

## 緩釋銅的凹土/海藻酸鈉複合微球的製備及性能測試

徐婷婷、李治方、吳潔、陳靜\*

淮陰工學院，江蘇省淮安市枚乘東路1號，223003

### 摘要

本文以Cu為研究物件，以飼料添加為目標，探討了凹土/海藻酸鈉複合微球用於生命體中微量元素控釋的可行性，取得良好的實驗結果。最佳工藝條件所得複合微球與海藻酸鈉微球相比，吸附率由91.82%提高到94.60%，在2h之內的釋放率由66.35%降低到22.78%。實驗結果表明在複合微球中，凹土起到了改善其凝膠強度和緩釋性能的作用，表明凹土/海藻酸鈉複合微球可作為理想的長效緩釋藥物的載體。

**關鍵字：**緩釋微球；銅；凹土；海藻酸鈉

## **Investigation on the preparation and characteristics of palygorskite/sodium alginate composite microspheres for sustained releasing of Cu<sup>2+</sup>**

Tingting Xu , Zhifang Li, Jie Wu, Jing Chen\*

Department of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, #1 Meicheng Road E, 223003

### **Abstract**

The investigation is on the preparation and sustained releasing of Cu<sup>2+</sup> of palygorskite/ sodium alginate composite microspheres. The intension of this study is to apply the composite microspheres to feed additives. As a result, comparing with the sodium alginate microspheres, the composite ones prepared with the optimal method had better adsorption ability (from 91.82% to 94.60%). In addition, the cumulative releasing percentage within 2 hours decreased from 66.35% to 22.78%. The above results show that palygorskite can improve the gel strength and sustained releasing ability of the microspheres, indicating the palygorskite/sodium alginate composite microspheres can be an ideal carrier for long term sustained releasing drugs.

**Key words: sustained releasing microspheres, Cu, palygorskite, sodium alginate**

## 引言

海藻酸鈉 (SA, Sodium Alginate) 是天然多糖類化合物, 有生物可降解性, 毒性低、生物相容性高及生物粘附性好等特點[1-2]。SA 能與多價金屬陽離子  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$  等發生化學反應形成三維凝膠網路, 該凝膠具有熱不可逆性, 是傳統的藥物控釋載體、微生物及酶的固定化材料[3-5]。但是, 凝膠強度不高削弱了 SA 載藥微球的緩釋效果[5-7]。凹土是一種天然一維納米材料, 具有良好的吸附特性[8], 作為藥物及其輔料在歐美國家已被納入藥典[9]。凹土良好的納米增強作用可有效提升 SA 微球的凝膠強度, 且其良好的吸附性能與 SA 的溶脹控釋性能具有完美的協同作用, 從而顯著提升微球的緩釋能力。Cu 是生命體必須的微量元素, 對血紅蛋白的形成起活化作用, 促進鐵的吸收和利用, 在傳遞電子、彈性蛋白的合成、結締組織的代謝等方面有重要的意義。缺乏銅會引起貧血、毛髮異常, 骨骼和動脈異常, 以致腦障礙; 但是過剩則會引起肝硬化、腹瀉、嘔吐、運動障礙和直覺神經障礙[10]。通過飼料添加緩釋銅製劑以保證 Cu 代謝的穩定是經濟而又有效的促進動物生長的途徑。本文提供的凹土/海藻酸鈉複合微球具有良好的載藥及緩控釋性能, 並可進一步用於其它生命體所需的微量元素或藥物的緩釋控釋。

## 1. 實驗

### 1.1 原材料

凹土由中源礦業提供。無水氯化鈣、氫氧化鈉 (上海青析化工有限公司); SA (上海化學試劑站分裝廠)、磷酸二氫鉀 (南京化學試劑有限公司)、硝酸 (汕頭市西隴化工有限公司)、鹽酸、硫酸 (上海實意化學試劑有限公司), 所有試劑均為分析純。

### 1.2 Cu 離子標準曲線及濃度測定

本論文使用北京普析通用有限責任公司的 TAS-990AFG 型原子吸收分光光度計測定銅離子濃度。標準曲線以去離子水為空白樣, 於 324.7nm 波長處測定吸光度[11], 回歸方程的線性相關係數  $R^2$  值均在 0.999 以上。

### 1.3 複合微球的製備、載藥和釋放

製備 採用滴制法製備複合微球, 40°C 水浴下攪拌勻化, 配製 2%(w/v)SA 水溶液。凹土以 2mol/l 的硫酸酸化, 洗脫至中性後, 以水配置成 2% 濃度漿料, 攪拌分散 24h。將分散好的酸化凹土(AP, Acidulated Palygorskite)與 2%SA 水溶液按一定比例混合, 于 50°C 水浴下攪拌 2h。將複合物通過恒流泵以 7mL/min 的速度滴到 2%  $\text{CaCl}_2$  溶液中, 持續攪拌交聯固化一定時間, 收集並用去離子水沖洗。

載藥 將製備好的微球浸入 1% 硫酸銅溶液中吸附 4h 後過濾。所得微球以 10ml 去離子水洗滌後於 50~60°C 烘乾至恒重。微球吸附銅的總量和吸附率分別按公式(1)和(2)計算:

$$\text{微球吸附銅的總量} = W_1 - C_f \times n \times 10^{-6} \times V \quad (1)$$

$$\text{吸附率\%} = \text{微球吸附銅的總量} / \text{添加的銅的總量} \quad (2)$$

式中:  $W_1$  添加的銅的品質,  $C_f$  濾液的濃度,  $n$  稀釋倍數  $V$  緩衝液體積。

釋放 稱取 0.5g 複合微球置於 200ml 的 pH6.8 的人工類比腸磷酸緩衝液中，37°C 水浴恆溫振盪器震盪，轉速 100r/min。定時取樣。水樣過 0.45um 微孔濾膜。銅的釋放率按公式(3)計算：

$$\text{釋放率}\% = \frac{C_1 \times V \times n \times 10^{-6}}{M} \quad (3)$$

式中： $C_1$  溶液濃度，M 微球吸附銅的總量。

## 2. 結果和討論

### 2.1 凹土對微球載銅和緩釋性能的影響

海藻酸鹽微球給藥系統是近年來研究較多的一類新型口服藥物控釋載體，已成功應用於多種藥物的控制釋放，但是其凝膠強度仍有待提高。本文通過對 SA 微球和 SA/AP 複合微球進行平行實驗，比較兩種微球的吸附和累積釋放率。

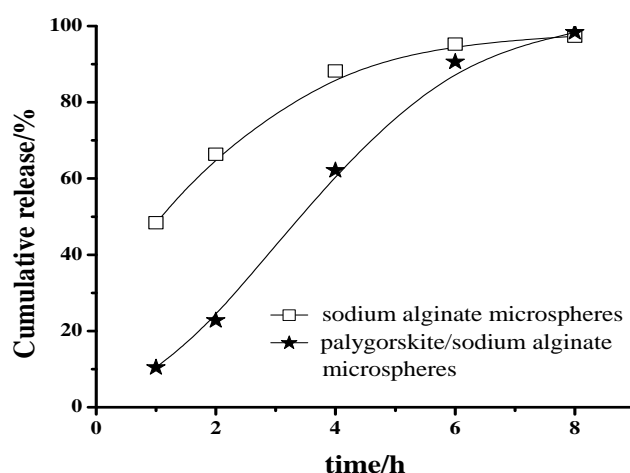


圖 1 凹土對微球累積釋放率的影響

實驗結果表明 AP/SA 複合微球的吸附率 (94.60%) 比 SA 微球 (91.82%) 高，釋放速度顯著降低 (圖 1)，說明加入凹土的複合微球對硫酸銅的緩釋性能有一定的改善。因此，本文將凹土與 SA 進行複合。

SA 與 AP 的比例變化會影響微球結構，從而影響微球的載藥釋藥性能。隨著 AP/SA 比例的增大 (10%到 40%)， $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率逐漸增大並趨於穩定。AP 本身具有良好的吸附性能，其加入對微球的吸附能力體現出一種協同作用。而 AP 的量增多之後，降低了微球的彈性，從而一定程度上會降低微球的吸附性能。不同凹土含量對  $\text{Cu}^{2+}$  釋放性能的影響見圖 2，AP/SA 的比例為 20% 時的釋放率相對緩慢，且對  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率也較高 (94.60%)。綜合考慮吸附與緩釋性能，AP/SA 的比例為 20% 為最佳。

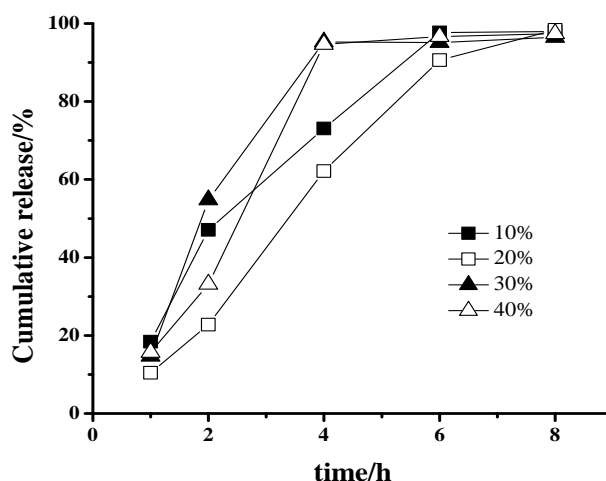


圖 2 AP/SA 比例對微球累積釋放率的影響

## 2.2 交聯條件對載銅及其緩釋的影響

交聯條件對形成微球的密實程度有很大影響，因此會顯著影響微球的載藥與釋藥性能[12-13]。微球的吸附率隨著交聯劑  $\text{CaCl}_2$  濃度的增加而先增加後降低(表 1)。隨著交聯時間的增加，微球對  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率先增大後趨於穩定（值分別為 94.60%，98.99%，98.98%），但交聯時間為 0.5h 時緩釋控制最為良好（圖 3）。 $\text{Cu}^{2+}$  在微球上的載負可能有兩種形式：一種是吸附；另一種為微球豐富的毛細孔結構容納一定的  $\text{CuSO}_4$  溶液。 $\text{CaCl}_2$  濃度小，交聯時間短的時候，三維凝膠網路結構不完善，吸附量和容留量都小， $\text{CaCl}_2$  濃度增大，交聯時間增長，完善的凝膠結構使得微球的吸收能力變強，但是吸附主要是在外表面，且毛細留容量較小。吸附在表面的  $\text{Cu}^{2+}$  釋放路徑短，而吸附在內部的  $\text{Cu}^{2+}$  釋放出來要經過較長的路徑，從而顯示出緩釋的效果。因此，雖然隨著  $\text{CaCl}_2$  濃度增加和交聯時間的延長，微球的吸附性能略有提高，而緩釋性能卻有所降低。因此，本實驗採用  $\text{CaCl}_2$  濃度為 2%，交聯時間為 0.5h。

表 1  $\text{CaCl}_2$  濃度對微球吸附性的影響

$\text{CaCl}_2$ 濃度	1%	2%	3%
吸附率(%)	95.26	98.99	89.76

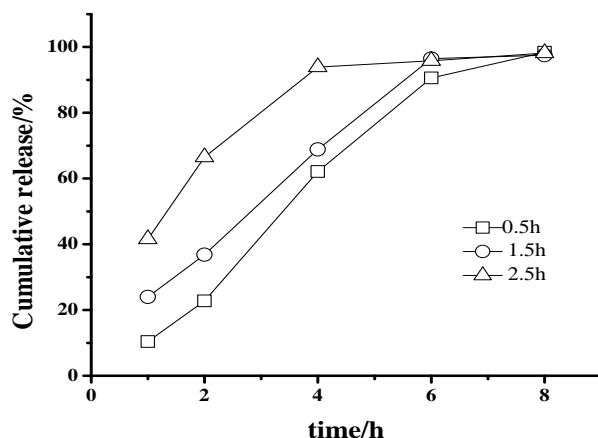


圖 3 交聯時間對微球累積釋放率的影響

### 2.3 微球釋放過程中的形態表徵

從圖 4 顯示的微球在緩衝溶液中的溶脹性能比較中可看出，在藥物釋放了 1h 後，AP/SA 複合微球的粒徑明顯小於 SA 微球，且微球中心未完全溶脹微球中心仍有藍色的顆粒狀物質，而 SA 微球的凝膠強度很小而且微球中的銅離子基本完全釋放呈白色狀。



(a)海藻酸鈉微球

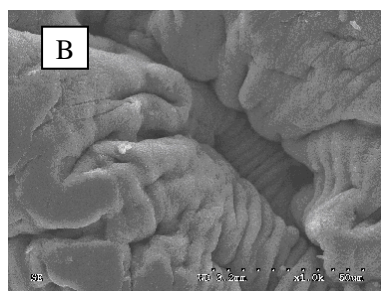
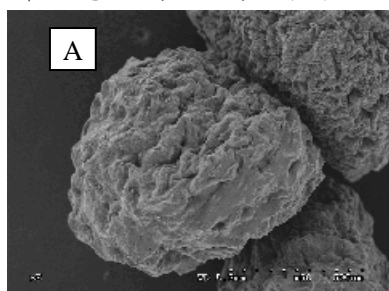


(b)凹凸/海藻酸鈉複合微球

圖 4 微球在 PBS 中釋放 1 小時

在 pH 為 6.8 的磷酸鹽緩衝液（類比人工腸液）環境中，微球中的海藻酸根離子與鉀離子形成可溶性海藻酸鹽，吸水後造成凝膠微球發生不同程度的溶脹，隨著時間延長，溶脹的微球開始溶蝕，因此在藥物釋放過程中，藥物擴散與骨架溶蝕同時進行。

### 2.4 微球的掃描電鏡 (SEM) 圖譜



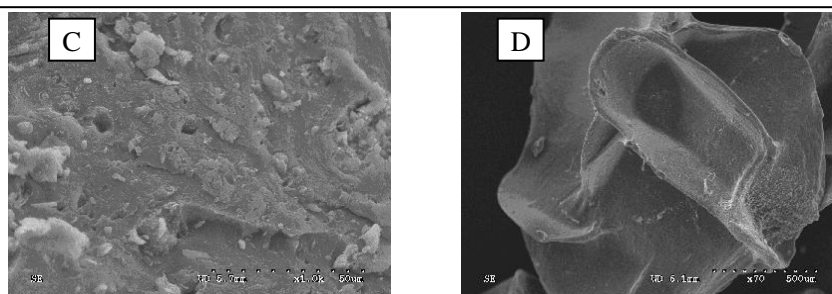


圖 5 掃描電鏡圖譜:

A 複合微球×90, B 複合微球表面×1000, C 複合微球切面 ×10000, D 海藻酸鈉微球×90

由圖 5A 和 D 的對比可見，複合微球的表面比 SA 微球要褶皺得多，因此藥物從微球中釋放出來要經過更長的途徑，AP/SA 複合微球的緩釋作用有所提高。圖 5B 進一步展示了複合微球外表皺褶的大比表面積，較大的比表面積是複合微球的載藥率高的一個重要因素。而圖 5C 顯示載銅複合微球中有大量的毛細管；微球中毛細孔的毛細作用也可能是微球載銅量提高的重要因素。

### 3. 結論

滴制法製備載銅 AP/SA 複合微球的最佳工藝條件是：原料經充分研磨分散，SA 濃度：2%，CaCl<sub>2</sub> 濃度：2%，AP/SA=1:5，複合溫度：50℃，交聯時間：30min，pH 值=5。微球烘乾前，外表光滑圓潤，粒徑大約是 2mm，烘乾後，外表粗糙，粒徑大約 1mm。AP/SA 複合微球與 SA 微球相比，吸附率由 91.82% 提高到 94.60%，在 2h 內的釋放率由 66.35% 降低到 22.78%，得到了一定程度的減緩，這說明在複合微球中，凹土起到了改善其凝膠強度和緩釋性能的作用。本複合微球可進一步用於其他生命體所需的微量元素或藥物的緩釋控釋。

### 參考文獻

- [1] August A.D., K.H., Zhang D.J., et al. AlginApe hydrogels as biomAperials,” *Macromolecular bioscience*, 2006. 6(8), pp. 623-633 (2006).
- [2] 王康、何志敏，「海藻酸鈉微膠囊的製備及在藥物控釋中的研究進展」，*化學工程*，第三十卷，第一期，pp. 48-54 (2002)。
- [3] WU Qiu-hui, W.H., WANG Ling-chong, JI Jing, CHEN Shi-yong, “Review on preparation and application of Alginate microspheres as drug carrier,” *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 8, pp.1791-1794 2011..
- [4] Li-xia J., “Drug delivery materials in the field of medicine and its application,” *Journal of Clinical RehabilitAPive Tissue Engineering Researc*, 25, pp. 4699-4702(2011).
- [5] 仲靜潔、王東凱、張翠霞、高紅、張勛，「海藻酸鈉在藥物製劑中的研究進展」，*中國新葯雜誌*，第十六卷，第八期，pp. 591-594 (2007)。
- [6] Gombotz W. R., W.S., “Protein release from alginate matrices,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31: pp.267-285 (1998).
- [7] Liang H.F., H.M.H., Ho R. M., et al., “Novel Method Using a Temperature-Sensitive Polymer (Methylcellulose) to Thermally Gel Aqueous Alginate as a pH-Sensitive Hydrogel,” *Biomacromolecules*, 5(5), pp. 1917-1925 (2004).
- [8] Fernaderz M E, A.J.A., Mendoza A D, “Experimental and theoretical study of

palygorskite clays,” *Journal of Material Science*, 34(6), pp.5243-5255(1999).

[9] H, M.Y., “Traditional and new application for kaolin, smectite, and palygorskite,” *Applied Clay Science*, 17, pp.207-221(2000).

[10] 李松岩, 「猪饲料中高剂量的铜锌对环境的影响及其控制」, 预防兽医., 南京农业大学: 南京. pp. 118 (2005)。

[11] 丁国斌, 水质 铜、锌、铅、镉的测定 原子吸收分光光度法, 国家环境保护局, 北京 (1987)。

[12] 吴文果、黄晓楠、王世斌、妮莎、刘源岗, 「乳化法制备海藻酸钙/聚组氨酸微胶囊」, 化工进展, 第二十八卷, 第四期, pp. 673-677 (2009)。

[13] Dewi Melani Haryadi, Y.W., Sharon Chien-Yu Lin, Thor Bostrom, Bhesh Bhandari, Allan G.A. Coombes, , “Novel alginate gel microspheres produced by impinging aerosols for oral delivery of proteins,” *Journal of Microencapsulation*, **39**(3), pp. 250-261(2012).