

氨苯矾海藻酸钙缓释微球的制备与表征

张丽丽

(天津大学化工学院制药工程专业,天津 300350)

摘要:利用研磨法制备氨苯矾海藻酸钠固体分散体,后将含有氨苯矾的海藻酸钠混悬液滴加至氯化钙溶液中制得氨苯矾海藻酸钙微球。通过 X-射线衍射(XRD)和差示扫描量热法(DSC)考察药物及辅料的分散状态,光学显微镜(OM)观察微球的表面形态,反相高效液相色谱(RP-HPLC)测定微球的封装率、载药量,并考察微球在水介质中的释放行为。结果表明,所制备微球粒径均小于 1 mm,且药物以无定型状态分散于微球中。体外释放实验表明,微球具有较好的缓释效果,体外释放完全需要 32 h。

关键词:氨苯矾;海藻酸钙;微球

中图分类号:R9

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)04-0096-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2017.04.023

Preparation and characterization of dapsone-calcium alginate sustained-release microspheres

ZHANG Li-li

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China)

Abstract: Dapsone-sodium alginate solid dispersion is firstly prepared by grinding. The resultant grinding suspension is then dropped into calcium chloride to prepare dapsone-calcium alginate sustained-release microspheres. X-ray powder diffraction and differential scanning calorimetry are used to study the dispersions of drugs and excipients. The surface morphology of the microspheres is observed by optical microscopy (OM). RP-HPLC is used to both measure the drug loading and encapsulation efficiency of particles, and study the release behavior of microspheres in aqueous medium. The results show that the particle size of the prepared microspheres is less than 1 mm, and the drug is dispersed in the microspheres in an amorphous state. The *in vitro* experiment shows that all microspheres have an obvious sustained release behavior and dapsone is completely released within 32 h.

Key words: dapsone; calcium alginate; microspheres

氨苯矾(二氨基二苯矾)曾经是治疗麻风病和疱疹样皮炎的经典药物,近年来,陆续有报道其用于其他适应症的治疗,如痤疮、持久性隆起红斑、自身免疫系统性皮肤病、疟疾、卡氏肺孢子虫肺炎、风湿性关节炎、癫痫等^[1-3]。但氨苯矾存在高铁血红蛋白症、溶血性贫血的严重血液系统副作用,为克服氨苯矾本身溶解性差,生物利用度低,毒副作用大的问题,其新剂不断被开发,包括固体分散体、环糊精包合物、纳米脂质体、凝胶剂、纳米乳、微囊等^[4-9]。而局部用药可以避免全身系统的毒副作用,氨苯矾局部治疗各种皮肤病受到越来越广泛的关注。藻酸盐具有无毒,生物相容性好,无免疫原性及可降解等诸多优点,广泛用于药物传递系统、组织工程、微生物及细胞固定化、食品等领域^[10-12],同时可与钙离子交联形成凝胶微球,酸性条件下形成高黏度的酸凝胶,对控释制剂的设计具有重要意义^[13]。首先采用研磨法制备氨苯矾海藻酸钠固体分散体,然后通过滴加法海藻酸钠与钙离子交联形成海藻酸钙凝胶制备氨苯矾-海藻酸钙缓释微球,同时对微球表面形态、药物在微球中的状态、微球载药量、封装率、体外

释放加以表征,为局部用氨苯矾制剂提供思路。

1 氨苯矾海藻酸钠固体分散体的制备与表征

1.1 仪器与试剂

仪器:X射线衍射仪,德国布鲁克 AXS 有限公司生产;差示扫描量热仪,德国耐驰生产;红外光谱仪,美国 Bio-Rad 生产。

试剂:氨苯矾原料药,上海德默医药科技有限公司生产;海藻酸钠,上海晶纯生化科技股份有限公司生产;其他试剂均为分析纯。

1.2 氨苯矾固体分散体的制备

采用研磨法制备氨苯矾固体分散体。先将海藻酸钠过孔径为 250 μm 筛子(60 目筛),按质量比 1:1 及 1:5 的比例取氨苯矾和已过筛的海藻酸钠,于研钵中混合研磨 10 min,然后将研磨混合物过 180 μm 筛(80 目筛),即得氨苯矾固体分散体,备用。另取质量比为 1:1 及 1:5 的氨苯矾和海藻酸钠简单搅拌混合制成物理混合物,与固体分散体作对比。

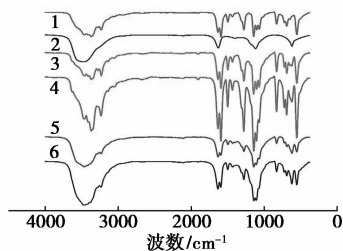
1.3 氨苯砜固体分散体的表征结果与分析

1.3.1 溶液外观

1.5% 海藻酸钠溶液呈淡黄色,而氨苯砜-海藻酸钠固体分散体的颜色为乳白色,而氨苯砜不溶于水,说明研磨使海藻酸钠的水溶性带动了氨苯砜的部分溶解。

1.3.2 红外光谱扫描结果分析

氨苯砜、海藻酸钠及其两者混合物和固体分散体的红外光谱图如图 1 所示。



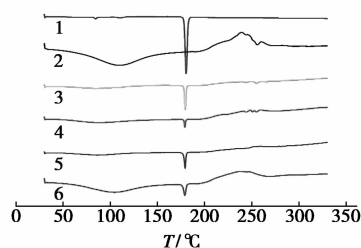
1—DS;2—SA;3—PM 1:1;4—PM 1:5;5—SD 1:1;6—SD 1:5

图 1 氨苯砜、海藻酸钠及其两者混合物和固体分散体的红外光谱图

从图 1 可以看出,3 455 cm^{-1} 处为氨苯砜的 $-\text{NH}_2$ 的不对称伸缩振动峰,1 630 cm^{-1} 处为 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动峰,1 278 cm^{-1} 处为 $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ 不对称伸缩振动峰,1 145 cm^{-1} 处为其对称伸缩振动峰。3 442 cm^{-1} 处为海藻酸钠的 $\text{O}-\text{H}$ 伸缩振动峰,1 601 cm^{-1} 处为 $-\text{C}=\text{O}$ 振动峰。3 800 ~ 750 cm^{-1} 扫描范围内,经过对比发现,两者物理混合物及固体分散体中,氨苯砜与海藻酸钠的特征峰均存在。结果证明,制备固体分散体的过程中没有影响氨苯砜的化学结构, NH_2 、 $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ 等特征峰均存在。

1.3.3 差示扫描量热 DSC 分析

氨苯砜-海藻酸钠固体分散体的 DSC 分析结果如图 2 所示。从图 2 中可以看出,氨苯砜和海藻酸钠的熔融峰分别在 178.42 $^{\circ}\text{C}$ 和 108.92 $^{\circ}\text{C}$ 。两比例下的物理混合物及固体分散体中氨苯砜的熔点均未发生变化,但相比原料药,物理混合及固体分散体中



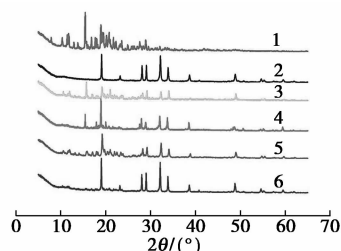
1—DS;2—SA;3—PM 1:1;4—PM 1:5;5—SD 1:1;6—SD 1:5

图 2 氨苯砜-海藻酸钠固体分散体的 DSC 分析

氨苯砜的熔融峰强度均有所降低,固体分散体相比单纯的物理混合可以降低氨苯砜的结晶情况。

1.3.4 X 射线粉末衍射结果分析

氨苯砜-海藻酸钠固体分散体的 XRD 图谱如图 3 所示。



1—DS;2—SA;3—PM 1:1;4—PM 1:5;5—SD 1:1;6—SD 1:5

图 3 氨苯砜-海藻酸钠固体分散体的 XRD 图谱

从图 3 中可以看出,氨苯砜的衍射峰集中在 10 ~ 30 $^{\circ}$,衍射较强峰在 15.47、19.53、20.79、22.39、29.32 $^{\circ}$ (查阅文献[15]可知,氨苯砜的主要特征峰是 19.5、20.7、22.5、23.8 $^{\circ}$ 及 29.2 $^{\circ}$,基本符合);海藻酸钠主要的特征峰为 19.11、28.11、29.09、32.29 $^{\circ}$ 及 33.90 $^{\circ}$ 。在 1:1 及 1:5 的物理混合物中,15.47 $^{\circ}$ 处氨苯砜的特征峰强度明显减弱,10 ~ 30 $^{\circ}$ 之间氨苯砜的衍射峰强度减弱;而在固体分散体的 XRD 曲线中,15.47 $^{\circ}$ 处氨苯砜衍射峰消失,10 ~ 30 $^{\circ}$ 之间的特征峰也几乎消失。这说明制备过程和物理混合均会改变氨苯砜的晶型,XRD 的结果显示,氨苯砜结晶度降低,向部分无定型状态改变。同时,在相同比例下,研磨方法制备的固体分散体更能降低原料药的结晶度。

2 氨苯砜海藻酸钙缓释微球的制备与表征

2.1 仪器与试剂

仪器:高效液相色谱仪,美国 Waters 公司生产;恒温震荡箱,上海一恒科技有限公司生产;高速离心机,德国 Sigma 生产;X 射线衍射仪,德国布鲁克 AXS 有限公司生产;差示扫描量热仪,德国耐驰生产;研究级智能数字全自动立体显微镜、研究级体视显微镜,德国蔡司生产;电脑透反射显微镜,上海彼爱姆光学仪器制造有限公司生产。

试剂:氨苯砜,质量分数 > 99%,上海德默医药科技有限公司生产;海藻酸钠,上海晶纯科技有限公司生产;氯化钙,质量分数 > 98%,上海晶纯科技有限公司生产;甲醇、乙腈,色谱纯。

2.2 氨苯砜海藻酸钙缓释微球的制备

采用滴制法制备氨苯砜海藻酸钙微球^[14]。将

所制备的氨苯砒海藻酸钠 1:5 的固体分散体以海藻酸钠质量分数分别为 1.5%、2.0%、2.5% 溶于去离子水中,室温搅拌 45 min,使其呈均匀体系。将脱气后均匀的混悬液通过 1 mL 或 2 mL 一次性注射器匀速滴加至已微孔滤膜过滤的 7% CaCl₂ 溶液中,室温持续搅拌交联 4 h,收集并用 20 mL 蒸馏水冲洗 3 次,干燥,即得粒径小于 1 mm 的微球。微球的表面形态通过光学显微镜观察。

2.3 氨苯砒海藻酸钙缓释微球的表征

2.3.1 微球形态学表征

将制备得到的氨苯砒海藻酸钙缓释微球在电脑透反射显微镜、全自动立体显微镜及体视显微镜下观察,结果如图 4 所示。

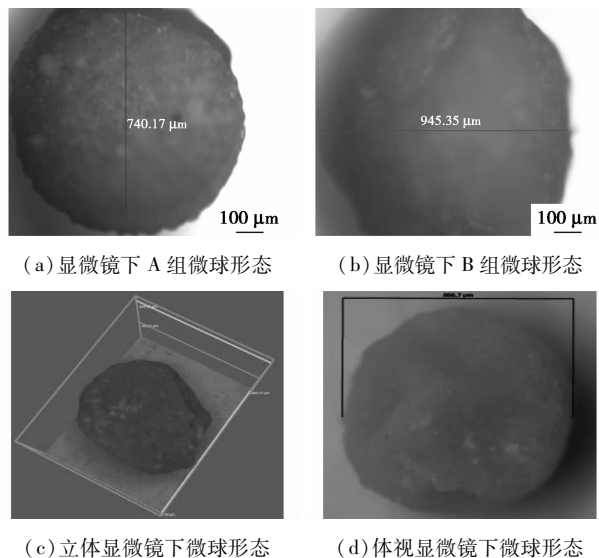
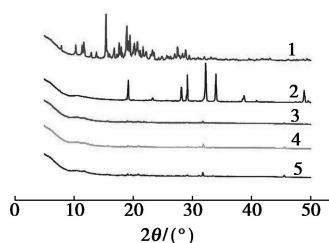


图 4 微球的表面形态

由图 4 可以看出,无论 1 mL(A 组)还是 2 mL(B 组)注射器所制备氨苯砒海藻酸钙的微球外观较为光滑,粒径均小于 1 mm,前者所得的粒子直径较小。

2.3.2 X 射线粉末衍射(XRD)

氨苯砒原料药、海藻酸钠、1.5%/2.0%/2.5% 海藻酸钠制备的微球的 XRD 如图 5 所示。



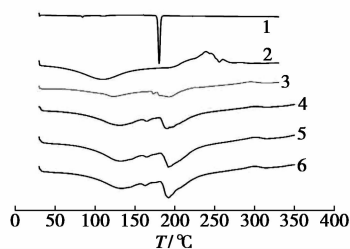
1—DS;2—SA;3—1.5% SA-DS-CA;4—2.0% SA-DS-CA;5—2.5% SA-DS-CA

图 5 氨苯砒原料药、海藻酸钠、1.5%/2.0%/2.5% 海藻酸钠制备的微球的 XRD 谱图

由图 5 可以看出,氨苯砒的衍射峰集中在 10 ~ 30°,衍射较强峰在 15.47、19.53、20.79、22.39、29.32°(查阅文献[15],氨苯砒的主要特征峰是 19.5、20.7、22.5、23.8、29.2°,基本符合);海藻酸钠主要的特征峰为 19.11、28.11、29.09、32.29、33.90°。由不同质量分数海藻酸钠制备的含药微球 XRD 谱图可知,原料药氨苯砒特征衍射峰均消失,海藻酸钠除 32.29°处峰强度降低外,其他衍射峰也均消失。这说明氨苯砒的晶型得以改变,XRD 的结果显示,氨苯砒结晶度降低,向部分无定型状态改变,这是由于与海藻酸钙发生了相互作用,形成了新的复合物。

2.3.3 微球差示扫描量热分析(DSC)

为考察氨苯砒海藻酸钙微球中药物与海藻酸钙间是否发生相互作用,将 2 mL 注射器所制微球分别研成粉末进行差示扫描量热分析,并与药物、海藻酸钠及空白海藻酸钙微球的结果进行比较,结果如图 6 所示。



1—DS;2—SA;3—CA;4—1.5% SA-DS-CA;5—2.0% SA-DS-CA;6—2.5% SA-DS-CA

图 6 氨苯砒、海藻酸钠、海藻酸钙、不同质量分数海藻酸钠含药微球的 DSC 图谱

由图 6 可以看出,海藻酸钠和原料药的特征峰均消失,空白海藻酸钙微球在 192.57°C 处有较弱峰,表明药物与海藻酸钙之间发生了相互作用,形成了新的复合物,且随着海藻酸钠质量分数的增加,含药微球的熔点峰值分别偏移到 189.78、190.81、191.09°C,焓值由 -66.47 J/g 降低到 -108.94、-91.47、-91.24 J/g,说明氨苯砒海藻酸钠固体分散体再与氯化钙形成微球相比空白微球使海藻酸钙的晶型分别降低了 63.89%、37.50%、37.26%。氨苯砒原料药熔融峰的消失、海藻酸钙熔融峰的位移和结晶度变化说明微球中药物以无定型分子状态分散于微球中。

2.3.4 包封率、载药量的测定

载药量和包封率的计算式为^[16]:

$$\text{载药量} = (\text{测得含药量} / \text{所取微球质量}) \times 100\%$$

包封率 = (测得含药量 / 实际投药质量) × 100%

通过 HPLC 法间接测定洗液中氨苯砜的质量^[17], 计算出微球中的含药量, 从而计算出包封率、载药量, 结果如表 1 所示。

表 1 微球的包封率及载药量

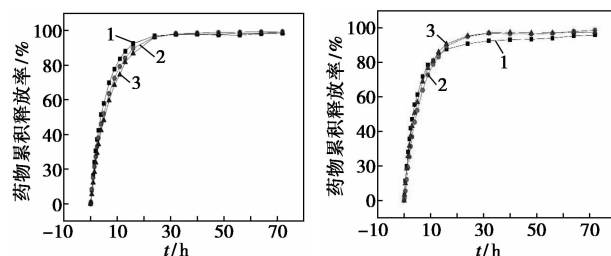
组别	SA/ %	包封率/ %	平均 包封率/%	载药量/ %	平均 载药量/%
A	1.5	80.20	80.11	15.22	15.27
		80.03		15.30	
		80.11		15.28	
	2.0	85.02	85.01	14.85	14.86
		85.06		14.90	
		84.96		14.82	
	2.5	87.50	87.54	14.44	14.49
		87.59		14.50	
		87.53		14.54	
B	1.5	87.15	87.18	13.58	13.55
		87.18		13.50	
		87.20		13.56	
	2.0	91.24	91.30	12.01	11.97
		91.30		11.95	
		91.36		11.96	
	2.5	92.70	92.73	13.00	13.05
		92.70		13.08	
		92.76		13.06	

由表 1 可明显看出, 无论微球粒径大小, 随着海藻酸钠质量分数的增加, 所制备微球的包封率增加, 载药量降低。这是由于海藻酸钠质量分数越大, 与 CaCl₂ 交联形成海藻酸钙的数量越多, 相应地微球的包封率也增加; 注射器孔径越大, 交联形成的微球直径越大, 与溶液的接触面积越大, 造成交联过程中钙离子逐渐被钠离子置换出来, 并产生一定程度的脱水, 导致药物流失, 由于氨苯砜在 CaCl₂ 溶液中溶解度很低, 因此, 药物也不会大量溢出。

2.3.5 氨苯砜海藻酸钙缓释微球的体外释放

固定处方中其他因素如 CaCl₂ 浓度和体积、交联时间、搅拌转速等不变, 在海藻酸钠质量分数分别为 1.5%、2.0%、2.5% 的条件下制备氨苯砜海藻酸钙大小微球, 分别测定微球在 pH = 6.8 蒸馏水中不同时间的药物释放量^[17], 计算药物累积释放率, 绘制释放曲线, 考察微球的释药行为, 结果如图 7 所示。

由图 7 中可以看出, 海藻酸钠质量分数对药物的释放趋势并没有太大的影响, 0 ~ 32 h 间, 氨苯砜从微球中缓慢释放出来, 之后药物几乎完全释放, 海藻酸钙与氨苯砜形成的复合物可以有效控制药物的释放。微球可以维持 32 h 的缓慢释放, 足以达到缓释药物的作用。



(a) A 组微球中药物累积释放量 (b) B 组微球中药物累积释放量
1—1.5% SA-DS-CA; 2—2.0% SA-DS-CA;
3—2.5% SA-DS-CA

图 7 水介质中微球释放行为

3 结论

滴制法制备的氨苯砜海藻酸钙微球表面形态较为光滑, 粒径均小于 1 mm; 同一组中随着海藻酸钠质量分数的增加, 微球的包封率相应增加, 而载药量降低。XRD 及 DSC 谱图说明, 药物氨苯砜以无定形态分散于微球中, 体外释放研究表明, 所制备微球具有较好的缓释效果, 释放完全需要 32 h, 为局部用氨苯砜制剂提供思路和方法。

参考文献

- [1] Hughes W T. Use of dapsone in the prevention and treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia: A review [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 1998, 27(1): 191-204.
- [2] Kast R E, Lefranc F, Karpel-Massler G. Why dapsone stops seizures and may stop neutrophils' delivery of VEGF to glioblastoma [J]. *British Journal of Neurosurgery*, 2012, 26(6): 813-817.
- [3] Ahmad R A, Rogers H J. Plasma and salivary pharmacokinetics of dapsone estimated by a thin layer chromatographic method [J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1980, 17(2): 129-133.
- [4] Chaves L L, Vieira A C C, Ferreira D, et al. Rational and precise development of amorphous polymeric systems with dapsone by response surface methodology [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 81: 662-671.
- [5] Calderini A, Martins M H, Pessine F B T. Host-guest interactions between dapsone and β -cyclodextrin (part I): Study of the inclusion compound by nuclear magnetic resonance techniques [J]. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2013, 75(1/2): 77-86.
- [6] Chougule M, Padhi B, Misra A. Development of spray dried liposomal dry powder Inhaler of dapsone [J]. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 2008, 9(1): 47-53.
- [7] Kircik, Leon H. Use of dapsone 5% gel as maintenance treatment of acne vulgaris following completion of oral doxycycline and dapsone 5% gel combination treatment [J]. *Journal of Drugs In Dermatology*, 2016, 15(2): 191-195.
- [8] Vieiral A C C, Chaves L L, Pinheiro M. Design and statistical modeling of mannose-decorated dapsone-containing nanoparticles as a strategy of targeting intestinal M-cells [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 2601-2617.

海绵铁还是普通 Fe^0 , 在去除 NO_3^- -N 的过程中都易产生氨氮等副产物, 在其 PRB 研究中, 大多数人只追求污染物的去除效果, 而对 PRB 产生副产物的控制和去除问题考虑较少。因此, 笔者采用海绵铁、活性炭、沸石 3 种材料中的单个或多个组合作为 PRB 填充材料, 对比分析不同组合材料 PRB 对 NO_3^- -N 的去除效果以及副产物的生成量, 找出最佳材料组合。

1 材料与方法

1.1 实验材料

试验中所采用的海绵铁购置于河南巩义, 其理化性质如表 1 所示; 活性炭为产自河南郑州的椰壳活性炭 (粒径为 0.5 ~ 1 mm); 沸石 (粒径为 1 ~ 2 mm) 产自浙江缙云。

表 1 海绵铁理化指标

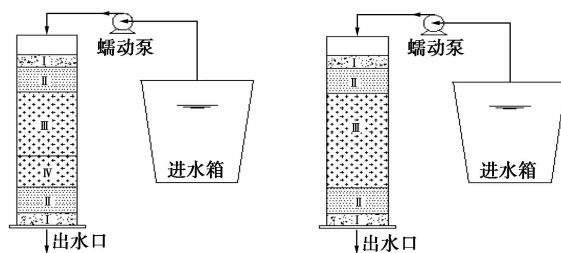
名称	活性铁质 量分数/%	容重/ ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	比表面积/ ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	粒径/ mm	外观
指标	≥97	2.2	85	1~3	呈灰黑色, 疏松海绵状

名称	$w(\text{CaO})/$ %	$w(\text{MgO})/$ %	$w(\text{C})/$ %	$w(\text{S})/$ %	$w(\text{Sn})/$ %	$w(\text{Cu})/$ %	$w(\text{Mn})/$ %
指标	<0.01	<0.051	≤1	≤0.03	≤0.002	≤0.002	0.28

实验所用水为超纯水; NaNO_3 、盐酸均为分析纯。实验前, 海绵铁用 0.5 mol/L 的盐酸溶液浸泡 10 min, 除去表面致密氧化物, 之后进行冲洗直至 pH 为中性为止, 再烘干备用。

1.2 实验装置

实验装置由有机玻璃制成, 如图 1 所示。



(a) 双层反应器 (b) 单层反应器

图 1 双层反应器与单层反应器示意图

由图 1 可知, 外形尺寸: $\phi 80$ mm, H300 mm。I 由粒径为 2 ~ 3 mm 左右的河砂组成, 起缓冲作用, 厚 20 mm; II 由粒径为 0.5 mm 左右的河砂组成, 为模拟含水层, 厚 40 mm。双层反应器: III 为第 1 反应层, 由海绵铁与活性炭以质量比 1:1 混合组成, 厚 100 mm; IV 为第 2 反应层, 由粒径为 1 ~ 2 mm 的沸石组成, 厚 50 mm。单层反应器: I 与 II 同上; III 为装有不同混合填料的反应层, 厚 150 mm。

1.3 实验方法

实验分 4 组进行, 1[#]、2[#]、3[#] 为单层反应器, 反应填料分别为海绵铁; 海绵铁与活性炭按质量比 1:1 混合; 海绵铁与活性炭、沸石按质量比 1:1:1 混合。4[#] 为双层反应器, 填料为海绵铁与活性炭 (质量比为 1:1) 混合与沸石 (海绵铁 + 活性炭与沸石的质量比为 2:1) 组成。

配置 30 mg/L 的 NO_3^- -N 溶液来模拟受 NO_3^- -N 污染的地下水。实验采用连续进水的方式运行,

(上接第 99 页)

[9] Ortiz M, Jornada D S, Pohlmann A, R. Development of novel chitosan microcapsules for pulmonary delivery of dapson: Characterization, aerosol performance, and in vivo toxicity evaluation [J]. American Association of Pharmaceutical Scientists, 2015, 16 (5): 1033 - 1040.

[10] Klöck G, Pfeiffermann A, Ryser C, et al. Biocompatibility of mannuronic acid-rich alginates [J]. Biomaterials, 1997, 18 (10): 707 - 713.

[11] Mi F L, Sung H W, Shyu S S. Drug release from chitosan-alginate complex beads reinforced by a naturally occurring cross-linking agent [J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 48 (1): 61 - 72.

[12] Yang Ji-sheng, Xie Ying-jian, He Wen. Research progress on chemical modification of alginate: A review [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84 (1): 33 - 39.

[13] Tonnesen H H, Karlsen J. Alginate in drug delivery systems [J]. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2002, 28 (6): 621 -

630.

[14] Takka S, Acartuerk F. Calcium alginate microparticles for oral administration: I: Effect of sodium alginate type on drug release and drug entrapment efficiency [J]. Journal of Microencapsulation, 1999, 16 (3): 275 - 290.

[15] Grebogi I H, Tibola A P O V, Barison A. Binary and ternary inclusion complexes of dapson in cyclodextrins and polymers: Preparation, characterization and evaluation [J]. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2012, 73 (1/2/3/4): 467 - 474.

[16] 崔福德, 龙晓英. 药剂学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 392.

[17] Kwadijk S, Torano J S. High-performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of dapson and its hydroxylated metabolite in human plasma [J]. Biomedical Chromatography, 2002, 16 (3): 203 - 208. ■