

地塞米松磷酸钠壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备工艺研究

徐连敏^{1,2}陈改清^{1*}刘敬楠³ (1.首都医科大学化学生物学与药学院,北京 100054; 2.中国药学会,北京 100044; 3.首都医科大学附属北京同仁医院,北京 100073)

摘要:目的 探讨壳聚糖-海藻酸钠微囊用于运载地塞米松磷酸钠的新方法。方法 采用凝聚法制备了地塞米松磷酸钠壳聚糖-海藻酸钠微囊,以包封率、微囊强度为指标,设立总的评估指数,选取海藻酸钠浓度、壳聚糖浓度、CaCl₂浓度和地塞米松磷酸钠用量四个因素,每个因素选取三个水平,选用 L₉(3⁴)表进行正交实验优化制备工艺。结果 四个因素中,壳聚糖浓度对评估指数的影响最大(P<0.01),其次是 CaCl₂和海藻酸钠浓度(P<0.05),地塞米松磷酸钠对评估指数的影响没有统计学意义(P>0.05)。按照优化方案进行正交实验复核实验表明,药物包封率、微囊机械强度分别为 96.90%、97.33%。结论 本法工艺简便、稳定,具有应用前景。

关键词:正交设计;壳聚糖;海藻酸钠;微囊;包封率

中图分类号:R943.4 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)03-0212-03

Preparation of dexamethasone sodium phosphate chitosan-alginate microencapsules

XU Lian-m in^{1,2}, CHEN Gai-qing^{1*}, LU Jing-nan³ (1. School of Chemical Biology and Pharmaceutical Sciences, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054 China; 2. Chinese Pharmaceutical Association, Beijing 100044, China; 3. Beijing Tongren Hospital, Beijing 100073, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the new preparation of dexamethasone sodium phosphate (DSP) chitosan-alginate microencapsules. **METHODS** Dexamethasone sodium phosphate chitosan-alginate microencapsules (DSP-CAM) were prepared by coacervation technology. Four factors, including alginate, chitosan, CaCl₂ and DSP, and three levels for each factor that may affect the formulation of microencapsules were selected and arranged in an L₉(3⁴) orthogonal experimental table. The evaluating indicator (EI%), calculated according to drug encapsulated efficiency (EE%) and strength of microencapsules (MS%), was introduced as a total index for the microencapsules formulation. **RESULTS** The four factors affected EI differently. Chitosan behaved as the maximum (P<0.01), followed alginate and CaCl₂ (P<0.05). However, the DSP did not influence EI (P>0.05). The orthogonal experiment was checked up and the result indicated that EE% and MS% were 96.90% and 97.33% respectively. **CONCLUSION** The preparation procedure is good, simple and reproducible.

KEY WORDS: orthogonal design; chitosan; alginate; microencapsules; encapsulated efficiency; strength of microencapsules

常用微囊载体材料有白蛋白、明胶、聚丙烯酰胺、淀粉、聚乳酸、聚氰基丙烯酸酯、壳聚糖、海藻酸钠等等。但以往的制备工艺中常常需要使用化学交联剂或者使用大量有机溶媒而造成毒性残留问题,并且还可能导致许多药物在制备过程中导致活性丧失。笔者所选用两种载体——壳聚糖与海藻酸钠均为天然无毒,具有良好生物相容性、生物可降解性,且价廉易得。制备中没有使用化学交联剂和有机溶媒,不会遇到因使用化学交联剂而造成有机残留及降低所承载药物的稳定性问题。本实验以地塞米松磷酸钠为模型药,采用凝聚法制备了地塞米松磷酸钠壳聚糖-海藻酸钠微囊,并以药物包封率、微囊强度为指标,设立总的评估指数,进行正交实验优化制备工艺。

1 实验材料与仪器

壳聚糖 (chitosan, Cts, 010507, 试剂级, 青岛利中甲克质公司, 脱乙酰度 D. D% = 90%); 海藻酸钠 (alginate, Alg, 990326, 化学纯, 北京旭东化工厂); 地塞米松磷酸钠原料药 (DSP, 010903, 天津药业股份有限公司); 其他试剂均为分析纯。

紫外分光光度计 (UV-2201, SHIMADZU, Japan); 离心机 (LD5-2A, 北京医用离心机厂)。

2 实验方法

2.1 地塞米松磷酸钠壳聚糖-海藻酸钠微囊制备工艺

取 CaCl₂溶液, 加入壳聚糖稀醋酸溶液中, 调节溶液 pH 值为 5.0, 磁力搅拌, 用注射器逐滴滴入含有 DSP 的海藻酸

作者简介:徐连敏,男,硕士。E-mail: xlm319@163.com

*通讯作者:陈改清,女,教授, Tel: 010-63291980

钠溶液,即得到白色凝胶状固体。继续在溶液中育一定时间,将微囊过滤,用少量双蒸水洗涤。

2.2 因素和水平的确定

参照有关文献报道^[1-3],选取海藻酸钠浓度、壳聚糖浓度、CaCl₂浓度和地塞米松磷酸钠用量四个因素,每个因素选取三个水平,选用 L₉(3⁴)表进行正交实验,每个实验重复三次,实验中溶解壳聚糖所用稀醋酸浓度为1%,转速为60 rpm,育时间为10 min。见表1。

表1 正交实验设计的因素及水平

Tab 1 Factors and levels of orthogonal design experiments

水平	因素			
	Alg浓度(%)	Cts浓度(%)	DSP(mg)	CaCl ₂ 浓度(%)
1	1.0	0.1	6.25	0.25
2	1.5	0.2	12.50	0.5
3	2.0	0.4	25.00	1.0

2.3 评估指数 (evaluating indicator, EI%) 的选取

以包封率 (encapsulated efficiency, EE%)、微囊强度 (strength of microencapsules, MS%) 为指标综合评价实验结果以优化处方。其中评估指数见公式1。

$$EI\% = (EE\% + MS\%) / 2 \times 100\% \quad (\text{公式 } 1)$$

2.4 评估指数的测定

表2 正交实验结果

Tab 2 The results of orthogonal design experiments

NO.	A(Alg)	B(Cts)	C(DSP)	D(CaCl ₂)	EE%	MS	EI
1	1	1	1	1	35.48 ± 0.73	5.14 ± 0.58	25.31
2	1	2	2	2	86.52 ± 0.22	80.00 ± 1.00	83.26
3	1	3	3	3	65.06 ± 1.47	64.00 ± 1.00	64.53
4	2	1	2	3	11.06 ± 0.61	11.33 ± 1.15	11.20
5	2	2	3	1	60.33 ± 1.08	70.33 ± 1.53	65.33
6	2	3	1	2	87.39 ± 0.67	94.67 ± 1.53	91.03
7	3	1	3	2	53.97 ± 1.48	52.00 ± 1.00	52.99
8	3	2	1	3	80.37 ± 0.47	81.67 ± 0.58	81.02
9	3	3	2	1	95.55 ± 0.09	97.67 ± 0.58	96.61
I	57.70	29.83	65.79	62.42			
II	55.85	76.54	63.69	75.76			
III	76.87	84.06	60.95	52.25			
R	21.02	54.23	4.84	23.51			

表3 F检验结果表

Tab 3 The result of F test

Resource	A(Alg)	B(Cts)	C(DSP)	D(CaCl ₂)
S	812.867	5177.962	35.297	834.16
f	2	2	2	2
S/f	406.434	2588.981	17.649	417.063
F	23.092	146.696	1.000	23.632
F(critical)	F _{0.05} (2,2) = 19.0	F _{0.01} (2,2) = 99.0		

结果分析:从上表中综合评分的结果可以看出,第9号实验即 A₃B₃C₂D₁ 较好。从极差 R 以及方差分析的结果可以看出,在本实验中,四个因素的影响大小依次为 Cts > CaCl₂ > Alg > DSP,其中 Cts 对综合指标的影响具有非常显著性意义, CaCl₂ 和 Alg 对综合指标具有显著性意义, DSP 对综合指

2.4.1 包封率的测定 采用紫外分光光度法于 242nm 测定游离药物吸光度,标准曲线法定量计算包封率,公式如下:包封率 (EE%) = (总投药量 - 未包载的药量) / 总投药量 × 100% (公式 2)

2.4.2 微囊机械强度的测定 量取 500 个微囊,置于 0.9% NaCl 中, 3000 r/min 离心 30 min, 计算完整微囊剩余百分数^[4]。

$$\text{微囊强度 (MS\%)} = \frac{\text{离心后完整微囊数}}{\text{离心前微囊数}} \times 100\% \quad (\text{公式 } 3)$$

3 正交实验复核实验

按正交实验优化处方制备 3 份 DSP-CAM, 测定包封率和微囊强度, 与正交实验结果比较。

4 实验结果

4.1 载药壳聚糖 海藻酸钠微囊的形态

所制备的载药颗粒外层较致密, 内层较疏松, 应为微囊; 鲜微囊外观形态圆整, 均匀, 粒径 0.5mm 左右; 干燥后的干微囊粒径为 0.1 ~ 0.2mm。

4.2 正交优化设计结果

按正交设计表 L₉(3⁴) 进行实验, 测定各优化指标, 计算评估指数 EI%, 结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

标的影响没有统计学意义。并且主要因素 Cts, Alg 和 CaCl₂ 分别取 3, 3 和 2 为好, 次要因素 DSP 取 1 为好, 从而得到可能较好条件 A₃B₃C₂D₁, 与综合评分的结果接近。但考虑到 DSP 为次要因素, 并且本实验要求达到较高的包封率与载药量, 因此综合评价仍然选择 A₃B₃C₂D₂ 为最终的优化实验方案, 结果如下:

取含有 CaCl₂ (0.5%) 的壳聚糖 (0.4%) 稀醋酸 (2%) 溶液 20mL, 调节溶液 pH 值为 5.0。磁力搅拌 (60 r/min), 用针头规格为 4.5 × 13 号的注射器逐滴滴入含有 12.50mg DSP 的海藻酸钠 (2%) 溶液 5mL, 即得到白色凝胶状固体。继续在溶液中育 10 min, 将微囊过滤, 用少量双蒸水洗涤。

4.3 正交实验复核实验

按上述实验优化处方所制备 3 份微囊的包封率和机械强度测定结果见表 4。

表 4 正交实验复核实验结果

Tab 4 The results of coincidence experiment of orthogonal design experiment($n = 3$)

编号	EE%	MS	EI
1	95.59	99	97.30
2	96.42	95	95.71
3	98.68	98	98.34
average(\pm SD)	96.90 \pm 1.60	97.33 \pm 2.08	97.12 \pm 1.32

本实验结果比正交实验 9 结果略优。

5 讨论

本实验选取海藻酸钠、壳聚糖、 CaCl_2 和地塞米松磷酸钠四个因素,每个因素选取三个水平,选用 $L_9(3^4)$ 表进行正交实验,以包封率、微囊强度为指标综合评估实验结果以优化处方。结果表明,较高的壳聚糖和海藻酸钠浓度有利于提高 DSP 的包封率,较高的 CaCl_2 浓度则降低 DSP 的包封率。这与 Sezer A. D.和 Akbuga J.的研究结果^[5]一致。而 DSP 的加入量对包封率的影响较小。正交复核实验结果表明,该制备工艺重现性较好,所得微囊包封率和机械强度较高。

评价微囊制备的指标很多,各种特性指标对评价微囊的影响尚需进一步的研究。

参考文献

- [1] Vandenberg GW, Drolet C, Scott SL, *et al.* Factors affecting protein release from alginate-chitosan coacervate microcapsules during production and gastric/intestinal simulation[J]. *J Controlled Release*, 2001, 77(3):297.
- [2] Takka S, Acarturk F. Calcium alginate microparticles for oral administration: I: effect of sodium alginate type on drug release and drug entrapment efficiency[J]. *J Microencapsulation*, 1999, 16(3):275.
- [3] Gonzalez-Rodriguez ML, Holgado MA, Sanchez-Lafuente C, *et al.* Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release[J]. *Int J Pharm*, 2002, 232(1-2):225.
- [4] Rha C, Rodriguez-Sanchez D. Process for encapsulation and encapsulated active material system [P]. US Patent: 4 744 933, 1988-10-22.
- [5] Sezer AD, Akbug J. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: II. Sustained release of a low molecular drug from chitosan treated alginate beads[J]. *J Microencapsulation*, 1999, 16(6):687.

收稿日期:2003-07-16