

β -环糊精-壳寡糖复合微球对氢化可的松载药特性的研究

罗淑怡 李乐凡 吴颖欣 申梓浩 张国光*

(广东海洋大学化学与环境学院, 广东 湛江 524088)

【摘要】 氢化可的松是传统的抗炎类和免疫抑制药物,但是由于药物本身溶解度较低,所以限制了它的疗效和应用范围。通过环氧氯丙烷交联制备 β -环糊精-壳寡糖复合微球包载氢化可的松,提升药物的给药性能。以氢化可的松作为目标药物来进行研究,提高氢化可的松的给药效率和生物利用度,使其能够在给药过程中更好地产生作用,将其载药于 β -环糊精-壳寡糖复合微球,改善传统口服的弊端。

【关键词】 壳寡糖; β -环糊精; 微球; 氢化可的松

壳寡糖(chitosan oligosaccharide)主要来源于甲壳素^[1-2],是公认的低分子量水溶性壳聚糖,其生物活性高于壳聚糖,具备带正电荷、呈碱性、易溶于水^[3]等特点,能抗菌、抗肿瘤^[4]等,具有优越的生物活性。 β -环糊精自身含有一个疏水空腔,具有较好的稳定性,能够形成稳定的多孔微球结构。通过制备 β -环糊精-壳寡糖复合微球,并负载氢化可的松,提升了药物的给药性能,探究其载药特性和其它生物特性提供依据。

一、仪器与药品

(一) 仪器

电子天平;台式高速冷冻离心机;真空冷冻干燥机;紫外可见分光光度计;傅里叶变换红外光谱仪(Invenio R,布鲁克(北京)科技有限公司);数显恒流泵;分析天平;恒温加热磁力搅拌器。

(二) 药品

壳寡糖; β -环糊精;氢化可的松;甲醇;氢氧化钠;环氧氯丙烷;山梨糖醇酐单油酸酯(Span-80);聚氧乙烯山梨糖醇酐单月桂酸酯(Tween-20);液体石蜡;乙醇;丙酮。

二、方法与结果

(一) β -环糊精-壳寡糖复合微球的制备

称取8g氢氧化钠固体于烧杯中,加入20.00mL蒸馏水溶解,搅拌至澄清透明,冷却至室温待用。称取4.00g β -环糊精,加入上述配好的

氢氧化钠溶液中,40℃下水浴搅拌,糊化30min。待其均匀分散形成澄清透明的溶液后,水浴降温至20℃,用恒流泵缓慢滴入6.5mL环氧氯丙烷,30min内滴完。反应完,立即加入现配的10mL 2g壳寡糖水溶液,快速搅拌反应1.5h。称取乳化剂[m(span-80):m(tween-20)=(3:1)]1.20g,溶于60.0g液体石蜡中,搅拌均匀待用。先将乳化好的液体石蜡升温至60℃,再将上述反应好的混合液倒入液体石蜡中,高速搅拌5min后,降低转速反应4h。

反应结束后,静置一段时间待溶液分层,倒去上层油相,将溶液及产物依次用盐酸、乙醇、丙酮洗涤数次,直至沉淀不再洗出油相,离心倒掉上层清液,必要时可用蒸馏水再次洗涤。洗涤完成后,将得到的白色沉淀放入冷冻干燥6h后即可得空白载药微球。

(二) β -环糊精-壳寡糖复合微球的制备

取一定质量的氢化可的松加入到20mL蒸馏水中制成氢化可的松悬浮液,为使其充分溶解,加入少量甲醇,将一定量的环糊精壳寡糖复合微球置于悬浮液中,50℃下搅拌一段时间后,自然冷却至室温,然后4℃冷藏,24h后取出,盐酸、乙醇、丙酮洗涤数次,放入冷冻干燥机中干燥6h至恒重,即得到载药微球冻干粉末。

(三) 空白微球红外表征

将空白的 β -环糊精-壳寡糖复合微球放置于

布鲁克红外光谱仪下对其进行红外表征,在波长4000~400cm⁻¹ 范围下扫描,分析上述实验制得的空白微球分子的结构及表面基团。

将空白 β-环糊精-壳寡糖复合微球利用布鲁克红外光谱仪扫描所得的谱图如图 2-1 所示。

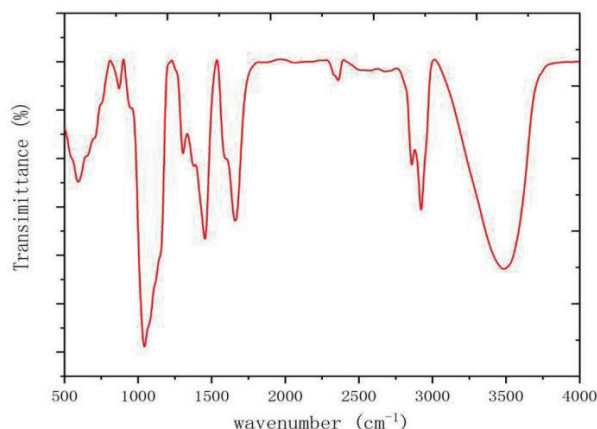


图 2-1

由上述谱图可以看出,成品空白微球在3000cm⁻¹ 附近处出现明显吸收峰,此峰主要为亚甲基的伸缩振动峰,说明 β-环糊精、壳寡糖与交联剂发生反应,亚甲基明显增多;在1600cm⁻¹ 附近出现了酰胺 C=O 伸缩振动吸收峰,此峰是壳寡糖的主要特征吸收峰^[5];1500 cm⁻¹ 处有羰基吸收峰,这说明 β-CD 与壳寡糖交联后产生了酰胺基,而酰胺带的羰基伸缩振动峰也出现在1500 cm⁻¹ 处,所以曲线在此处的吸收峰增强;在3500cm⁻¹ 处有吸收峰,说明 β-环糊精和壳寡糖交联后,-OH、NH₂ 功能依旧存在。综上所述,反应产物的吸收峰发生了变化,因此可以证明反应的发生。

(四) 包封率及载药量的测定

本实验通过测定紫外吸光度的方法得出载药微球的载药量和包封率。用共沉淀法载药后,将溶液离心分离出沉淀和上清液,取第一次离心的上清液适量,用紫外分光光度计测定滤液在药物最大吸收波长处的吸光度,代入药物的线性回归方程中计算得到药物的质量,再根据以下公式计算进而可求得微球的载药量 DL 和包封率 ER。

$$M_0 = M_2 - (A + 0.036/0.029) \times 20$$

$$DL (\%) = M_0/M_1 \times 100\%$$

$$ER (\%) = M_0/M_2 \times 100\%$$

M_0 —— 微球中药物的质量 M_1 —— 载药微球的质量 M_2 —— 药物投入量

(五) 单因素实验

1. 投药比: 在反应时间为4h,载药温度为55℃ 的条件下,以投药比分别为0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 对空白微球进行载药实验。以载药微球的载药量和包封率作为评价指标,考察投药比对 β-环糊精-壳寡糖复合微球载药情况的影响。结果为:0.01时,载药量为1.70%,包封率为84.76%;0.02时,载药量为1.57%,包封率为78.42%;0.03时,载药量为1.48%,包封率为72.03%;0.04时,载药量为1.41%,包封率为70.51%;0.05时,载药量为1.39%,包封率为69.28%。由上述数据可得知,在投药比为0.01的条件下,空白 β-环糊精-壳寡糖复合微球进行载药所得的包封率及载药量较优。

2. 反应温度: 在反应时间为4h,投料比为0.02的条件下,以载药温度分别为45℃、50℃、55℃、60℃、65℃对空白微球进行载药,以载药微球的载药量和包封率作为评价指标,考察载药温度对 β-环糊精-壳寡糖复合微球载药情况的影响。结果为:45℃时,载药量为1.58%,包封率为79.13%;50℃时,载药量为1.71%,包封率为85.57%;55℃时,载药量为1.52,包封率为76.05%;60℃时,载药量为1.49%,包封率为74.64%;65℃时,载药量为1.44%,包封率为72.20%。由上述数据可知,在反应温度为50℃的条件下,空白 β-环糊精壳寡糖复合微球进行载药所得的包封率及载药量较优。

3. 反应时间: 在投药比为0.02,反应温度为55℃ 的条件下,以反应时间分别为2h、3h、4h、5h、6h 对空白微球进行载药,以载药微球的载药量和包封率作为评价指标,考察反应时间对 β-环糊精-壳寡糖复合微球载药情况的影响。结果为:2h时,载药量为1.50%,

包封率为 75.08%；3h 时，载药量为 1.55%，包封率为 77.43%；4h 时载药量为 1.66%，包封率为 83.26%；5h 时载药量为 1.51%，包封率为 75.49%；6h 时载药量为 1.48%，包封率为 74.15%。根据上述实验数据可知，在反应时间为 4h 的条件下， β -环糊精-壳寡糖空白微球进行载药所得的包封率及载药量较优。

综上所述， β -环糊精壳寡糖空白微球分别在投料比为 0.01、载药温度为 50℃、反应时间为 4h 的条件下，能够进行效果较为良好的载药。

（六）正交实验

为探究出 β -环糊精-壳寡糖复合微球进行载药的最佳条件并进行优化，采用正交设计法进行试验。分别对投药比（0.01、0.02、0.03）、载药温度（45℃、50℃、60℃）及反应时间（4h、5h、6h）三个影响因素进行考察。其中每个因素包含三个水平，按照 L9(3³) 正交设计进行试验。结果为 1（0.01、45℃、4h）载药量为 1.64%，包封率为 82.02%；2（0.01、60℃、5h）载药量为 1.39%，包封率为 69.27%；3（0.01、50℃、6h）载药量为 1.58%，包封率为 78.94%；4（0.02、45℃、6h）载药量为 1.52%，包封率为 76.10%；5（0.02、50℃、4h）载药量为 1.59%，包封率为 79.31%；6（0.02、60℃、4h）载药量为 1.44%，包封率为 72.16%；7（0.0345℃、5h）载药量为 1.51%。包封率为 75.42%；8（0.03、50℃、4h）载药量为 1.47%，包封率为 73.56%；9（0.03、60℃、6h）载药量为 1.37%，包封率为 68.39%。

综合以上数据，通过正交试验并进行分析对比，可得出 β -环糊精壳寡糖复合微球在投料比为 0.01、反应温度为 45℃、反应时间为 4h 的条件下进行载药效果最优。

三、结语

本实验以 β -环糊精、壳寡糖、环氧氯丙烷为主要原料，氢氧化钠提供碱性条件，制备出 β -环糊精-壳寡糖复合微球，并负载氢化可的松，测定其包封率、载药量情况，从而对氢化可的松溶解度较低、缓释性能较差等问题进行改善和优

化。

在对最优处方进行探究的过程中，我们发现当投料比为 0.01、反应温度为 45℃、反应时间为 4h 时，所制备的 β -环糊精-壳寡糖复合微球具有较好的载药效果，载药微球有助于解决氢化可的松在常规制剂中存在的难溶性和缓释效率低等问题。

综上所述，本研究为后续此方向的研究提供了一定的思路， β -环糊精-壳寡糖复合微球不仅克服了壳聚糖的缺点，而且与单组分材料相比， β -环糊精和壳寡糖的溶解性、稳定性和吸附性得到了很大的提高，显示出巨大的优势。未来研究可以进一步优化微球的制备工艺和性能，以期在药物制剂领域取得更好的应用效果。

参考文献：

- [1]LE H,TRAN B D,NAOTSUGU N,et al. Radiation depolymerization of chitosan to prepare oligomers[J].Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section:Beam Interactions with Materials and Atoms,2003(8):466-470.
- [2]XIA Z Q,WU S J,CHEN J H. Preparation of water soluble chitosan by hydrolysis using hydrogen peroxide[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,59:242-245.
- [3]MUANPRASAT C,CHATSTUDTHIPONG V. Chitosan oligosaccharide:biological activities and potential therapeutic applications[J].Pharmacology& Therapeutics,2017,170:80-97.
- [4]朱小花,赵利敏,王荣辉,等.壳寡糖抑菌及抗肿瘤活性研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(6):1726-1731.
- [5]任丽佳,李杰,唐丽娜,葛根素-壳寡糖共无定型制备与体外溶出度评价[J].中国药业,2022(03):75-80.

基金项目：校级大学生创新创业训练计划项目（CXXL2022171）。