 陈 莹, 等. 气肿疽梭菌套式 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医科学, 2010, 40(11): 1171–1174.

[10] 彭小兵, 李旭妮, 王 楠, 等. 二重 PCR 方法鉴别气肿疽梭菌和

腐败梭菌[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(3): 20–22.

[11] Lange M, Neirich H, Seyboldt C. Development and validation of a multiplex real-time PCR for detection of *Clostridium*[J]. Molecular and Cellular Probes, 2010, 24(4): 204–210.

[12] Kojima A, Uchida I, Sekizaki T, et al. Cloning and expression of a gene encoding the flagellin of *Clostridium chauvoei*[J]. Veterinary Microbiology, 2000, 76(4): 359–372.

[13] Vimr E R, Kalivoda K A, Deszo E L, et al. Diversity of microbial sialic acid metabolism[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2004, 68(1): 132–153.

[14] Frey J, Johansson A, Bürki S, et al. Cytotoxin CctA, a major virulence factor of *Clostridium chauvoei* conferring protective immunity against myonecrosis[J]. Vaccine, 2012, 30(37): 5500–5505.

1.3 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放动力学研究

运用零级动力学、一级动力学、Higuchi 方程和双相动力学方程,对金雀异黄素对照品和金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放数据进行模型拟合,考察药物释放的动力学方程和释放速率常数。

2 结果与分析

2.1 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放性能研究

前期研究结果显示^[5],金雀异黄素对照品的体外释放几乎与释放时间呈线性关系,在 7 h 内释放量 Q 达 94%,之后释放量趋于稳定;而其壳聚糖纳米粒子在释放 12 h 内释放量 Q 达到 64.38%,在 60 h 后释放量 Q 达到 96.07%。说明金雀异黄素壳聚糖纳米粒子具有明显的缓释效果,释放开始的前 12 h 内,纳米粒子中药物浓度与释放介质的浓度梯度较大,释放速率较快;而随着浓度梯度的减小,释放速率也相应减小。

在 pH 值 5.8、6.2、6.6、7.0、7.4 条件下,金雀异黄素壳聚糖纳米粒子释放 60 h 后,累积释放量分别为 97.7%、91.4%、90.7%、86.6%、85.6%,即随着释放介质的 pH 值增大,纳米制剂的药物释放量减少(图 1)。在 pH 值 5.8 的介质中释放 10 h 的释放率为 87.2%,而在 pH 值 7.4 的介质中 10 h 后释放率则为 60.4%,表明金雀异黄素壳聚糖纳米粒子对介质 pH 值具有一定的响应性。这可能是因为纳米粒子的壳壁是由壳聚糖与三聚磷酸钠离子交联形成,当释放介质的 pH 值越大时,阴离子浓度越大,与带正电荷的壳聚糖因为电荷作用相互吸引,使得药物释放的速率减缓。

图 2 为金雀异黄素壳聚糖纳米粒子分别在离子浓度为 0.02、0.04、0.08 mol/L 的释放介质中的释药行为。从图 2 可以看出,释药 10 h 后的释放率分别为 55.5%、71.6%、78.8%,而在 60 h 后的释放率则分别为 85.6%、90.5%、97.8%,即随着释放介质中离子浓度的增大,纳米粒子的释放速率和释药量相应增大,表明金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的释药率与介质离子浓度有关。这可能是因为介质中离子浓度

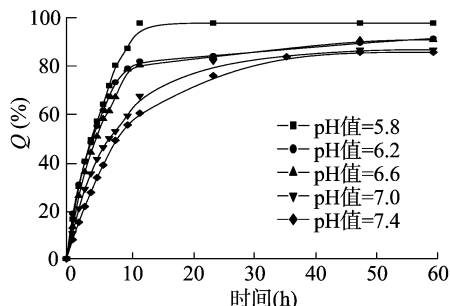


图1 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子在不同 pH 值介质中的体外释放曲线

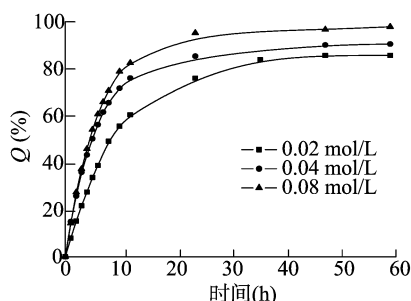


图2 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子在不同离子浓度下的体外释放曲线

越大,与纳米粒子内部越容易形成较大的浓度差,介质溶液就越容易进入纳米粒子内部而将药物溶出来。

2.2 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放动力学研究

由图 3 可知,金雀异黄素对照品的一级动力学方程 $[\ln(1-Q) = -0.311 4t]$ 、Higuchi 动力学方程 $(Q = 0.305 4 t^{1/2})$ 和双相动力学方程 $(Q = 1.657 9 - 0.838 1 e^{-0.105 39t} - 0.838 1 e^{-0.105 35t})$ 的拟合优度 R^2 分别为 0.958 0、0.866 4、0.970 0,而零级动力学方程 $(Q = 0.122 1t)$ 的拟合优度为 0.981 9,更接近 1,说明金雀异黄素的体外释放更符合零级动力学方程,呈线性释放,释放速率常数为 0.122 min^{-1} 。

由图 4 可知,金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的零级动力学

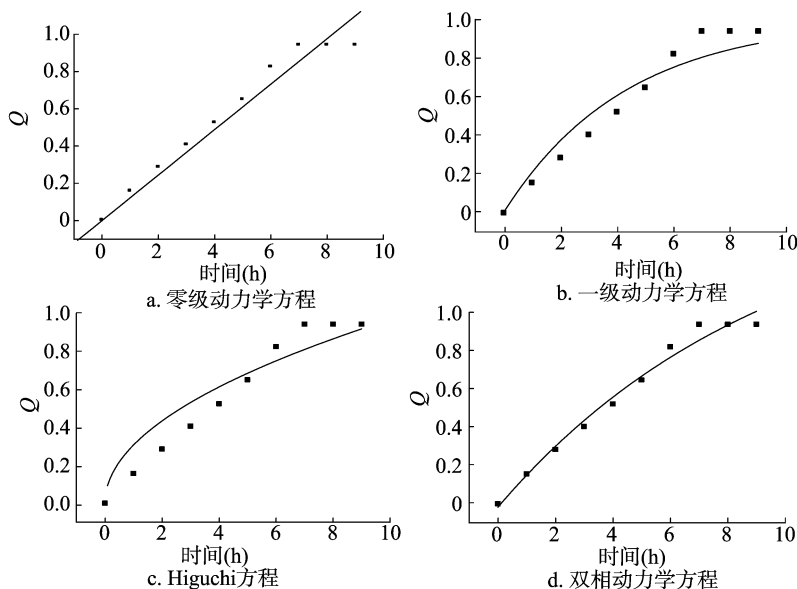


图3 金雀异黄素对照品体外释放模型拟合结果

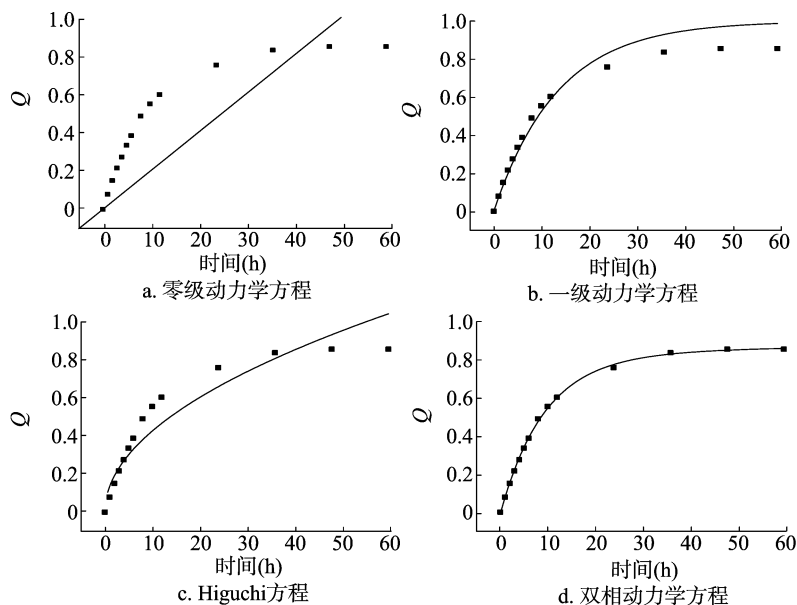


图4 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子体外释放模型拟合效果

方程($Q=0.020\ 0t$)、一级动力学 [$\ln(1-Q)=-0.041\ 7t$] 和 Higuchi 动力学 ($Q=0.134\ 6t^{1/2}$) 的拟合优度 R^2 分别为 0.862 1、0.947 8 和 0.881 2, 拟合度都不是很好; 而双相动力学方程 ($Q=0.874\ 9-0.789\ 3e^{-0.110t}-0.093\ 3e^{-0.032t}$) 的拟合优度为 0.998 8, 接近于 1, 说明金雀异黄素纳米粒的体外释放更符合双相动力学方程, 先快速释药, 后缓慢释放, 2 相的释放速率常数分别为 0.110、0.032 min^{-1} 。这可能是释药前, 由于纳米粒表面吸附了金雀异黄素, 所以释药较快, 使得药物到达靶部位后可迅速释放出较多药物, 达到较高浓度; 而随着释放的进行, 包裹在纳米粒内部的药物因为载体材料的溶解逐渐被释放出来, 释药速率相对较慢, 维持药效, 这样的释药行为有利于提高药物使用率。

3 结论

金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放行为与释放介质的 pH 值和离子浓度有关。通过对释药数据模型拟合可知, 金雀异黄素对照品体外释放速度较快, 符合零级动力学方程, 呈线性释放; 而双相动力学方程更符合金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的体外释放规律, 这种先快速释药、后缓慢释放的释药行为有利于提高药物的使用率。

参考文献:

- [1] Lü W, Luo J, Deng Y, et al. Biomaterials immobilized with chitosan for rechargeable antimicrobial drug delivery[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2013, 101(2): 447–455.
- [2] Sahoo D, Nayak P L. Synthesis and characterization of chitosan/cloisite 30B film for controlled release of ofloxacin[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2012, 123(5): 2588–2594.
- [3] Mishra D, Jain N, Rajoriya V, et al. Glycyrrhizin conjugated chitosan nanoparticles for hepatocyte – targeted delivery of lamivudine[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2014, 66(8): 1082–1093.
- [4] Sun J L, Jiang G Q, Wang Y J, et al. Thermosensitive chitosan hydrogel for implantable drug delivery: bending PVA to mitigate body response and promote bioavailability[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2012, 125(3): 2092–2101.
- [5] 王莹, 张龙, 刘天晴. 金雀异黄素壳聚糖纳米粒子的制备与释放性能研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 226–229.
- [6] Giovagnoli S, Blasi P, Ricci M, et al. Physicochemical characterization and release mechanism of a novel prednisone biodegradable microsphere formulation[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, 97(1): 303–317.
- [7] Wang H, Rempel G L. pH – responsive polymer core – shell nanospheres for drug delivery[J]. J Polym Sci Pol Chem, 2013, 51(20): 4440–4450.
- [8] Higuchi T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1961, 50(10): 874–875.
- [9] Higuchi T. Mechanism of sustained – action medication: Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1963, 52(12): 1145–1149.
- [10] Nair S B, Jyothi A N. Cassava starch – konjac glucomannan biodegradable blend films: *in vitro* study as a matrix for controlled drug delivery[J]. Starch – Stärke, 2013, 65(3/4): 273–284.