

介孔二氧化硅阿霉素纳米粒的制备及体外释放考察

徐爱仁^{1,2}, 马卫成^{1,2*}, 应景艳^{1,2}, 何文跃^{1,2}, 陈武^{1,2} (1.宁波市泌尿肾病医院药剂科, 浙江 宁波 315100; 2.宁波大学, 浙江 宁波 315211)

摘要: 目的 制备载阿霉素的介孔二氧化硅纳米粒(MSN), 并对其体外释放进行初步研究。方法 通过聚合法制备 MSN, 应用透射电镜表征纳米粒的形态, 动态光散射粒径测定仪测定粒子的平均粒径及分布。紫外可见分光光度法评价载药量、包封率及体外释放。结果 纳米粒分布均一, 平均粒径约 70 nm(PDI<0.1)。药物的载药量和包封率分别为(20.38±3.58)%和(55.29±5.17)%。纳米粒经 24 h 恒温振荡释放达平衡, 在 pH 5.5 磷酸盐缓冲液中累积释放分数达到 95%。结论 MSN 具有较高的药物载药量, 有望成为一种新型的化疗药物载体。

关键词: 阿霉素; 介孔二氧化硅纳米粒; 体外释放

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)10-0914-03

Preparation and *in Vitro* Release of Doxorubicin Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles

XU Airen^{1,2}, MA Weicheng^{1,2*}, YING Jingyan^{1,2}, HE Wenyue^{1,2}, Chen Wu^{1,2} (1.Department of Pharmacy, Renopathy and Urology Hospital, Ningbo 315100, China; 2.Ningbo University, Ningbo 315211, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare doxorubicin-loaded mesoporous silica nanoparticles and evaluate its release characteristics *in vitro*. **METHODS** Mesoporous silica nanoparticles were achieved by condensation methods. The morphology was examined by transmission electron microscope and dynamic light scattering particle size analyzer. Doxorubicin loaded mesoporous silica nanoparticles were achieved by stirring. The encapsulation efficiency, drug loading rate and *in vitro* cumulative release were evaluated by UV spectrophotometry. **RESULTS** Distribution of nanoparticles was uniform. The average particle size was about 70 nm (PDI<0.1). The drug loading rate and encapsulation efficiency were (20.38±3.58)% and (55.29±5.17)%. The delivery system reached release equilibrium after shaking in water bath for 24 h. The cumulative release proportion was above 95% in PBS(pH 5.5). **CONCLUSION** Mesoporous silica nanoparticles with high drug encapsulation efficiency can be used as the carrier of anticancer drug doxorubicin.

KEY WORDS: doxorubicin; mesoporous silica nanoparticle; release *in vitro*

随着纳米科技的发展, 纳米药物载体相对于传统材料显示出明显的优势。纳米粒子能将治疗药物有效地传递到靶组织或靶细胞, 增加药物的体内循环时间^[1]。近年来, 无机纳米材料因其结构稳定在药物传递方面的应用越来越受重视。在药剂领域, 随着研究的深入, 介孔二氧化硅的潜在应用价值逐步受到研究者的肯定。作为一种无机高分子药物载体, 介孔二氧化硅载体具有可控的粒径, 易被细胞吞噬、无明显细胞毒性、粒子表面积及孔道容量大、载药量大等优点^[2]。本实验将抗肿瘤模型药物阿霉素(doxorubicin, DOX)包载于介孔二氧化硅纳米粒(MSN)中, 进行载药及体外释放考察, 为进一步研究该载体在药物制剂领域的应

用积累一定实验基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

DOX 原料药(大连美仑生物技术有限公司, 纯度>98%, BR); 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB, 中国医药集团上海化学试剂公司); 四乙氧基硅烷(TEOS, 中国医药集团上海化学试剂公司); 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

TU-1800PC 紫外-可见分光光度仪(北京普析通用仪器有限公司); JB-2 磁力搅拌器(上海雷磁新经仪器有限公司); Sartorius BS110s 精密电子天平(德国赛多利斯集团); XW-80A 涡旋混合器(上海医

基金项目: 宁波市自然科学基金项目(2010A610022); 浙江省自然科学基金项目(Y2100348)

作者简介: 徐爱仁, 男, 主管药师 Tel: (0574)83039130 E-mail: xuairan@126.com *通信作者: 马卫成, 男, 主任中药师
Tel: (0574)83038595 E-mail: weichengma@126.com

科大学仪器厂); 微量台式高速离心机(美国索福公司); JEM-1230 透射电子显微镜(日本电子株式会社); THZ-C 恒温振荡仪(江苏太仓市实验设备厂); Millipore 纯水仪(美国密理博公司); USC-502 超声波清洗器(上海波龙电子设备有限公司); TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器厂); FT/IR-4100 红外光谱仪(日本分光公司); Zetasizer Nano-S90 动态光散射粒度分析仪(英国马尔文仪器公司)。

2 方法

2.1 载阿霉素介孔二氧化硅纳米粒(MSN-DOX)的制备

称取 CTAB 1.2 g, 用去离子水超声溶解, 搅拌溶解充分后, 加入 8 mL 氨水, 搅拌升温到 60 °C, 快速加入 TEOS 2.4 mL, 恒温高速搅拌 2 h, 同温下静置熟化 24 h; 依次用 200 mL 水和酸性乙醇溶液离心洗涤 3 次去除模板剂, 每次离心时间为 30 min, 转速为 20 000 r·min⁻¹。最后真空干燥得粉末。取上述干燥粉末 10 mg, 逐滴加入 1 mg·mL⁻¹ DOX 溶液 5 mL, 混匀, 磁力搅拌 24 h, 高速离心除去未负载的药物, 磷酸盐缓冲液(PBS)离心洗涤 2 遍, 冻干, 即得 MSN-DOX。

2.2 MSN-DOX 的理化性质

载药纳米粒的形态应用 TEM 进行观察, 使用 Formar 为支撑膜的铜网, 样品通过悬滴法制备。将铜网浸入聚合物溶液中, 用滤纸吸去多余的水, 晾干, 进行观察。采用动态光散射粒度分析仪检测纳米微球粒径大小、分布范围及多分散性。取少量纳米粒分散于超纯水, 稀释后置于样品管中, 每个样本测试重复 3 次, 取平均值。

2.3 MSN-DOX 的质量评价

2.3.1 标准曲线的绘制 精密称取 DOX 10 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加 PBS(pH 7.4)溶解并定容至刻度, 混匀, 即得浓度为 100 μg·mL⁻¹ 的标准储备液。分别吸取上述 DOX 标准储备液 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 3 mL 加至 10 mL 量瓶中, PSB 稀释并定容至 10 mL 刻度。以 PBS 为空白, 483 nm 波长处测定以上各溶液的吸收度。以吸收度(A)对 DOX 浓度(C)进行线性回归, 求回归方程。

2.3.2 包封率的测定 取载药后的纳米粒溶液离心, 收集上清液。沉淀加入等量的 PBS 溶液离心洗涤 2 次。将上清液合并, 用 UV-Vis 分光光度计测定 483 nm 处吸光值, 根据标准曲线计算得到载药量及包封率。载药量=(载药纳米粒中阿霉素的质

量/载药纳米粒的质量)×100%, 包封率=(载药纳米粒中阿霉素的质量/载药前阿霉素投入的质量)×100%。

2.4 MSN-DOX 的体外释放研究

选取不同 pH 值(7.4, 5.5)的 PBS 溶液作为释放介质, 考察载药纳米粒的体外释药行为。将 MSN-DOX 溶于 pH 为 7.4 的释放介质中, 配制成浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的溶液, 分别吸取 1 mL 于透析袋(MWCO=14 000)中, 再将透析袋置于 20 mL PBS 释放介质中, 在 37 °C 下恒温振荡(100 r·min⁻¹)进行体外释放考察。间隔一定时间取样, 取样时将 20 mL 释放介质全部倒出, 并补充 20 mL 新鲜介质。由 UV-Vis 分光光度计检测每个时间点的释放介质在 483 nm 处的吸光度, 并根据标准曲线计算阿霉素的累积释放百分比, 每组 3 个平行, 计算后取平均值。

3 结果

3.1 MSN 及 MSN-DOX 的质量评价

介孔二氧化硅纳米粒的平均粒径为(68.7±7.2)nm(n=3), 载药后粒径未有显著变化。电镜观察, 纳米粒成球形, 说明该法制得的产品粒径分布较均匀, 形态规整, 且分散性较好, 结果见图 1。纯水中平均粒径为(76±22.3)nm(n=3), 多分散性因子 PDI<0.1, 说明分散良好, 结果见图 2。

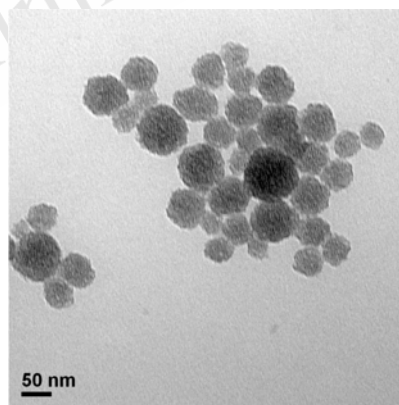


图 1 MSN 的透射电镜图片

Fig 1 TEM of MSN

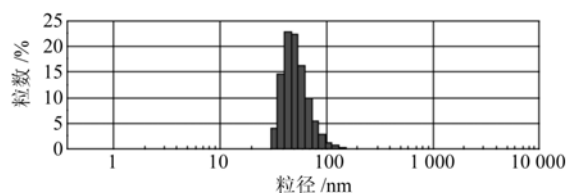


图 2 MSN 的粒径分布图

Fig 2 Particle size distribution of MSN

由于阿霉素在 483 nm 附近有特定的紫外吸收, 因此可以用 UV-Vis 来检测其含量^[3-4]。DOX 在 1~30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内回归方程为 $A=0.0197C+0.0085$ ($r=0.9999$)。MSN 载体在 483 nm 没有紫外吸收, 不影响测定。结果载药量为 $(20.38 \pm 3.58)\%$ ($n=3$), 包封率为 $(55.29 \pm 5.17)\%$ ($n=3$), 能满足临床给药需要。

3.2 药物的释放

游离阿霉素释放迅速, 4 h 达到释放平衡。在 pH=7.4 的 PBS 介质中, 载药纳米粒的阿霉素释放较慢, 24 h 后释放曲线趋于平缓, 48 h 累积释放量为 60% 左右。随着 pH 降低, 阿霉素释放量有所提高。pH=5.5 条件下, 纳米粒 12 h 释放量均达到 90%, 48 h 释放量接近到 95%。这种现象主要是由于在低 pH 值下, 纳米粒中药物阿霉素与粒子的电荷相互作用减弱, 促进了阿霉素的释放。结果见图 3。

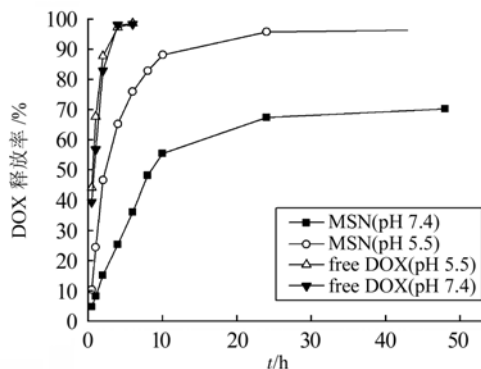


图 3 MSN-DOX 在不同 pH 条件下的释放行为 ($n=3$)

Fig 3 *In vitro* release profile of MSN-DOX at different pH ($n=3$)

4 讨论

本实验采用制备缩合法合成介孔二氧化硅纳米粒, 得到粒径均一, 粒径约为 70 nm ($\text{PDI}<0.1$) 的纳米粒。其平均包封率和载药量分别为 $(20.38 \pm 3.58)\%$ 和 $(55.29 \pm 5.17)\%$ 。体外释放表明, MSN 具有显著的药物缓释作用。在低 pH 值下纳米粒的体外阿霉素释放具有 pH 敏感性, 而在生理 pH 下释放缓慢。对于抗肿瘤给药体系, 这种 pH 特性能够更好地使滞留在肿瘤组织的药物快速释放, 发挥肿瘤抑制作用, 从而降低对正常细胞和组织的细胞毒性作用^[5]。该载体具有潜在的应用价值, 本实验为进一步研究纳米给药系统在肿瘤治疗中的应用提供了有意义的理论和实验基础。

REFERENCES

- [1] BYRNE J D, BETANCOURT T, BRANNON-PEPPAS L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(15): 1615-1626.
- [2] SLOWING I I, VIVERO-ESCOTO J L, WU C W, et al. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(11): 1278-1288.
- [3] NA K, BAE Y H. Self-assembled hydrogel nanoparticles responsive to tumor extracellular pH from pullulan derivative/sulfonamide conjugate: characterization, aggregation, and adriamycin release *in vitro* [J]. *Pharm Res*, 2002, 19(5): 681-688.
- [4] BIBBY D C, TALMADGE J E, DALAL M K, et al. Pharmacokinetics and biodistribution of RGD-targeted doxorubicin-loaded nanoparticles in tumor-bearing mice [J]. *Int J Pharm*, 2005, 293(1/2): 281-290.
- [5] SHUAI X T, AI H, NASONGKLA N, et al. Micellar carriers based on block copolymers of poly(ϵ -caprolactone) and poly(ethylene glycol) for doxorubicin delivery [J]. *J Control Release*, 2004, 98(3): 415-426.

收稿日期: 2011-09-08

盐酸丁螺环酮透皮促渗剂选择及其透皮机制的研究

宋煜¹, 周建平² (1.福建中医药大学, 福州 350108; 2.中国药科大学, 南京 210009)

摘要: 目的 研究透皮促渗剂对盐酸丁螺环酮体外表皮渗透的影响以及盐酸丁螺环酮的透皮机制。方法 采用改良 Franz 扩散池, 比较不同促渗剂种类、浓度、配比对盐酸丁螺环酮的促渗效果, 同时通过改变扩散池的介质 pH 及皮肤的状态, 研究药物的透皮机制。结果 采用 3% 氮酮为透皮促渗剂时药物透过量最大。盐酸丁螺环酮随着分子型浓度的升高透过量也随之增加, 皮肤去除角质层后, 药物的透过量显著大于完整皮肤, 而完整皮肤的贮库效应大于去角质皮肤。结论 药物透皮以 3% 氮酮为透皮促渗剂促渗效果最佳。盐酸丁螺环酮主要是以分子型透过皮肤, 药物的透皮屏障与贮库效应发生的主要部位是皮肤的角质层。

基金项目: 福建省科技计划项目(2010Y2004)

作者简介: 宋煜, 女, 硕士, 讲师 Tel: 13860660453 E-mail: songecho@163.com