

甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的制备及体外缓释特征

杨建华, 路新卫, 韦莉萍, 丁婷

■背景资料

蒙脱土属矿物中药, 对人、畜、植物无毒害和腐蚀作用。蒙脱土本身对胃肠道有多种作用, 口服后紧密覆盖消化道表面, 吸附黏蛋白, 有加强修复和保护消化道黏膜的功能, 并减轻药物对黏膜刺激产生的毒副作用, 还能固定和清除多种病原体及毒素, 防止各种炎症因子对胃黏膜的侵害, 平衡正常胃肠道菌群的微生态, 促进消化道局部免疫作用, 具有局部止血作用。

杨建华, 韦莉萍, 丁婷, 南方医科大学中医药学院 广东省广州市 510515

路新卫, 南方医科大学药学院 广东省广州市 510515

广州市科技攻关计划基金资助项目, No. 2004Z3-E0171

广东省卫生厅医学科研基金资助项目, No. A2004411

作者贡献分布: 此课题由韦莉萍与杨建华设计; 研究过程由杨建华、路新卫及丁婷完成; 本论文写作由杨建华完成。

通讯作者: 韦莉萍, 510515, 广东省广州市, 南方医科大学中医药学院, caoweiy@yaho.com.cn

电话: 020-88289063

收稿日期: 2008-10-18 修回日期: 2009-03-05

接受日期: 2009-03-09 在线出版日期: 2009-03-28

Preparation of Metronidazole/MMT antibacterial composite and *in vitro* release characteristics

Jian-Hua Yang, Xin-Wei Lu, Li-Ping Wei, Ting Ding

Jian-Hua Yang, Li-Ping Wei, Ting Ding, Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Xin-Wei Lu, School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Supported by: the Key Projects of Guangzhou Healthy Bureau, No. 2004Z3-E0171; and the Medical Scientific Research Program of Guangdong Provincial Healthy Bureau, No. A2004411

Correspondence to: Li-Ping Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. caoweiy@yaho.com.cn

Received: 2008-10-18 Revised: 2009-03-05

Accepted: 2009-03-09 Published online: 2009-03-28

Abstract

AIM: To prepare a Metronidazole/MMT antimicrobial composite and study its *in vitro* release characteristics.

METHODS: Metronidazole is intercalated into the interlayer of Na-MMT with ion-exchange. Metronidazole/MMT was analyzed by XRD, FTIR and TG, and its release characteristics was detected by *in vitro* release experiment.

RESULTS: The interlayer space of Metronidazole/MMT has increased to 1.3026 nm from 1.2345 nm, showing that Metronidazole has already been intercalated into the interlayer of

Na-MMT. *In vitro* experiment demonstrated that Metronidazole/MMT antimicrobial composite had a good characteristic of sustained-release.

CONCLUSION: Metronidazole/MMT antimicrobial composite with sustained-release property can be further developed into a sustained-release anti-infection drugs.

Key Words: Metronidazole; Antimicrobial composite; Sustained-release; Na-MMT

Yang JH, Lu XW, Wei LP, Ding T. Preparation of Metronidazole/MMT antibacterial composite and *in vitro* release characteristics. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(9): 914-917

摘要

目的: 研究甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的制备及其体外释放特性。

方法: 以离子交换方式将甲硝唑插层到钠基蒙脱土的层间, 通过XRD、FTIR及TG对抗菌复合物的性能进行表征, 并通过体外释放试验检测缓释效果。

结果: 插层后, 钠基蒙脱土层间距由1.2345 nm增大到1.3026 nm, 说明甲硝唑已经插入钠基蒙脱土层间; 通过体外释放试验检测证实抗菌复合物具有良好的缓释效果。

结论: 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物具有缓释作用, 可进一步开发成抗感染缓释药物。

关键词: 甲硝唑; 抗菌复合物; 缓释; 钠基蒙脱土

杨建华, 路新卫, 韦莉萍, 丁婷. 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的制备及体外缓释特征. 世界华人消化杂志 2009; 17(9): 914-917
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/914.asp>

0 引言

蒙脱土(montmorillonite, MMT)又称“蒙脱石”, 属于2:1型层状硅铝酸盐, 具有独特的双八面体结构和层纹状组合, 由于其具有较大的比表面积, 在456-676 m²/g之间, 因此有较强的吸附性^[1]; 作

■同行评议者

唐文富, 副主任医师, 四川大学华西医院中西医结合科

为药用矿物始载于《本草纲目拾遗》^[2], 以蒙脱土为主要原料研制的黏膜保护和止泻剂如思密达等已广泛应用于临床且无毒副作用^[3]. 还可以通过超声、振荡、搅拌等方法^[4]将不同物质插入到蒙脱土的层间, 蒙脱土经其他物质插层处理后得到的蒙脱土复合物层间距加大, 比表面积进一步加大, 表面吸附能力加强, 因此适合作为抗菌药物的载体^[5-11].

甲硝唑(Metronidazole)属于硝基咪唑类, 在临床上被广泛应用于治疗各种厌氧菌感染的治疗, 其价格低廉, 疗效肯定, 也是治疗幽门螺杆菌(*H pylori*)感染的药物之一. 大量研究显示, 接近30%的消化性溃疡患者在使用甲硝唑治疗的过程中, 由于药物不良反应如恶心呕吐、味觉差和腹泻等消化道症状和服药次数多, 导致患者依从性差从而影响其临床应用^[12]. 有11.5%的患者提前终止治疗, 其中2/3患者因药物不良反应终止治疗^[13]. 因此, 进一步研制减少药物毒副作用、增加患者依从性的新药, 以提高疗效, 是根除*H pylori*治疗的重要研究方向. 本试验以离子交换法制备甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物(Metronidazole/MMT), 并进行体外缓释试验的初步研究, 为今后进一步研究提供理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 甲硝唑原料药由罗田宏源化学原料药有限公司提供(批号: 06112402); 钠基蒙脱土(Na-MMT)由浙江三鼎科技有限公司提供. 仪器: TSHZ-台式恒温水浴振荡器(上海跃进医疗器械厂), BioMate5型紫外分光光度计(Thermo公司), D/maxIII X衍射仪(日本理学公司), 傅立叶变换红外光谱仪(美国Perkin-Elmer公司), 热重分析仪(美国Perkin-Elmer公司).

1.2 方法

1.2.1 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的合成 精密称取一定量甲硝唑溶于50 mL去离子水中, 加入到一定量钠基蒙脱土溶液中, 调整溶液的pH值, 超声波振荡40 min后, 在100℃油浴恒温搅拌一定时间, 静置, 过滤, 洗涤, 真空干燥, 研磨并过200目筛, 即得甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物, 干燥保存.

1.2.2 结构表征及性能测试 用X射线仪测定样品的XRD谱, 测试条件为CuK α 辐射线, 电压40 KV, 扫描速度为3度/min, 步长为0.02度. 用傅立叶变换红外光谱仪进行测试, 扫描范围400-4000/cm, KBr压片. 用热重分析仪测热失重曲线, 测试条件为空气气氛, 升温速率为20℃/min, 气流量为

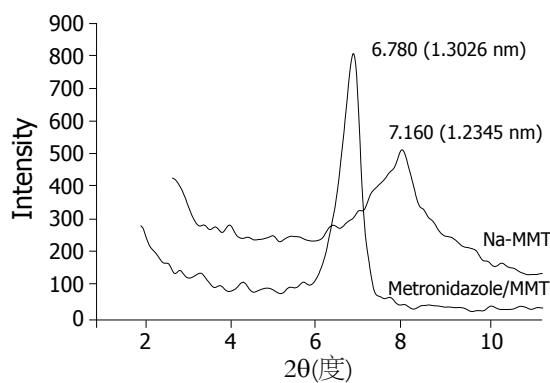


图1 钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的XRD图谱.

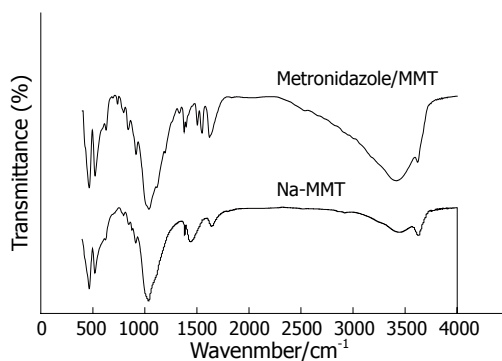


图2 钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的FTIR图谱.

20 mL/min.

1.2.3 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的体外释放度实验 称取一定量甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物2份, 分别置于500 mL锥形瓶内, 以人工胃液和肠液^[14]为释放介质, 将锥形瓶放置于恒温水浴振荡器中, 转速100 r/min, 温度(37±0.5)℃, 进行体外缓释, 分别于0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0 h取样5 mL, 经0.45 μm微孔过滤膜过滤, 并及时补充5 mL预热过的释放介质, 用紫外分光光度计测定吸收值, 计算其累积释放度, 并绘制累积释药量-时间曲线.

2 结果

2.1 XRD分析 钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的XRD图谱如图1所示. 钠基蒙脱土的2θ角为7.160度, 层间距为1.2345 nm, 插层后的甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的衍射峰与钠基蒙脱土的相比发生明显位移, 并向小角度偏移, 2θ角变为6.780度, 层间距增大到1.3026 nm. 说明部分甲硝唑已插层到钠基蒙脱土片层结构中.

2.2 FTIR分析 钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的红外图谱如图2所示. 图中显示钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的红外光谱

■ 研发前沿

甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物是否具有蒙脱土对黏膜保护性的特点, 及其动物体内释放试验效果如何, 还有待于进一步研究探讨.

■应用要点

甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物通过缓释作用减少服药次数和服药种类, 提高患者的依从性, 减少 *H. pylori* 感染治疗失败率, 具有广阔的开发前景和应用价值。

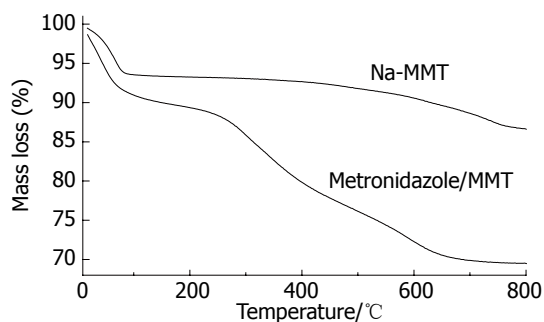


图3 钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的TG曲线。

共同特征是在3620/cm处的Al-OH伸缩振动和1030-1050/cm范围内强的Si-O-Si的骨架振动吸收峰, 在甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的红外光谱中出现特征峰, 即在1550/cm出现N=O伸缩振动, 同时3420/cm和1640/cm处的-OH峰强度减弱, 这是因为甲硝唑插层后层间的结合水被置换出来, 水的含量减少, 结合甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的XRD图谱分析, 表明甲硝唑已经入钠基蒙脱土的层间。

2.3 TG分析 从图3的钠基蒙脱土和甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的热重分析曲线可以看出钠基蒙脱土在200°C以前失重较大, 是由于钠基蒙脱土失去表面吸附水和层间的结合水所导致; 在500-750°C也有明显的失重, 这是由于蒙脱土硅酸盐晶体中的-OH在高温下脱去水而形成。甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物热失重过程可分为3个阶段: 第1阶段在升温的初始阶段, 温度为20-150°C, 在此阶段蒙脱土表面的吸附水分和层间的结合水蒸发, 引起甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的失重, 失重率约占其总重的7.2%; 第2阶段是温度为230-340°C, 此阶段是药物发生急剧失重的阶段, 也是热分解的主要阶段, 失重率约占其总重的11.3%; 第3阶段是在500-750°C, 同样是由于蒙脱土硅酸盐晶体中的-OH在高温下脱去而形成, 失重率约占其总重的3.6%。甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的热分解温度约为230°C, 比甲硝唑的开始分解温度180°C提高50°C, 表现出复合物的热稳定性显著提高。

2.4 体外释放度实验 由图4的缓释曲线可知, 在人工胃液和肠液中甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物可释放出甲硝唑, 并随着缓释时间的延长, 其累积释放量逐渐增加, 由此可知钠基蒙脱土可以作为一种缓释载体, 他能使药物有效浓度长时间保持恒定。分别以人工胃液和人工肠液为溶出介质的体系中, 在0-0.5 h其累积释放量分别达到

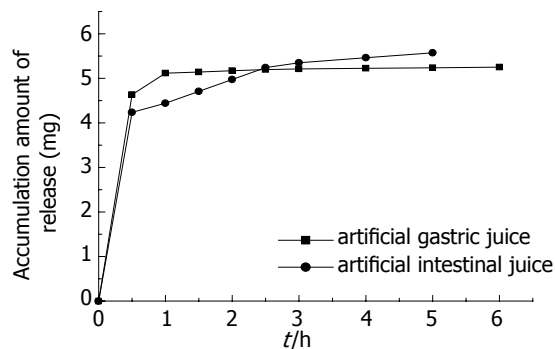


图4 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的缓释曲线。

4.7 mg/500 mL和4.3 mg/500 mL, 这主要由吸附在钠基蒙脱土表面的甲硝唑释放所致, 吸附量约占甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的4%; 0.5-6 h插层在钠基蒙脱土中甲硝唑均匀释放, 其累积释放量分别达到5.3 mg/500 mL和5.7 mg/500 mL, 释药量约占插层在钠基蒙脱土中甲硝唑的47%和55%, 释放速度分别控制在8%/h和10%/h。随着时间的延长, 甲硝唑在人工肠液中的溶出量明显高于其在人工胃液中的溶出量, 说明pH值的变化对甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的缓释作用有一定影响。

3 讨论

蒙脱土属矿物中药, 对人、畜、植物无毒害和腐蚀作用^[3]。蒙脱土本身对胃肠道有多种作用, 口服后紧密覆盖消化道表面, 吸附黏蛋白, 有加强修复和保护消化道黏膜的功能, 并减轻药物对黏膜刺激产生的毒副作用, 还能固定和清除多种病原体和毒素, 防止各种炎症因子对胃黏膜的侵害, 平衡正常胃肠道菌群的微生态, 促进消化道局部免疫作用, 具有局部止血作用^[15-16]。甲硝唑具有变态反应低、组织相容性等特点, 但全身毒副作用较明显, 其半衰期短, 血药浓度波动大, 服药次数多, 导致患者依从性差, 影响治疗。本试验所合成的甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物经XRD、FTIR及TG对其进行表征, 证实甲硝唑已经进入钠基蒙脱土层间, 其体外释放实验也说明药物浓度平稳可达临床要求, 且持续时间较长。

通过体外缓释释放曲线可以看出, 0-0.5 h, 甲硝唑在人工肠液和人工胃液中释放速度较快, 这可能与被吸附在钠基蒙脱土表面的甲硝唑因分子间作用力不强有关; 0.5-6 h, 不同释放介质中的甲硝唑累积释放量变化很慢, 可能由于蒙脱土片层间的甲硝唑阳离子与蒙脱土结构负电

荷作用, 以及蒙脱土片层的阻隔作用抑制了药物的释放速度. 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物中被钠基蒙脱土表面所吸附的甲硝唑在溶液中迅速达到一定浓度, 而通过离子交换方式进入蒙脱土层间的甲硝唑可缓慢释放出来, 使释放时间延长, 其整个释放过程有利于甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物迅速起效并保持有效浓度恒定, 从而使局部药物浓度提高.

前0.5 h内在肠液中甲硝唑的释放速度比在胃液中的释放速度慢, 可能由于甲硝唑在水溶液中呈碱性^[17], 与释放介质中的电荷相互作用, 因此在碱性的人工肠液中甲硝唑的释放速度比在酸性人工胃液慢; 而0.5-6 h之间, 人工肠液中甲硝唑的释放速度比在人工胃液慢的释放速度快, 甲硝唑为咪唑衍生物, 其结构中具有氨基氮原子可与H⁺结合质子化形成阳离子, 人工肠液为碱性, 其中阴离子带有的负电性大于强酸性的人工胃液, 其阴、阳离子之间的相互吸引, 使得质子化的甲硝唑更容易释放.

甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物具有缓释特性, 另外层间距进一步增加, 吸附细菌的能力增强^[18-19], 局部高浓度的药物可以有效的作用到被吸附的细菌上, 达到抗感染的目的, 从而可以减少抗生素的用量. 但是甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物是否具有蒙脱土对黏膜保护性的特点, 及其动物体内释放试验效果如何, 还有待于进一步研究探讨.

总之, 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物通过缓释作用减少服药次数和服药种类, 提高患者的依从性, 减少*H. pylori*感染治疗失败率, 具有广阔的开发前景和应用价值.

4 参考文献

- 何宏平. 粘土矿物与金属离子作用研究. 第1版. 北京: 石油工业出版社, 2001: 2-40
- 翟永功, 次向明, 邹星, 郭丽丽. 药用蒙脱石粘土的矿物组成与化学成分分析. 中草药 2002; 33: 291-293
- 白慧东, 徐建国, 尚靖, 蒋玉凤. 膨润土的药用状况. 新疆中医药 2006; 24: 75-77
- 邱玉超, 韦莉萍, 路新卫, 徐耿明, 施永德, 李玲, 钟导雄. 插层蒙脱土不同方法的比较. 第一军医大学分校学报 2004; 27: 100-102
- Polubesova T, Chen Y, Navon R, Chefetz B. Interactions of hydrophobic fractions of dissolved organic matter with Fe(3+) - and Cu(2+)-montmorillonite. *Environ Sci Technol* 2008; 42: 4797-4803
- Daković A, Matijasević S, Rottinghaus GE, Ledoux DR, Butkeraitis P, Sekulić Z. Aflatoxin B(1) adsorption by natural and copper modified montmorillonite. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2008; 66: 20-25
- He H, Yang D, Yuan P, Shen W, Frost RL. A novel organoclay with antibacterial activity prepared from montmorillonite and Chlorhexidini Acetas. *J Colloid Interface Sci* 2006; 297: 235-243
- Tong G, Yulong M, Peng G, Zirong X. Antibacterial effects of the Cu(II)-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88 and *Salmonella choleraesuis*. *Vet Microbiol* 2005; 105: 113-122
- Ma YL, Guo T. [Preparation of Cu(2+)-loaded montmorillonite and its bactericidal mechanism against *Escherichia coli*] *Yaoxue Xuebao* 2007; 42: 318-322
- Hu CH, Xu ZR, Xia MS. Antibacterial effect of Cu2+-exchanged montmorillonite on *Aeromonas hydrophila* and discussion on its mechanism. *Vet Microbiol* 2005; 109: 83-88
- 韦莉萍, 路新卫, 杨建华; 南方医科大学. 硝基咪唑类药物纳米蒙脱土缓释剂及其制备方法. 中国专利 200810219931.5. 2008-12-15
- 王非, 李建成, 张玉江. 甲硝唑的不良反应. 中国误诊学杂志 2008; 8: 1757
- Broutet N, Tchamgoué S, Pereira E, Lamouliatte H, Salamon R, Mégraud F. Risk factors for failure of *Helicobacter pylori* therapy--results of an individual data analysis of 2751 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 99-109
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录72
- 邹爱红, 王厚亮, 刘继富. 天然消化道粘膜保护剂思密达的成分及物相分析. 资源开发与市场 1999; 15: 202
- 陈况, 陈淑洁, 姒健敏, 孙柯科, 王良静. 不同产地的天然蒙脱石对大鼠慢性萎缩性胃炎治疗作用的比较. 中国新药杂志 2007; 16: 296-299
- 常威, 徐丹红, 王春芳. 蒙脱石对甲硝唑吸收和疗效的影响. 兰州大学学报(医学版) 2005; 31: 54
- 韦莉萍, 钟导雄, 施永德, 徐耿明, 邱玉超, 李玲, 路新卫, 何肖娟. 纳米蒙脱石对金黄色葡萄球菌的吸附作用. 第一军医大学分校学报 2004; 27: 98-99
- 路新卫, 韦莉萍, 朱全红, 杨建华. 抗菌硅橡胶导尿管材料的合成及其性能. 中国组织工程研究与临床康复 2008; 12: 8091-8094

■同行评价

本研究选题较好, 设计科学, 具有较好的学术价值.

编辑 李军亮 电编 何基才