

## 交联淀粉微球酶降解过程的 FTIR 和 XRD 分析

李仲谨, 余丽丽\*, 朱 雷

陕西科技大学化学与化工学院, 陕西 西安 710021

**摘要** 以可溶性淀粉为原料, N,N'-亚甲基双丙烯酰胺为交联剂, 采用反相悬浮聚合得到了一种交联淀粉微球(CSM)。为了深入了解交联淀粉微球(CSM)的降解过程, 利用傅里叶变换红外光谱(FTIR)和 X 射线粉末衍射(XRD)等光谱分析手段, 对可溶性淀粉、CSM 及其 CSM 在模拟肠液中不同时间的降解产物进行了分析。FTIR 和 SEM 的研究结果表明, CSM 在消化液中 3 h 内可稳定维持其交联结构, 降解后 3 和 12 h 之间  $1\ 090\ \text{cm}^{-1}$  处的 C—O—C 弯曲振动峰减弱, 酰胺的 I 带吸收峰和 II 带吸收峰强度的减弱说明了淀粉分子链被降解, 交联结构开始解聚, 12 h 后酰胺的 I 带吸收峰和 II 带吸收峰完全消失, 说明交联结构已完全被除去; XRD 结果表明, CSM 在消化液中降解 12 h 后的情况与可溶性淀粉的降解情况相似, 非结晶性部分被分解, 结晶度随降解过程的进行而提高, 但是仍然小于可溶性淀粉的结晶度。

**关键词** 交联淀粉微球; 降解; FTIR; XRD

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)01-0134-04

### 引言

口服定位给药系统是为了改善药物在胃肠道的吸收<sup>[1, 2]</sup>, 避免其在胃肠环境灭活或避免缓、控释制剂因受胃肠运动而导致吸收不完全, 或为了治疗胃肠道局部疾病, 提高疗效, 降低毒副作用等, 而将药物口服后直接输送到某一特定部位吸收的制剂, 也称为口服迟、控释剂<sup>[3]</sup>。

交联淀粉微球(CSM)是天然淀粉的一种人造衍生物之一, 其本身具有微孔结构, 在生物体内具有一定的可变形性易吸附药物<sup>[4]</sup>; 同时, CSM 还具有良好的生物相容性, 可生物降解、无毒、无免疫原性及原料来源广泛、价格低廉等优点, 其综合性能优于合成高分子材料和脂质体、蛋白质等早期的药物载体<sup>[5-9]</sup>。研究表明, 药物经口服依次经胃、小肠到达结肠需时间约 6 h<sup>[10]</sup>, 即所谓的时滞。CSM 有望成为理想口服定位给药系统, 尤其是口服结肠定位给药(OCDSDS)的理想药物载体, 因此深入研究 CSM 的酶降解过程, 对于指导 CSM 载药可靠性和安全性的研究均具有重要的理论和实践意义。

以往对于 CSM 的降解多停留在研究降解过程中的失重情况, 而对降解过程中的红外光谱归属、X 射线粉末衍射, 未见文献报道。本文对 CSM 进行了人工肠液的体外降解实

验, 对其在降解过程中的形貌、红外光谱归属和 X 射线粉末衍射进行了研究, 对其降解规律进行了探讨。本研究对将 CSM 应用于口服迟释剂和药物载体具有一定的指导意义。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

可溶性淀粉、氯仿、环己烷、NaOH, Span-60、Tween-60、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、 $\text{NaHSO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、N,N'-亚甲基双丙烯酰胺、乙酸乙酯、无水乙醇、均为分析纯, 胰酶(酶活力为  $880.875\ \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 实验用水为蒸馏水。

离心机(TDL-40B, 上海安亭科学仪器厂), 恒温干燥箱(101A-I, 上海亚明热处理设备有限公司), 钨灯丝扫描电子显微镜(JSM-6460, 日本电子公司), 傅里叶红外光谱仪(VECTOR-22, 德国布鲁克公司), X 射线衍射仪(D/max-2200pc, 日本理学), 酸度计(PHS-3C, 上海雷磁仪器厂)。

#### 1.2 CSM 制备

将 40 mL 环己烷加入装有冷凝器的 250 mL 三口烧瓶中升温至  $60\ ^\circ\text{C}$ , Span-60 与 Tween-60 按  $m(\text{Span-60}) : m(\text{Tween-60}) = 2 : 1$  的比例加入 0.5 g。在 10 mL 水中加入 1.5 g 可溶性淀粉和 30 mL 蒸馏水, 用 NaOH 调 pH 为 8, 加热搅拌至透明, 冷却至常温后加入 0.4 g N,N'-亚甲基双丙烯

收稿日期: 2007-09-16, 修订日期: 2007-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(50573046)和陕西省科学技术研究发展计划项目(2006K08-G11)资助

作者简介: 李仲谨, 1946 年生, 陕西科技大学化学与化工学院教授 e-mail: lizhj@sust.edu.cn

\* 通讯联系人 e-mail: xiaoli19840218@163.com

酰胺(MBAA)、0.2 g 过硫酸钾,溶解后加入油相中搅拌乳化。30 min后,加入0.2 g 亚硫酸氢钠。反应2 h后停止。静置、离心,除去上层油相,下层CSM分别用乙酸乙酯、无水乙醇洗涤,离心分离,干燥备用。

### 1.3 CSM体外降解

人工肠液的配制<sup>[11]</sup>:

磷酸二氢钾 6.8 g,加水 500 mL 溶解,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8,取胰酶 10 g,加水量使溶解,将两液混合后,加水稀释至 1 000 mL 即得人工肠液。

体外降解:取离心管 12 支,平均分为两组,其中一组各加入 CSM 0.5 g;另一组设为对照,各加入可溶性淀粉 0.5 g;在每一支离心管中加入 5 mL 人工肠液,并放入恒温干燥箱中 37 °C 反应。1 h 后每隔 1 h 取反应管及对照管各一支,离心分离,固相分别经乙醇和水洗涤后离心、干燥待检。

### 1.4 CSM 及降解产物的表征

利用 JSM-6460 型扫描电镜对 CSM 及其降解产物观测其表现形貌、大小及分布状况;红外光谱分析使用 VECTOR-22 型傅里叶红外光谱仪, KBr 压片法测试;X 射线粉末衍射分析使用 D/max-2200pc 型 X 射线衍射仪, CuK $\alpha$ , 40 kV×40 mA,扫描速度 16°·min<sup>-1</sup>,采样宽度 0.02°。

## 2 结果与讨论

### 2.1 CSM 及其酶降解产物形貌

CSM 及其降解过程的 SEM 图如图 1 所示。可以看见,CSM 球形圆整,表面光滑致密。经 3h 酶解后,表面略显粗糙,呈现表面淀粉初步溶蚀的表象;降解 6 h 时出现微球表面明显粗糙,层状龟裂并且溶蚀剥落,说明此时表层交联结构可能已被酶解破坏,微球开始崩解;12 h 后交联结构完全破坏脱离。

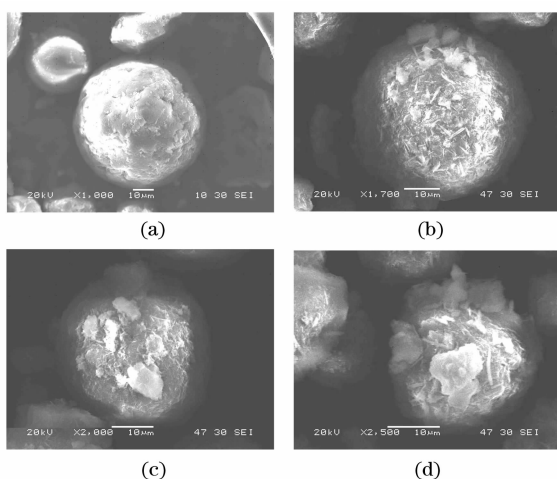


Fig. 1 Scanning electron microscope of CSM and CSM dealt with enzyme

(a): CSM; (b): 3 h; (c): 6 h; (d): 12 h

### 2.2 CSM 红外光谱分析<sup>[11-13]</sup>

在可溶性淀粉的红外光谱中(图 2)出现了较有特征的 3 400 cm<sup>-1</sup>左右的  $\nu_{OH}$  是缔合宽峰, 2 875~2 920 cm<sup>-1</sup> 是  $\nu_{as}$

(CH<sub>2</sub>),  $\nu_s$ (CH<sub>2</sub>) 反对称和对称峰。1 680 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰是由吸附的水产生的, ~1 400 cm<sup>-1</sup> 为糖环上的亚甲基面外弯曲振动峰, 1 090 cm<sup>-1</sup> 是六元的糖环上 C—O—C 键弯曲振动峰, 1 000 cm<sup>-1</sup> 为糖环上的羟基的  $\sigma$ (COH) 变形振动吸收峰, 921 cm<sup>-1</sup> 是环振动峰, 862 cm<sup>-1</sup> 是糖环  $\sigma$ (C—C) 振动, 765~715 cm<sup>-1</sup> 属糖环上(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub> 伸缩振动峰。在 CSM 的红外光谱中, 比较特征的有 3 450 cm<sup>-1</sup> 左右由—OH 的伸缩振动吸收峰和—NH 的伸缩振动吸收峰重叠而成的 1 个宽峰, 较可溶性淀粉在此处的峰强度大而尖锐, 这是由于生成 CSM 使—OH 的氢键缔和作用减弱。1 680 cm<sup>-1</sup> 处为酰胺基中的—NH<sub>2</sub> 的扭曲振动吸收峰的 I 带与水合峰重叠峰。1 560~1 520 cm<sup>-1</sup> 处  $\delta_{NH}$  面内变形振动吸收峰(N—H 弯曲振动的酰胺 II 带吸收峰)及 660 cm<sup>-1</sup> 处  $\delta_{OCN}$  弯曲振动吸收峰均归属于酰胺结构, 说明 MBAA 和淀粉发生了交联。用 MBAA 对淀粉进行交联, 由于一些糖环被打开, 使分子链被拉长, 基团活动空间增大, 使 1 153, 1 082, 1 019 cm<sup>-1</sup> 峰变得尖锐, 且向高频区位移。

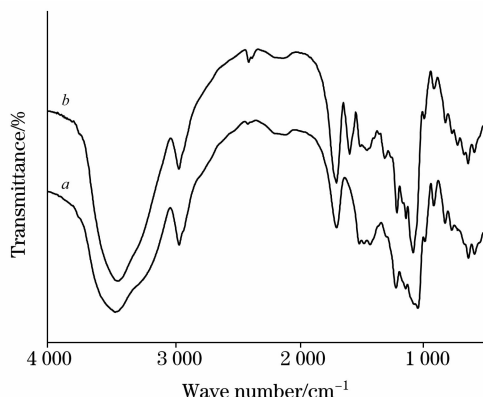


Fig. 2 FTIR spectrum of starch and CSM

a: Soluble starch; b: CSM

### 2.3 CSM 酶降解红外光谱分析

图 3 为 CSM 在人工肠液中酶降解 3, 6, 9, 12 h 后的红外光谱图。CSM 在 3 h 后结构变化不大, 而在 1 680 cm<sup>-1</sup> 处的酰胺基—NH<sub>2</sub> 的扭曲振动吸收峰的 I 带和 1 560~1 520 cm<sup>-1</sup> 处 NH 弯曲振动的酰胺 II 带吸收峰更加显著, 这是由于洗涤过程中未清除完全的淀粉在模拟环境中被降解, 使交联的特征基团在谱图中得到了更好的体现。6 h 后, CSM 的基本谱图没变, 说明淀粉大分子中交联结构还存在, 但略有变化, 即—OH 和—NH 在 3 450 cm<sup>-1</sup> 左右的重叠吸收峰明显减弱, 表明 NH 随着交联结构在降解过程中脱离而除去, 同时酰胺的 I 带吸收峰和 II 带吸收峰强度也减弱, 这同样说明了交联结构开始脱离 CSM。9 h 后 3 450 cm<sup>-1</sup> 左右的宽峰进一步减弱, 而水合峰却较强, 但还存在很弱的酰胺的 I 带吸收峰, 表明交联结构进一步脱离。同时, 1 090 cm<sup>-1</sup> 处的 C—O—C 弯曲振动峰减弱, 表明淀粉分子链被降解。从 12 h 后的谱图可见, 酰胺的 I 带吸收峰和 II 带吸收峰完全消失, 说明此时 CSM 中已不存在交联结构, 此后的降解情况应与淀粉降解相似。

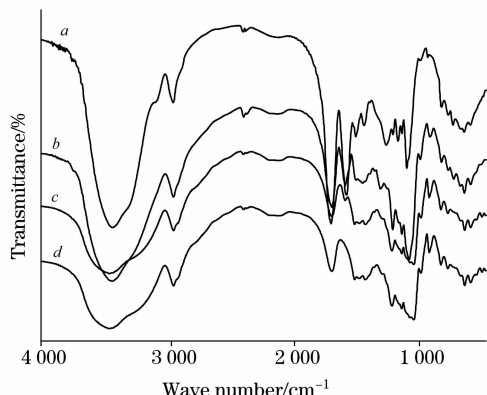


Fig. 3 FTIR spectrum of CSM dealt with enzyme

a: 3 h; b: 6 h; c: 9 h; d: 12 h

#### 2.4 CSM 酶降解的 XRD 分析

由图 4 可知溶性淀粉的 XRD 在  $2\theta$  为  $16.8^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $22.4^\circ$ ,  $23.6^\circ$  处各出现一个较尖锐的衍射峰, 结晶度测定为 33% 左右。CSM 在  $16.8^\circ$ ,  $22.4^\circ$ ,  $23.6^\circ$  的衍射峰完全消失,  $20^\circ$  左右的衍射峰相对强度明显降低, 无定形面积相对增加, 在  $14.6^\circ$ ,  $29.3^\circ$ ,  $31.6^\circ$  处出现峰强很弱的尖峰衍射, 结晶度测定为 6.4% 左右。出现这些变化的原因在于交联作用限制了淀粉分子的活动能力, 破坏了分子链的规整性, 使淀粉分子的分子间作用力、氢键明显变弱, 从而导致淀粉结晶能力

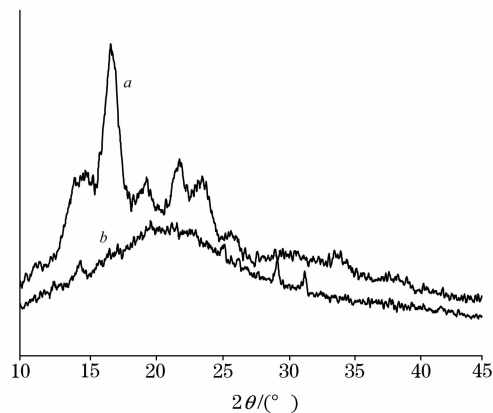


Fig. 4 XRD patterns of soluble starch and CSM

a: Soluble starch; b: CSM

降低<sup>[14]</sup>。由图 5 可见, 经酶降解 12 h 以后的 CSM 的 XRD 图显示结晶度随着酶解时间的推进, 反而有所升高, 12 h 时结晶度约为 8%; 14 h 时结晶度约为 12%; 16 h 时结晶度约为 18%; 18 h 时结晶度约为 24%, 但是仍然小于可溶性淀粉的结晶度。可以认为该现象的原因是在这一阶段经过酶处理, CSM 的非结晶性部分被分解, 通过增溶溶解而消失, 而结晶部分的葡萄糖链是按一定顺序排列的, 耐酶解性较强, 从而残留了下来, 实验结果与 Kainuma 等<sup>[15]</sup> 的关于淀粉降解的研究结果相一致。样品 1 和样品 2 在  $2\theta$  为  $17.1^\circ$  处存在的衍射峰强于样品 3 和样品 4, 表明此时的糖链占有较大的比例。而  $2\theta$  为  $19.7^\circ$  处的衍射峰则是淀粉与乙醇(由清洗过程带入)作用的体现<sup>[16]</sup>。

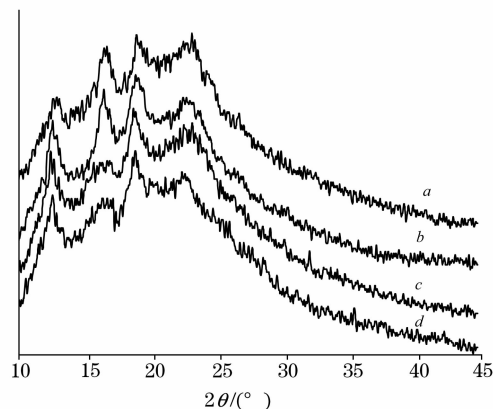


Fig. 5 XRD patterns of CSM dealt with enzyme

a: 12 h; b: 14 h; c: 16 h; d: 18 h

### 3 结 论

(1) FTIR 和 SEM 表明, CSM 在消化液中的 3 h 内可稳定维持其交联结构, 降解开始后 3 到 12 h 之间在人工肠液的溶蚀下, 主要是交联结构的解聚, 12 h 后交联结构已完全被除去。

(2) XRD 分析表明, 12 h 后降解的降解情况与淀粉的降解相似, 非结晶性部分被分解, 从而结晶度随降解而升高。

(3) FTIR 和 XRD 的分析表明, 淀粉微球降解时间满足理想口服定位给药系统尤其是口服结肠定位给药(OCDSDS)的理想药物载体的要求。

### 参 考 文 献

- [1] CHEN Jian-hai, CHEN Qing-yuan, SHEN Jia-rui, et al (陈建海, 陈清元, 沈家瑞, 等). Acta Pharmaceutica Sinica (药学报), 2004, 39(3): 223.
- [2] CUI Lan, GUI Xiao-long, ZHOU Hao-zhong (崔 岚, 归小龙, 周浩忠). Chinese Journal of Hospital Pharmacy (中国医院药学杂志), 2004, 24(2): 107.
- [3] LIANG Wen-quan (梁文权). Biological Pharmacy and Pharmacokinetics (生物药剂学与药物动力学). Beijing: People's Medical Publishing House (北京: 人民卫生出版社), 2000.
- [4] Pohlen U, Berger G, Binnenhei M, et al. Journal of Surgical Research, 2000, 92: 165.
- [5] Hamdi G, Ponchel G, Duchene D. Journal of Microencapsulation, 2001, 18(3): 373.
- [6] Lena Pereswetoff-Morath. Advanced Drug Delivery Reviews. 1998, 29: 185.
- [7] Mao Shirui, Chen Jianming, Wei Zhenping, et al. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 272(1-2): 37.

- [ 8 ] ZHAO Xin-fa, LI Zhong-jin, et al(赵新法, 李仲谨, 等). Chemical Engineering(化学工程), 2007, 35(9): 66.
- [ 9 ] XIE Cai-feng, YANG Lian-sheng, GAO Qun-yu(谢彩锋, 杨连生, 高群玉). Modern Chemical Industry(现代化工), 2004, 24(9): 62.
- [10] Chen Ling, Li Xiao-xi, Li Lin, et al. Current Applied Physics, 2007, 7(S1): 90.
- [11] China Pharmacopoeia Committee(国家药典委员会编). Chinese Pharmacopoeia(中国药典). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005.
- [12] DING Wei-jia, AN Ying-ge, YANG Lin, et al(丁唯嘉, 安英格, 杨 林, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 701.
- [13] ZHANG Shu-liang, YI Da-nian, WU Tian-ming(张叔良, 易大年, 吴天明). Infrared Spectroscopic Analysis and Technique(红外光谱分析与新技术). Beijing: Chinese Medicine Scientific and Technological Press(北京: 中国医药科技出版社), 1993.
- [14] WANG Zhu, NIU Chun-mei, WU Wen-hui, et al(王 著, 牛春梅, 吴文辉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(11): 1786.
- [15] Kainuma K, French O. Biopolymers, 1972, 11(11): 2241.
- [16] Rondeau-Mouro C, Le Bail P, Buleon A. Int. J. Biol. Macromol., 2004, 34: 251.

## FTIR and XRD Analysis of the Enzymatic Degradation of Crosslinked Starch Microspheres

LI Zhong-jin, YU Li-li\*, ZHU Lei

College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology 710021, China

**Abstract** Crosslinked starch microspheres (CSM) were prepared by crosslinking of soluble starch and N,N'-methylene-bis-acrylamide in inverse suspension. In order to describe the enzymatic degradation of CSM in this experiment, soluble starch, CSM and CSM's degradation product obtained from the simulated intestinal fluid in different time were analysed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffractometer (XRD). The FTIR and SEM results showed that the CSM's crosslinking structure could be maintained steady in digested liquid within 3 hours. The intensity at  $1\ 090\ \text{cm}^{-1}$  related to bending vibration bands of C—O—C, the amide band I and the amide band II became weaker in 3-12 hours along with the process of the enzymatic degradation, indicating the degradation of the molecular chain of starch and the depolymerization of the cross-linking structure. And then the disappearing of the amide band I and the amide band II indicated that the crosslinking structure was totally destructed after 12 hours and thereafter the enzymatic degradation was consistent with soluble starch. The XRD results proved that after 12 hours the CSM's degradation was similar to starch's degradation, their non-crystalline parts were decomposed, and their degree of crystallinity increased with the development of the degradation, but did not exceed the crystallinity of soluble starch.

**Keywords** Crosslinked starch microspheres; Degradation; FTIR; XRD

(Received Sep. 16, 2007; accepted Dec. 18, 2007)

\* Corresponding author