

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.16.006

文章编号: 1005-8982(2018)16-0029-05

聚乙二醇和聚丙烯酸钠对纳米碳酸钙口服制剂的改性评估研究*

廖明媚¹, 王成志¹, 肖平², 赵劲风¹, 潘一峰¹

(1. 中南大学湘雅医院 卫生部纳米生物技术重点实验室, 湖南 长沙 410008;

2. 中南大学湘雅医院 肾内科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 目的 利用聚乙二醇(PEG)和聚丙烯酸钠(PAAS)对球形纳米碳酸钙进行表面改性,并应用于肠道除铅的体外效果分析。**方法** 用复方分解法制备球形纳米碳酸钙,分散剂PEG和PAAS进行表面改性,采用粒径与电位分析、扫描电镜、透射电镜、X射线粉末衍射法、红外光谱分析等表征手段对改性的纳米碳酸钙及其粉体的结构特征进行检测,并用原子吸收光谱仪考察其在模拟肠液的体外除铅效果。**结果** 改性纳米碳酸钙中PEG/PAAS比例为1:1时所制备的纳米碳酸钙粒径、电位、分散性、晶体稳定性最佳,4h左右能将铅离子浓度降低至30 μg/L以下,达到满意的除铅效果,与微米碳酸钙比较两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 经PEG和PAAS改性后的纳米碳酸钙性质稳定,无毒,可进一步制成口服制剂应用于人体肠道除铅。

关键词: 纳米碳酸钙;聚乙二醇;聚丙烯酸钠;除铅;铅中毒

中图分类号: R135.11

文献标识码: A

Research on oral agent of nano calcium carbonate modified by PEG and PAAS*

Ming-mei Liao¹, Cheng-zhi Wang¹, Ping Xiao², Jin-feng Zhao¹, Yi-feng Pan¹

(1. Key Laboratory of Nanobiological Technology of Chinese Ministry of Health, 2. Department of Nephrology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

Abstract: Objective To modify the spherical nanometer calcium carbonate by polyethylene glycol (PEG) and sodium polyacrylate (PAAS), and analyze its effect on intestinal lead removal *in vitro*. **Methods** The spherical nanometer calcium carbonate was made by the method of compound decomposition, and its surface properties were modified by dispersant PEG and PAAS. The structural characteristics of the modified nanometer calcium carbonate were investigated by the analysis of particle size and zeta potential, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, X-ray powder diffraction method and infrared spectrum. The effect of lead removal from the simulated intestinal fluid *in vitro* was measured by atomic absorption spectrometer. **Results** The particle size, electric potential, dispersion and crystal stability of the modified nanometer calcium carbonate were the best when the ratio of PEG to PAAS was 1:1, and the lead ion concentration was reduced to below 30 μg/L in 4 h, with satisfactory effect of lead removal. The difference was significant compared with micron calcium carbonate ($P < 0.05$). **Conclusions** The calcium carbonate nanoparticles modified by PEG and PAAS are stable and non-toxic, and can be further made into oral preparation for removing lead from human intestinal tract.

Keywords: nanometer calcium carbonate; polyethylene glycol; sodium polyacrylate; lead removal; lead poisoning

收稿日期: 2017-06-26

* 基金项目: 国家国际科技合作专项项目 (No: 2013DFA31440)

[通信作者] 潘一峰, E-mail: 1356931763@qq.com

慢性铅中毒一种职业病和流行病, 现代城市化和工业化对环境的污染, 使人们血铅水平普遍偏高^[1]。铅能对人体神经、造血、消化、泌尿等系统造成不同程度的损害, 能通过血脑屏障, 铅超标严重影响儿童的智力发育^[2], 使其学习和记忆能力下降。肠道是非职业性铅暴露时铅吸收的主要途径。铅入人体后, 被吸收到血液循环中, 主要贮积在骨组织中^[3], 肝细胞对铅具有主动通透作用, 可从血浆中摄取铅而排入胆汁, 胆汁中的铅含量可达血中的 40 ~ 100 倍。目前西医传统驱铅方法是使用螯合剂如依地酸二钠钙等, 但是其通过静脉给药特异性差, 排铅同时非特异性地排泄内源性必需微量元素及维生素, 干扰机体正常生理和生化功能, 剂量大时对肾脏的重吸收功能有影响^[4]。有研究表明^[5], 碳酸钙的除铅效果随其粒径的减小而增强, 纳米碳酸钙的除铅效果与口服除铅药物二巯基丁二酸的效果基本相同, 且不增加肾脏负担^[6], 但未改性的纳米碳酸钙具有很强的表面极性, 表面能较高, 较多纳米碳酸钙粒子聚集在一起形成团聚体^[7], 影响其在有机体中的相容性和分散性, 导致驱铅效果降低。本文利用聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 和聚丙烯酸钠 (polyacrylate sodium, PAAS) 对球形纳米碳酸钙进行表面改性, 以提高驱铅效率。可进一步制成口服制剂, 直接定位十二指肠缓释置换排铅, 阻断铅肠肝循环, 不增加肾脏负担而完成除铅过程。

1 材料与方 法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 纳米碳酸钙 (山西芮城华新纳米材料有限公司), 无水碳酸钠 (天津市大茂化学试剂厂), 无水氯化钙 (天津市恒兴化学试剂制造有限公司), 乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA; 国药集团化学试剂有限公司), 十二水合磷酸氢二钠、PEG (国药集团化学试剂有限公司), PAAS (天津市光复精细化工研究所), 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司), 恒温磁力搅拌器 (HI-3, 金坛市医疗仪器厂), 真空干燥箱 (DZF 型, 北京市永光明医疗仪器有限公司), 纳米粒度与电位分析仪 (英国 Malvern 仪器公司), 超速冷冻离心机 (德国 Heraeus 公司), 超声波破碎仪 (美国 Fisher Scientific 公司), Tecnai G2 Spirit TWIN 透射电镜 (美国 FEI 公司), S-3400N 扫描电子显微镜 (日

本株式会社日立高新技术公司), D/MAX-3A 型 X 射线衍射仪 (日本理学公司), Nicolet 6700 傅立叶红外光谱仪 (美国 Thermo Electron Scientific 公司), AA320 型原子吸收分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司分析仪器总厂)。

1.2 方 法

1.2.1 微米碳酸钙制备 在 2 mol/L Na_2CO_3 溶液 25 ml 中搅拌下加入 2 mol/L CaCl_2 溶液 25 ml, 充分反应 30 min 后, 离心收集沉淀, 双蒸水洗涤 3 次, 无水乙醇洗涤 3 次, 干燥后即可得到微米碳酸钙粉末。

1.2.2 改性纳米碳酸钙制备 在 2 mol/L Na_2CO_3 溶液 25 ml 中加入 EDTA (2%, w/w- Na_2CO_3) 和 Na_2HPO_4 (2%, w/w- Na_2CO_3), 反应 10 min; 再将 2 mol/L 的含有 PEG4000 (1%, w/w- CaCl_2) 的 CaCl_2 溶液 25 ml 缓慢滴加到上述 Na_2CO_3 混合溶液中, 充分反应 30 min 后, 加入 PAAS 溶液 (1%, w/w- CaCl_2) 50 ml, 间断超声 10 min; 室温静置 72 h, 离心收集沉淀, 双蒸水洗涤 3 次, 无水乙醇洗涤 3 次, 干燥后即可得到改性纳米碳酸钙粉末。

1.2.3 配制模拟十二指肠液 取磷酸二氢钾 6.8 g, 加水 500 ml 使溶解, 用 0.4% 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.8, 另取胰酶 10 g, 加水适量使溶解, 将两液混合后, 加水稀释成 1 000 ml, 即得模拟十二指肠液。

1.2.4 模拟肠液中铅离子浓度的测定 精密称量定量醋酸铅固体分别加入至 100 ml 模拟肠液中, 使铅离子的终浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 。精密称取纳米碳酸钙、改性纳米碳酸钙、微米碳酸钙各 40 mg 分别加入到上述含不同铅离子浓度的模拟肠液中, 37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴, 低速搅拌 (100 r/min), 按一定时间间隔, 精密抽取 2 ml 溶液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 滤液用原子吸收光谱仪测定铅离子浓度。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 制备的改性纳米碳酸钙的结构表征

所制备的改性纳米碳酸钙用粒径与电位分析、扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM)、透射电镜 (transmission electron microscope, TEM)、X 射线粉末衍射法 (X-ray powder diffractometry, XRD)、红外

光谱 (infra-red, IR) 分析等表征手段对其结构特征进行检测。粒径与电位分析显示制备的改性纳米碳酸钙平均粒径 (91.28 ± 10.2) nm, 平均电位为 (-28.8 ± 6.43) mV (见图 1)。

扫描电镜和透射电镜显示改性纳米碳酸钙颗粒为单分散状态, 颗粒形态为球形, 颗粒分散均匀, 不产生团聚效应 (见图 2)。利用红外光谱结合扫描电镜和 XRD 同时表征不同晶型的碳酸钙, 根据未知物红外光谱中吸收峰的强度、位置和形状, 推断该未知物的结构, 鉴定不同的晶型。

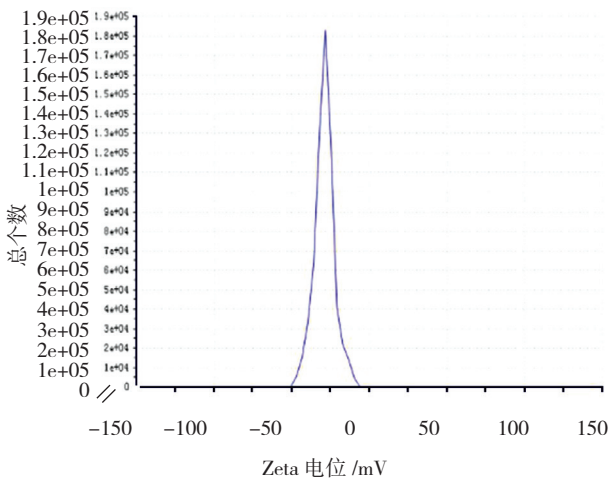


图 1 改性纳米碳酸钙电位检测结果

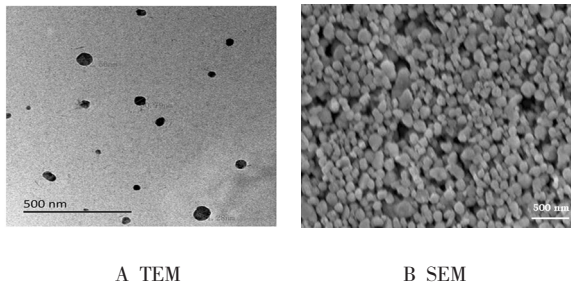


图 2 改性纳米碳酸钙图 (×500 nm)

红外光谱出现的特征吸收峰为 1 436.73、1 084.40、876.97 及 745.01 cm 分别对应碳酸钙中 C-O 反对称伸缩振动、CO₃ 的对称伸缩、CO₃²⁻ 面外变形振动和 O-C-O 的面内变形振动。其不仅在 1 084.40、

876.97 出现方解石碳酸钙的特征吸收峰, 还在 745.01 出现球霏石的特征吸收峰。见图 3。

XRD 显示制备的改性纳米碳酸钙混合物中有方解石 (104) 的衍射峰和球霏石 (110) 的衍射峰, 说明 PEG 有利于加强球霏石碳酸钙的稳定性 (见图 4)。C-O 反对称伸缩振动吸收峰出现在 1 490.01 和 1 436.73 cm, 而没有 PAAS 和 PEG 存在时生成的碳酸钙的在 1 421 cm, 相比较而言出现位移, 且吸收峰变宽, 这也是因为 PAAS 和 PEG 存在时碳酸钙晶体出现晶格畸变, 而导致 C-O 反对称伸缩振动出现蓝移。PAAS 和 PEG 对碳酸钙晶体的成核与生长有调控作用, 两者更有利于球霏石碳酸钙粒子的稳定性。

2.2 3 组碳酸钙在模拟十二指肠液中的除铅效果

在模拟十二指肠液中检测改性纳米碳酸钙、纳米碳酸钙和微米碳酸钙的除铅效果, 处理 1、2、3、4 h 后的铅离子浓度比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间的除铅效果有差异 ($F=26.08, P=0.000$); ②3 组碳酸钙除铅效果有差异 ($F=11.16, P=0.028$); ③变化趋势无差异 ($F=1.19, P=0.337$)。见附表。

与微米碳酸钙比较, 改性纳米碳酸钙粒径小, 分散好, 比表面积大, 起效快, 效果更明显, 4 h 能将铅离子浓度降至 30 μg/L 以下, 除铅效果更优于未改性纳米碳酸钙 ($t=3.603, P=0.023$)。见图 5。

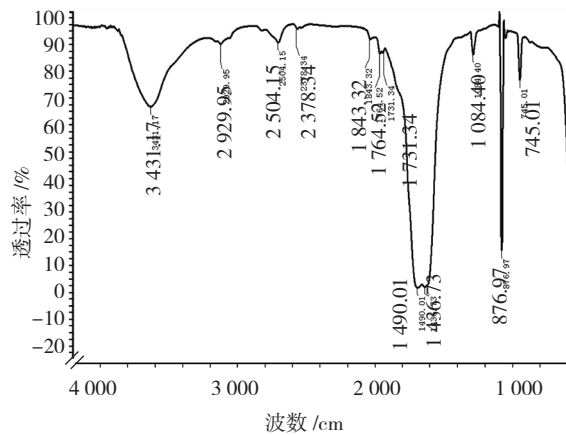


图 3 改性纳米碳酸钙的红外光谱

附表 3 各组时间的体外除铅效果比较 (μg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 h	2 h	3 h	4 h
改性纳米碳酸钙	282.6 ± 12.5	115.0 ± 10.0	63.3 ± 7.5	21.0 ± 4.0
纳米碳酸钙	315.2 ± 18.7	132.6 ± 13.5	82.9 ± 9.1	36.0 ± 5.5
微米碳酸钙	389.3 ± 21.0	311.6 ± 22.6	276.0 ± 24.4	257.2 ± 18.0

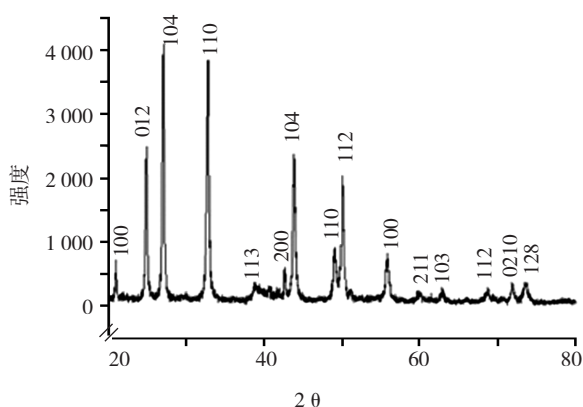


图 4 改性纳米碳酸钙的 XRD 分析图

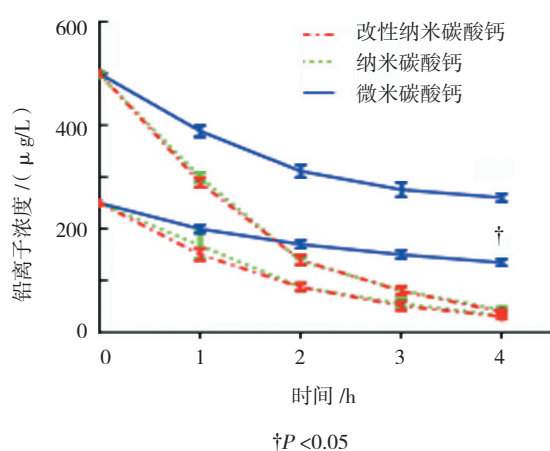


图 5 3 种碳酸钙除铅效果比较

3 讨论

碳酸钙价格低廉,来源广泛,主要用于工业填充剂、食品膨松剂、饲料强化剂等,由于碳酸钙是一种无毒且生物相容性良好的材料,因此在医药领域具有潜在的应用前景,如口服补钙剂、制酸剂及酸中毒时的解毒剂等。纳米级碳酸钙的制备主要采用机械粉碎法、化学反应沉淀法、碳化法制备,用于人体要求其 pH 固定,粒径均匀分散好,所用原料对人体无害。

碳酸钙属 ABO₃ 型晶体,因堆积方式不同,以方解石型、文石型、球霏石型和非晶态等多种形式存在。其中方解石是热力学上最稳定的晶型,在没有任何物质的影响的自然条件下,最终总是生成方解石晶型^[8]。方解石晶体除了常见的菱形六面体外,在有机质存在下也能形成其他形态的方解石,有机质参与结晶过程进入碳酸钙的晶胞,导致晶格的缺陷和畸变^[9],同时有机质存在情况下可形成较为稳定的球霏石晶型^[10]。EDTA 和可溶性无机磷酸盐混合物可吸附在纳米粒子表面,提高纳米粒子的表面电荷,通过静电排斥提高粒

子的分散性^[11],混合物作为晶形调节剂可得到表面积较大的纳米碳酸钙。分散剂——PEG 具有极性,可吸附在纳米碳酸钙的特定晶面上,有利于球霏石晶型的形成与稳定^[12]。PEG 可在颗粒表面形成吸附层之间的位阻效应,增加其在人体内环境中的稳定性和缓释性,但是分子量过大可使降低位阻效应,增加浆液黏度。但是单用 PEG 所得的纳米碳酸钙电位绝对值小,随着放置时间延长易产生团聚。分散剂——PAAS 可使纳米粒子的平均粒径减小,但是质量过大时反而造成纳米粒子分散稳定性降低^[13],PAAS 在纳米碳酸钙颗粒表面形成定向排列的单分子层吸附,降低表面能,提高静电排斥,但是当界面吸附达到饱和,PAAS 通过碳氢键的疏水作用缔合成胶团,使得黏度上升。在纳米碳酸钙中添加这 2 种分散剂,既具有静电稳定又具有空间位阻效应,增加电位绝对值,提高颗粒间的排斥力,使得纳米碳酸钙的分散性更好、稳定性更强。为控制粒子粒径与纳米碳酸钙的粉体比例,选用 PEG 和 PAAS 的质量为氯化钙质量的 1%,可以得到良好分散效果而不形成胶团。

本文制备的改性纳米碳酸钙在模拟肠液中 4 h 左右能将铅离子浓度降低至 30 μg/L 以下,与普通纳米碳酸钙驱铅速率基本相同,也与徐幸民^[5]、刘雨涛^[6]等报道的非改性纳米碳酸钙驱铅速率基本相同。由于纳米碳酸钙长时间放置容易沉淀、形成团聚体,影响其驱铅效率,将纳米碳酸钙经过改性之后,提高其稳定性,从而提高驱铅效率。本文制备的改性纳米碳酸钙是在晶型调节剂和 PAAS、PEG 2 种分散剂存在下,由碳酸钠与氯化钙均质搅拌,发生化学沉淀反应制成,得到大小适宜、分散均匀、电位适中的球形纳米粒。改性纳米碳酸钙粒径大小合适,分布窄,不含有毒物质和碱性物质,适用于制成人体肠道除铅的药剂,定位十二指肠缓释置换铅离子,形成不被肠道分解和吸收的碳酸铅,随粪便排出体外,所置换出的钙离子既能起到机体补钙的需要,还可阻止铅在肠道内的滞留与吸收。

综上所述,经 PEG 和 PAAS 改性后的纳米碳酸钙性质稳定,无毒,可进一步制成口服制剂应用于人体肠道除铅。

参考文献:

- [1] MOAWAD E M I, BADAWY N M, MANAWILL M. Environmental and occupational lead exposure among children in cairo, Egypt[J]. *Medicine*, 2016, 95(9): e2976.

- [2] LIU J, LI L, WANG Y, et al. Impact of low blood lead concentrations on IQ and school performance in Chinese children[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e65230.
- [3] SPECHT A J, LIN Y, WEISSKOPF M, et al. XRF-measured bone lead (Pb) as a biomarker for Pb exposure and toxicity among children diagnosed with Pb poisoning[J]. Biomarkers, 2016, 21(4): 347-352.
- [4] OYAGBEMI A A, OMOBOWALE T O, AKINRINDE A S, et al. Lack of reversal of oxidative damage in renal tissues of lead acetate-treated rats[J]. Environmental Toxicology, 2015, 30(11): 1235-1243.
- [5] 徐幸民, 徐虹, 魏科达, 等. 不同粒径的碳酸钙在体外模拟胃肠道环境中的除铅效果比较 [J]. 微量元素与健康研究, 2009, 26(5): 12-14.
- [6] 刘雨涛, 潘一峰, 黄彦凝, 等. 纳米碳酸钙驱铅研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(13): 5-7.
- [7] 宗营, 姜旭峰, 郝敬团, 等. 纳米碳酸钙表面改性方法 [J]. 化工时刊, 2015, 29(8): 29-31.
- [8] 郑天文, 陈雪梅. 碳酸钙空心微球的合成及其生成机理 [J]. 化工进展, 2017, 36(3): 989-995.
- [9] 金一平, 金达莱, 岳林海. 球形纳米复合方解石型碳酸钙的合成及表征 [J]. 浙江大学学报 (理学版), 2007, 34(1): 66-70.
- [10] 陈银霞, 纪献兵. 复分解法原位合成疏水球状球霰石纳米碳酸钙 [J]. 无机盐工业, 2014, 46(4): 25-28.
- [11] SHARMA V, CHOTIA C, TARACHAND T, et al. Influence of particle size and dielectric environment on the dispersion behaviour and surface plasmon in nickel nanoparticles[J]. Phys. Chem. Chem. Phys, 2017, 19(21): 14096-14106.
- [12] JIANG J, TAUER K, QIU Y, et al. Thermosensitive polymer controlled morphogenesis and phase discrimination of calcium carbonate[J]. Chem. Commun, 2017, 53(48): 6464-6467.
- [13] 徐建林, 张亮, 周生刚, 等. 表面活性剂对球磨法制备纳米 Sb₂O₃ 粉末的影响 [J]. 稀有金属材料与工程, 2014, 43(12): 3003-3007.

(张蕾 编辑)