

# 井冈霉素载药二氧化硅空心微球的原位制备及缓释性能评价

梁旭东<sup>1</sup>, 李雪光<sup>1</sup>, 付瑶<sup>1</sup>, 文利雄<sup>1</sup>, 陈建峰<sup>1,2</sup>

(1. 北京化工大学纳米材料先进制备技术与应用科学教育部重点实验室; 2. 北京化工大学教育部超重力工程研究中心, 北京 100029)

**摘要:** 利用正硅酸乙酯在 W/O 乳液中的原位水解聚合, 成功制备了包埋井冈霉素的二氧化硅载药空心微球. 对所得产品进行了 SEM, XRD, FT-IR 和粒径分布等分析, 结果表明, 载药空心微球粒径分布窄, 范围在 7.5~15  $\mu\text{m}$ , 球形貌良好, 具有空心结构, 呈无定型态. 热重分析表明载药空心微球的药物负载量约为 31.9% ( $\omega$ ), 缓释溶出实验显示载药空心微球药物释放持续时间约 240 min, 最终释放量达总载药量的 90% 以上.

**关键词:** 空心微球; 原位制备; 井冈霉素; 缓释; 二氧化硅

**中图分类号:** TQ450.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2008)03-0595-04

## 1 前言

空心微球材料凭借其良好的可控缓释特性, 已在医药、农药、食品、涂料等诸多领域得到广泛应用<sup>[1-4]</sup>. 传统空心微球壁材多为天然高分子<sup>[5]</sup>、有机聚合物<sup>[6]</sup>等, 天然高分子材料通常对光、热及化学因素较为敏感, 而有机聚合物材料不易被自然环境所降解. 以  $\text{SiO}_2$  作为壁材的空心微球则具备良好的稳定性和环境友好性, 作为缓释载体被广泛采用<sup>[7,8]</sup>.

Hadinoto 等<sup>[9]</sup>利用喷雾干燥法制备出负载纳米药物的  $\text{SiO}_2$  空心微球, 能够通过干粉吸入方式对肺部直接给药; Shiomi 等<sup>[10]</sup>利用活性蛋白与声化学处理方法获得蛋白- $\text{SiO}_2$  复合空心微球, 发现空心球形貌受蛋白质浓度的影响. 伴随空心微球制备技术的发展, 乳液聚合法被引入到  $\text{SiO}_2$  空心微球制备中来, Xue 等<sup>[11]</sup>利用单乳液制备包埋硫酸庆大霉素的  $\text{SiO}_2$  空心微球, 获得 20 d 以上的缓释效果; Hwang 等<sup>[12]</sup>通过双乳液制备出包埋维生素 A 的  $\text{SiO}_2$  空心微球, 药物包埋率达到 30.9% ( $\omega$ ).

本工作采用杀菌剂井冈霉素(Validamycin)作为模型药物, 利用正硅酸乙酯(Tetraethyl Orthosilicate, TEOS)水解聚合反应制备  $\text{SiO}_2$  载药空心微球, 通过乳液聚合技术对井冈霉素进行原位包覆, 并对井冈霉素药物的缓释效果进行了研究, 探索一种对农药进行原位包覆制备缓释新制剂的简易方法, 达到降低农药施用量、延缓药效、减少对环境负面影响的目的.

## 2 实验

### 2.1 材料与仪器

井冈霉素原药(浙江钱江生物化学股份有限公司),

环己烷、盐酸、无水乙醇均为分析纯(北京北化精细化学品有限责任公司), 正硅酸乙酯(TEOS, 分析纯, 广东省汕头市西陇化工厂), Span-80 和 Tween-80 为化学纯(天津市福晨化学试剂厂).

天津大学无线电厂 D-800LS 智能药物溶出仪, 日本 JEOL JSM-6360 扫描电子显微镜, 美国 Nicolet-210 傅立叶变换红外光谱仪, 德国 Netzsch STA449C 热重分析仪, 日本岛津 UV-2501 紫外-可见光谱分析仪, 日本理学 D/Max 2500 X 射线衍射仪, 德国 IBAS I/II 图像分析系统.

### 2.2 实验设计

#### 2.2.1 二氧化硅空心微球的制备方法

量取 2 mL 去离子水、0.2 mL 盐酸与 Tween-80 混合均匀, 得到水相; 另将 50 mL 环己烷与 Span-80 混合制得油相, 取出 10 mL 油相与 2 mL TEOS 混合, 待用. 在 1150 r/min 磁力搅拌下将水相逐滴加入剩余的 40 mL 油相中乳化 30 min, 待乳液稳定后, 降低转速至 600 r/min, 一次性加入 10 mL 油相与 2 mL TEOS 的混合物, 在 20  $^{\circ}\text{C}$  下持续搅拌 2 h. 在表面活性剂(Tween-80 与 Span-80)和 HCl 催化作用下, TEOS 分子在油水界面上与水相接触, 水解形成  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2(\text{OH})_2$ <sup>[13]</sup>, 再经脱水或脱醇缩合形成  $\text{SiO}_2$  的微晶核, 并进一步生长成为  $\text{SiO}_2$  颗粒, 在油水两相界面处聚集成  $\text{SiO}_2$  壳壁, 最终在 20  $^{\circ}\text{C}$  下陈化 24 h 后停止搅拌, 经离心、洗涤, 收集固体产品, 40  $^{\circ}\text{C}$  下干燥得到  $\text{SiO}_2$  空心微球.

#### 2.2.2 井冈霉素药物的包埋方法

在空心微球制备前, 称取一定量井冈霉素药物完全溶于水相中, 在空心微球制备过程中, 利用正硅酸乙酯

的水解聚合反应, 直接将药物包埋到  $\text{SiO}_2$  空心微球内。

### 2.2.3 表征手段

用 SEM 对  $\text{SiO}_2$  空心微球形貌进行观察, 利用图像分析系统分析 SEM 照片, 统计空心微球的粒径分布; 采用 FT-IR 与 XRD 确定载药空心微球包裹药物的存在形态及其与载体  $\text{SiO}_2$  的结合方式; 通过 TG 测定井冈霉素载药空心微球的药物负载量。

### 2.2.4 井冈霉素载药空心微球的药物溶出

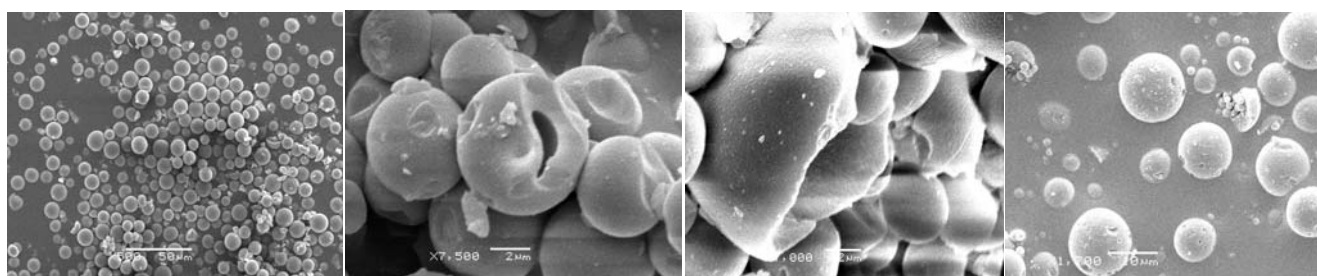
利用智能药物溶出仪对井冈霉素载药空心微球进行缓释溶出测试。溶出方法为: 溶出杯盛放 500 mL 去离子水, 100 r/min 转速搅拌, 保持室温, 按预先设定时

间取样, 离心分离得到测试样品。使用紫外分光光度计检测样品中井冈霉素药物浓度, 紫外光检测波长为 210 nm, 结合 TG 测得井冈霉素负载量, 计算药物释放量, 绘制药物缓释图。

## 3 结果与讨论

### 3.1 二氧化硅空心微球的形貌

图 1(a) 为  $\text{SiO}_2$  空心微球的全貌扫描电镜照片, 可以看到,  $\text{SiO}_2$  空心微球形貌规整, 分散良好, 粒径较为均一。粒径分布较窄, 粒径范围在 7.5~15  $\mu\text{m}$ , 平均粒径约为 11  $\mu\text{m}$  (图 2)。



(a) Silica hollow microspheres

(b) and (c) Internal hollow structures of silica hollow microspheres

(d) Drug-loaded silica hollow microspheres

图 1 二氧化硅空心微球的 SEM 照片

Fig.1 SEM images of different silica hollow microspheres

为观察  $\text{SiO}_2$  空心微球的空心结构, 在制作 SEM 样品前, 将样品放入研钵用力碾压, 其形貌如图 1(b)与 1(c)所示。可以看到, 由于碾压而破碎的微球都呈现出明显的空心结构, 并具有一定壁厚(约 2  $\mu\text{m}$ ), 与正硅酸乙酯添加比例及 W/O 乳液中液滴大小有关; 而其他未破碎微球的表面也明显向内凹陷, 原因可能是微球在陈化、干燥和碾压过程中, 表面受外部因素影响向内部空腔凹陷造成, 这表明未破碎的  $\text{SiO}_2$  微球也具有相同的空心结构。图 1(d)为载药空心微球电镜照片, 负载药物后, 空心微球仍保持良好形貌, 同时出现小部分破损。

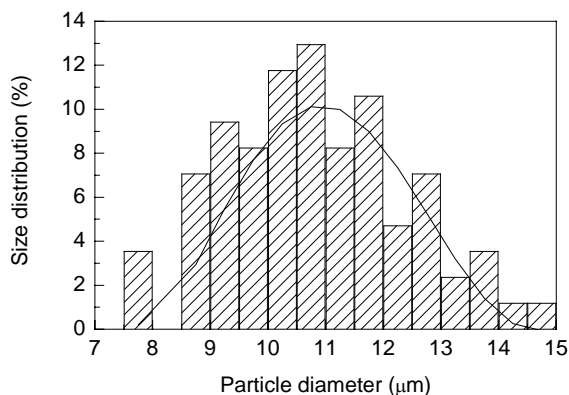


图 2 二氧化硅空心微球的粒径分布图

Fig.2 Diameter distribution of silica hollow microspheres

从图 3 看到, 井冈霉素原药在红外光谱图中 1636.0  $\text{cm}^{-1}$  位置出现的  $-\text{NH}-$  特征峰在载药后的空心微球中同样出现, 且没有出现新特征峰, 说明药物成功包埋到二氧化硅空心微球内部; 同时, 没有生成其他新的化学键, 说明药物应该是以物理方式包埋到空心微球内部的, 从而保持了药物性质的稳定。

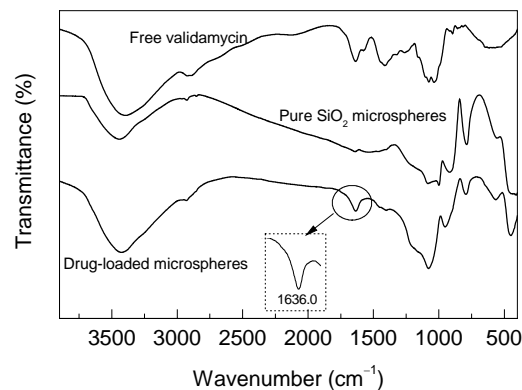


图 3 井冈霉素原药、空白  $\text{SiO}_2$  空心微球和载药空心微球的红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of free validamycin, pure  $\text{SiO}_2$  microspheres and drug-loaded microspheres

井冈霉素原药的 XRD 谱(图 4 曲线 a)在  $2\theta \approx 15^\circ$  处出现 2 个衍射峰, 而主要在  $2\theta \approx 25^\circ$  处呈现宽峰, 这说

明原药分子聚集表现为弱晶型结构, 主要呈现分散状态. 空白  $\text{SiO}_2$  空心微球在  $2\theta \approx 25^\circ$  处出现特征宽峰, 呈现为无定型态(图4曲线b). 而载药空心微球在  $2\theta \approx 15^\circ$  处未出现衍射峰, 仅在  $2\theta \approx 25^\circ$  处表现为特征宽峰(图4曲线c), 这可能是由于  $\text{SiO}_2$  球壳对 X 射线起到一定的屏障作用, 削弱了其探测内部药物的能力, 进一步说明了药物被包埋于  $\text{SiO}_2$  空心微球内部. 另外, 少部分因空心微球破损而暴露至外部的药物广泛地分散在空心微球表面, 不能够聚集, 无法表现为一定的晶型结构.

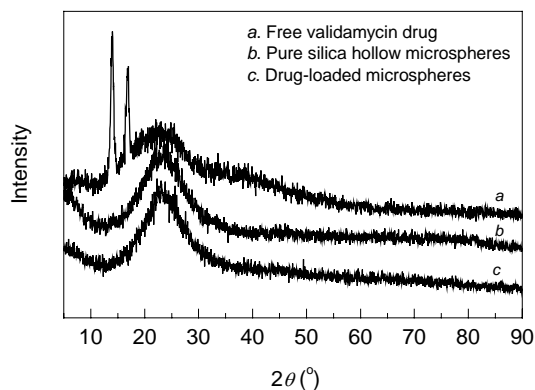


图4 井冈霉素原药、空白二氧化硅空心微球与载药空心微球的 X 射线衍射图

Fig.4 XRD patterns of free validamycin drug, pure silica hollow microspheres and drug-loaded microspheres

### 3.2 载药空心微球的药物负载量

载药空心微球的药物负载量如图5所示. 为保证测量准确, 事先将空白空心微球与载药空心微球样品放入鼓风烘干箱内在  $40^\circ\text{C}$  下干燥, 使吸附于样品的水分剩余量相同. 为保持药物性质稳定, 干燥温度不宜过高, 所以在空白空心微球的热失重曲线上出现少部分因结构水及残留表面活性剂等其他成分失重而下降的趋势.

井冈霉素药物负载量计算方法<sup>[14]</sup>如下: 图5中空白

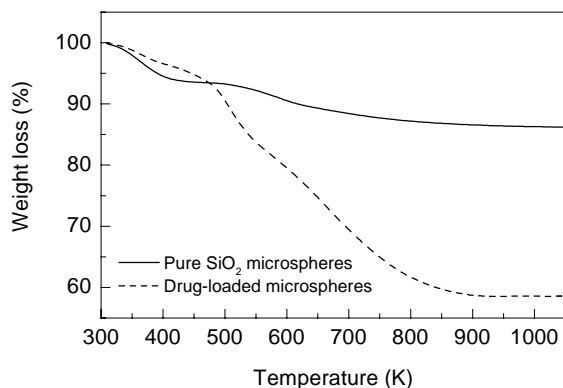


图5 空白二氧化硅空心微球和载药空心微球的热失重曲线  
Fig.5 TG curves of pure  $\text{SiO}_2$  and drug-loaded samples

$\text{SiO}_2$  空心微球最终失重率约为 13.8%, 而载药空心微球的最终失重率约为 41.3%, 则药物负载量(药物净负载总量 / 载药空心微球样品总质量) 约为  $41.3\% - (100\% - 41.3\%) \times 13.8\% / (100\% - 13.8\%) \approx 31.9\%$ , 即载药空心微球最终失重率按比例扣除其他成分后的剩余失重率即为药物负载量.

### 3.3 载药空心微球的药物缓释性能

载药空心微球的药物缓释性能如图6所示, 可以看出, 前 10 min 药物释放较快, 释放量约占总载药量 40% 以上, 这可能是由于初期载药空心微球内外药物浓度相差很大, 而井冈霉素药物极易溶于水, 形成较高释放推动力; 另外, 由于部分载药空心微球在制备过程中可能出现破损, 导致内部药物暴露在外, 直接被介质溶出, 因而造成前一阶段快速释放; 随后溶出速率趋于平缓, 未出现突然释放现象, 包裹于内部的药物持续溶出, 直至释放量达 90% 以上.

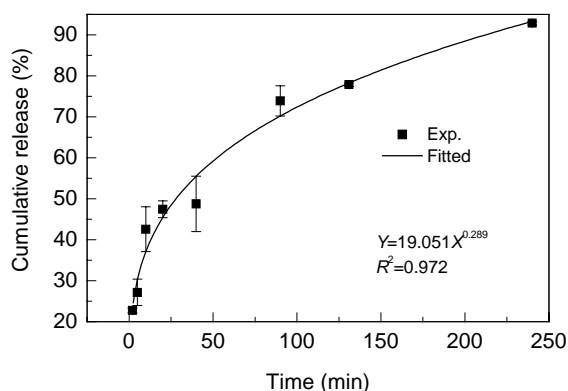


图6 载药空心微球的缓释性及 Ritger-Peppas 模型模拟结果  
Fig.6 Sustained release profile of drug-loaded microspheres and fitting curve of Ritger-Peppas model

在载药空心微球的药物溶出过程中, 初始阶段药物浓度迅速升高, 有利于快速达到起始有效浓度; 后一阶段持续缓和释放, 在一定时期内维持药物的作用效果, 最终接近完全释放, 有利于提高药效、降低用药量.

井冈霉素药物包裹于空心微球内部, 与  $\text{SiO}_2$  载体间没有化学作用, 药物溶解于扩散到空心结构内的溶出介质, 与空心微球外部环境形成药物浓度梯度, 从而产生药物释放推动力.

药物缓释的释放动力学尚不成熟, 广泛应用的模型主要是对缓释实验数据的拟合. 此处选用 Ritger-Peppas 模型<sup>[15]</sup>对缓释实验数据进行拟合:

$$M_t/M_\infty = k_p t^n,$$

其中,  $M_t/M_\infty$  为药物累积释放率,  $k_p$  为释放动力学常数,  $t$  为释放时间,  $n$  为扩散指数, 其数值可直接反映释放机

理,  $n=0$  时无缓释现象,  $n=0.5$  时为 Higuchi 模型<sup>[16]</sup>, 属于扩散控制型释放,  $n=1$  时为线性释放。

拟合结果如图 6 所示, Ritger-Peppas 模型中  $0 < n = 0.289 < 0.5$ , 表明药物释放速率较快。这是由于井冈霉素在溶出介质(水)中有极强的溶解性、部分载药空心微球制备中出现的破损以及较薄的壳层厚度均能够加快药物的释放速率, 因此药物的释放速度不完全受扩散因素的影响。

## 4 结论

(1) 利用正硅酸乙酯的原位水解聚合, 在 W/O 乳液中制备了包埋井冈霉素药物的 SiO<sub>2</sub> 空心微球, 具有良好形貌及内部空心结构, 粒径分布均匀, 范围在 7.5~15  $\mu\text{m}$ , 具有良好分散性。

(2) 载药空心微球的药物负载量约为 31.9%( $\omega$ ), 药物释放时间约为 240 min, 最终释放量达总载药量的 90% 以上, 释放过程平缓, 呈现良好的缓释特性。

### 参考文献:

- [1] Natsugoe S, Shimada M, Kumano T, et al. Enhanced Efficacy of Bleomycin Adsorbed on Silica Particles against Lymph Node Metastasis in Patients with Esophageal Cancer: A Pilot Study [J]. *Surgery*, 1995, 117(6): 636-641.
- [2] Li Z Z, Xu S A, Wen L X, et al. Controlled Release of Avermectin from Porous Hollow Silica Nanoparticles: Influence of Shell Thickness on Loading Efficiency, UV-shielding Property and Release [J]. *J. Controlled Release*, 2006, 111(1/2): 81-88.
- [3] Uskokovic V, Matijevic E. Uniform Particles of Pure and Silica-coated Cholesterol [J]. *J. Colloid Interface Sci.*, 2007, 315(2): 500-511.
- [4] Mizutani T, Arai K, Miyamoto M, et al. Application of Silica-containing Nano-composite Emulsion to Wall Paint: A New Environmentally Safe Paint of High Performance [J]. *Prog. Org. Coat.*, 2006, 55(3): 276-283.
- [5] Malafaya P B, Silva G A, Reis R L. Natural-Origin Polymers as Carriers and Scaffolds for Biomolecules and Cell Delivery in Tissue Engineering Applications [J]. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2007, 59(4/5): 207-233.
- [6] Sieminski A L, Gooch K J. Biomaterial-microvasculature Interactions [J]. *Biomaterials*, 2000, 21(22): 2233-2241.
- [7] Radin S, Falaize S, Lee M H, et al. *In vitro* Bioactivity and Degradation Behavior of Silica Xerogels Intended as Controlled Release Materials [J]. *Biomaterials*, 2002, 23(15): 3113-3122.
- [8] Nicoll S B, Radin S, Santos E M, et al. *In vitro* Release Kinetics of Biologically Active Transforming Growth Factor- $\beta_1$  from a Novel Porous Glass Carrier [J]. *Biomaterials*, 1997, 18(12): 853-859.
- [9] Hadinoto K, Phanapavudhikul P, Kewu Z, et al. Novel Formulation of Large Hollow Nanoparticles Aggregates as Potential Carriers in Inhaled Delivery of Nanoparticulate Drugs [J]. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2006, 45(10): 3697-3706.
- [10] Shiomi T, Tsunoda T, Kawai A, et al. Synthesis of Protein-Silica Hybrid Hollow Particles through the Combination of Protein Catalysts and Sonochemical Treatment [J]. *Chem. Commun.*, 2005, 5(42): 5325-5327.
- [11] Xue J M, Shi M. PLGA/Mesoporous Silica Hybrid Structure for Controlled Drug Release [J]. *J. Controlled Release*, 2004, 98(2): 209-217.
- [12] Hwang Y J, Oh C, Oh S G. Controlled Release of Retinol from Silica Particles Prepared in O/W/O Emulsion: The Effects of Surfactants and Polymers [J]. *J. Controlled Release*, 2005, 106(3): 339-349.
- [13] 林健. 催化剂对正硅酸乙酯水解-聚合机理的影响 [J]. *无机材料学报*, 1997, 12(3): 363-369.
- [14] 刘安琪, 陈建峰, 李雪光, 等. 空心多孔纳米载体负载药物的药量分布研究 [J]. *高校化学工程学报*, 2007, 21(5): 832-837.
- [15] Peppas N A, Bures P, Leobandung W, et al. Hydrogels in Pharmaceutical Formulations [J]. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, 50(1): 27-46.
- [16] Higuchi T. Mechanism of Sustained-action Medication: Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices [J]. *J. Pharm. Sci.*, 1963, 52(12): 1145-1149.

## *In situ* Preparation and Drug Release Properties of Validamycin-loaded Silica Hollow Microcapsules

LIANG Xu-dong<sup>1</sup>, LI Xue-guang<sup>1</sup>, FU Yao<sup>1</sup>, WEN Li-xiong<sup>1</sup>, CHEN Jian-feng<sup>1,2</sup>

(1. Key Lab for Nanomaterials, 2. Research Center for High Gravity Engineering and Technology, Ministry of Education, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** Validamycin-loaded silica hollow microspheres were prepared by *in situ* hydrolysis of tetraethyl orthosilicate (TEOS) in Water-Oil (W/O) emulsions. The microspheres were characterized by SEM, XRD, FT-IR and particle size distribution. The results indicated that the drug-loaded microspheres had an amorphous hollow spherical structure with the diameters of 7.5~15  $\mu\text{m}$ . The amount of validamycin entrapped in the microspheres was about 31.9%( $\omega$ ). Sustained-releasing studies showed that the release time was about 240 min and more than 90% of the loaded drug in the microspheres was delivered, indicating good sustained release behavior of the drug-loaded microspheres.

**Key words:** hollow microcapsules; *in situ* preparation; validamycin; sustained release; silica