

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.29.005
文章编号: 1005-8982 (2017) 29-0021-04

甲氨蝶呤 / 蒙脱土插层药物的缓释作用研究

安丰田, 朱文静, 初晓

(山东省青岛市立医院 药剂科, 山东 青岛 266000)

摘要: **目的** 研究甲氨蝶呤 (MTX) / 蒙脱土 (MMT) 插层药物能否作为临床药物缓释剂。 **方法** 采用溶液插层技术制备 MTX/MMT 缓释体系, 利用紫外可见分光光度计、傅立叶红外变换光谱仪等手段进行结构表征, 并通过模拟胃、肠液的体外释放实验, 来考察缓释体系的释放规律和内在机制。 **结果** 在 0.8 804 $\mu\text{g/ml}$ 初始浓度、 $\text{pH}=1$ 、 50°C 反应 4 h 时, 药物插层量最大。体外释放试验表明, MTX/MMT 插层药物在模拟胃、肠液中都有缓释作用, 但在模拟胃液中释放量较小、释放速度较慢。 **结论** MTX/MMT 插层药物可以制备成缓释体系, 可以作为临床药物缓释剂。

关键词: 溶液插层法; 蒙脱土; 甲氨蝶呤; 恒温超声法; 紫外分光光度法

中图分类号: R943

文献标识码: A

Study on sustained release effect of Methotrexate/Montmorillonite intercalation drugs

Feng-tian An, Wen-jing Zhu, Xiao Chu

(Pharmacy Department, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao, Shandong 266000, China)

Abstract: Objective To investigate whether Methotrexate/Montmorillonite intercalation drugs (MTX/MMT release system) can be used as drug delivery agents in clinic. **Methods** MTX/MMT release system was prepared by solution intercalation technique. The experiment adopted UV, FT-IR and other means to characterize the structural characteristics. Through simulation of gastric and intestinal fluid release experiments *in vitro*, the releasing rules and intrinsic mechanism of sustained-release delivery system were investigated. The initial drug concentration, reaction time, reaction pH value and reaction temperature on the MMT drug loading were explored. **Results** The maximum amount of drug intercalation was obtained at the initial concentration of 0.8804 $\mu\text{g/ml}$, pH 1 and 50°C for 4 hours. In the *in vitro* release experiment, sustained release of the MTX/MMT release system was observed in the simulated gastric and intestinal fluid, but the amount of release was smaller and the release speed was slower in the simulated gastric fluid. **Conclusions** Methotrexate/Montmorillonite intercalation drugs may be used as drug delivery agents in clinic.

Keywords: solution intercalation method; Montmorillonite; Methotrexate; constant temperature ultrasonic method; UV spectrophotometry

随着药剂学发展, 缓控释制剂已成为制剂研究的热点^[1]。与传统药物剂型相比, 缓控释制剂能减少用药次数, 提高生物利用度, 延长半衰期^[2-3]。

蒙脱石具有高比表面积、吸附能力强、流

变性能好、化学稳定性高, 以及低或无毒性的特点^[4-7]。甲氨蝶呤 (Methotrexate, MTX) 可以与蒙脱土 (Montmorillonite, MMT) 相互作用, 形成插层纳米复合物, 达到缓释控释的目的^[8-11]。本研究采用溶液

收稿日期: 2016-09-26

[通信作者] 初晓, E-mail: chux1970@163.com

插层技术制备 MTX/MMT 缓释体系, 并对其进行了结构表征, 探究初始药物浓度、反应时间等不同因素对 MMT 载药量的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验仪器 760CRT 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司), TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), 粉末压片机(天津拓普仪器有限公司), 差示扫描量热仪(北京恒久科学仪器厂), 红外分光光度计-21(日本岛津制作所), ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

1.1.2 实验原料与试剂 MTX 原料药(北京亚希尔化工科技有限公司), MTX 化学对照品(中国食品药品检定研究院), MMT(上海晶纯试剂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 MMT 载药量的计算 MMT 的载药量采用以下公式计算:

$$\text{MMT 载药量} = \frac{\text{MTX/MMT 沉淀质量} - \text{MMT 质量}}{\text{MMT 质量}} \times 100\%$$

1.2.2 体外释放试验 精确称取 0.0100 g MTX/MMT 插层产品(相当于 0.0021 g 游离 MTX 药物溶液)置于透析袋中, 用 5 ml 配置好预热的释放液分散 MTX/MMT 缓释体系; 同时取 0.0021 g MTX 游离药物模拟溶液放入另一个透析袋中。密封后将装有插层产物或游离药物的透析袋放入装有释放液的智能溶出仪中, 每个释放瓶中含有释放液 800 ml, 设定 37℃、80 r/min, 在适当的时间间隔取样, 取样 5 ml/次, 同时用已经预热的 5 ml 释放介质补充。用紫外分光光度计测试所取释放液的吸光度, 通过以下方程计算累积释放量:

$$E = \frac{5 \sum_{i=1}^{n-1} C_i + 800C_n}{M_{\text{drug}}D} \times 100\%$$

E(%): MTX 的累积释放量; C($\mu\text{g/ml}$): 第 i 次置换时, 释放液中药物浓度; n: 置换介质的次数; M(μg): 起始 MTX/MMT 的质量; D(%): MMT 载药量。

1.3 统计学方法

精密量取 2、4、6、8、10 和 12 ml 储备液, 分别置于 50 ml 容量瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度, 使其浓度分别为 4、8、12、16、20 和 24 $\mu\text{g/ml}$, 以溶剂为空白, 在 306.5 nm 处测其吸光度。记录含有不

同浓度药物的峰面积(A), 以每次测定的色谱峰的峰面积(A)为纵坐标(Y), 以与各个峰面积相对应的药物浓度($\mu\text{g/ml}$)为横坐标(X)制定散点图, 应用最小二乘法导出标准曲线的斜率和截距, 建立标准曲线回归方程。采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行线性回归分析。

2 结果

2.1 回归方程的建立

在 4 ~ 24 $\mu\text{g/ml}$ 范围内吸光度与浓度具有良好的线性关系。回归方程为: $Y=0.05132X+0.00008$, $R=0.9997$ 。见图 1。

2.2 药物初始浓度对载药量的影响

在一定范围内, MMT 的载药量随着药物初始浓度的升高而增加, 当初始浓度达到 0.8 804 $\mu\text{g/ml}$ 时, 载药量出现下降趋势。因为 MMT 上的载药位点是一定的, 当浓度升高时, 更多的药物离子通过离子交换机制进入 MMT 层间, 从而载药量增加。当载药位点接近饱和, 离子之间交换达到平衡时, 载药量不再上升, 反而由于溶液中离子浓度过高, 碰撞次数增加, 载药位点上结合的离子数下降, 使载药量出现下降趋势。见图 2。

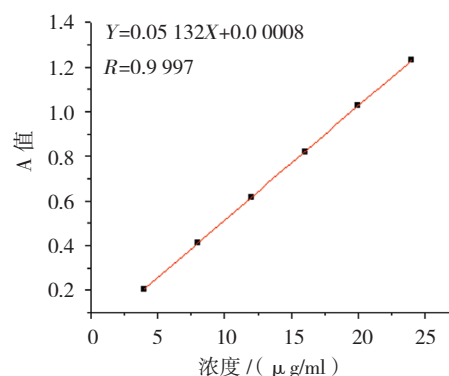


图 1 储备液标准曲线

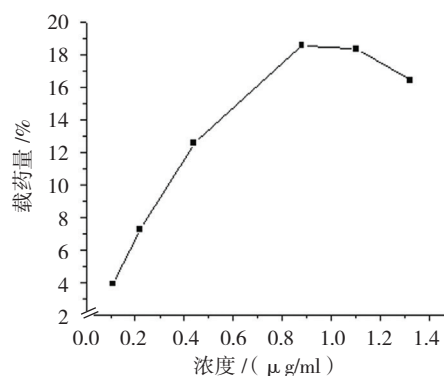


图 2 初始药物浓度对 MMT 载药量的影响

2.3 反应时间对药物载药量的影响

随着反应时间增加, 药物载药量增加, 在反应时间 4 h 时载药量达最大, 反应时间继续增加则载药量降低。这是由于溶液插层采用离子交换机制, 在适温下超声时间越长, 进入 MMT 层间的药物阳离子越多, 然而时间过长会使已经结合在 MMT 层间的药物阳离子又游离出来, 因此载药量下降, 在实验中应该控制好反应时间, 避免将已经进入层间的离子游离出来。见图 3。

2.4 pH 值对药物载药量的影响

MMT 的载药量随着 pH 值的增大而降低, 当 pH=1 时载药量最大。而 MTX 在强酸环境下酰胺键易断裂而分解, 因此参考药典中 MTX 的测定方法, 选择在 pH=1 ~ 2 时进行实验。

在碱性条件下, MTX 易溶解, 电离成 MTX 阴离子, MMT 层间带有负电荷, MTX 和 MMT 两者互相排斥, MTX 插入层间困难, 因此随着 pH 值增大, MMT 的载药量降低。见图 4。

2.5 反应温度对药物载药量的影响

在 0~50℃ 温度范围内, MMT 的载药量不断增加, 在 50℃ 时 MMT 载药量最大, 当温度继续升高时, MMT 的载药量趋于稳定。随着温度升高, MMT 的层

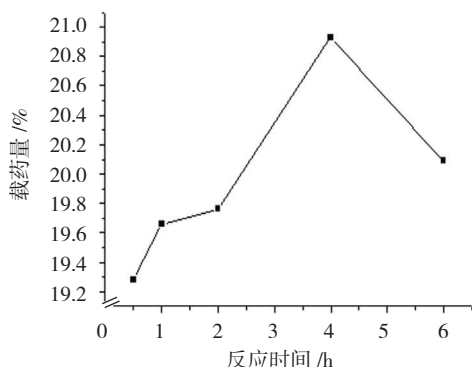


图 3 反应时间对载药量的影响

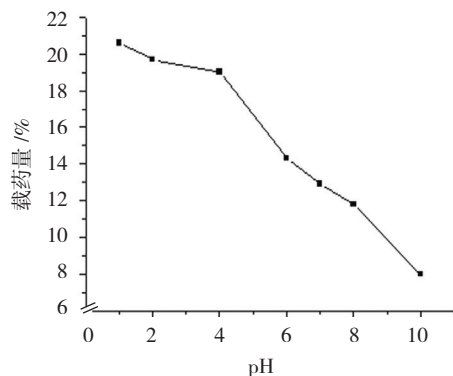


图 4 pH 值对 MMT 载药量的影响

间距不断增大, 因而其容纳的药量增多, 当其层间距增大到一定值时, 由于其间距太大而无法恢复到原来的三层结构, 因而其不能形成插层结构, 载药量降低。见图 5。

2.6 体外释放试验结果

MTX/MMT 插层药物的释放是扩散和离子交换 2 种形式同时存在的释放行为。一方面, 吸附在 MMT 片层上和插入到 MMT 片层内的 MTX 由于存在缓释体系和释放介质的浓度梯度, 导致 MTX 不断从缓释体系中扩散到释放介质。这就和释放介质中的 pH 值有很大关系, 尤其是对于略显酸性的 MTX, 更倾向于在 pH 值较高的磷酸盐缓冲溶液中释放。另一方面, 插入到 MMT 片层间的 MTX 和释放介质中阳离子, 如 K^+ 和 Na^+ 进行置换。这一过程是插层反应的逆过程, 可以称为解插层。释放介质中这些阳离子的浓度和强度, 以及层间 MTX 和 MMT 结合力的强弱, 都可以决定离子交换的程度。插层药物在模拟肠液和模拟胃液中的释放度较游离药物低, 说明 MTX/MMT 插层药物具有缓释作用; 比较插层药物在模拟肠液和模拟胃液的释放度可以看出, 模拟肠液中药物的释放度较高。因为 MTX 在碱性溶液中的溶解度较高, 已从 MMT 层间释放出来。见图 6、7。

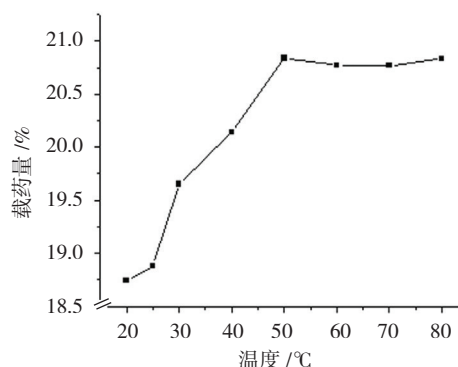


图 5 反应温度对 MMT 载药量的影响

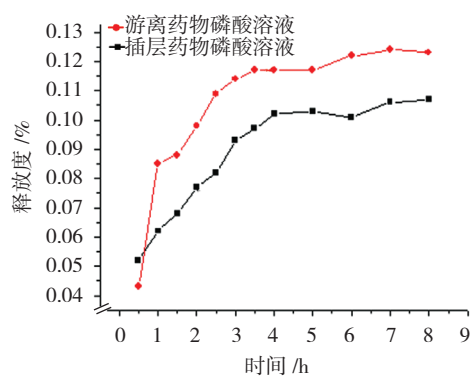


图 6 模拟肠液中药物的释放曲线

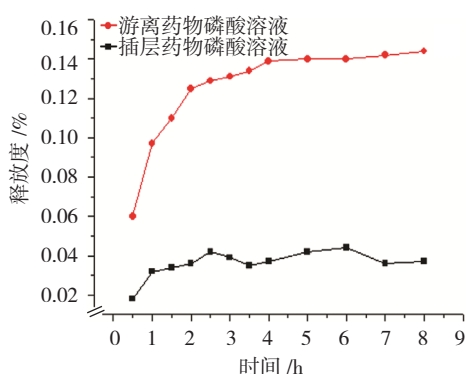


图 7 模拟胃液中药物的释放曲线

3 讨论

本实验通过溶液插层技术制备 MTX/MMT 缓释体系,同时对药物初始浓度、反应时间、pH 值及反应温度等因素对 MMT 载药量的影响进行探究,插层药物在模拟肠液和模拟胃液中的释放速度都有所降低,说明该插层产品具有缓释的作用;MTX 更倾向于在 pH 值较高的磷酸盐缓冲溶液中释放。通过体外释放实验可以看出,MTX/MMT 缓释体系更倾向于在肠道释放,具有一定的定向性,有望制成临床口服制剂。

参考文献:

- [1] LIN J H, PAN Y J, HSIEH C T, et al. Using multiple melt blending to improve the dispersion of montmorillonite in polyamide 6 nanocomposites[J]. *Polymer Testing*, 2016, 56(10): 74-82.
- [2] JIANG B, ZHANG C, WANG K Q, et al. Highly dispersed Ni/Montmorillonite catalyst for glycerol steam reforming: effect of Ni loading and calcination temperature[J]. *Applied Thermal Engineering*, 2016, 109: 99-108.
- [3] 夏侯国论, 刘伟区, 谭建权, 等. 有机硅/蒙脱土复合改性聚氨酯弹性体的制备和性能 [J]. *高分子学报*, 2015, 28(4): 444-450.
- [4] 王铁睿, 王捷, 安琳娜, 等. 甲氨蝶呤化疗常见不良反应的影响因素分析 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32(2): 138-140.
- [5] SHI H, HOU C, GU L. Influence of pretreatment of piperazine ferulate on pharmacokinetic parameters of methotrexate in methotrexate-induced renal injury model rats by HPLC-MS[J]. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, 12(2): 202-208.
- [6] 王鉴, 臧伟鹏, 祝宝东, 等. 蒙脱土表面改性研究进展蒙脱土表面改性研究进展 [J]. *硝酸盐通报*, 2015, 34(3): 749-763.
- [7] Dogan A, Gulhan I, Uyar I. Methotrexate treatment in progressive tubal ectopic pregnancies and hCG-related clinicosurgical implications[J]. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2016, 32(6): 317-322.
- [8] MUNIR T, BISHTON M, CARTER I. Single-center series of bone-marrow biopsy-defined large granular lymphocyte leukemia; high rates of sustained response to oral methotrexate[J]. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 2016, 16(12): 705-712.
- [9] 张超杰, 张增志, 陈兴龙. 适宜分散剂改善导水涂层材料中蒙脱土分散及吸脱附水性 [J]. *农业工程学报*, 2016(5): 82-87.
- [10] 侯亚楠, 余嫣箬, 杨晓宁. CO₂ 插层作用下有机蒙脱土膨胀结构行为的分子模拟研 [J]. *材料科学与工程学报*, 2016, 34(2): 237-241.
- [11] 朱红姣, 张光华, 王子儒. 聚乙二醇抑制蒙脱土对聚羧酸减水剂的影响及作用 [J]. *陕西科技大学学报 (自然科学版)*, 2016, 34(6): 110-115.

(童颖丹 编辑)