

文章编号: (2009)03-0161-10

## 可溶性淀粉交联微球的制备及性质考察

杨希琴, 陈东, 荀哲, 李轶群, 刘兰, 丁平田

(沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳110016)

**摘要:** **目的** 获得对碘具有良好吸附性的载体。 **方法** 使用反相悬浮交联法制备淀粉微球, 对乳化过程中影响粒径分布的单因素进行考察; 在交联过程中, 以吸附量为指标, 采用正交实验, 确定最佳反应条件; 用 SSX-550 扫描电镜、激光衍射粒度分析仪、傅立叶红外光谱仪、差示扫描量热器、热重分析仪等对微球的结构及外观进行考察和表征。 **结果** 最佳合成工艺条件为: 可溶性淀粉、水、氢氧化钠的质量比为 7:20:2; 水相的总量为 20 g, 油相的体积为 160 mL, 乳化剂用量为 8 g, 搅拌速度为  $500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 乳化时间 20 min, 分散均匀后, 加入 4 mL 环氧氯丙烷, 45 ℃ 水浴交联 4 h。获得的微球粒径在 68  $\mu\text{m}$  左右, 形状圆整。红外光谱和热分析证明, 糊精在交联后结构和性质发生很大变化, 大量羟基的存在和三维网格结构使产物仍保持强亲水性和一定的机械强度, 在溶液中可以溶胀并吸附载药。 **结论** 制备的交联可溶性淀粉微球可以作为碘的载体, 用于局部消炎和杀菌。

**关键词:** 药剂学; 微球; 反相悬浮交联法; 可溶性淀粉; 交联; 吸附; 碘

中图分类号: R 94

文献标志码: A

淀粉是一种天然亲水性高分子化合物, 广泛存在于生物界, 种类多、价格低。选择无毒、易生物降解的普通淀粉制成淀粉微球用作药物载体以实现药物的缓释或靶向方面的研究很广泛<sup>[1-2]</sup>。但由于淀粉的分子质量不均一, 成球的圆整性、光滑性并不理想。可溶性淀粉是普通淀粉进行适当处理后溶解于热水中而得, 且具有较好的流动性。悬浮交联是借机械搅拌或剧烈震荡和悬浮剂的作用<sup>[3]</sup>, 使单体呈分散液珠状分散于悬浮介质中进行聚合反应的方法, 也称珠状聚合。作者采用反相悬浮交联法以可溶性淀粉为原料制备淀粉微球; 采用单因素试验考察并控制微球的粒径; 以杀菌剂碘为模型药物, 运用正交设计优化控制微球交联过程的工艺条件, 确定了获得粒径较小、吸附量较高的可溶性淀粉微球的最佳制备条件。

### 1 仪器与材料

电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), 鼓风干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司), SHZ-循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂), 傅立叶红外光谱仪(瑞士 Bruker 公司), LS32 激光衍射粒度分析仪(美国 Beckman 公司), Coulter SSX-550 扫描电镜、TA-60 热分析仪(日本 Shimadzu 公司)。

可溶性淀粉(天津科密欧化学试剂有限公司), 氢氧化钠(分析纯, 天津恒兴化学试剂制造有限公司), 碘、碘化钠(天津博迪化工有限公司), 环氧氯丙烷(分析纯, 天津博迪化工有限公司), 盐酸(分析纯, 沈阳经济技术开发区试剂厂), 司盘 80(国药集团化学试剂有限公司), 液体石蜡(化

收稿日期: 2008-12-15

**作者简介:** 杨希琴(1982-), 女(汉族), 贵州毕节人, 硕士研究生, E-mail xiaoxiygp@163.com; 丁平田(1969-), 男(汉族), 山东临朐人, 副教授, 主要从事药物新剂型研究, Tel. 024-23986305, E-mail dingpingtian@yahoo.com.cn.

学纯,天津博迪化工有效公司),无水乙醇(天津恒兴化学试剂制造有限公司),体积分数95%的乙醇(沈阳富康消毒药剂厂),透析袋(分子截留质量为8 000~14 400 u,北京夏斯生物技术公司),氯化钠、硫代硫酸钠、重铬酸钾、氢氧化钠、盐酸、乙醚、无水碳酸钠(分析纯,市售)。

## 2 方法与结果

### 2.1 淀粉微球乳化分散条件的确定

将一定量的可溶性淀粉溶于质量浓度为 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液中<sup>[4]</sup>,用玻璃棒沿一个方向搅拌,得均一水相并放置30 min备用。另取一定量液体石蜡做为油相,置250 mL三颈瓶中,加入一定量乳化剂Span 80,用电动搅拌器匀速搅拌,待乳化剂分散均匀后加入一定量水相,在一定转速下搅拌,使体系乳化,定时取样并在显微镜下观察乳滴形态、粒径,随机读取200个乳滴的粒径,求算中位径( $d_{50}$ )<sup>[5]</sup>。分别考察乳化过程中可溶性淀粉与水的质量比、水相与油相体积比、乳化剂用量、搅拌速度、乳化时间5个因素对乳滴粒径和形态的影响。结果见表1。

Table 1 Results of the single-factor experiment

Effecting factor	$m(\text{starch}):$ $m(\text{water})$	$V_{\text{water}}:V_{\text{oil}}$	$m_{\text{emulsifier}}/\text{g}$	Stirring speed/ ( $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )	$t_{\text{emulsifying}}$ /min	$d_{50}/\mu\text{m}$	Phenomenon
Starch-water ratio	1:20	20:160	8	500	20	14.3	Uniform emulsion
	3:20	20:160	8	500	20	25.7	Uniform emulsion
	5:20	20:160	8	500	20	30.8	Uniform emulsion
	7:20	20:160	8	500	20	76.1	Uniform emulsion
	9:20	20:160	8	500	20	124.5	Too thick emulsion
	11:20	20:160	8	500	20	157.3	Not emulsified
Water-oil ratio	7:20	20:40	8	500	20	37.6	Too thick emulsion
	7:20	20:80	8	500	20	47.3	Too thick emulsion
	7:20	20:120	8	500	20	56.1	Uniform emulsion
	7:20	20:160	8	500	20	80.6	Uniform emulsion
	7:20	20:200	8	500	20	102.9	Mass bubbles
Weight of emulsifier	7:20	20:160	2	500	20	125.9	Mass bubbles
	7:20	20:160	4	500	20	88.3	Uneven emulsion
	7:20	20:160	6	500	20	81.2	Uniform emulsion
	7:20	20:160	8	500	20	69.9	Uniform emulsion
	7:20	20:160	10	500	20	31.2	Too thick emulsion

(to be continued)

Continued table 1

	7:20	20:160	8	300	20	146.1	Mass bubbles
	7:20	20:160	8	400	20	85.5	Uniform emulsion
Stirring speed	7:20	20:160	8	500	20	51.9	Uniform emulsion
	7:20	20:160	8	600	20	35.7	Uneven emulsion
	7:20	20:160	8	700	20	22.2	Too thick emulsion
	7:20	20:160	8	500	5	30.4	Too thick emulsion
	7:20	20:160	8	500	15	60.7	Uniform emulsion
Emulsifying time	7:20	20:160	8	500	20	80.8	Uniform emulsion
	7:20	20:160	8	500	30	100.3	Mass bubbles
	7:20	20:160	8	500	45	140.1	Uneven emulsion

根据表1结果将乳化过程的条件定为:水与油的体积比为20:160,可溶性淀粉与水的质量比为7:20,加入水相的总量为20 mL,油相的体积为160 mL,乳化剂用量为8 g,搅拌速度为 $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,搅拌时间2 min。得到的乳滴粒径较小( $60 \sim 80 \mu\text{m}$ )并且分布比较均匀,为下一步交联奠定了基础。

## 2.2 交联过程的因素考察

### 2.2.1 交联空白可溶性淀粉微球的制备

取“2.1”条乳化后体系,加入一定量的交联剂环氧氯丙烷,一定温度下反应一定时间,反应结束后,将反应产物倾至1 000 mL烧杯中,用蒸馏水依次洗至上清液澄清、pH中性,加入适量乙醚萃取残留有机溶剂3次<sup>[4]</sup>,弃去上层乙醚,用布氏漏斗和真空泵抽滤,收集微球,60 ℃鼓风干燥箱内干燥至质量恒定即得交联空白可溶性淀粉微球。

### 2.2.2 交联可溶性淀粉-碘微球的制备

取空白可溶性淀粉微球10 g置盛有200 mL一定质量浓度碘溶液的250 mL碘量瓶中(有效碘含量为 $6.55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 磁力搅拌下浸泡12 h,抽滤后,转移至盛有200 mL无水乙醇的250 mL碘量瓶中<sup>[3]</sup>, $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 磁力搅拌2 h,使微球充分收缩。布氏漏斗过滤,抽干,40 ℃烘干至质量恒定即得交联可溶性淀粉-碘微球。

### 2.2.3 碘微球载药量的测定

取含药微球约50 mg,精密称质量,置100 mL碘量瓶中,加蒸馏水50 mL,浸泡30 min后,加入5滴淀粉指示剂,用 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫代硫酸钠滴定液分次滴定,滴至微球变为无色,溶液部分蓝色退去,即为终点,记录滴定液总体积(每mL相当于 $0.1269 \text{ mg I}$ ),计算有效碘的含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[5]</sup>。

## 2.2.4 交联过程最佳条件的确定

### 2.2.4.1 交联温度

在实验过程中发现较高的反应温度会加快交联的进程，但也存在已经乳化较好的体系很快发生粘连的现象，温度在 45 ~ 55 ℃ 内可以有效避免微球粘连。

### 2.2.4.2 交联剂用量

按“2.2.1”条方法，制备空白微球，按“2.2.3”条方法测定微球的载药量，交联剂的加入量对微球吸附量的影响见图 1。

由实验结果可知：交联剂的加入量过少，得到的微球机械强度小，呈凝胶状；交联剂加入量过多，又使得微球的载药量下降。试验发现交联剂的加入量在 3 ~ 5 mL 之间所制备微球的吸附量较大，且载药量比较稳定。

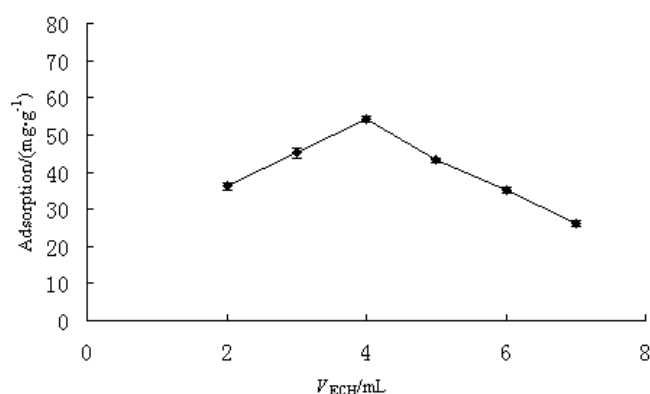


Fig. 1 Adsorption amount of crosslinked starch microspheres versus the volume of ECH ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 2.2.4.3 交联时间

按“2.2.1”条方法，制备空白微球，按“2.2.3”条方法测定微球的载药量，微球对碘的吸附量随交联时间变化的趋势如图 2 所示。

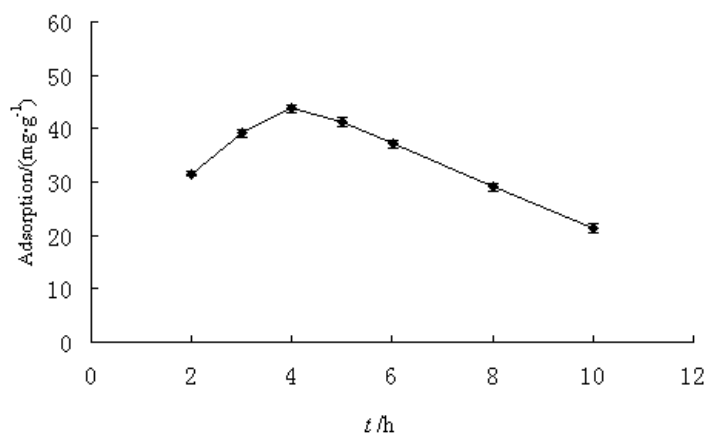


Fig. 2 Adsorption amount of crosslinked starch microspheres versus the crosslinking time ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

由实验结果可知：交联时间不足，会使微球交联不充分，从而影响交联微球的吸附量、吸水量、机械强度等性质；但过长的交联时间也会使得载药量下降。实验结果证明，交联时间在 3 ~ 5 h 之间微球吸附量较大，同时微球的吸附量的变化随时间变化相对较小。

#### 2.2.4.4 交联过程的正交试验设计

根据单因素考察实验内容及结果，将交联过程的 3 个因素即交联的温度、交联剂的用量、交联时间作为考察对象，设计 3 因素 3 水平正交试验，采用  $L_9(3^4)$  正交实验，以吸附量为评价指标优化载药可溶性淀粉交联过程的条件。结果见表 2、3。

Table 2 Orthogonal levels and factors of the formulation design

Level	Factor		
	$V_{\text{ECH}}/\text{mL}$	$t/\text{h}$	$\theta/^\circ$
1	3	4	35
2	4	6	45
3	5	8	55

Table 3 Design and results of the orthogonal experiments

Level	$V_{\text{ECH}}/\text{mL}$	$t/\text{h}$	$\theta/^\circ$	Adsorption/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
1	1	1	1	5.1
2	1	2	2	4.5
3	1	3	3	3.9
4	2	1	2	5.6
5	2	2	3	5.0
6	2	3	1	4.5
7	3	1	3	4.2
8	3	2	1	3.6
9	3	3	2	3.4
	4.5	5.0	4.4	
	5.0	4.4	4.5	
	3.7	3.9	4.4	
$R$	1.3	1.1	0.1	

极差的大小反映了单个因素对所测定指标的影响程度。对上述正交试验结果进行极差分析可知，影响可溶性淀粉吸附量因素的顺序为交联剂加入量 > 交联时间 > 交联温度。对比 9 个实验结果发现，按照实验 4 处方配比测得可溶性淀粉微球中碘的含量最高，为  $5.6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。合成此交联微球是作为广谱杀菌剂碘的载体，提高其载药量是主要目的。因此将最佳处方定为吸附碘含量最高的试验 4，即水油体积比为 20:160，可溶性淀粉、水、氢氧化钠的质量比为 7:20:2，乳化剂用量为

8 g,  $500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  下搅拌 20 min, 交联剂加入量为 4 mL, 水浴温度为  $45^\circ\text{C}$ , 交联时间为 4 h。

### 2.3 含药交联可溶性淀粉微球的体外释放度测定

取含药微球约 0.3 g, 混悬于含有 5 mL 溶出介质 (蒸馏水) 透析袋中, 两端扎紧后置 50 mL 碘量瓶中, 加入 10 mL 溶出介质 (蒸馏水),  $32^\circ\text{C}$ 、 $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  恒温气浴振荡, 0~12 h 内定时取样, 即将 10 mL 溶出介质全部取出, 随即补充 10 mL 新鲜的溶出介质<sup>[6]</sup>。用  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  硫代硫酸钠滴定, 计算释放出的有效碘含量。(每 mL 相当于  $0.1269 \text{ mg I}$ )。由释放曲线可以看出, 交联可溶性淀粉微球中的碘在 12 h 内的累计释放量超过 80%, 结果见图 3。

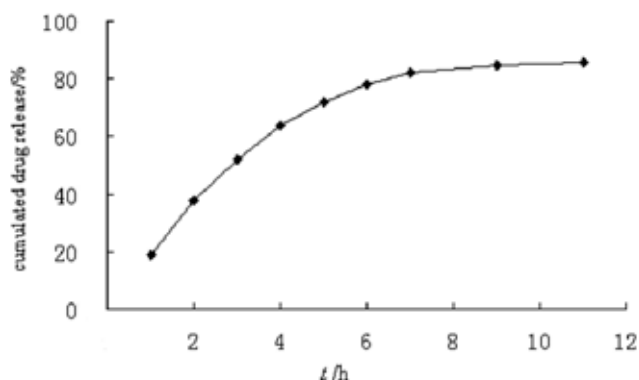


Fig. 3 Cumulative release of iodine from microspheres

### 2.4 交联可溶性淀粉微球的表征及结构确证

#### 2.4.1 粒径及粒径分布的测定

将合成的淀粉微球分散于盛有 120 mL 无水乙醇的样品池中, 采用激光衍射粒度分析仪测定微球的粒径及其粒度分布, 如图 4 所示<sup>[7]</sup>。

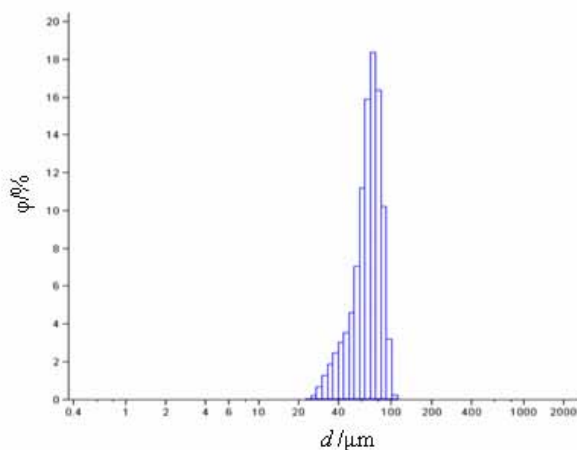
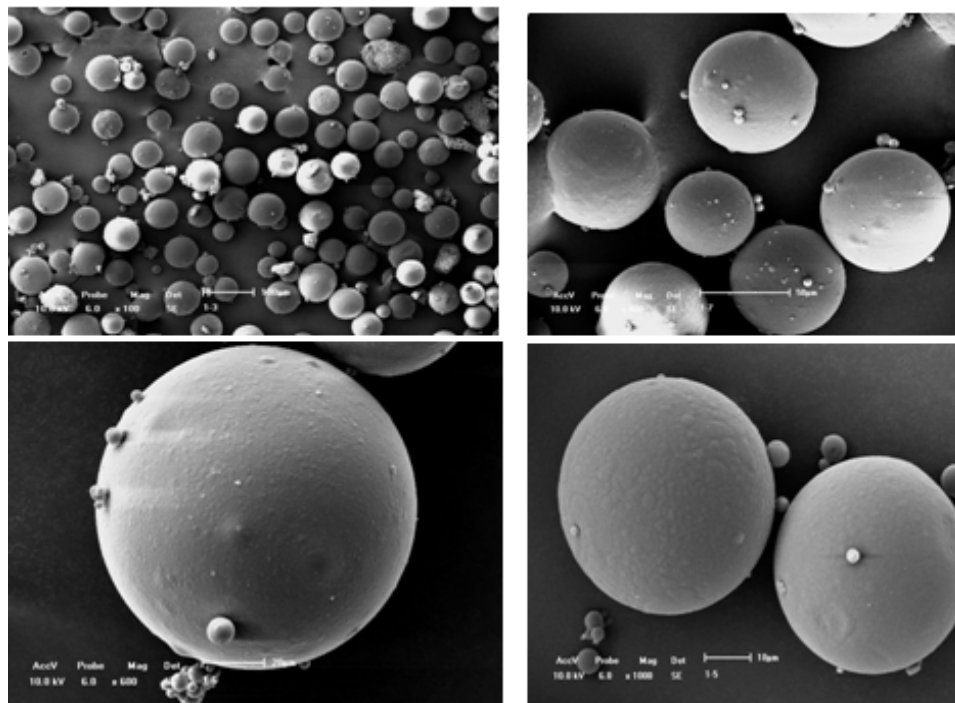


Fig. 4 Particle size distribution measured by of laser light diffraction

由图 4 结果可知, 按照确定的条件合成的交联可溶性淀粉微球  $d_{50}$  为  $68.96 \mu\text{m}$ , 粒径分布比较均匀, 99% 以上在  $100 \mu\text{m}$  以下。

### 2.4.2 形貌特征观察

将制备好的空白可溶性淀粉微球载于粘有导电胶的样品台上，氩气氛、高压下喷金后用 SSX-550 扫描电镜对微球的表面形态进行观察，图 5 为微球在扫描电镜下的照片。



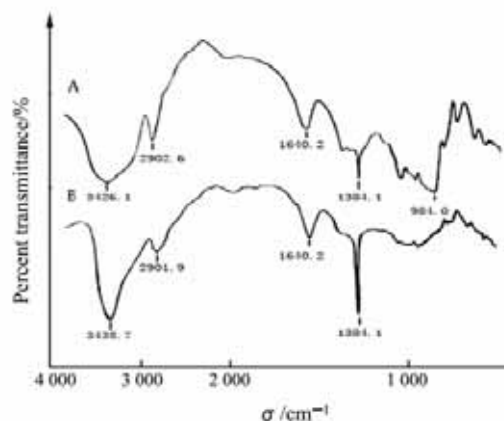
The scale bars represent 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 20  $\mu\text{m}$  and 10  $\mu\text{m}$ , respectively (from left to right and top to bottom)

**Fig. 5 SEM micrographs of the microspheres prepared according to the optimization formula and procedure**

从 SEM 照片上可以看出，用最优处方合成的交联可溶性淀粉微球，粒径在 60  $\mu\text{m}$  左右，形状圆整，分布均匀，表面比较光滑平整。

### 2.4.3 红外光谱测试

将样品制成 KBr 片，在波数 400 ~ 4 000  $\text{cm}^{-1}$  内扫描，分别测定淀粉与交联可溶性淀粉微球的红外光谱，结果见图 6。



A—Starch without crosslinking ; B—Crosslinked starch microspheres

**Fig. 6 FT-IR spectra of starch and crosslinked starch microspheres**

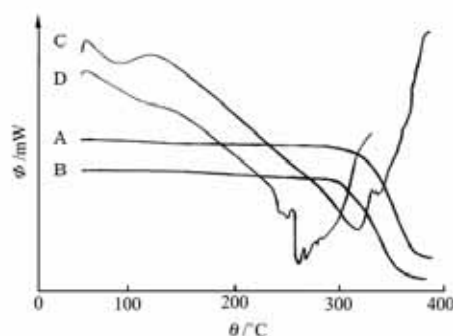
## 2.4.4 热分析

### 2.4.4.1 DSC 分析

升温速度： $10.00 \text{ } \cdot \text{min}^{-1}$  ( $30 \sim 400$  )；氮气流量： $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；参比物质： $\text{Al}_2\text{O}_3$ ；检测池：铝锅。分别测定可溶性淀粉与交联可溶性淀粉微球的 DSC 曲线，结果见图 7。

### 2.4.4.2 TGA 分析

升温速度： $10.00 \text{ } \cdot \text{min}^{-1}$  ( $20 \sim 400$  )；气氛：氮气；参比物质： $\text{Al}_2\text{O}_3$ ；检测池：铝锅。分别测定可溶性淀粉与交联可溶性淀粉微球的 TGA 曲线，结果见图 7。



A—TGA of crosslinked starch microspheres ; B—TGA of starch ; C—DSC of crosslinked starch microspheres ; D—DSC of starch

Fig. 7 Thermograms of starch before and after crosslinking

## 3 讨论

a. 由表 1~3 结果确定得到粒径较小并且比较均匀、载药量较高的可溶性淀粉微球的合成条件，图 5 结果也显示了制备出的微球外观良好，粒径均匀。如在实验中要进一步提高微球的载药量，可通过改变药液的浓度来达到此目的。

b. 从图 6 中可以发现，淀粉交联成球之后在  $3400 \text{ cm}^{-1}$  处附近的  $-\text{OH}$  峰仍然较强，说明有大量的羟基存在<sup>[8]</sup>，这就保证了交联后的可溶性淀粉仍然具有亲水性。交联后的可溶性淀粉在波数

$1000 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$  内的吸收峰与可溶性淀粉有较大差别，是由于交联剂的加入使  $\text{C}-\text{O}$  键的振动强度降低，改变了原官能团的化学环境，从而吸收峰变得模糊，峰值比较低。交联之后在  $1640 \text{ cm}^{-1}$  的峰比交联之前强，这是交联剂的  $-\text{OH}$  弯曲振动吸收峰。两谱图的波谱数据差异表明，可溶性淀粉与交联剂发生了交联<sup>[8-9]</sup>。

c. 从图 7 中的 DSC 曲线可以看出，曲线的前半段可溶性淀粉与交联可溶性淀粉微球基本一致， $100$  左右的吸热峰为结合水引起的。文献报道可溶性淀粉的熔点是  $270$  ，并伴随分解，在 DSC 曲线上的结果与之吻合；而可溶性淀粉交联后相比交联前熔点升高了  $26.1$  ，可能是由于交联后分子间的键合，形成三维网络结构，使主链的自由旋转受阻，分子运动受到限制，稳定性增加。从 TG 曲线看出，交联微球的质量损失开始温度为  $315.67$  ，比可溶性淀粉原料的质量损失开始温度



高 13.08，稳定性明显增加。热分析试验结果也证实了在可溶性淀粉分子链之间发生了交联反应，并且对温度的稳定性也比可溶性淀粉原料明显增强。

## 4 结论

用反相悬浮交联法合成了可作为药物载体的交联可溶性淀粉微球，最佳合成条件为：水相中可溶性淀粉、水、氢氧化钠的质量比为 7:20:2，水相加入的总量为 20 mL，油相加入 160 mL，乳化剂用量为 8 g，搅拌速度为 500 r·min<sup>-1</sup>，乳化时间 20 min，分散均匀后，加入 4 mL 环氧氯丙烷，45 水浴交联 4 h。此工艺条件下可获得粒径在 68 μm 左右、形状圆整的微球。制备的微球在交联后结构和性质发生很大变化，产物仍保持有强亲水性。交联后生成的三维网络结构的微球吸水后可以溶胀并保持一定的形态，保证了较高吸附药量，可以作为吸附药物的载体。

### 参考文献：

- [1] LAMGER R. Drug delivery and targeting [J]. Nature, 1998, 393(6684): 66-79.
- [2] HAMDI G, PONCHEL G, DUCHENE D. Formulation of epichlorohydrin cross-linked starch microspheres [J]. J Microencapsulation, 2001, 18: 373-383.
- [3] 邹新禧. 超强吸水剂[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2002: 96-106, 417.
- [4] 丁平田, 陈东. 一种作为伤口用给药系统载体的吸水性微球及制备方法: 中国, 200710158467. 9[P]. 2007-11-22
- [5] 陈东, 丁平田. 交联糊精微球的合成及性质考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(2): 98-103
- [6] 高萍, 郜琪臻, 徐辉. 生物可降解型石杉碱甲微球的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(5): 259-262
- [7] BABU V R, HOSAMANI K M, AMINABHAVI T M. Preparation and *in-vitro* release of chlorothiazide novel pH-sensitive chitosan-*N*, *N'*-dimethylacrylamide semi-interpenetrating network microspheres [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71(2), 208-217.
- [8] HOU X, YANG J, TANG J C, et al. Preparation and characterization of crosslinked polysucrose microspheres [J]. Reactive & Functional Polymers, 2006, 66 ( 12 ): 1711-1717.
- [9] 詹国平, 黄可龙, 张法旺. 载药淀粉微球的合成研究[J]. 化学世界, 2005, 26 (12) :726-728.

## Preparation of crosslinked water-soluble-starch microspheres

YANG Xi-qin, CHEN Dong, XUN Zhe, LI Yi-qun, LIU Lan, DING Ping-tian

( School of Pharmacy , Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110016 , China )

**Abstract : Objective** To prepare hydrophilic but insoluble microspheres from water soluble starch, and optimize its preparation process by orthogonal experiments. **Methods** An inverse suspension polymerization method was utilized to synthesize crosslinked starch microspheres, factors influencing emulsification and crosslinking reaction were studied. Fourier-transformed infrared spectrometry, SEM , laser particle size analyser, differential scanning calorimetry and thermo-gravimetry were employed to characterize the structure and properties of the starch microspheres. **Results** When the starch-water-alkali

ratio was 7:20:2(*m:m:m*), the amount of water was 20 g, oil 160 mL, emulsifier 8 g and the stirring rate  $500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , fine emulsions were formed after 20 min stirring. Then the crosslinker was added under  $45^\circ\text{C}$ , and the reaction was continued for 4h. The microspheres with diameter around  $68\mu\text{m}$ , a narrow particle size distribution (PSD) and good spherical shape were obtained. Fourier-transformed infrared spectrometry and thermoanalysis technique proved that the structure and characteristics of starch changed dramatically after crosslinking. The existence of abundant hydroxyl groups ensured the hydrophilicity and good water absorption ability of crosslinked starch microspheres. **Conclusion** The crosslinked starch microspheres prepared can be used as a drug-carrier for iodine, which is usually used as a bactericide.

**Key words:** pharmaceutics; microspheres; inverse suspension polymerization method; soluble- starch; crosslinking; absorption; iodine

(责任编辑 高明)