环吡酮胺微海绵的制备工艺优化

李媛媛[1]，徐旭辉[1]，张　帅[1]，李　淼[1]，董自波[1,2]*
（1. 江苏海洋大学药学院，江苏连云港 222005；2. 江苏省海洋药用资源工程中心，江苏连云港 222005）

摘要：采用准乳液溶剂扩散法制备环吡酮胺（**1**）微海绵。采用单因素试验和 Box-Behnken 设计结合响应面法，探究聚合物（乙基纤维素）与 **1** 质量比、聚乙烯醇浓度、搅拌速度对微海绵包封率、得率的影响。优化得到的处方和工艺为：乙基纤维素与 **1** 质量比 2.40 ∶ 1，聚乙烯醇浓度 2.68%，搅拌速度 350 r/min。优化的微海绵颗粒呈现出粒度分布较均匀的多孔道球状结构，体积平均径为（67.60±0.47）μm，面积平均径为（57.03±0.80）μm。在含 30%聚乙二醇 400 的生理盐水中，**1** 原料药在 8 h 内累积释放率即达到（74.85±0.60）%，而 **1** 微海绵在 48 h 内的累积释放率为（72.81±1.08）%，说明微海绵具有一定的缓释作用。

关键词：环吡酮胺；微海绵；Box-Behnken 设计；响应面法；体外释放
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)07-1082-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.07.014

Optimization of Preparation Process of Ciclopirox Olamine Microsponges

LI Yuanyuan[1], XU Xuhui[1], ZHANG Shuai[1], LI Miao[1], DONG Zibo[1,2]*
(*1. School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005;*
2. Jiangsu Marine Medicinal Resources Engineering Center, Lianyungang 222005)

ABSTRACT: Ciclopirox olamine(**1**) microsponges were prepared by quasi emulsion solvent diffusion method. The effects of mass ratio of polymer(ethyl cellulose) to **1**, polyvinyl alcohol concentration and stirring speed on the encapsulation rate and yield of **1** microsponges were investigated with single factor test and Box-Behnken design combined with response surface methodology. The optimal formulation and process parameters were as follows: the mass ratio of ethyl cellulose to **1** was 2.40∶1, the concentration of polyvinyl alcohol was 2.68%, and the stirring speed was 350 r/min. The optimized microsponges had a porous spherical structure with uniform particle size distribution, the volume mean diameter and surface mean diameter were (67.60±0.47) and (57.03±0.80) μm, respectively. In saline containing 30% polyethylene glycol 400, the cumulative release rate at 8 h of the bulk drug reached (74.85±0.60)%, while the cumulative release rate at 48 h of **1** microsponges was (72.81±1.08)%, indicating that the microsponges had a certain sustained-release effect.

Key Words: ciclopirox olamine; microsponge; Box-Behnken design; response surface methodology; *in vitro* release

环吡酮胺（ciclopirox olamine，**1**）是人工合成的吡啶酮类抗真菌药，对多种真菌都具有较强的抑制及杀灭作用，同时还具有抗炎、抗细菌的作用[1—2]。**1** 制剂被广泛用于治疗各类浅部皮肤真菌感染。目前国外已上市的 **1** 发用洗剂是治疗头皮脂溢性皮炎的一线抗真菌药物[3]，经临床证实具有良好的治疗效果。但部分患者出现了头皮瘙痒和皮肤刺激等情况，且可能出现头皮敏感、烧灼感、湿疹、脱发等不良反应。有研究[4]报道传统剂型中有效成分与载体材料的相容性较差，导致给药时表皮层的药物

收稿日期：2022-07-28
作者简介：李媛媛(1995—)，女，硕士研究生，专业方向：药物新剂型开发。
通信作者：董自波(1970—)，男，教授，硕士生导师，从事抗炎免疫调控机制、中药新剂型及新药开发、中成药经典方组方优化与二次开发的研究。
E-mail：dongzibo999@163.com

浓度较高，药物快速经皮渗透、吸收，产生皮肤刺激性。微海绵是一种多孔微球组成的聚合物递送系统，能控制药物释放速度，延长药物在皮肤表面的停留时间，使药物的经皮渗透及使用剂量降低[5—6]，在提高疗效的同时降低药物的皮肤刺激性。本研究将 **1** 与微海绵剂型相结合，并进行制备工艺优化、质量标准及体外释放度研究，从而为 **1** 微海绵的应用提供帮助。

1 仪器与试药

DZF-6050 型真空干燥箱（上海精其仪器有限公司）；Sigma 500 型扫描电镜（德国 Zeiss 公司）；BT-9003S 型激光粒度仪器（丹东百特仪器有限公司）；E2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；MD25-3500 透析袋（截留分子量 3500，美国 Viskase 公司）；SHZ-D(III) 型循环水式多用真空泵（上海羌强实业发展有限公司）。

1 原料药［上药康丽（常州）制药有限公司，含量 99.9%，批号 CPO20210102］；**1** 对照品（中国药品生物制品检定院，批号 100232-201402）；聚乙烯醇（**2**）、乙基纤维素（**3**，相对分子质量为 448.47）（成都西亚化工股份有限公司）；二氯甲烷（**4**）、乙二胺四乙酸二钠、冰乙酸（上海沪试环保试剂科技有限公司）；氯化钠（西安天茂化工有限公司）；聚乙二醇（PEG）400（上海阿拉丁试剂有限公司）；水为纯化水，甲醇、乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 1 微海绵的制备

采用准乳液溶剂扩散（quasi emulsion solvent diffusion，QESD）法[5—6]制备 **1** 微海绵。称取 **2** 于锥形瓶中，加入纯化水 100 mL，放置过夜（两夜），待其充分溶胀后搅匀作为外相；在 60 ℃水浴中加热制备由 **1**、**3**、**4** 组成的内相，将内相趁热逐滴加入外相中，搅拌 3 h，使有机溶剂充分挥发，沉淀完全后进行过滤，分离微海绵，洗涤，40 ℃减压干燥 24 h，即得。

2.2 1 微海绵含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件

色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为 0.096% 的乙二胺四乙酸二钠溶液和冰乙酸（体积比 750 ∶ 0.1），B 为乙腈，梯度洗脱（0—15 min：A 75%—10%，15—20 min：A 10%—75%）；检测波长 304 nm；流速 0.7 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 20 μL。

2.2.2 溶液的配制

对照品溶液：精密称取 **1** 对照品适量，置 100 mL 量瓶中，加甲醇溶解、定容，摇匀，超声，即得 **1** 质量浓度为 29 μg/mL 对照品贮备液。再用甲醇稀释得 2.9 μg/mL 的 **1** 对照品溶液。

供试品溶液：取 **1** 微海绵样品约 2 mg，置 20 mL 量瓶中，加甲醇溶解、定容，摇匀，超声 30 min。精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中，加甲醇定容，摇匀，超声，过滤，即得。

2.2.3 线性范围和方法学验证

精密量取对照品贮备液适量，加甲醇分别稀释为 1.7、6.8、13.6、34、68 和 136 μg/mL 的线性标准溶液，依次进样测定。以 **1** 质量浓度（c）为横坐标、峰面积（A）为纵坐标，线性回归，所得回归方程为 A=51 220c－48 012，R^2=0.999 9。

专属性试验结果显示，**1** 的保留时间为 13.5 min，峰形较对称，辅料对测定无干扰。本法重复性、稳定性、稳定性和仪器精密度良好（RSD<2%），能满足定量分析的要求。

2.3 微海绵的得率和包封率的测定

照下式计算微海绵的得率、药物含量和包封率。

$$得率=m_{ms}/m_{rm}\times100\%$$

$$实际药物含量=(m_{act}/m_{ms})\times100\%$$

$$包封率=(m_{act}/m_{the})\times100\%$$

式中：m_{ms} 是微海绵的质量；m_{rm} 最初投入的 **3** 与 **1** 质量之和；m_{act} 是 HPLC 法测得的微海绵中 **1** 的质量；m_{the} 是制备微海绵时 **1** 的加入量。

2.4 制备工艺的优选

2.4.1 单因素试验及结果分析

采用单因素法，固定 **2** 浓度为 2%、搅拌速度为 500 r/min，考察聚合物（**3**）与药物不同质量比对微海绵包封率及得率的影响；固定聚合物 **3** 与药物 **1** 质量比为 2 ∶ 1、搅拌速度为 500 r/min，考察不同浓度 **2** 对微海绵包封率及得率的影响；固定聚合

物与药物质量比为 2 ∶ 1、**2** 浓度为 2%，考察不同搅拌速度对微海绵包封率及得率的影响。结果如图 1 ～ 3 所示。

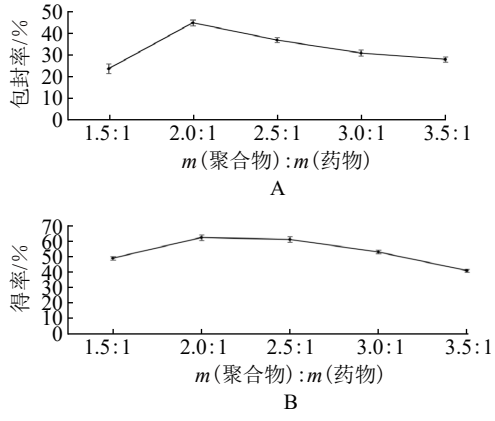


图 1　聚合物与药物质量比对微海绵包封率（A）和得率（B）的影响（*n*=3）

Fig.1　Effect of Polymer to Drug Mass Ratio on Encapsulation Rate (A) and Yield (B) of the Microsponges (*n*=3)

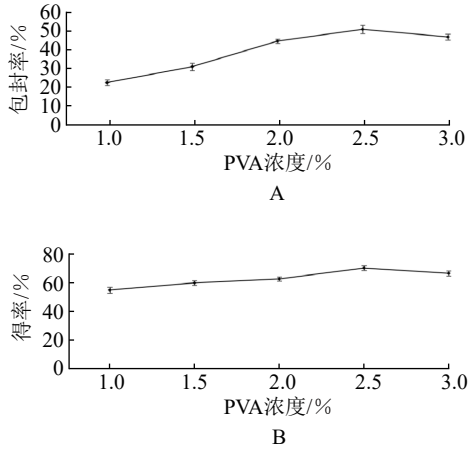


图 2　2 浓度对微海绵包封率（A）及得率（B）的影响（*n*=3）

Fig.2　Effect of **2** Concentration on the Encapsulation Rate (A) and Yield (B) of the Microsponges (*n*=3)

由图 1 ～ 3 可知：聚合物与药物质量比为 2.0 ∶ 1 时，包封率和得率均达到最大值；包封率和得率均随着 **2** 浓度的增加呈现先增加后降低的现象，且在 **2** 浓度为 2.5% 时达到最大值；同样，搅拌速度为 500 r/min 时，包封率和得率均达到最大值。

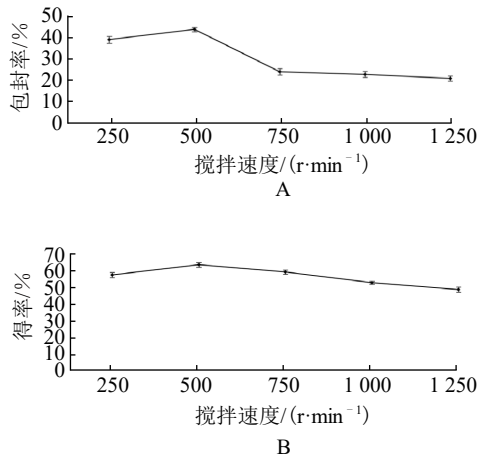


图 3　搅拌速度对微海绵包封率（A）及得率（B）的影响（*n*=3）

Fig.3　Effect of Stirring Speed on the Encapsulation Rate (A) and Yield (B) of the Microsponges (*n*=3)

2.4.2　Box-Behnken 设计结合响应面法的优化

结合单因素试验结果，根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理，选取聚合物与药物质量比（*A*）、**2** 浓度（*B*）、搅拌速度（*C*）为考察因素，设计三因素三水平试验。各因素水平如表 1 所示。以包封率（Y_1）和得率（Y_2）为响应值，试验设计方案与结果如表 2 所示。

表 1　因素与水平表

Tab.1　Factors and Levels Graph

因素	水平		
	－1	0	1
A	1.5∶1	2.0∶1	2.5∶1
B/%	2.0	2.5	3.0
C/(r·min^{-1})	250	500	750

2.4.3　回归模型方程及方差分析

采用 Design-Expert 11 软件对试验结果进行统计分析，得到的回归方程为：Y_1=52.36+5.47*A*+10.09*B* − 8.56*C* − 0.18*AB* − 0.48*AC* − 0.65*BC* − 7.40A^2 − 7.13B^2 − 8.36C^2，Y_2=74.57+6.87*A*+5.12*B*+1.84*C* − 2.32*AB* − 0.86*AC* − 1.65*BC* − 9.52A^2 − 5.18B^2 − 2.87C^2。再使用此软件对所得模型进行方差分析，结果显示包封率拟合模型的 *P*<0.000 1，且模型失拟项 *P*=0.946 4>0.05，说明拟合方程对试验结果拟合效果较好；得率拟合模型

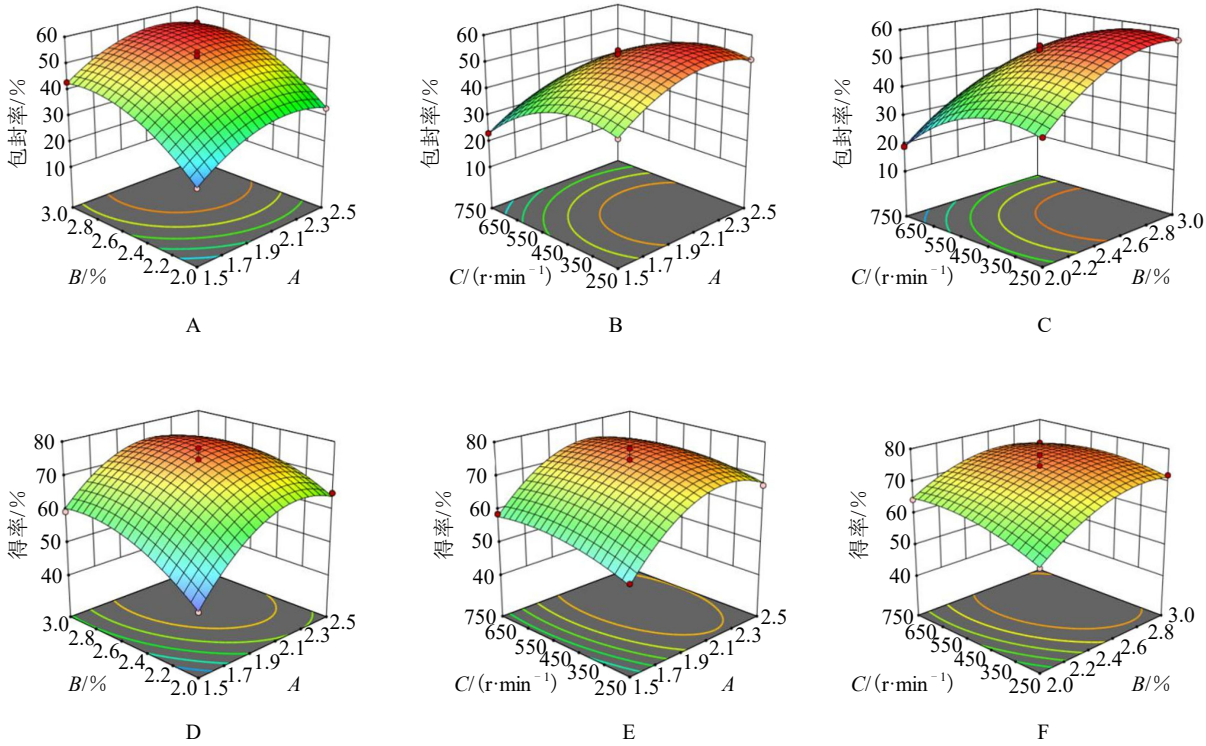
表 2 Box-Behnken 设计的试验方案与结果 ($\bar{x}\pm s$，n=3)

Tab.2 Scheme and Results of Box-Behnken Design ($\bar{x}\pm s$, n=3)

试验号	*A*	*B*/%	*C*/(r·min^{-1})	Y_1/%	Y_2/%
1	2.0∶1	2.5	500	52.47±2.09	72.65±0.91
2	1.5∶1	3.0	500	41.65±1.80	58.46±1.00
3	2.0∶1	2.5	500	52.77±1.57	72.90±0.89
4	2.5∶1	2.5	250	50.76±1.69	66.46±0.76
5	1.5∶1	2.5	250	37.72±1.72	52.66±0.67
6	2.0∶1	2.0	750	19.83±0.84	63.07±1.30
7	2.5∶1	3.0	500	53.27±1.34	68.09±1.47
8	2.5∶1	2.5	750	32.97±1.83	68.54±1.06
9	1.5∶1	2.5	750	23.08±0.95	57.67±1.10
10	2.0∶1	3.0	250	55.16±0.86	72.86±0.90
11	2.0∶1	2.5	500	51.31±1.41	72.44±2.55
12	2.0∶1	2.5	500	52.98±1.32	72.89±1.93
13	2.0∶1	2.5	500	50.79±2.62	73.35±0.53
14	2.5∶1	2.0	500	32.99±1.24	65.06±0.89
15	1.5∶1	2.0	500	21.37±1.48	44.31±1.28
16	2.0∶1	3.0	750	36.66±1.24	70.53±1.40
17	2.0∶1	2.0	250	34.32±0.75	59.22±1.51

的 P<0.000 1，且模型失拟项 P=0.801 4>0.05，说明拟合方程对试验结果拟合效果也较好。同时，方差分析结果显示，因素 *A*、*B*、*C*、A^2、B^2、C^2 对微海绵包封率的影响有统计学意义，*A*、*B*、A^2 对微海绵得率的影响有统计学意义。根据多元二次回归方程绘制响应面图，对各因素间的交互作用进行评价，并确定各因素的优化取值范围，结果如图 4 所示。

由图 4A ～ 4C 可知，因素 *AB* 和 *AC* 之间的等高线形状都较接近圆形，提示相互作用较不显著；而 **2** 浓度与搅拌速度的等高线形状接近椭圆，说明两者之间的交互作用较显著，对包封率影响较大。在 3 个因素中，**2** 浓度对包封率影响最大，其次是搅拌速度，最后是聚合物与药物质量比，即 *B*>*C*>*A*。由图 4D ～ 4F 可知，聚合物与药物质量比和 **2** 浓度之间的等高线形状较接近椭圆，说明两者交互作用较显著，对得率影响较大。在 3 个因素中，聚合物与药物质量比对得率的影响最大，其次是 **2** 浓度，最后是搅拌速度，即 *A*>*B*>*C*。



A—因素 *A* 和 *B* 对 Y_1 的影响；B—因素 *A* 和 *C* 对 Y_1 的影响；C—因素 *B* 和 *C* 对 Y_1 的影响；D—因素 *A* 和 *B* 对 Y_2 的影响；E—因素 *A* 和 *C* 对 Y_2 的影响；F—因素 *B* 和 *C* 对 Y_2 的影响。

图 4 3 个因素交互作用对包封率和得率的响应面图

Fig.4 Response Surface Plots of the Interaction Effects of Three Factors on Encapsulation Rate and Yield

2.4.4 验证试验

通过 Design-Expert 11 软件获得的优化制备工艺为：聚合物与药物质量比 2.40 ∶ 1，**2** 浓度为 2.68%，搅拌速度 361 r/min。预测的微海绵包封率为 57.15%，得率为 73.14%。考虑到实际情况，将转速调整为 350 r/min，进行 3 批验证试验（照确定的制备工艺条件，制备 3 批微海绵样品，每批 2 份，计算时取 2 份的平均值），结果 3 批微海绵的包封率为 (56.87±0.91) %，得率为 (71.22±1.23) %，可见实测结果与理论结果较接近，提示模型选择合理、制备工艺稳定可靠。

2.5 微海绵的形态学观察

照优化处方制备的微海绵为细腻均匀的类白色粉末。扫描电镜观察结果（图 5）表明，微海绵颗粒呈多孔道的圆球状，粒度分布较均匀。利用激光粒度分析仪对 3 批验证试验制备的微海绵进行测定，分散介质为水（介质折射率为 1.333），物质折射率为 1.52，循环转速为 1 600 r/min，遮光度为 1%～2%。进行 3 次平行试验。结果显示，微海绵的体积平均径和面积平均径为 (67.60±0.47) 和 (57.03±0.80) μm。粒度分布如图 6 所示。

2.6 含量测定

照“**2.2.1**”项下色谱条件测定 3 批验证样品中 **1** 的含量，根据“**2.3**”项下计算药物含量。结果显示，3 批 **1** 微海绵中药物的平均含量为 (23.49±0.58) % (n=3)。

2.7 体外释放度测定[7—8]

将透析袋置沸腾水中，加热约 10 min。将袋内空气除去，一端用夹子夹紧。分别取 **1** 原料药约 5 mg 和 **1** 微海绵约 21.3 mg，加入纯化水 5 mL，制成混悬液后置透析袋中，另一端也用夹子夹紧。使透析袋悬浮在烧杯中，加入生理盐水（含 30% PEG 400）200 mL 作为释放介质，在转速 100 r/min、(37.0±0.5) ℃条件下试验。分别在 1、2、3、4、6、8、12、24 和 48 h 时取释放液 1 mL（及时补加同温等量释放介质），经微孔滤膜过滤，照“**2.2.1**”项下色谱条件测定。体外释放曲线如图 7 所示。可见，**1** 原料药在 8 h 内累积释放率达到 (74.85±0.60) %，12 h 内基本释放完全，而 **1** 微海绵在 48 h 内的累积释放率为 (72.81±1.08) %，说明 **1** 微海绵具有一定的缓释作用。

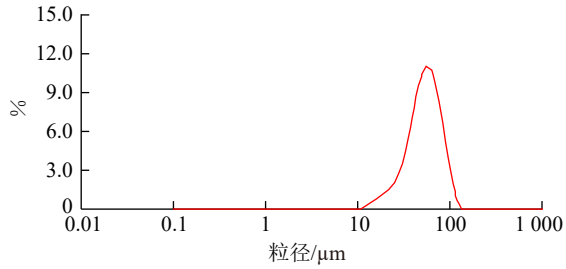
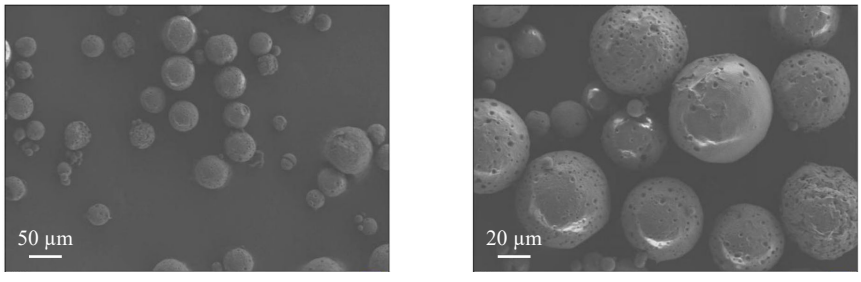


图 6　1 微海绵的粒度分布

Fig.6　Particle Size Distribution of **1** Microsponges

3　讨论

微海绵常用的制备方法以下 2 种：液 - 液悬浮聚合法、准乳液溶剂扩散法（QESD）。前法所用试剂毒性较强，且通过添加催化剂或辐射方式来启动，操作较为烦琐；而后法只需将内相加入外相中搅拌即可制得，制备简单，所用仪器较为常见，因此更

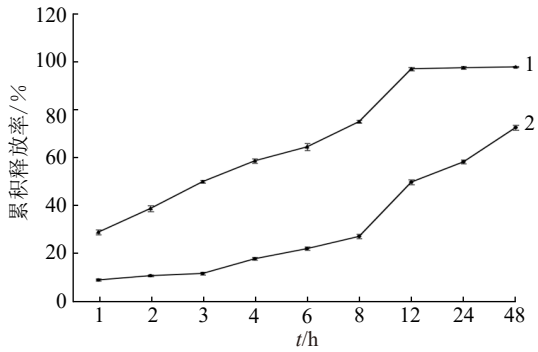


A　　B

A—放大 200 倍；B—放大 500 倍。

图 5　1 微海绵的扫描电镜照片

Fig.5　Scanning Electron Microscope Images of **1** Microsponges



1—原料药；2—微海绵。

图 7　1 原料药与 1 微海绵的体外释放曲线（*n*=3）

Fig.7　*In vitro* Release Profiles of **1** Bulk Drug and **1** Microsponges (*n*=3)

常用。本试验中，内相由 **1**、**3**、**4** 组成，其中 **3** 是聚合物，为处方提供可塑性[9]，直接影响到微海绵的形成以及药物的包裹。预试验中曾考察了聚合物与药物质量比为 1 ∶ 1 以及药物用量更多的情况，结果制品包封率较低，表明包裹 **1** 需要多于它本身的聚合物。进一步试验结果证实，包封率随着聚合物用量的增加得到明显提升。**2** 是乳化剂，缺少则无法形成微海绵[10]，同时与微海绵中孔道的形成有关[11]，其浓度也影响着微海绵的包封率和得率。**4** 在微海绵的形成中也发挥着重要的作用，它作为内溶剂，溶解药物和聚合物，同时可调节挥发和干燥速率[12]。通过查阅文献[13]及预试验，观察到 **4** 用量为 15 mL 时能获得更接近圆球状的微海绵颗粒，且在优化的聚合物与药物质量比条件下，能获得黏度较适宜的内相。

本研究在建立 HPLC 测定方法时参考了惠慧等[14]报道的条件及《中华人民共和国药典》2020 年版收载的 **1** 原料药有关物质检测方法的流动相配比。初始时，流动相配比为：乙腈、0.096%乙二胺四乙酸二钠溶液和冰乙酸（体积比 230 ∶ 770 ∶ 0.1），结果显示峰形不理想；尝试提高乙腈比例，观察到峰形改善。将上述体系中三组分体积比改为 250 ∶ 750 ∶ 0.1 进行测定，检测时间需要 40 min。由于该图谱中仅有单一峰，为了节省检测时间，改用梯度洗脱的方式迅速将 **1** 洗脱，最终确定了“**2.2.1**”项下的条件，检测时间缩短为 20 min，**1** 的保留时间为 13.5 min，峰形较好。所建立的含量测定分析方法专属性强、重现性好，测定结果较为准确，因此可用于 **1** 微海绵的质量控制。

由体外释放度试验结果可知，微海绵具有一定的缓释作用。这主要是因为微海绵是多孔微球组成的聚合物递送系统，有效成分被截留、包埋在微球中，释放时主要依赖扩散以及聚合物溶蚀机制。后续可将微海绵进一步制备成外用制剂，进行渗透性能、皮肤滞留量、药效学研究，为其外用制剂的研究提供帮助。

参考文献：

[1] SUBISSI A, MONTI D, TOGNI G, *et al*. Ciclopirox: recent nonclinical and clinical data relevant to its use as a topical antimycotic agent [J]. *Drugs*, 2010, **70**(16): 2133-2152.

[2] 翁雪荣. HPLC法测定环吡酮胺软膏中环吡酮胺的含量[J]. 海峡药学, 2006, **18**(3): 96-97.

[3] VERALDI S, BARBARESCHI M, MARTELLA A, *et al*. Efficacy and tolerability of 1% ciclopirox shampoo in the treatment of moderate-to-severe scalp seborrheic dermatitis: a multicenter, prospective, assessor-blinded trial [J]. *G Ital Dermatol Venereol*, 2019, **154**(3): 342-346.

[4] 边　琼, 张福荣, 罗华菲, 等. 微海绵给药系统在皮肤局部给药中的应用[J]. 世界临床药物, 2017, **38**(2): 128-133.

[5] AMRUTIYA N, BAJAJ A, MADAN M. Development of microsponges for topical delivery of mupirocin [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2009, **10**(2): 402-409.

[6] LI S S, LI G F, LIU L, *et al*. Evaluation of paeonol skin-target delivery from its microsponge formulation: *in vitro* skin permeation and *in vivo* microdialysis [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e79881 .

[7] 洪军辉, 朱红霞, 刘　强, 等. 甘草总黄酮微海绵的制备及体外释放度评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, **23**(14): 12-18.

[8] 闫　鑫, 吕邵娃, 郭玉岩, 等. 槲皮素-PLGA嵌段共聚物纳米粒冻干粉的制备及体外释放性能考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, **22**(14): 10-13.

[9] SINGHVI G, MANCHANDA P, HANS N, *et al*. Microsponge: an emerging drug delivery strategy [J]. *Drug Dev Res*, 2019, **80**(2): 200-208.

（下转第1111页）

[10] CENSI R, DI MARTINO P. Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly soluble drugs [J]. *Molecules*, 2015, **20**(10): 18759-18776.
[11] 张对良, 杨庆云, 张 嵩. 一种盐酸溴己新颗粒剂及其制备工艺: 中国, 106109421A [P]. 2016-11-16.
[12] 张 嵩, 张对良, 杨庆云, 等. 一种盐酸溴己新分散片及其制备方法: 中国, 111358758A [P]. 2020-07-03.
[13] 徐卫国, 张文轩, 杨庆云, 等. 一种高效的盐酸溴己新的生产方法: 中国, 112266329A [P]. 2021-01-26.
[14] 张 凯, 程 诚, 杜玉民, 等. 一种盐酸溴己新晶体及其制备方法和用途: 中国, 102924295A [P]. 2013-02-13.

(上接第1087页)

[10] NOKHODCHI A, JELVEHGARI M, SIAHI M R, *et al*. Factors affecting the morphology of benzoyl peroxide microsponges [J]. *Micron*, 2007, **38**(8): 834-840.
[11] SHAHZAD Y, SAEED S, GHORI M U, *et al*. Influence of polymer ratio and surfactants on controlled drug release from cellulosic microsponges [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, **109**: 963-970.
[12] DESHMUKH K, PODDAR S S. Tyrosinase inhibitor-loaded microsponge drug delivery system: new approach for hyperpigmentation disorders [J]. *J Microencapsul*, 2012, **29**(6): 559-568.
[13] JELVEHGARI M, SIAHI-SHADBAD M R, AZARMI S, *et al*. The microsponge delivery system of benzoyl peroxide: preparation, characterization and release studies [J]. *Int J Pharm*, 2006, **308**(1/2): 124-132.
[14] 惠 慧, 姬怀雪, 赖 冉, 等. RP-HPLC法测定环吡酮胺发用洗剂的含量[J]. 临床合理用药杂志, 2012, **5**(35): 49-50.