

木犀草素和木犀草素苷在羟丙甲纤维素凝胶骨架中释放行为的理论模拟

武毅君^{1,2}, 徐为人¹, 刘 鹏¹, 任晓文¹, 陈正隆³, 汤立达⁴

(1. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193; 2. 河南大学 药学院, 河南 开封 475001; 3. 中山大学(台湾)化学系, 台湾 高雄 80424; 4. 天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193)

摘要:目的 通过研究木犀草素和木犀草素苷在羟丙基纤维素中的释放行为, 探索亲水凝胶中药物缓释的理论模型。方法 以不同距离的羟丙基纤维素链方阵模拟亲水凝胶的膨胀过程, 以木犀草素和木犀草素苷为工具药, 在 X 方向加上不同的固定速度, 采用分子动力学方法进行理论模拟, 力场为 Gromos 53a6。结果 凝胶膨胀到纤维素链间距离 1.2 nm 以下药物分子不能穿过; 当链间距离达到 1.5 nm 时, 纤维素链方阵能够体现良好的滤过作用, 木犀草素由于分子小、与辅料的相互作用小而释放明显快于木犀草素苷; 当纤维素链间距离为 2.1 nm 时, 木犀草素释放速度略快于木犀草素苷, 有较大部分重叠, 两者与纤维素的吸附作用相近。结论 选择距离 1.5 nm、速度 0.3 nm/ps 和距离 2.1 nm、速度 0.1 nm/ps 两个条件的理论模型能够基本反映亲水凝胶膨胀过程中药物与凝胶的作用模式, 从而预测药物的释放行为。木犀草素可能更适合以亲水凝胶的方式实现缓释。

关键词:木犀草素; 木犀草素苷; 羟丙甲纤维素; 分子动力学

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)06-0918-04

以亲水凝胶为载体的药物释放体系常在水易溶性药物的缓释中应用, 由于对药物释放机制认识不足, 在实际应用中受到限制, 本实验采用理论方法以木犀草素和木犀草素苷为工具药, 研究了其在羟丙甲纤维素凝胶骨架中释放行为, 为阐明药物在亲水凝胶中的缓释机制提供一种理论模型。

1 材料

选取木犀草素和木犀草素苷(图 1)作为模型药物分子^[1,2], 应用 Maestro-v 8.0 软件, 构建分子三维结构, 并采用默认的方法对其构象进行加电荷、优化, 再将为这两个分子生成 MOL2 格式。

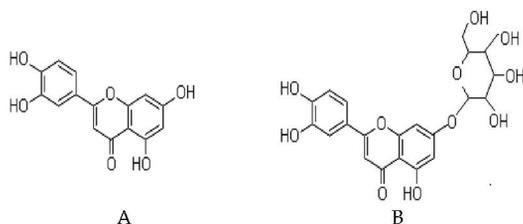


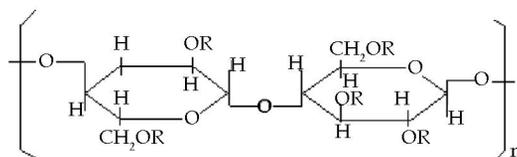
图 1 木犀草素(A)和木犀草素苷(B)的结构

Fig 1 Structures of luteolin (A) and luteoside (B)

2 方法和结果

2.1 亲水凝胶材料模型: 采用 2208 型羟丙甲纤维素为凝胶骨架材料, 基本结构单元见图 2, 根据其平

均相对分子质量(12 000)和取代基比例(含甲氧基 22%、羟丙氧基 8%)计算得知甲氧基和羟丙氧基的取代个数分别为 42、6。由于受到计算机能力的限制, 模拟中每条羟丙甲纤维素链由 30 个 D-葡萄糖组成, 根据比例进行甲氧基和羟丙氧基取代, 然后对其进行构象优化, 得到一条羟丙甲纤维素链^[3,4]。亲水凝胶在水中的膨胀和溶蚀的过程是一个纤维素链之间的距离不断增加的过程^[5,6], 因此, 为了模拟实际过程, 理论上按 5 种不同的距离间隔(0.9、1.2、1.5、1.8、2.1 nm)在 Y 和 Z 方向分别移动纤维素链, 得到 5 个(4 × 4)条纤维素链方阵, 见图 3。



n-聚合度, R = -H, -CH₃ 或 CH₂CHOHCH₃

n-polymerization, R = -H, -CH₃ or CH₂CHOHCH₃

图 2 羟丙甲纤维素结构式

Fig 2 Structure of hypromellose

2.2 药物释放模型: 为了模拟多个药物分子的释放情况, 采用 Maestro-v 8.0 软件, 将 50 个药物分子放

收稿日期: 2009-12-15

基金项目: 国家科技部支撑项目(2007BAI41B00, 2007BAI41B01); 天津市支撑项目(09ZCKFSH01200)

作者简介: 武毅君(1983—), 女(回族), 河南省人, 硕士研究生, 主要从事药物新剂型与新技术方面研究。

Tel: (022) 23006953 E-mail: rxwtj@yahoo.com.cn

*通讯作者 任晓文 Tel: (022) 23006953 E-mail: rxwtj@yahoo.com.cn

入一个周期性盒子的左边,羟丙甲纤维素链方阵放入同一个盒子中心,盒子边界为 x 10 nm、 y 10 nm、 z 50 nm,在盒子中填充约 5 000 个分子的水。5 个距离的羟丙甲纤维素链方阵和 2 个药物形成了 10 个起始结构。药物在不同距离的纤维素链方阵的释放行为是通过分子动力学方法进行模拟的。亲水凝胶的膨胀过程非常复杂,在理论模型中简化为不同距离的方阵,为了保持模拟过程中方阵的稳定,将 1-4 糖苷键上的 O 原子固定。药物在亲水凝胶中的释放是一个长时间的随机扩散过程,有效的释放是沿着一个方向进行的,为了在理论计算的时间尺度内能够模拟,帮助药物在一个方向移动,实验给药物 X 轴正方向加了一个固定速度 (V),考察的速度有 0.1、0.2、0.3、0.4 nm/ps,见图 3。

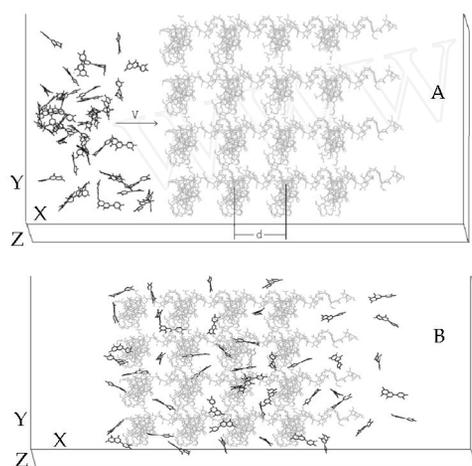


图 3 药物和纤维素链方阵的起始结构 (A) 以及释放过程 (B) (水分子没有显示)

Fig 3 Initial structure (A) and release process (B) of drug and cellulose chain matrix (water moleculars were hidden)

2.3 分子动力学模拟方法:采用 Gromacs 4.0 程序包,力场为 Gromos 53a6,温度 300 K,模拟步长 1 fs 模拟时间 1 ns,每两个 ps 记录一个轨迹。电相互作用的 Cutoff 为 1.4 nm,VDW Cutoff 为 1.0 nm。10 个起始结构分别经过粗优化后,经过一个 1 000 步不加任何限制的分子动力学模拟,再固定纤维素链上 1-4 糖苷键的 O 原子,药物加上不同的 X 方向的固定速度,然后完成 1 ns 的动力学模拟。

2.4 数据处理方法:考虑到药物在凝胶中释放行为的复杂性,根据药物通过纤维素方阵的速度差别,大致分为 5 带进行统计,分类标准为:A 带、B 带、C 带、D 带和 E 带分别代表在 1~100 ps、100~200 ps、200~300 ps、300~400 ps 和 400~500 ps 通过

的分子,没有经过或绕过方阵的分子数量计为 F 类,上述 A—D 带大致代表了药物和纤维素链的不同速度释放的情况,分别统计其通过的药物分子数量及其平均的速度,以及药物与纤维素链骨架和侧链的相互作用总能量^[7](静电相互作用和 VDW 之和),平均速度以分子中心计算。

2.5 亲水凝胶的药物释放模型:F 类代表了被纤维素方阵阻挡无法穿过以及从纤维素方阵外侧绕过的分子数量,见图 4,I 代表木犀草素,II 代表木犀草苷,II 比 I 分子大一个糖,在纤维素链距离为 1.5 nm 时,由于 I 比 II 小,容易通过。在纤维素链距离为 1.8 nm 时,速度较小(0.1 nm/ps)时,I 和 II 通过数量较少,速度加大到 0.2 nm/ps 以上,通过的分子数量趋于稳定。在纤维素链距离为 2.1 nm 时,速度对 I 和 II 通过的数量有较小的影响。结果提示水凝胶在膨胀早期,纤维素链之间的距离对分子大小有一定的滤过作用,当膨胀到一定程度,各种大小的药物分子都能够透过。

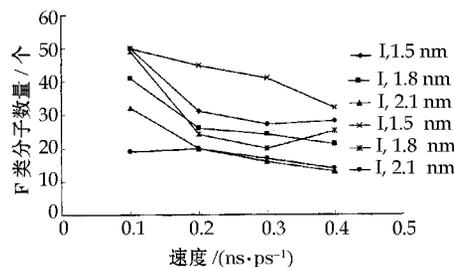


图 4 模拟方法对 F 类分子数量的影响

Fig 4 Effects of simulation methods on number of molecules in F type

3 个代表性条件下(1.5 nm, 0.3 nm/ps; 1.8 nm, 0.2 nm/ps; 2.1 nm, 0.1 nm/ps)的药物在不同区带中的平均速度见表 1,可以看到不同分子在同一个条件下的同一个区带中,平均速度基本相等,同一个分子在不同条件下同一个区段中平均速度,略有变化,不同区段中药物分布的数量与释放速度相关。由于不同的分子在纤维素链的作用不同,透过时间相差极大,平均速度的代表意义降低,因此本文以区带分子分布数量来表示释放速度,A 带代表透过速度最快,B 带、C 带、D 带、E 带依次降低。

不同纤维素链距离的情况下,药物受到不同的速度后,穿过纤维素方阵的类别和数量见表 2。在距离为 1.5 nm 的情况下,随着速度的加大,木犀草素透过纤维素方阵的速度加大,0.3 ns/ps 以上数量通过达到稳定;木犀草苷在 0.3 nm/ps 通过数量较少,在 0.4 nm/ps 速度下通过了 18 个分子。在距离

为 1.8 nm 的情况下,速度超过 0.2 nm/ps,木犀草素 A 类透过的分子接近最大值;而木犀草苷在速度为 0.2 nm/ps,主要是以 B 类透过,速度到 0.3 nm/ps 时,A 类分子透过接近最大。在距离为 2.1 nm 的情况下,当木犀草素速度为 0.1 nm/ps 时,透过

的分子主要分布在 B 和 C 带,速度超过 0.2 nm/ps,透过的分子在 A 带接近最大值;而当木犀草苷速度为 0.1 nm/ps 时,透过分子主要在 C 和 D 带,当速度为 0.2 nm/ps,主要是以 B 类透过,速度在 0.3 nm/ps 以上时,多以 A 类分子透过接近最大。

表 1 药物分子在不同区带间的平均速度

Table 1 Average speed of molecules at different bands

分子	距离、速度	A 带	B 带	C 带	D 带	E 带
I	1.5 nm, 0.3 nm/ps	0.083 55	0.042 38	0.024 33	—	—
	1.8 nm, 0.2 nm/ps	0.086 37	0.053 79	0.027 78	0.014 93	—
	2.1 nm, 0.1 nm/ps	—	0.051 56	0.031 84	0.024 83	—
II	1.5 nm, 0.3 nm/ps	—	0.048 69	—	0.021 30	0.017 62
	1.8 nm, 0.2 nm/ps	0.082 36	0.048 07	0.028 90	—	—
	2.1 nm, 0.1 nm/ps	—	0.053 08	0.031 75	0.024 83	0.018 48

—代表无药物分子穿过

—means none drugs passed

表 2 木犀草素和木犀草苷在不同速度下透过不同距离的纤维素方阵的分布

Table 2 Cellulose distribution of luteolin and luteoside with different speed through cellulose chain matrixes

距离/nm	速度/(nm·ps ⁻¹)	A 带		B 带		C 带		D 带		E 带	
		木犀草素	木犀草苷								
1.5	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.2	—	—	5	—	5	1	7	3	2	1
	0.3	6	—	9	3	8	—	—	3	—	3
	0.4	17	5	2	2	2	6	—	2	1	3
1.8	0.1	—	—	—	—	1	—	5	1	3	—
	0.2	21	3	—	19	1	4	2	—	—	—
	0.3	26	25	—	5	—	—	—	—	—	—
	0.4	28	23	1	2	—	—	—	—	—	—
2.1	0.1	—	—	9	4	8	14	1	11	—	2
	0.2	28	7	2	23	—	—	—	—	—	—
	0.3	33	33	1	—	—	—	—	—	—	—
	0.4	35	35	2	1	—	—	—	—	—	—

根据上面对木犀草素和木犀草苷的分析,纤维素链间距离为 1.5 nm 时,能够体现滤过作用,距离为 2.1 nm 时主要表现为纯的药物和辅料的吸附相互作用,为了能够模拟亲水凝胶在不断膨胀的全过程中的药物释放行为,需要选择距离 1.5 nm、速度 0.3 nm/ps 和距离 2.1 nm、速度 0.1 nm/ps 两个条件为基础进行模拟^[8]。

2.6 木犀草素和木犀草苷在亲水凝胶中释放行为的理论模拟:在纤维素膨胀到距离在 1.5 nm 时,在固定速度为 0.3 nm/ps 下,木犀草素在 A 带、B 带、C 带分别通过了 6、9、8 个分子,各带中位移速度的分子轨迹见图 5-A 虚线,而木犀草苷在 B 带、D 带、E 带分别通过了 3、3、3 个分子,各带中位移速度的分子轨迹见图 5-B 虚线。木犀草苷分子由于多了一个糖基,分子体积加大,通过的速度带偏后,只有 3 个分子在 C 带以前通过,而木犀草素能够通过分子带在 C 带以前通过,所以本模型对滤过作用的模

拟比较成功。在纤维素膨胀到距离在 2.1 nm 时,在固定速度为 0.1 nm/ps 下,木犀草素在 B 带、C 带、D 带分别通过 9、8、1 个分子,各带中位移速度的分子轨迹见图 5-A 实线;木犀草苷 B 带、C 带、D 带、E 带分别通过 4、14、11、2 个分子,各带中位移速度的分子轨迹见图 5-B 实线。木犀草素和木犀草苷在 B 带和 C 带有较多的分子重叠。这是由于纤维素膨胀距离足够大后,滤过作用降低,吸附作用和分子本身重量成为影响释放速度的主要因素。

药物分子与羟丙甲纤维素的相互作用关系大致可以分为 3 个状态,即药物分子向凝胶材料靠近过程(吸附相),药物分子在材料处于的平衡状态(平衡相),药物分子从凝胶材料脱离的过程(分离相)。根据 B 带中位移速度分子轨迹的平衡相计算的相互作用能见表 3,在距离为 1.5 nm 时,由于纤维素间的距离较近,木犀草素和木犀草苷和纤维素链之间的总相互作用能分别为 - 22.5、- 30.9 kcal/mol,

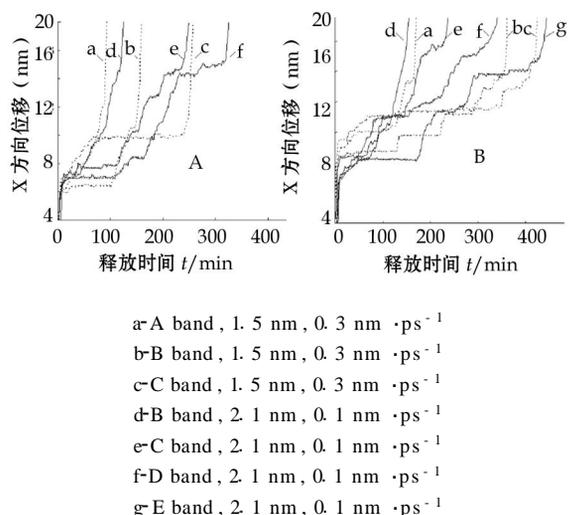


图 5 木犀草素(A)和木犀草素苷(B)的时间位移曲线

Fig 5 Time-displacement curves of luteolin (A) and lutesolins (B)

苷的作用强于苷元约 10 kcal/mol,总相互作用能中主要是 VDW 相互作用能,电相互作用能较小,侧链的作用能约占 -10 kcal/mol,比重较大。当纤维素间距离为 2.1 nm 时,木犀草素和木犀草素苷和纤维素链之间的总相互作用能分别为 -10.8、-6.2 kcal/mol,总体上药物与纤维素链作用降低,苷略低于苷元,特

别是与侧链的相互作用降至约 3 kcal/mol。通过对相互作用能的分析,进一步提示 1.5 nm 的距离更能体现亲水凝胶的作用。

3 讨论

本实验以不同距离的羟丙甲纤维素链方阵为模型模拟其在水中的膨胀形成亲水凝胶和溶蚀的过程,考察了木犀草素和木犀草苷的释放行为,分子动力学模拟结果表明,纤维素链间距离小于 1.2 nm 时,药物不能通过;当纤维素链间距离达到 1.5 nm 时,纤维素链方阵能够体现良好的滤过作用,木犀草素由于分子小、与辅料的相互作用小而释放明显快于木犀草苷;当纤维素链间距离为 2.1 nm 时,木犀草素释放速度略快于木犀草苷,有较大部分重叠,两者与纤维素的吸附作用相近,分子本身重量成为影响释放速度的主要因素^[9,10]。综合考虑,选择距离 1.5 nm、速度 0.3 nm/ps 和距离 2.1 nm、速度 0.1 nm/ps 两个条件的理论模型能够基本反映亲水凝胶膨胀过程中药物与凝胶的作用模式,从而预测药物的释放行为。本研究结果还表明,在亲水凝胶中,木犀草素的释放快于木犀草苷,因此,木犀草苷可能更适合以亲水凝胶方式实现缓释。

表 3 木犀草素和木犀草素苷与凝胶相互作用的分析

Table 3 Interaction analysis between drugs and gelatine

分子	条件	总能量/ (Kcal·mol ⁻¹)	骨架静电作用能/ (Kcal·mol ⁻¹)	骨架 VDW 作用能/ (Kcal·mol ⁻¹)	侧链静电作用能/ (Kcal·mol ⁻¹)	侧链 VDW 作用能/ (Kcal·mol ⁻¹)
I	1.5 nm 0.3 nm/ps	-22.4839	2.0926	-14.1401	0.1173	-10.5539
I	2.1 nm 0.1 nm/ps	-10.8383	-0.1302	-7.4265	-0.1891	-3.2263
II	1.5 nm 0.3 nm/ps	-30.9329	-0.3380	-20.9838	-0.0407	-9.5704
II	2.1 nm 0.1 nm/ps	-6.2000	-0.5119	-3.4218	0.1061	-2.3720

参考文献:

[1] 幸海燕,王 昆. 木犀草素脂质体制剂处方和工艺优化研究[J]. 第三军医大学学报,2008,30(9):810-813.

[2] 黄世强,朱 申. 聚合物分子模拟中的力场[J]. 高分子材料科学与工程,1999,15(4):18-22.

[3] 肖秋生,蒋永培. 羟丙甲基纤维素控释、缓释骨架片研究进展[J]. 西北药学杂志,2000,15(3):133-135.

[4] 林东武,俞 宁. 药用辅料羟丙甲纤维素的应用[J]. 海峡药学,2003,15(1):77-78.

[5] 王玉鹏,赵丽华. 缓释骨架材料在药物制剂中的应用[J]. 中国药房,2007,18(25):1987-1988.

[6] 陈家楠. 纤维素结构研究的进展[J]. 纤维素科学与技术,1993,1(4):1-10.

[7] 黄 锐,姚维尚. 纤维素基含能黏合剂的分子模拟[J]. 火炸药学报,2008,31(1):64-67.

[8] 时 炜. 分子模拟技术与控释制剂体系[J]. 生物技术世界,2006,8:33-34.

[9] 杨又震. 分子模拟软件系统[J]. 化学与粘合,1994,1:57-60.

[10] 欧阳芳平,徐 慧. 分子模拟方法及其在分子生物学中的应用[J]. 2005,1:33-36.