

# 克拉霉素漂浮-生物粘附微囊的 制备及性能研究

郑建华<sup>1</sup>, 刘朝武<sup>1</sup>, 包德才<sup>1,2</sup>, 赵燕军<sup>1</sup>, 马小军<sup>1</sup>

(1. 中国科学院大连化学物理研究所, 中国科学院研究生院, 大连 116023;

2. 渤海大学化学与化工学院, 锦州 121000)

**摘要** 选用乳化-溶剂挥发法制备乙基纤维素载药微球(EMs), 并通过内部凝胶化法进行包衣制得海藻酸钠-乙基纤维素载药微囊(AEMs), 最后通过离子交联法进一步包衣制得壳聚糖-海藻酸钠-乙基纤维素载药微囊(CAEMs). 研究克拉霉素漂浮-生物粘附微囊的制备工艺, 并考察微囊的体外漂浮性能、粘附性能及体内滞留性能. 结果表明, CAEMs 球形度较好, 药物包封率为 72.3%~78.2%, 载药量为 7.1%~12.7%. 在 pH=5 的醋酸缓冲液中, 6 h 时的累积释放率为 56.6%~70.6%, 漂浮率大于 70%, 4 h 时的体内滞留率为 60.5%. CAEMs 有望通过延长药物胃内滞留时间, 在临床用于根除幽门螺旋杆菌, 从而降低消化道溃疡的复发率.

**关键词** 克拉霉素; 漂浮-生物粘附微囊; 体外漂浮性能; 胃内滞留性能; 幽门螺旋杆菌

**中图分类号** O631; R318

**文献标识码** A

**文章编号** 0251-0790(2006)06-1182-04

胃内滞留型制剂是口服后能漂浮于胃液之上或者粘附于胃粘膜之上的剂型, 与常规缓释制剂相比, 通过飘浮或粘附性能延长药物在胃内的滞留时间(胃肠道上部是药物吸收的主要部位), 这对于胃内幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)的清除治疗具有特殊意义<sup>[1,2]</sup>. 克拉霉素在临床上广泛用于治疗 HP 感染. 与奥美拉唑合用, 能降低消化道溃疡的复发率. 奥美拉唑抑制胃酸的分泌, 迅速提高胃内 pH 值, 增加克拉霉素在胃粘膜内的药物浓度, 抑制 HP 活性, 促进溃疡面的愈合<sup>[3]</sup>. 克拉霉素缓释片虽然延长药物的释放时间, 减少给药频率, 但是其在胃内滞留时间短, 不能长时间维持胃内有效的抑菌浓度, 为了达到预期的治疗效果, 克拉霉素的使用剂量很大, 副反应较多, 患者的适应性较差<sup>[4]</sup>. 本文选用乙基纤维素(Ethylcellulose, Ec)为药物缓释材料, 制备缓释漂浮微球, 选用壳聚糖为粘附材料, 与海藻酸钠通过离子交联防止壳聚糖从微球表面脱落, 将克拉霉素制成漂浮-生物粘附微囊, 考察了影响其制备工艺及其体外漂浮、粘附及体内滞留性能的因素, 以期达到延长药物在胃内滞留时间, 提高胃粘膜的药物浓度, 有效抑制 HP 生长, 减少溃疡的复发率.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂及动物

克拉霉素(浙江华义医药有限公司, 批号 040405); 壳聚糖分子量 6 000(自制); 海藻酸钠(青岛市水产产业总公司); 乙基纤维素、聚乙烯醇(PVA)、Span 80(中国医药集团上海化学试剂公司).

EUROSTAR digital 数控搅拌机(德国 IKA 公司); LS-100Q 激光粒度仪(美国 Beckman-Coulter 公司); CK40 显微镜(日本 Olympus 公司); UV-2550IPC 紫外可见分光光度计(日本岛津公司).

Wistar 雄性大鼠(6~8 周龄), 体重 200~250 g, 购于大连医科大学实验动物中心.

### 1.2 壳聚糖-海藻酸钠-乙基纤维素载药微囊的制备

1.2.1 乙基纤维素载药微球(Ethylcellulose microspheres, EMs)的制备 将溶有一定量克拉霉素和乙

收稿日期: 2005-06-02.

基金项目: 中国科学院知识创新工程领域前沿项目(批准号: K2002A2)和国家自然科学基金(批准号: 20176056)资助.

联系人简介: 马小军(1958 年出生), 男, 研究员, 博士生导师, 从事医用生物材料的研究. E-mail: maxj@dicp.ac.cn

基纤维素的二氯甲烷溶液滴入 200 mL 质量分数为 1% 的 PVA 水溶液中, 在室温下以 500 r/min 转速搅拌, 使温度逐渐升高至 30 ℃, 搅拌 4 h, 过滤, 用去离子水洗涤微球 3 次, 真空干燥。

1.2.2 海藻酸钠-乙基纤维素载药微囊(Alginate-ethylcellulose microcapsules, AEMs)的制备 按照文献[5]方法, 取不同比例的乙基纤维素微球加入 10 mL 质量分数 2% 的海藻酸钠溶液(含 0.2 g CaCO<sub>3</sub> 粉末)中, 搅拌使其均匀分散后加入含 2% Span 80 的液体石蜡溶液中, 200 r/min 搅拌 15 min, 加入混有 0.8 mL 冰醋酸的 5 mL 液体石蜡, 继续搅拌 5 min, 过滤, 依次用正己烷、去离子水洗涤 3 次。另将一定量的克拉霉素与 2% 的海藻酸钠溶液混合均匀, 形成 A 溶液作对照(制备方法同 AEMs)。

1.2.3 壳聚糖-海藻酸钠-乙基纤维素载药微囊(Chitosan-alginate-ethylcellulose microcapsules, CAEMs)的制备 配置质量分数 0.5% 的壳聚糖溶液, 加入适量 AEMs, 成膜反应 5 min 后过滤。用光学显微镜和扫描电镜观察微球(囊)的形态, 用激光粒度仪测定 EMs 的粒径分布, 并用显微计数法计算 AEMs 和 CAEMs 的粒径分布(至少测量 100 个微囊粒径, 所得数据平均值即为平均粒径)。

### 1.3 载药微球(囊)中药物包封率及载药量的测定

按照文献[6]方法, 将真空干燥的微球称重, 加适量乙醇使其溶解, 加 pH = 5 的醋酸缓冲液稀释至 100 mL, 摇匀, 过滤, 精密量取滤液 4 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加体积分数为 75% 的硫酸溶液 4 mL, 摇匀, 放置 30 min 后, 用 pH = 5 的醋酸缓冲液稀释至刻度, 于 482 nm 测定吸光度, 按预先测定的标准曲线( $Y = 0.01793X - 0.02800$ ,  $r^2 = 0.996$ )计算药物包封率及载药量。包封率 = (微球中的药物量/处方药物量) × 100%; 载药量 = (微球中的药物量/微球的重量) × 100%。

### 1.4 载药微球(囊)中克拉霉素体外释放的测定

按照文献[6]方法, 称取一定量微囊, 置于一定体积的 pH = 5 的醋酸缓冲溶液中(37 ℃), 以 100 r/min 的转速摇动, 定时移取 5 mL 溶液(同时补充等温度等体积的释放介质), 取 4 mL 溶液置于 10 mL 容量瓶中, 加体积分数为 75% 的硫酸溶液 4 mL, 混匀显色, 冷却 30 min 后加醋酸缓冲液至刻度, 摇匀, 测定吸光度, 计算累积释放百分率。

### 1.5 微囊体外漂浮性能的测定

参照文献[7]方法, 以 pH = 5 的醋酸缓冲液 100 mL 为溶剂, 恒温(37 ± 0.5) ℃, 转速 100 r/min。取 100 粒微囊置于溶剂中, 每隔一定时间观察其漂浮情况, 计算漂浮百分率。

### 1.6 微囊体外粘附性能的测定

参照文献[8]方法, 将禁食供水饲养 24 h 后的大鼠随机分为 3 组, 处死后取胃, 平铺于载物台上。分别取 EMs, AEMs 及 CAEMs 各 100 粒, 均匀撒在胃粘膜表面, 置于饱和氯化钠溶液的密闭容器中, 保湿 20 min 后取出, 使载物台呈 45° 斜角放置。用 pH = 5 的醋酸缓冲液以 22 mL/min 冲洗 5 min, 记录淋洗后分别保留在胃粘膜组织上的微囊个数, 获取滞留率。

### 1.7 微囊胃内滞留性能的测定

参照文献[9]方法, 将禁食供水饲养 8 h 后的大鼠随机分为 3 组。取 500 粒微囊给大鼠灌胃 1 h, 2 h 和 4 h 后, 用醋酸缓冲液冲洗并收集残留于胃中的微囊。微囊的滞留性能表示为滞留于胃中的微囊个数的百分比。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微球(囊)的形态

由液中干燥法制备的 EMs 为白色球体, 球形比较规整, 无粘连, CAEMs 内含 1 ~ 3 个或更多个 EMs, 球形较规整(图 1)。EMs 表面有微孔结构, 并有少量的药物结晶(图 2)。

### 2.2 微囊的粒径、包封率及载药量

选择包封率为 84.5%, 载药量为 16.9% 的 EMs 制备 AEMs 和 CAEMs 时, 随 EMs 与海藻酸钠的质量比增加, AEMs 和 CAEMs 内包裹的 EMs 个数增加, 包封率有所增加, 载药量明显增加。在制备 AEMs 和 CAEMs 过程中, 固定海藻酸钠的质量, 增加 EMs 的质量, 相对增加克拉霉素的投药量, 较少 EMs 的损失量, 即相对提高药物包封率和载药量; 增加 EMs 的质量, 使得 EMs 在海藻酸钠溶液中难分

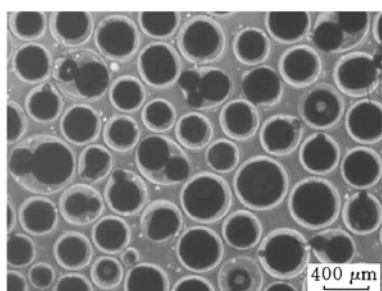


Fig. 1 Optical photomicrograph of CAEMs

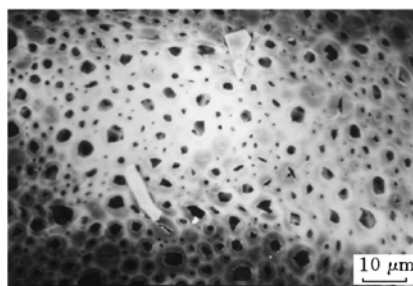


Fig. 2 SEM image of EMs

散,形成的微囊粒径较大,包裹的EMs个数也就增多,球形度相对不规整.当AEMs质量一定时,与壳聚糖成膜形成CAEMs过程中,药物量略有损失,药物的包封率和载药量稍微下降(见表1).

Table 1 Effect of EMs/Alg on particle size and content of clarithromycin in the microcapsules

Formulation	EMs/Alg	Mean	Drug	Drug
	mass ratio	diameter/ μm	efficiency (%)	content (%)
EMs	—	216	84.5	16.9
AEMs	1:1	343	75.7	8.0
CAEMs-1	1:2	303	72.3	7.1
CAEMs-2	1:1	356	74.1	7.7
CAEMs-3	2:1	449	78.2	11.2
CAEMs-4	4:1	487	77.0	12.7

### 2.3 体外药物释放

由图3可见,海藻酸钠微囊,30 min 药物释放达75%以上,无显著的缓释作用,说明海藻酸钠对药物缓释的影响较小;而以乙基纤维素为核心材料的AEMs和CAEMs突释效应小,30 min 释放25%左右,1 h 达40%左右,具有明显的缓释效果,并且AEMs和CAEMs的释放曲线相似,说明乙基纤维素是影响药物释放的主要辅料,壳聚糖对药物释放的影响也较小.

### 2.4 微囊体外漂浮性能

乙基纤维素是低密度疏水性材料,对EMs的漂浮性能起着非常重要的作用.当EMs/海藻酸钠质量比为1:2时,10 min 后漂浮率为83%,4 h 后漂浮率为71%,随着EMs/海藻酸钠质量比的增大,漂浮率呈上升趋势,当EMs/海藻酸钠质量比为2:1和4:1时,8 h 后漂浮率大于90%.这是因为海藻酸钠和壳聚糖是亲水性天然多糖,能吸水膨胀,使得CAEMs的密度增大,下沉.当EMs/海藻酸钠质量比为1:1时,10 min 后漂浮率为91%,4 h 后漂浮率为84%,并且该比例对微球内药物的释放基本无阻滞作用,呈现良好的缓释和漂浮性能.直接将乙基纤维素颗粒与药物分散在海藻酸钠溶液中成球,药物暴释现象严重<sup>[2]</sup>,而本文将药物包封在EMs中,延长了药物释放时间.

### 2.5 微囊体外粘附性能

不同微球(囊)在离体大鼠胃粘膜上的体外粘附实验表明:EMs在胃粘膜的滞留率为37%,AEMs

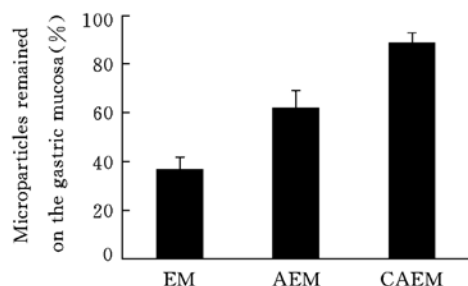


Fig. 4 The percentage of CAEM retained on the gastric mucosa of rats *in vitro* ( $n=3$ )

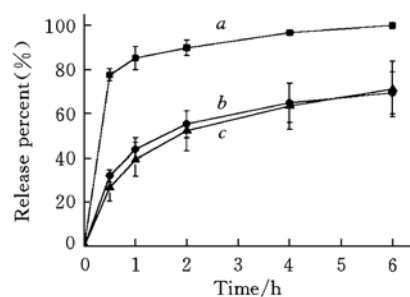


Fig. 3 Effects of Ec, alginate and chitosan on release property of different microcapsules

a. Alginate antitheses; b. AEMs; c. CAEMs-2.

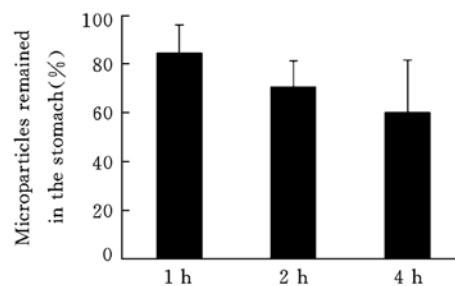


Fig. 5 The percentage of CAEM retained in the stomach of rats *in vivo* ( $n=3$ )

在胃粘膜的滞留率为 62%。CAEMs 在胃粘膜的滞留率可达 89%，说明壳聚糖对 CAEMs 的粘附性能起到非常重要的作用(图 4)，与文献报道壳聚糖具有良好的生物粘附性能一致<sup>[10]</sup>。

## 2.6 微囊胃内滞留性能

CAEMs 在离体大鼠胃粘膜上的体外粘附实验表明，大鼠经灌胃给予 CAEMs 1 h 后，其在胃内滞留率为 84.9%，2 h 后在胃内滞留率为 70.9%。4 h 后在胃内滞留率仍可达 60.5%，说明 CAEMs 具有良好的胃内滞留性能(图 5)，这可能是其漂浮性能及粘附性能的综合效果。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] DIAO Yong(刁 勇), TU Xi-De(屠锡德). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报)[J], 1991, **26**: 695—700
- [ 2 ] Murata Y., Kofuji K., Kawashima S. J. Biomater Sci. Polym. Ed. [J], 2003, **14**: 581—588
- [ 3 ] Francesco P., Asghar Q., Lea M. et al. Helicobacter[J], 2003, **8**: 53—60
- [ 4 ] Malferteiner P., Megraud F., Oorain C. et al. Aliment Pharmacol Ther. [J], 2002, **16**: 167—180
- [ 5 ] YU Wei-Ting(于炜婷), XIONG Ying(雄鹰), LIU Xiu-Dong(刘袖洞) et al. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(7): 1381—1383
- [ 6 ] Pharmacopoeia Commission of People's Republic of China(国家药典委员会). Pharmacopoeia of People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M], Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 271
- [ 7 ] Umamaheswari R. B., Jain S., Jain N. K. Drug Del. [J], 2003, **10**: 151—160
- [ 8 ] Akiyama Y., Nagahara N., Kashihara T. et al. Pharm. Res. [J], 1995, **12**: 397—405
- [ 9 ] Liu Z. P., Lu W. Y., Qian L. S. et al. J. Control Release[J], 2005, **102**: 135—144
- [ 10 ] He P., Davis S. S., Illum L. Int. J. Pharm. [J], 1998, **166**: 75—88

## Preparation and Characteristics of Floating-bioadhesive Microcapsules Containing Clarithromycin

ZHENG Jian-Hua<sup>1</sup>, LIU Chao-Wu<sup>1</sup>, BAO De-Cai<sup>1,2</sup>, ZHAO Yan-Jun<sup>1</sup>, MA Xiao-Jun<sup>1\*</sup>

(1. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences,  
Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;

2. College Chemical and Chemical Engineering, Bohai University, Jinzhou 121000, China)

**Abstract** Floating-bioadhesive microcapsules containing clarithromycin were prepared by a combined method of emulsion solvent diffusion and internal/ion gelation for the treatment of *Helicobacter pylori*. Ethylcellulose microspheres(EMs) were prepared by the emulsion solvent diffusion method. EMs were coated with alginate and chitosan by the internal/ion gelation method to get alginate-ethylcellulose microcapsules(AEMs) and chitosan-alginate-ethylcellulose microcapsules(CAEMs). The drug efficiency and drug content of clarithromycin in CAEMs were determined to be 72.3%—78.2% and 7.1%—12.7%, respectively. CAEMs showed an obviously sustaining effect for more than 6 h *in vitro*, and more than 70% of CAEMs floated in acetate buffer solution for 8 h *in vitro*. Furthermore, the *in vitro* remaining percentage of CAEMs in the stomach 4 h after the administration was 60.5%. The results suggest that floating-bioadhesive microcapsules might be a promising drug delivery system for the treatment of *Helicobacter pylori* infection.

**Keywords** Clarithromycin; Floating-bioadhesive microcapsules; *In vitro* floating characteristic; Gastric residence characteristic; *Helicobacter pylori*

(Ed.: Y, Z)