

载药对 pH 敏感凝胶溶胀和释药行为的影响

严俊*, 徐国刚, 徐荣南

(华东师范大学化学系, 上海 200062)

摘要 目的: 研究载药对苯乙烯 (St) — 甲基丙烯酸二乙氨基乙酯 (DEA) 共聚物凝胶的溶胀和释药行为的影响。方法: 以弱碱性的 9-氨基吡啶 (9AA) 或弱酸性的荧光黄 (FL) 为模型药物, 用显微镜观察法测定载药和未载药凝胶的溶胀比, 用分光光度法测定载药凝胶的药物释放量。结果: 即使 9AA 和 FL 的水溶性很小, 载有 9AA 的凝胶在溶胀介质的 pH 接近凝胶的相转变 pH 时, 溶胀速度大大提高, 从而对凝胶的释药行为产生重要的影响。载有 FL 的凝胶溶胀速度大大降低, 释药行为变得更为复杂。结论: 水溶性很小的可离子化药物载入疏水性 pH 敏感凝胶后, 同样对凝胶的溶胀和释药行为有重要影响, 凝胶的释药行为受载药后凝胶的溶胀所控制。

关键词 载药; 溶胀; 药物释放; pH 敏感凝胶

pH 敏感聚电解质凝胶用作药物控释载体的研究已受到广泛关注^[1,2]。在有关研究^[3,4]中, 所载药物的性质和用量对载药凝胶的影响也已引起重视。一般认为, 只有水溶性大的药物对 pH 敏感凝胶的溶胀和释药行为有重要影响。

本文用悬浮聚合法合成了含甲基丙烯酸二乙氨基乙酯的疏水性阳离子聚电解质珠状凝胶, 用弱碱性的 9-氨基吡啶 (9AA) 或弱酸性的荧光黄 (FL) 为模型药物, 研究了水溶性小的可离子化药物的载入对这种凝胶的 pH 敏感溶胀和释药行为的影响, 得到有意义的结果。

材 料 和 方 法

药品和试剂 甲基丙烯酸二乙氨基乙酯 (diethylaminoethyl methacrylate, DEA)、二乙烯苯 (divinylbenzene, 高纯度, DVB), Polysciences 公司产品。9-氨基吡啶盐酸盐 (9-aminoacridine hydrochloride, 9AA·HCl)、荧光黄 (fluorescein, FL), Aldrich 公司产品。DEA、苯乙烯 (St) 都经真空蒸馏纯化, DVB 用 10% 氢氧化钠洗除阻聚剂, 9-氨基吡啶盐酸盐用等摩尔氢氧化铵中和后使用。

凝胶合成 用一般悬浮聚合法合成凝胶。水相中含有 18% 氯化钠, 0.12% 皂土及 0.3% ~ 0.5% 羟乙基纤维素, 水相与油相体积比为 6:1。以 0.3%

(占单体总重量的百分比) 偶氮二异丁腈为引发剂。反应在氮气保护下, 于 70 和 80 °C 分别进行 5 h 和 2 h。产物为 0.17 ~ 0.52 mm 玻璃状珠粒。凝胶样品以共聚单体的组成 (摩尔比) 表示。例如样品 50/50 SD/DEA 表示该凝胶用摩尔比为 50/50 的 (St + DVB) 与 DEA 合成。除另作说明外, 各 SD/DEA 凝胶中的 DVB 含量 (交联度) 都为 1 mol %。

动力学溶胀实验 溶胀介质为浓度 0.05 mol L⁻¹、总离子强度 0.3 mol L⁻¹ 及含 0.05% 福尔马林的柠檬酸缓冲溶液。凝胶的动力学溶胀通过在光学显微镜 (Nikon, Fluophot) 下观察单珠在缓冲液 (25 °C) 中直径的变化进行研究。设 d_0 和 d_t 分别为干凝胶和溶胀时间为 t 时湿凝胶的直径, 则 d_t/d_0 表示溶胀时间为 t 时的溶胀比。所有数据为 5 ~ 8 粒凝胶 (0.42 mm ± 0.02 mm) 测定的平均值。

载药和释药试验 载药用浸渍法。在 50 °C 水浴中配制 9AA 或 FL 的饱和甲醇溶液, 将干凝胶粒加入其中浸泡 24 h 后离心分离, 烘干、水洗、再烘干。9AA 和 FL 的载药量分别通过用 pH 2 的缓冲溶液及用甲醇萃取的方法测定。

释药试验参考文献^[5]方法。取 9AA 凝胶 36 mg 或 FL 凝胶 18 mg (0.35 ~ 0.51 mm), 置于 200 mL 与溶胀介质相同的缓冲溶液中进行释药。定时取溶液样品, 以分光光度法 (9AA: 400 nm; FL: 491 nm, pH 12.5) 测定溶液中药物浓度, 计算释药量 (mg 药物/g 载药凝胶) 或释药比率 (释药量/载药量)。9AA 的释药于 (25 ± 0.1) °C 在连续搅拌下进行; FL 的释药须避光、于 25 °C 在间断搅拌的情况下

收稿日期: 1999-04-26

* Tel: (021) 52811874, Fax: (021) 52811874,

E-mail: 6yanjie6@online.sh.cn

进行,并以适当的时间间隔置换溶液使 FL 浓度远低于其饱和浓度。

结果与讨论

近年来有学者将弱碱性的 9-氨基吡啶(9AA)^[6]或弱酸性的荧光黄(FL)^[7]用作药物控制释放研究的模型药物。由于这两种药物(非盐形式)水溶性很小,它们的离子化形式的电荷相反,因此在本研究中被用作模型药物。

1 9-氨基吡啶(9AA)载药凝胶

SD/DEA凝胶的溶胀和释药行为有很强的 pH 依赖性。当 SD/DEA = 50/50 时,凝胶的相转变 pH 在 6.0 与 6.5 之间。图 1 所示为载药(9AA)的 50/50 SD/DEA 凝胶在不同 pH 时释药量与释药时间的关系。可以看到,凝胶在 pH 7 时基本上无药物释放,pH 降至 6.0 时药物达完全释放约需 45 h,而当 pH 降至 5.0 时仅需几小时药物即可完全释放。

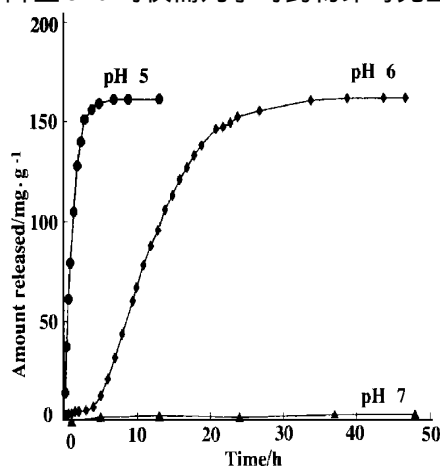


Fig 1 9AA release from 50/50 SD/DEA gel at different pH. The amount of 9AA released was measured as a function of time.

进一步观察图 1 中凝胶在不同 pH 时的释药行为,可发现在 pH 5 和 6 时,不仅释药速度不同,而且释药曲线的形状也不同。在 pH 6,释药初的几小时内凝胶的释药量极少,但之后释药速度突然加快,至大部分药物释出后速度才逐渐变慢。这种先出现释药的“阻滞期”,然后加速的释药行为虽未见报道,但在我们其它疏水性阳离子凝胶的释药实验中曾多次观察到。这种同一凝胶在不同 pH 的不同释药行为,使我们对溶胀及释药与载药的关系开展了研究。

有关载药对非离子型或阴离子型凝胶溶胀和释

药行为的影响,已有多篇报道^[1,3,4]。载药的影响被认为与药物本身的水溶性及载入量有关。但只有当药物的水溶性很大,例如氧烯洛尔盐酸盐在水中的溶解度达 70% 时^[3],药物的影响才明显存在。在我们的实验中,药物 9AA(非盐形式)只有极低的水溶性。在 pH 为 4,5,6 和 7 的柠檬酸缓冲液中,其饱和溶液浓度仅分别为 0.205,0.408,0.373 和 0.258 mg·mL⁻¹。显然,在此 9AA 载药系统与上述文献报道所处的情况不同,但以下的实验结果却证明即使在所载药物水溶性级低的情况下,药物的影响也同样存在。

图 2 所示为对应于图 1 中凝胶 50/50 SD/DEA 载药前后在 pH 5 和 6 时动力学溶胀行为的比较。可以看到,在 pH 5(图 2A),载药前后凝胶的溶胀曲线形状不变,但载药后溶胀速度稍慢,达 50% 溶胀所需时间从载药前的 0.81 h 略增至载药后的 0.88 h。但在 pH 6(图 2B),载药后凝胶的溶胀曲线形状改变。凝胶最初溶胀很慢,但数小时后溶胀速度迅速提高,并超过未载药凝胶,使达溶胀平衡所需时间从载药前的约 80 h 减少到载药后的 33 h。由此我们可清楚地看到,载入药物对溶胀的影响确实存在,但这种影响随溶胀介质 pH 的变化而改变。将图 2 与图 1 进行比较,可发现图 2B 中载药后凝胶的溶胀曲线与图 1 中相同凝胶在 pH 6 的释药曲线十分相似。说明凝胶的释药行为受载药后,而不是载药前凝胶的溶胀所控制。

对上述药物 9AA 载入在不同 pH 对凝胶溶胀所起的作用不同,可能的解释如下:作为一种弱碱,9AA 必然与凝胶本身的氨基争夺从外部溶液进入的质子。以这种方式,载入的 9AA 可能减缓了凝胶氨基的质子化,从而会降低载药凝胶的溶胀速度。另一方面,质子化的 9AA 溶解,因而为凝胶的溶胀产生了一个附加的渗透压,使溶胀驱动力增加。但由于 9AA 的溶解度很低,所产生的附加渗透压很小,因此,当 pH 5,较低的 pH 使凝胶本身的溶胀渗透压较高的情况下,9AA 所产生的渗透压显得微不足道,因而载药凝胶的溶胀如图 2A 所示,比凝胶载药前稍慢。但当 pH 6,在已接近 50/50 SD/DEA 凝胶发生相转变的 pH 时,凝胶的离子化速度变得极慢,而 9AA 的溶解度却变化不大。在这种情况下,来自离子化 9AA 的溶胀驱动力就显得十分重要。于是,经过溶胀初期数小时质子化 9AA 数量的积累后,所形成的附加渗透压发挥作用,使溶胀速度迅速提高,出现图 2B 所示的现象。因此,药物 9AA 的载

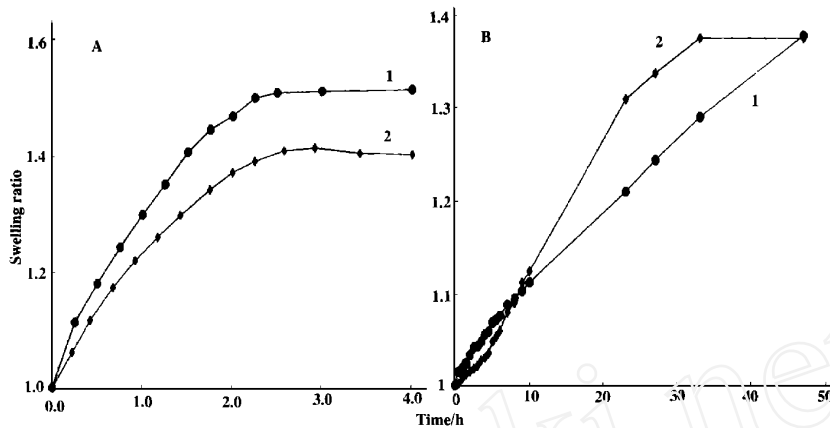


Fig 2 Dynamic swelling behaviors of 50/50 SD/DEA gel with and without 9AA loaded at pH 5 (A) and pH 6 (B). The swelling ratio was measured as a function of time. 1. Unloaded; 2. 9AA loaded gel.

入对凝胶溶胀所造成的复杂影响,是由于疏水性阳离子凝胶未载药时,本身在不同 pH 所具有的溶胀特点所造成的。由于所载药物 9AA 在水中溶解度很低,不到万分之五,使这种影响只有在 pH 接近凝胶的相转变 pH 时才变得明显。增加凝胶中 St 的用量,用凝胶 60/40 SD/DEA 的试验得到类似的结果,但由于该凝胶中疏水成分的增加,使微溶药物 9AA 在相转变 pH 范围对凝胶溶胀速度的影响更加明显。

进一步通过提高凝胶的交联密度,在使凝胶溶胀速度进一步降低的情况下,观察了载入药物 9AA 的影响。在 pH 6 的缓冲液中,当凝胶 50/50 SD/DEA 交联度为 1 和 2 mol % 时,载药前凝胶达 50% 溶胀所需时间分别为 25.6 h 和 14.4 d,载药后分别减少为 14.5 h 和 30.4 h,溶胀速度明显提高。而当交联度为 5 mol % 时,载药前凝胶在相同 pH 的缓冲液中浸渍 6 个月只显示很少的溶胀,但载药后达溶胀平衡的时间仅为 4 d。可见凝胶的溶胀愈慢,药物 9AA 对溶胀的加速作用相对愈大。这可能与前述由离子化药物 9AA 及由凝胶可离子化基团本身形成的溶胀渗透压的相对大小有关。

上述各交联度载药凝胶的释药曲线与各载药凝胶溶胀曲线的形态十分相似,且释药速度与溶胀速度接近。如 5 mol % DVB 的载药凝胶在释药 84 h 时 9AA 已接近完全释放 (94%),与该载药凝胶达溶胀平衡所需时间接近一致。这些实验结果进一步说明,疏水性 pH 敏感凝胶的释药行为为载药后,而不是载药前凝胶的溶胀所控制。

2 荧光黄 (FL) 载药凝胶

与 9AA 比较,FL 作为弱酸性药物,载入阳离子型的凝胶中后,将对凝胶的溶胀和释药行为造成更大的影响。图 3 所示为载入 FL 后的 50/50 SD/DEA 凝胶在 pH 6 时的动力学溶胀和释药行为。将图 3 中的溶胀曲线 1 与图 2B 中相同凝胶载入 9AA 前后的溶胀曲线比较,可知 FL 载药凝胶的溶胀速度不是提高,而是变得十分缓慢,达 50% 溶胀所需时间从载入 9AA 时的 14.5 h 延长至载入 FL 后的 9 d 左右。进一步比较图 3 中的释药和溶胀曲线,可见释药速度与溶胀速度较一致,说明 FL 载药凝胶在 pH 6 时的释药行为仍受载药后,而不是载药前凝胶的溶胀所控制。

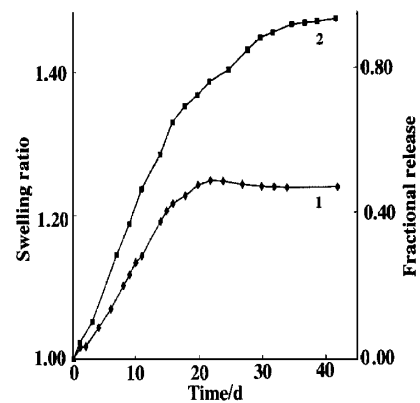


Fig 3 Dynamic swelling and release behaviors of FL loaded 50/50 SD/DEA gel at pH 6. The swelling ratio and fractional release were measured as a function of time. 1. Swelling ratio; 2. Fractional release.

在图 3 中观察到溶胀曲线的一个明显特点是, 载药凝胶的溶胀在 20~25 d 期间出现最大值。对照释药曲线, 相对应的释药比率为 75% 左右。由于凝胶的溶胀本身使凝胶体积增加, 而药物的释放使体积收缩 (该凝胶的 FL 载入量为 27.2 Wt%), 上述现象的出现可认为是两种作用交叠的结果。

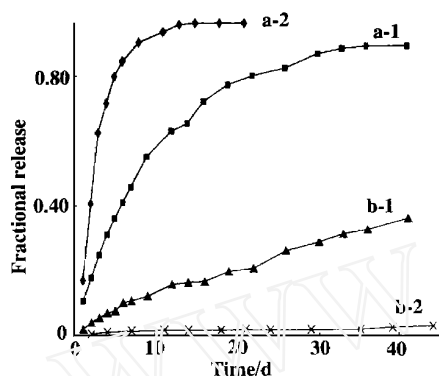


Fig 4 FL release from 40/60 and 60/40 SD/DEA gels at pH 5 and pH 7. The fractional release was measured as a function of time. a-1. 40/60 SD/DEA, pH 5; a-2. 40/60 SD/DEA, pH 7; b-1. 60/40 SD/DEA, pH 5; b-2. 60/40 SD/DEA, pH 7.

考虑到凝胶中的氨基可能部分地被弱酸性的 FL 所中和, 进一步考察了 FL 的载入对凝胶 pH 敏感溶胀性质的影响。图 4 所示为 FL 载药的 40/60 和 60/40 SD/DEA 凝胶在 pH 5 和 7 时的释药行为。凝胶 40/60 SD/DEA 的相转变 pH 范围为 6.5~7.0, 按理在 pH 7 时该凝胶不该释药而随 pH 降低释药速度应加快。但图 4 中该凝胶在 pH 7 时不但释药而且超过 pH 5 时的释药速度, 说明载入 FL 后 40/60 SD/DEA 凝胶至少已部分失去其 pH 敏感的溶胀性质, 同时可能与 FL 在不同 pH 时的溶解度有关。测得在 pH 7 和 5 的 0.05 mol L⁻¹ 柠檬酸缓冲

液中 FL 的饱和溶液浓度分别为 0.184 和 0.003 mg · mL⁻¹, 浓度之差达 60 倍以上。凝胶 60/40 SD/DEA 的相转变 pH 范围为 5.5~6.0, 此时虽 FL 在 pH 7 时的溶解度比在 pH 5 时高得多, 但该凝胶在 pH 7 时基本无药物释放, 而在 pH 5 时则释药明显。进一步提高 SD 与 DEA 的配比至 70/30, 仍可观察到类似的现象, 说明阳离子型聚电解质凝胶在提高疏水性后仍可在载入弱酸性的 FL 的情况下保持凝胶溶胀和释药的 pH 敏感性质。

通过以上对载药前后凝胶的溶胀和释药行为的比较, 说明水溶性很小的可离子化药物载入疏水性 pH 敏感凝胶后, 同样对凝胶的溶胀和释药行为有重要影响, 凝胶的释药行为受载药后, 而不是载药前凝胶的溶胀所控制。

References

- 1 Peppas NA, Khare AR. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Adv Drug Deli Rev*, 1993, **11** 1
- 2 Liu C (柳晨), Pei YY (裴元英). pH sensitive self-regulated drug delivery system. *Chin Pharm J (中国药理学杂志)*, 1998, **33** 135
- 3 Kim CJ, Lee PI. Effect of loading on swelling-controlled drug release from hydrophobic polyelectrolyte gel beads. *Pharm Res*, 1992, **9** 1268
- 4 Bettini R, Colombo P, Peppas NA. Solubility effects on drug transport through pH-sensitive, swelling-controlled release systems: Transport of theophylline and metoclopramide monohydrochloride. *J Controlled Release*, 1995, **37** 105
- 5 Cornejo-Bravo JM, Arias-Sanchez V, Alvarez-Anguiano A. Kinetics of drug release from hydrophobic polybasic gels: effect of buffer acidity. *J Controlled Release*, 1995, **33** 223
- 6 Shen CY, Rao PV, Batich CD. Stochastic modeling of controlled release from poly-styrene-co-4-vinylpyridine microspheres. *J Controlled Release*, 1994, **32** 139
- 7 Pham AT, Lee PI. Probing the mechanisms of drug release from hydroxypropylmethyl cellulose matrices. *Pharm Res*, 1994, **11** 1379

EFFECT OF DRUG LOADING ON THE SWELLING AND DRUG RELEASE BEHAVIORS OF pH-SENSITIVE GELS

Yan Jun (Yan J), Xu Guogang (Xu GG) and Xu Rongnan (Xu RN)

(Department of Chemistry, East China Normal University, Shanghai 200062)

ABSTRACT AIM: To investigate the effect of drug loading on the swelling and drug release behaviors of hydrophobic pH-sensitive gel beads based on styrene (St) and diethylaminoethyl methacrylate (DEA). **METHODS:** An optical microscope was used to observe the change of the size of gel bead during swelling, and the amount of drug released in buffer solutions was measured spectrophotometrically. **RESULTS:** With 9-aminoacridine (9AA), a basic drug very slightly soluble in water, as a model drug, the rate of swelling of the loaded gels in buffers was found to be greatly accelerated at pH close to the point where the swelling transition occurs. With a weakly acidic fluorescein (FL) as model drug, the loaded gels showed a much lower swelling rate compared with that for unloaded ones. In all cases, the release behavior of the loaded gels correlated well with the swelling behavior of the loaded gels. **CONCLUSION:** In despite of the very low solubility of 9AA or FL in buffer solution, both 9AA and FL, when they are loaded into the hydrophobic pH-sensitive gels, exert an important influence on the swelling and release behaviors of the gels, and the drug release is controlled by the swelling of the loaded, not the unloaded gel.

KEY WORDS drug loading; swelling; drug release; pH-sensitive gels

第三届“德彪 - CCRF 中国奖”在兰州隆重颁奖

由瑞士德彪集团和中国癌症研究基金会共同创办的“德彪 - CCRF 中国奖”，旨在鼓励抗癌治疗相关领域的中国新药开发事业。第一届颁奖已于 1995 年 9 月在北京举行，第二届颁奖于 1997 年 11 月在香港举行。

第三届评选工作由十名中国评委从 88 份申请材料中遴选出 7 份优秀论文，并于今年 7 月在法国由中方评委代表和 6 位欧洲评委以投票方式选出三位获奖者。

本届颁奖大会于 1999 年 8 月 20 日在兰州宁卧庄宾馆隆重举行。甘肃省副省长吴碧莲女士、德彪药物公司副总裁 NEMRA 先生、德彪奖主席 ARMAND 教授、秘书长孙燕教授，及医学界其他同仁和新闻界人士近 200 人出席了颁奖大会。会上，3 位获奖代表也介绍了他们的研究成果。

第三届“德彪 - CCRF 中国奖”获奖者名单

	姓名	单位	获奖论文	奖金
一等奖	朱大元 唐希灿	上海药物研究所	石杉甲碱衍生物 ZT-1 抗早老性痴呆的研究	5000 瑞士法郎 欧洲访问两周
二等奖	何勇	上海医药工业研究院	鬼臼素抑癌作用研究	5000 瑞士法郎
三等奖	郝晓柯	西安四军大唐都医院	抗体导向酶 - 前体药物疗法研究	3000 瑞士法郎

此次 3 个获奖项目在各自领域有较高的科研水平。德彪奖的审评活动不仅鼓励和支持中国新药的研究队伍，还使国际科学界进一步了解中国科学技术的进步。

第四届“德彪 - CCRF 中国奖”的申请工作将于 2000 年下半年开始。届时，欢迎对德彪奖感兴趣的单位和个人踊跃参加。