

# 功能化修饰纳米纤维素的结肠靶向给药载体

唐丽荣<sup>1,2</sup>, 黄彪<sup>1</sup>, 李涛<sup>1</sup>, 卢麒麟<sup>1</sup>, 陈学榕<sup>1</sup>

1. 福建农林大学材料工程学院, 福州 350002

2. 福建农林大学金山学院, 福州 350002

**摘要** 纳米纤维素 (cellulose nanocrystals, CNCs) 具有优异的生物理化性能, 可作为一种理想的新型药物载体。以马来酸酐酯化纳米纤维素 (MA-CNCs) 为载体, 通过酯化反应进一步引入氨基酸连接臂, 再与妥舒沙星 (TFLX) 偶联, 得到新型妥舒沙星-氨基酸-马来酸酐酯化纳米纤维素药物载体 (TFLX-A-MA-CNCs)。采用傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 表征技术验证了妥舒沙星与马来酸酐酯化纤维素成功偶联。场发射扫描电镜 (FE-SEM) 观察发现 MA-CNCs 可以较好地包覆药物。对 TFLX-A-MA-CNCs 药物载体在模拟胃液、小肠液和结肠液中的释药行为进行分析, 结果表明 MA-CNCs 载体对药物具有良好的包载性, 且可实现结肠靶向释药。

**关键词** 纳米纤维素; 马来酸酐酯化纳米纤维素; 结肠靶向给药

**中图分类号** O636.1

**文献标志码** A

**doi** 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.h1.002

## Functionalized Cellulose Nanocrystals as a Carrier for Colon-targeted Drug Delivery System

TANG Lirong<sup>1,2</sup>, HUANG Biao<sup>1</sup>, LI Tao<sup>1</sup>, LU Qilin<sup>1</sup>, CHEN Xuerong<sup>1</sup>

1. College of Material Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

2. Jinshan College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

**Abstract** With exquisite biological, physical and chemical properties, cellulose nanocrystals (CNCs) have been considered as an ideal drug carrier. A novel prodrug was prepared by the covalent attachment of the tosylloxacin tosylate (TFLX) onto the surface of maleated cellulose nanocrystals (MA-CNCs) with L-leucine as a spacer. The successful coupling of MA-CNCs and TFLX was detected by fourier transformation infrared spectroscopy (FTIR). The satisfactory coverage of MA-CNCs on TFLX is shown in FE-SEM micrographs. The release behaviors of TFLX-A-MA-CNCs in simulated gastric fluid (SGF), simulated intestinal fluid (SIF) and simulated colonic fluid (SCF) were investigated. The relationship between the accumulative drug release and the fluorescence response has been evaluated. The results show that the drug was efficiently entrapped by MA-CNCs carrier and presents excellent behavior for colon specificity and may be considered as a potential material for a colon-specific drug delivery system.

**Keywords** cellulose nanocrystals; maleated cellulose nanocrystals; colon-specific drug delivery

结肠位于机体胃肠道的后段, 是多种病变的累及器官, 常见病症有溃疡性结肠炎、结肠癌、克罗恩氏病、出血性结肠炎等<sup>[1,2]</sup>。由于胃肠道环境因素十分复杂, 常规的口服制剂一

般在到达结肠和直肠前药物就会被吸收或降解, 无法特异地作用于病变部位, 因此采用化学及制剂学技术, 改变药物的理化性质, 制备结肠靶向给药系统, 使治疗药物在胃和小肠

收稿日期: 2013-12-16; 修回日期: 2014-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31170520, 31370560); 福建省科技计划项目 (2013H0004); 福建省教育厅科技项目 (JA13371)

作者简介: 唐丽荣, 博士, 研究方向为植物资源化学与新材料, 电子信箱: tanglr0201@126.com; 黄彪 (通信作者), 教授, 研究方向为植物资源化学与新材料, 电子信箱: fjhuangbiao@hotmail.com

引用格式: 唐丽荣, 黄彪, 李涛, 等. 功能化修饰纳米纤维素的结肠靶向给药载体[J]. 科技导报, 2014, 32(4/5): 22-28.

不释放,而在结肠部位定位释放,可以提高结肠局部药物浓度,减少药物对胃肠道的刺激<sup>[9]</sup>,减少由于胃肠道吸收所引起的全身性毒副作用<sup>[4]</sup>,从而使药物在人体结肠更有效地发挥治疗作用<sup>[5,6]</sup>。

纤维素具有生物相容性好,无毒、价廉易得等优点,它不会被人体胃酸、胃蛋白酶降解,也不能被小肠吸收,却可以在结肠中大量的微生物,尤其是 *Bacteroides* 细菌的作用下,被特异性地降解成小分子寡糖、短链脂肪酸和二氧化碳等物质。另外,纤维素及其衍生物分子链上具有丰富的羟基、羧基或氨基等,这些基团可用于偶联靶向单元或药物分子<sup>[7]</sup>。基于以上特性,纤维素可被用于结肠靶向药物载体。Cai 等<sup>[8]</sup>将水溶性的纤维素醚,如甲基纤维素和两种不同分子量的羟乙基纤维素与吡啶美辛(IND)偶联,研究发现羟乙基纤维素-IND 偶联物在结肠厌氧环境下经过发酵降解,具有良好的缓释行为。羟丙基甲基纤维素(HPMC)-水杨酸偶联物也是一种良好的结肠靶向大分子前药<sup>[9]</sup>。

但是目前仅有少量文献报道纤维素及其衍生物以包衣、骨架片或前药载体的形式应用于结肠靶向给药系统。如果充分利用天然纤维素本身优良的特性,将前体药物技术和纳米技术引入结肠靶向给药系统中,一方面可以通过将药物封装于纳米纤维素中,使其在胃和小肠不释药,而将药物运送至结肠来释放,从而发挥结肠局部或全身治疗作用;另一方面,利用纳米纤维素药物载体比表面积大、活性高的特点,通过进一步的表面修饰,可以避免被免疫系统巨噬细胞吞噬,克服体内“生物屏障”,从而达到结肠靶向给药的目的。由此可见,将纳米技术引入结肠靶向给药系统将具有较大的开发与应用潜力。

目前,大多数药物单元或靶向单元与纤维素或其衍生物大分子载体不能通过化学反应直接连接,即使有可能反应,也会因为载体分子链或药物分子的空间位阻效应导致偶联效率太低,或限制靶向活性,因此纤维素及其衍生物直接作为药物载体无实际应用价值;即便药物与载体直接偶联,也会因为药物与载体直接相连所形成的化学键难以断裂,而无法释放出药物<sup>[10,11]</sup>。因此,通常需要在载体与药物分子之间引入连接臂进行偶联,以便获得良好的药物控制释放性能,提高药物的靶向性,减小药物的毒性,改善药物的吸收和分布,提高生物利用度。

本研究以 MA-CNCs 为载体,通过酯化反应引入氨基酸连接臂,再与妥舒沙星(TFLX)偶联得到 TFLX-A-MA-CNCs 药物轭合物。通过红外光谱分析和显微学表征手段考查分析药物轭合物表面化学结构及微观结构的变化规律与形貌特征,阐明偶联形成及其内在机理。另一方面对 TFLX-A-MA-CNCs 药物轭合物在模拟胃液、小肠液和结肠液中的释药行为进行分析研究,以期为先功能化纤维素材料的创制提供新思路与理论基础,同时可拓宽功能化纳米纤维素在生物医药领域的应用。

## 1 材料和方法

### 1.1 原料与试剂

滤纸(杭州富阳特种纸厂),马来酸酐、硫酸、L-亮氨酸、哌啶、乙醇、氢氧化钠、氯化钠、磷酸氢二钠、二水磷酸二氢钠、盐酸和溴化钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),4-二甲氨基吡啶(DMAP,纯度 99%)、苄氧羰酰氯(Fmoc-Cl,纯度 98%)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl,纯度 98.5%)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,纯度 98%)、胃蛋白酶(猪源,1:3000)、胰蛋白酶(猪胰脏,1:250)和 N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC,纯度 99%,阿拉丁试剂(上海)有限公司);甲苯磺酸妥舒沙星(TFLX,纯度 98%)(TCI(上海)化成工业发展有限公司);溶菌酶(超纯,上海思域化工科技有限公司)。

### 1.2 马来酸酐酯化纳米纤维素(MA-CNCs)的制备

将滤纸在纤维标准解离器中于 3000 r/min 疏解 20 min 得到分散均匀的滤纸浆(cellulose pulp, CP),冷冻干燥备用。称取 2.0 g CP 和 10 g 马来酸酐于玛瑙球磨罐中,滴加 15 mL 20% (质量分数) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 作为酯化反应催化剂。在转速 500 r/min 下球磨处理 0.5、1、1.5、2 h,装球量 25 个,交替运行时间 5 min。球磨处理完成后将样品转移至 150 mL 三颈烧瓶,在 90℃油浴中反应 1 h 后,将反应物于 70~78℃范围内超声(KQ-250DB 型台式数控超声波器,功率 250 W),处理 5~8 h。超声反应完成后,将此悬浮液在 9000 r/min 下先用去离子水反复离心脱去未反应试剂,再用乙醇溶液洗脱未反应试剂和副产物。最后将收集到的凝胶态马来酸酐酯化纳米纤维素(MA-CNCs)于 -54℃真空冷冻干燥以备用。

### 1.3 氨基酸修饰 MA-CNCs 的制备

称取 1 g MA-CNCs 干燥样品,0.08 g 4-二甲氨基吡啶(DMAP),1.5 g L-亮氨酸,1.25 g 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl),0.75 g 苄氧羰酰氯(Fmoc-Cl),加入 50 mL N, N'-二甲基甲酰胺将反应物混合均匀,于室温下磁力搅拌反应 15 h。反应完成后,在 9000 r/min 转速下离心脱去液体,先用去离子水洗涤留下的固体样品 5 次,乙醇溶液洗涤 2 次,得到 Fmoc 保护氨基纤维素样品(Fmoc-A-MA-CNCs)。为脱去 Fmoc 保护,将 Fmoc-A-MA-CNCs 分散于 20 mL 20% (体积分数)的哌啶-DMF 溶液,搅拌 20 min 即可脱除 Fmoc,得到氨基酸修饰 MA-CNCs,即 A-MA-CNCs。在 -53℃真空冷冻干燥样品。

### 1.4 TFLX-MA-CNCs 轭合物的制备

称取 0.1 g A-MA-CNCs 干燥样品,0.5 g N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),0.5 g EDC·HCl,0.01 g 甲苯磺酸妥舒沙星(tosulfoxacin tosylate, TFLX),加入 50 mL N, N'-二甲基甲酰胺将反应物混合均匀,于室温下磁力搅拌反应 15 h。反应完成后,在 9000 r/min 转速下离心脱去液体,然后用去离子水多次洗涤留下的固体样品,用紫外-可见分光光度计(UV-VIS)在 205 nm 处检测离心上清液,直至在此波长下无吸收,说明

已完全脱除未反应的TFLX,纯化后样品即为甲苯磺酸妥舒沙星-马来酸酐酯化纳米纤维素钎合物(TFLX-MA-CNCs)。在-53℃真空冷冻干燥,避光贮存。

### 1.5 人工模拟液的配制

人工胃液(simulated gastric fluid,SGF):人体的胃液pH值在1~2之间,人工胃液可用0.1 mol/L稀盐酸溶液来模拟。取7.0 mL HCl,加水约800 mL与10 g胃蛋白酶,摇匀后加水稀释定容至1000 mL即得人工胃液。

加酶胃模拟液(simulated gastric fluid with enzymes,E-SGF):考虑到酶的作用,按照每100 mL人工胃液中加入1 g胃蛋白酶的比例添加,得到加酶胃模拟液。

人工小肠液(simulated intestinal fluid,SIF):取磷酸二氢钾6.8 g,加入500 mL去离子水使其溶解,然后用0.4% NaOH溶液调节溶液的pH值至6.8。

加酶小肠模拟液(simulated intestinal fluid with enzymes,E-SIF):按照每100 mL人工小肠液中加入1 g胰酶的比例添加,得到加酶小肠模拟液。

人工结肠液(simulated colonic fluid,SCF):称取8.5 g NaCl,0.13 gNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O和2.2 g无水Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,加去离子水1000 mL,即得人工结肠液。

加酶结肠模拟液(simulated colonic fluid with enzymes,E-SCF):加10 g溶菌酶于SCF中,即得加酶人工结肠液(E-SCF)。

### 1.6 标准曲线的绘制

采用紫外分光光度法测定,称取适量的TFLX3份,分别用0.1 mol/L稀盐酸、pH 6.8和pH 7.4磷酸盐缓冲液(PBS)制成浓度约为5 μg/mL的溶液,于波长200~600 nm扫描,确定TFLX在不同溶液中的最大吸收波长。

准确称取6.3 mg TFLX,于50 mL容量瓶中分别用0.1 mol/L稀盐酸、pH 6.8和pH 7.4磷酸盐缓冲液(PBS)稀释并定容至刻度,得到浓度为126 μg/mL的TFLX储备液。移取上述储备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0和6.0 mL于容量瓶中,分别用SGF、SIF和SCF定容至25 mL,得到系列浓度为5.04、10.08、15.12、20.16、25.20和30.24 μg/mL的TFLX标准溶液。分别以SGF、SIF和SCF为空白,于最大吸收波长处分别测定它们的吸光度A,以TFLX的浓度(μg/mL)与吸光度(A)进行线性回归。

### 1.7 包封率和载药量的测定

包封率(encapsulation efficiency,EE)和载药量(drug loading,DL)是评价载药系统制备工艺优劣的重要指标。将TFLX与A-MA-CNCs按不同质量比例(1:10,2:10,3:10和4:10)制备TFLX-A-MA-CNCs,研究不同比例下药物钎合物的包封率和载药量。称取1 g TFLX-A-MA-CNCs,分散于15 mL DMF溶液中,9000 r/min离心15 min,量取上清液3 mL,在TFLX的紫外最大吸收波长处测定TFLX含量,按公式(1)、(2)分别计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = \frac{\text{系统中总药量} - \text{液体介质中未包封药量}}{\text{系统中总药量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{载药量} = \frac{\text{系统中总药量} - \text{液体介质中未包封药量}}{\text{TFLX-A-MA-CNCs的质量}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.8 TFLX-A-MA-CNCs的体外释药试验

为测试TFLX-A-MA-CNCs的结肠靶向性能,分别使用0.1 mol/L稀盐酸、pH 6.8和pH 7.4 PBS作为释放介质模拟胃、小肠、结肠中药物的释放情况。由于TFLX-A-MA-CNCs药物钎合物呈粉末状,在溶出介质替换时可能会造成一定损失,致使测定结果不准确,因此研究过程中分别对药物钎合物在不同模拟介质中的释放情况进行了研究。

人工胃液中药物的体外模拟释放:称取两份0.1 g TFLX-A-MA-CNCs,分别置于50 mL SGF和E-SGF溶出介质中,介质温度为(37±1)℃,调节转速为100 r/min。根据人体胃肠道中物质的转运时间,将在人工胃液中考查时间定为2 h,每隔30 min取上清液3 mL,再加入相同体积的溶出介质。将取出的上清液离心后测定吸光度并计算浓度,平行3次。

人工肠液中的体外模拟释放:称取两份0.1 g TFLX-A-MA-CNCs,分别置于50 mL SIF和E-SIF溶出介质中,介质温度为(37±1)℃,调节转速为100 r/min。将在人工肠液中考查时间定为6 h,0~3 h每隔30 min取样,3~6 h每隔1 h取样3 mL,再加入相同体积的溶出介质。将取出的上清液离心后测定吸光度并计算浓度,平行3次。

人工结肠液中的体外模拟释放:称取两份0.1 g TFLX-A-MA-CNCs,分别置于50 mL SCF和E-SCF溶出介质中,介质温度为(37±1)℃,调节转速为100 r/min。将在人工肠液中考察时间定为30 h,0~3 h每隔30 min取样,3~7 h每隔1 h取样,然后依次隔5,12,6 h取样。每次取上清液3 mL,然后再补充3 mL溶出介质于缓释体系。将取出的上清液离心后测定吸光度并计算浓度,平行3次。

累积释药百分率(Q)为各时间点药物释放量与最终释放量之比。药物累积释药百分率计算公式为:

$$Q_n = Q_{n_{\text{测}}} + \frac{V_i}{V} \sum_{i=1}^{n-1} Q_i \quad (3)$$

式中,Q<sub>i</sub>为第i h的累积释药百分率;Q<sub>n</sub>、Q<sub>n<sub>测</sub></sub>为第n h的累积释药百分率和实测累积释药百分率;V<sub>i</sub>为样品液体积,3 mL;V为样品液总体积,50 mL。

### 1.9 性能表征

采用美国Thermo Eelectro公司Nicolet 380型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),分析纤维素样品的功能基及结构变化规律。采用场发射透射扫描电镜(field emission scanning electron microscopy,FE-SEM)对试样的表面形貌进行表征。

## 2 结果与分析

### 2.1 L-亮氨酸修饰马来酸酐酯化纳米纤维素及其药物钎合物的设计与构建

药物需要直接通过一个共价键或者一个可断裂的间隔臂连接到纤维素载体上形成纳米纤维素-药物钎合物,两者

间偶联键或间隔臂的设计对实现药物载体在体内的传输、药物释放及代谢等生物和生化过程的控制非常重要。药物载体的靶向运输、缓慢释放和控制释放等性能的实现都与药物与纤维素分子链间的偶联键或间隔臂密不可分。一方面,两者间的偶联键或间隔臂可将药物与多糖主链形成相对稳定的结合,可在体内保持一定的稳定性,在到达目标部位后,通过简单水解或酶促反应等使药物释放,发挥药效;另一方面,通过选择适宜的偶联键或间隔臂,可以控制药物从载体上释放的速度和在体内释放的部位,使得药物在目标组织或细胞的特异性生理环境一按所需治疗有效浓度释放,实现药物的控制释放和定位释放等功效<sup>[12]</sup>。

酞酸和氨基酸均具有较多的活性位点,通过形成酯键在纤维素载体上依次引入了两种连接臂:马来酸酞和L-亮氨酸,形成的间隔臂可以再与药物单元通过形成酰胺键得到纳米纤维素-药物载体。马来酸酞酯化纳米纤维素(MA-CNCs)表面仍有大量游离羟基,可以在纤维素分子中进行其他化学修饰。为保证L-亮氨酸间隔臂的氨基与药物单元的羧基一端发生反应,在对纤维素修饰的过程中,首先对L-亮氨酸进行保护,采用水溶性碳二亚胺(EDC)作为羧基活化剂,

使氨基酸羧基一端与纤维素游离羟基之间形成酯偶联键,再通过脱除保护的方式得到L-亮氨酸功能化修饰的MA-CNCs,即A-MA-CNCs。

EDC是一种零长度交联剂,能够活化羧基,促进酰胺键及酯键的形成。EDC活化TFLX分子中的羧基,形成不稳定的活化的酰基异脲,然后与NHS酯化反应得到较稳定的NHS活性酯,该活性酯具有较EDC与羧基反应生成的酰基异脲中间体更佳稳定性,且在弱碱性环境下也能较好地与氨基反应形成酰胺键。最后,A-MA-CNCs与TFLX的NHS活性酯在无水DMF中形成酰胺键偶联,最终制得TFLX-A-MA-CNCs载体。

## 2.2 标准曲线的建立

将TFLX分别溶于0.1 mol/L HCl, pH 6.8和pH 7.4 PBS,以相应溶剂为空白,于200~400 nm波长范围内扫描,结果表明,TFLX在0.1 mol/L HCl, pH 6.8和pH 7.4 PBS中的最大吸收波长分别为271、261和261 nm。

图1所示为TFLX在0.1 mol/L HCl, pH 6.8和pH 7.4 PBS系列浓度(5.04、10.08、15.12、20.16、25.20、30.24  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )溶液中,分别于271、261和261 nm波长处测定它们的吸光度A,得到3种条件下TFLX吸光度值与浓度的关系。

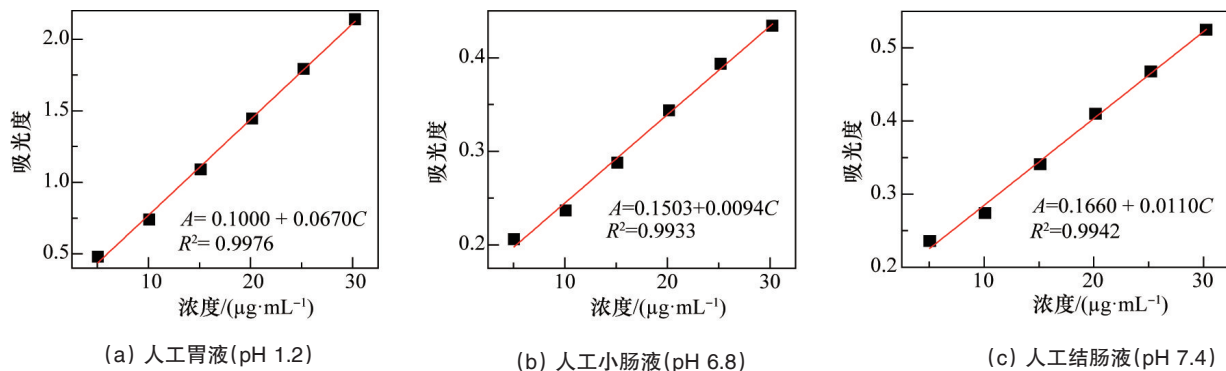


图1 TFLX在0.1 mol/L HCl, pH 6.8和pH 7.4 PBS中的标准曲线

Fig. 1 Calibration curve of TFLX in 0.1 mol/L HCl, pH 6.8 PBS and pH 7.4 PBS solutions

## 2.3 包封率及载药量的测定

表1所示为TFLX与A-MA-CNCs按不同质量比制备的TFLX-A-MA-CNCs载体的包封率与载药量。由表1可以看出,所有比例的A-MA-CNCs对TFLX的包封率均达到99%以上,随着药物比例的增大,其包封率略有下降。而药物载体的载药量则随着TFLX的投药量增大而提高,当TFLX的投药量与A-MA-CNCs载体的比例为4:10时,载药量依然呈增大趋势,说明在此配比下载体对药物的包埋能力尚未达到饱和,A-MA-CNCs对TFLX的包封性良好。

表1 包封率和载药量的测定结果

Table 1 Results of the DL and EE

$m_{\text{TFLX}}:m_{\text{A-MA-CNCs}}$	包封率/%	载药量/%
1:10	99.98	9.02
2:10	99.49	17.70
3:10	99.13	23.63
4:10	99.84	29.14

## 2.4 TFLX-A-MA-CNCs载体的体外释药

TFLX-A-MA-CNCs载体在人工胃液(SGF和E-SGF)中振荡2 h,每隔0.5 h取样一次,然后于271 nm波长处用紫外分光光度计测其吸光度,但在此处未发现吸收峰,说明药物载体中的TFLX在人工胃液中不会释放。

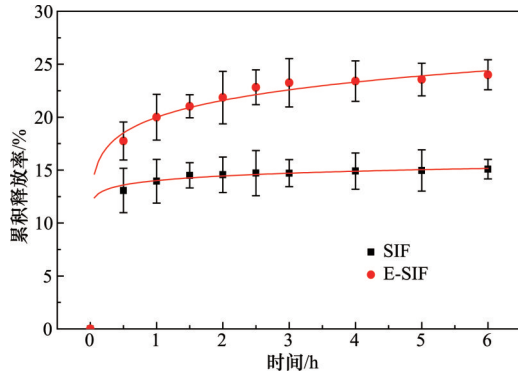
图2所示为TFLX-A-MA-CNCs在pH 6.8 PBS人工小肠液(SIF和E-SIF)和pH 7.4 PBS人工结肠液(SCF和E-SCF)中的体外释药行为。在SIF和E-SIF中,初始1 h内TFLX释放呈突释现象,释放量分别达到13.95%和20%,随着释药时间增加,释药速度已趋于稳定。在胰蛋白酶的作用下,药物释放量较未加酶人工小肠液的药物释放量要高。TFLX-A-MA-CNCs在SIF和E-SIF中,6 h时的累积释放量分别为15.08%和24%。

在结肠模拟液中,未加溶菌酶的人工结肠液药物释放能力较差,药物载体在SCF中缓释30 h时,累积释放量仅达到40.38%。而在加入溶菌酶的人工结肠液体系中,由于酶的

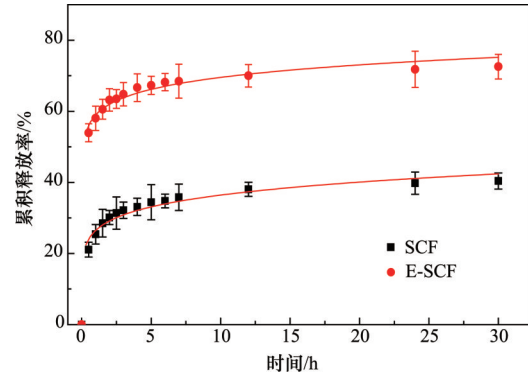
作用,纤维素发生降解,释放出TFLX,并且释药速度得到较大提高,随着药物的进一步释放,药物浓度变小,扩散速度减慢,速度基本恒定,释放30 h时的累积释放量达到了72.55%。由以上结果可知,本研究中设计构建的TFLX-A-

MA-CNCs 载体可以较好地实现结肠靶向给药。

Peppas 方程  $y=kt^n$  可用来解释妥舒沙星药物的释药机制,式中,  $y$  为  $t$  时的累积释放百分数,  $k$  为释药速率常数,  $n$  为扩散指数<sup>[13]</sup>。



(a) pH 6.8 PBS 人工小肠液(SIF和E-SIF)



(b) pH 7.4 PBS 人工结肠液(SCF和E-SCF)

图2 TFLX-A-MA-CNCs的体外释放行为

Fig. 2 Cumulative release profiles of TFLX

表2所示为在人工小肠液(SIF, E-SIF)和人工结肠液(SCF, E-SCF)中, TFLX-A-MA-CNCs 载体的体外释放曲线的拟合结果。在所有测试样品中,拟合优度( $R^2$ )均大于0.9,说明TFLX的释放过程比较符合这个模型,而  $n$  小于0.5,说明释放的机制是Fick扩散<sup>[14]</sup>。

究中经常用到的一种数学模型。方程如式(5)所示:

$$Y = 100 + Ae^{\alpha t} + Be^{\beta t} \quad (5)$$

式中,  $Y$  为累积释药百分数(%),  $t$  为释药时间(h),  $\alpha$ 和 $\beta$ 分别为药物的两种释放速率常数,整个方程由快、慢两相组成,即冲击相和缓释相,冲击相反映出药物载体释药初期的突释效应,缓释相则反映出药物载体的控释规律<sup>[15,16]</sup>。

双相动力学方程(又称双指数方程),是目前药物释放研

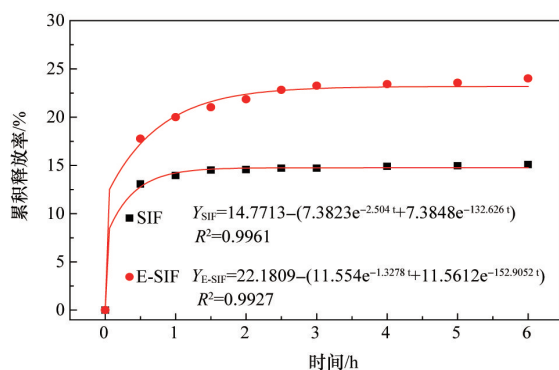
表2 在人工小肠液和人工结肠液中TFLX-A-MA-CNCs的体外释放的动力学参数

Table 2 In vitro drug release kinetic parameters of TFLX-A-MA-CNCs at SIF and SCF

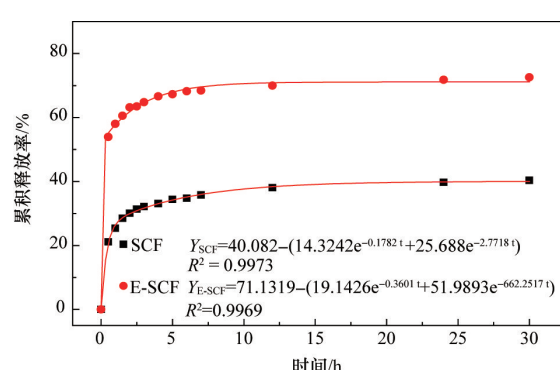
样品	释药速率常数		扩散指数		拟合优度
	数值	误差	数值	误差	
SIF	13.8812	0	0.0524	0.0039	0.9042
E-SIF	19.9559	0.2499	0.1152	0.0107	0.9391
SCF	26.8207	0.6230	0.1334	0.0111	0.9256
E-SCF	59.3296	0.6277	0.0664	0.0054	0.9266

由双相动力学方程拟合结果来看(图3),4种释放介质中的 $R^2$ 值均达到了0.99以上,说明使用该方程拟合效果较好。TFLX-A-MA-CNCs 载体在初期由于负载药物含量高而释药

速率很快,随着载体纤维素的降解逐渐将TFLX释放,这种释药规律可以达到靶向给药的要求,即前药在到达靶部位后可以迅速地释放出大多数药物,然后缓慢释药,达到维持药效的目的。



(a) pH 6.8 PBS 人工小肠液(SIF和E-SIF)



(b) pH 7.4 PBS 人工结肠液(SCF和E-SCF)

图3 双相动力学方程模拟TFLX-A-MA-CNCs的体外释放行为

Fig. 3 Biphasic kinetic behavior of cumulative release profiles of TFLX

## 2.5 傅里叶变换红外光谱分析

图4所示为MA-CNCs, A-MA-CNCs和TFLX-A-CNCs 复合物的红外谱图。与MA-CNCs 谱图相比, 氨基化后样品(A-MA-CNCs)在 $1742\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰消失, 而在 $1650\text{ cm}^{-1}$ 处相对应的伯胺N—H弯曲振动峰明显增大<sup>[17]</sup>。随着反应进行, TFLX与A-MA-CNCs发生酯化反应后, 发现TFLX-A-MA-CNCs在 $1650\text{ cm}^{-1}$ 处的峰形更宽大, 这可能是由于TFLX分子中本身具有氨基, 引入载体后, 使药物复合物中氨基数量增大。在 $1702$ 和 $1560\text{ cm}^{-1}$ 处新出现的峰则说明TFLX的羧基与氨基酸分子的氨基成功发生了酰胺反应,  $1736\text{ cm}^{-1}$ 处谱峰亦为TFLX的特征峰, 说明药物TFLX与A-CNCs成功偶联。

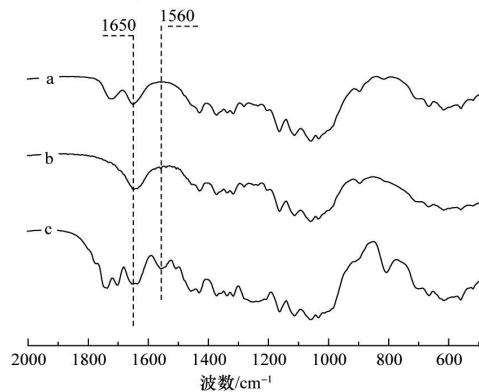


图4 MA-CNCs (a), A-MA-CNCs (b)和TFLX-A-CNCs (c)的FTIR谱图

Fig. 4 FTIR spectra of MA-CNCs (a), A-MA-CNCs (b) and TFLX-A-CNCs (c)

## 2.6 场发射环境扫描电镜观察

通过场发射环境扫描电镜观察, 得到MA-CNCs、L-亮氨酸修饰纤维素(A-MA-CNCs)、药物TFLX和TFLX-A-MA-CNCs复合物的微观形貌如图5所示。

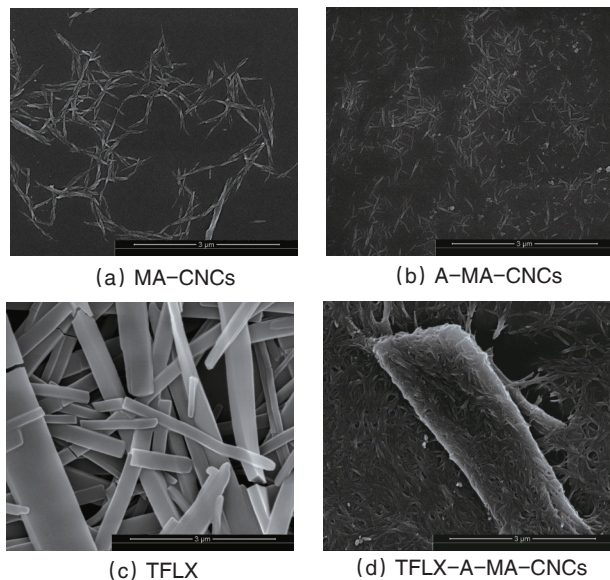


图5 MA-CNCs, A-MA-CNCs, TFLX和TFLX-A-MA-CNCs的FE-SEM图

Fig. 5 FE-SEM images of MA-CNCs, A-MA-CNCs, TFLX and TFLX-A-MA-CNCs

MA-CNCs经过氨基酸修饰后, 形貌仍保持棒状, 但是长度明显变短, 分散性良好。药物TFLX形貌呈长块状, 直径在几十纳米到几微米之间, 因此它可以经过肠黏膜进入人体其他组织<sup>[18]</sup>。由TFLX-A-MA-CNCs复合物的FE-SEM图(图5)可以看到, 纤维素将TFLX颗粒完全地包裹了起来, 由于纳米纤维素粒径较小, 可以密实地将药物包围。纤维素在药物表面可能是由于两者间发生了化学偶联反应, 也可能是由于物理吸附作用。荧光修饰的药物复合物表面仍然被纤维素包围着, 药物的整体形貌并没有发生变化。

## 3 结论

基于纳米纤维素优异的生物理化特性, 本研究以MA-CNCs为载体, 通过酯化反应引入氨基酸间隔臂, 再与妥舒沙星(TFLX)偶联得到TFLX-A-MA-CNCs药物复合物。对TFLX-A-MA-CNCs载药量和包封率研究结果表明, A-MA-CNCs载体对药物具有良好的包载性。对TFLX-A-MA-CNCs药物复合物在E-SGF、E-SIF和E-SCF中的释药行为进行考察, 发现此药物复合物在E-SGF中不释放, 在E-SIF介质中, 6 h药物累积释放量为24%, 而在E-SCF中, 在溶菌酶的水解作用下, 纤维素降解, 药物释药速度大大提高, 在E-SCF介质中30 h时的药物累积释放量达到了72.55%, 表明该药物复合物可以较好地实现结肠靶向给药。采用FTIR表征技术验证了药物与纤维素间的成功偶联, 并通过FE-SEM对药物偶联物形貌观察发现, 由于纳米纤维素粒径小, 可以密实地将药物包围。

## 参考文献(References)

- [1] Verma S, Kumar V, Mishra D N, et al. Colon targeted drug delivery: current and novel perspectives[J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2012, 3(5): 1274-1284.
- [2] Chourasia M K, Jain S K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems[J]. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2003, 6(1): 33-66.
- [3] Patel M, Shah T, Amin A. Therapeutic opportunities in colon-specific drug-delivery systems[J]. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 2007, 24(2): 147-202.
- [4] Sinha V R, Kumria R. Microbially triggered drug delivery to the colon [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003, 18(1): 3-18.
- [5] Jose S, Dhanya K, Cinu T A, et al. Colon targeted drug delivery: Different approaches[J]. Journal of Young Pharmacists, 2009, 1(1): 13-19.
- [6] Kumar R S, Kumar M, Ganesh G N, et al. Formulation and evaluation of pectin-hydroxypropyl methylcellulose coated curcumin pellets for colon delivery[J]. Asian Journal of Pharmaceutics, 2009, 3(2): 138-142.
- [7] Sivakumar B, Aswathy R G, Nagaoka Y, et al. Multifunctional carboxymethyl cellulose-based magnetic nanovector as a theragnostic system for folate receptor targeted chemotherapy, imaging, and hyperthermia against cancer[J]. Langmuir, 2013, 29(10): 3453-3466.
- [8] Cai X, Yang L Q, Zhang L M, et al. Synthesis and anaerobic biodegradation of indomethacin-conjugated cellulose ethers used for colon-specific drug delivery[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(18): 4164-4170.

- [9] Hussain M A, Badshah M, Iqbal M S, et al. HPMC-salicylate conjugates as macromolecular prodrugs: Design, characterization, and nano-rods formation[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2009, 47(16): 4202-4208.
- [10] Shiose Y, Kuga H, Ohki H, et al. Systematic research of peptide spacers controlling drug release from macromolecular prodrug system, carboxymethyl dextran polyalcohol-peptide-drug conjugates[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2009, 20(1): 60-70.
- [11] Huynh V T, Quek J Y, de Souza P L, et al. Block copolymer micelles with pendant bifunctional chelator for platinum drugs: Effect of spacer length on the viability of tumor cells[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(4): 1010-1023.
- [12] Rautio J. Prodrugs and targeted delivery. Towards better ADME properties[M]. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011.
- [13] 冯波, 何仲贵, 张秀荣, 等. 沙丁胺醇化合物缓释片的释药机制研究[J]. *吉林医药学院学报*, 2005, 26(3): 125-127.  
Feng Bo, He Zhongui, Zhang Xiurong, et al. Study on release mechanism of salbutamol-ethylated  $\beta$ -cyclodextrins complexes sustained release tablets[J]. *Journal of Jilin Medical College*, 2005, 26(3): 125-127.
- [14] Peppas N A. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers[J]. *Pharmaceutica acta Helvetica*, 1985, 60(4): 110-111.
- [15] 吕凤娇, 许小平. 阿霉素纳米粒体外释放模型的拟合研究[J]. *计算机与应用化学*, 2010, 27(7): 915-918.  
Lv Fengjiao, Xu Xiaoping. A study on fitting models of the vitro release of Doxorubicin-nanoparticles[J]. *Computers and Applied Chemistry*, 2010, 27(7): 915-918.
- [16] 徐玉福, 姚日生, 邓胜松, 等. 淀粉微凝胶对阿司匹林片体外释药的影响[J]. *中国药学杂志*, 2006, 41(19): 1479-1482.  
Xu Yufu, Yao Risheng, Deng Shengsong, et al. Effect of starch microgels on aspirin release from tablets *in vitro*[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2006, 41(19): 1479-1482.
- [17] Deng F, Liu Y. Study of the interaction between tosufloxacin tosylate and bovine serum albumin by multi-spectroscopic methods[J]. *Journal of Luminescence*, 2012, 132(2): 443-448.
- [18] Galindo-Rodríguez S A, Alléman E, Fessi H, et al. Polymeric nanoparticles for oral delivery of drugs and vaccines: A critical evaluation of *in vivo* studies[J]. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 2005, 22(5): 419-463.

(编辑 田恬)

·学术动态·



## 积极推动建立大气污染防治建言献策的长效机制

2013年,在中国科协组织开展的环首都区域大气污染防治调研工作中,由徐祥德、任阵海等26位院士和专家就加强京津冀晋蒙环首都区域大气污染防治的建议,经中国科协报送后,得到各级领导的高度重视。国务院有关领导作出重要批示,北京、河北等省区市党委和政府领导也对科协报送的有关加强区域大气污染防治的专家建议作出指示。

2014年1月22日,为贯彻落实好国务院领导关于环首都区域大气污染防治调研的指示精神,中国科协调研宣传部在北京组织召开座谈会,中国科协党组成员、书记处书记兼调宣部部长王春法出席座谈会并讲话。北京、天津、河北、山西、内蒙古等5省市科协负责同志,中国毒理学会、中华预防医学会、中国城市科学研究会、中国环境科学学会、中国颗粒学会、中国气象学会等6个全国学会的专家和有关负责同志参加座谈。与会人员就如何深入贯彻中央领导对环首都区域生态治理工作批示的精神,建立长效工作机制与跟进研究服务工作的主题进行了认真讨论。相关省市科协领导和专家分别从各自工作领域出发,对如何开展短期和中长期研究工作提出了具体意见和建议。

详见中国科协网 <http://www.cast.org.cn/n35081/n35473/n35518/15389703.html>。