

## 难溶性药物与介孔二氧化硅纳米粒载体的相互作用对于释放速率的影响

刘 瞳<sup>1,2</sup>, 万 龙<sup>1,2</sup>, 王可可<sup>1,2</sup>, 王晓帆<sup>2,3</sup>, 曲红娥<sup>4</sup>, 姜明燕<sup>1,2\*</sup>

1. 中国医科大学附属第一医院 药学部, 辽宁 沈阳 110001

2. 中国医科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110122

3. 中国医科大学附属第四医院 药学部, 辽宁 沈阳 110000

4. 沈阳药科大学 生命科学院, 辽宁 沈阳 110016

**摘要:** **目的** 研究介孔二氧化硅纳米粒(MSN)载体与装载的难溶性药物间的相互作用,探索对释放速率具有重要影响的因素,归纳总结可预测难溶性药物-MSN给药系统释放行为的数学模型。**方法** 以溶胶凝胶法制备的MSN作为载体,通过溶剂挥发法进行药物装载,利用扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)分析载体的外观形貌及孔道结构,通过比表面积分析仪研究载体的比表面积及孔径分布。选取载药量及药物的氢键受体数量作为因素进行释放行为分析,通过Design Expert软件进行2因素3水平析因设计,完成体外释放实验;2、24 h累积释放度作为因变量,拟合数学模型。**结果** 溶胶凝胶法制备的MSN为均一的球形,粒径约为400 nm,孔道呈放射状,孔径均一为3.6 nm。拟合模型显示,载药量比氢键受体数量对2 h累积释放度影响更大,随着载药量的增加,2 h累积释放度逐渐下降;在研究范围内,氢键受体数为6,载药量为50%具有最小的2 h累积释放度,为50.31%。24 h累积释放度则根据载药量的不同随着氢键受体数的改变呈现相反趋势,当载药量较低时,与氢键受体数呈正相关;当载药量较高时,与氢键受体数呈负相关。氢键受体数为6,载药量小于10%时具有最大的24 h累积释放度,可达99.44%。**结论** 相对药物的氢键受体数量,载药量对于难溶性药物-MSN给药系统的速缓释放具有重要调控作用,低载药量可以实现药物的2 h快速释放及24 h完全释放,高载药量则反之。

**关键词:** 介孔二氧化硅纳米粒; 难溶性药物; 释放行为; 数学模型; 氢键受体数量; 载药量

中图分类号: R962.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)10-1775-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.10.005

## Influence of interaction between insoluble drug and mesoporous silica nanoparticle carriers on release rate

LIU Tong<sup>1,2</sup>, WAN Long<sup>1,2</sup>, WANG Keke<sup>1,2</sup>, WANG Xiaofan<sup>2,3</sup>, QU Hong'e<sup>4</sup>, JIANG Mingyan<sup>1,2</sup>

1. Department of Pharmacy, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

2. School of Pharmaceutical Science, China Medical University, Shenyang 110122, China

3. Department of Pharmacy, The Fourth Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, China

4. College of life sciences, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

**Abstract: Objective** To research the interaction between mesoporous silica nanoparticle (MSN) carriers and loaded poorly-water soluble drugs, and exploring the factors that have important impacts on release rate. A mathematical model for predicting the release behavior of insoluble drugs-mesoporous silica delivery system was summarized. **Methods** Sol-gel method was used to prepare mesoporous silica carriers. Solvent evaporation method was used to load drugs. The morphology and pore structure of the carrier were analyzed by SEM and TEM. The specific surface area and pore size distribution of the carrier were studied by the specific surface area analyzer. The drug loading amount and drug hydrogen bonding receptor were selected as the factors to analyze the release behavior. The release experiments of two factors-three levels were performed by Design Expert software, and the *in vitro* release experiments were carried out. The mathematical model was fitted with 2 h and 24 h accumulative release amount as

收稿日期: 2018-04-03

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81703427); 辽宁省科学技术计划项目(2014226033); 中国医科大学校内课题基金(XZR20160007); 中国医科大学附属第一医院院内基金(FSFH201717)。

第一作者: 刘瞳,研究方向为药物分析。E-mail: lenitaliu@163.com

\*通信作者: 姜明燕, E-mail: ydyyyxb@163.com

dependent variables. **Results** The MSN prepared by sol-gel method was spherical, with a diameter of about 400 nm and a radial pore size of 3.6 nm. The fitting model showed that, the 2 h accumulative release amount was more affected by drug loading than by the number of hydrogen bonding acceptors. With the increase of drug loading, the 2 h accumulative release amount decreased gradually. If the number of hydrogen bonding acceptors is 6 and the drug loading is 50%, 50.31% will be the minimum 2 h accumulative release amount within the range of this study. The 24 h accumulative release amount showed the opposite trend with the change of the number of hydrogen-bonded receptors according to the drug loading. When the drug loading was low, it was positively correlated with the number of hydrogen-bonded receptors; when the drug loading was high, it was negatively correlated with the number of hydrogen-bonded receptors. And if the number of hydrogen bonding acceptors is 6 and the drug loading is 10%, there will be the maximum 24 h accumulative release of 99.44%. **Conclusions** The effect of the number of hydrogen bonding receptors on the release behavior of drugs is not very significant. In contrast, drug loading has an important effect on drug release rate. Low drug loading can achieve the rapid release of 2 h, and the complete release of 24 h, and high drug loading had the adverse trends.

**Key words:** mesoporous silica nanoparticle; insoluble drug; release behavior; mathematical model; hydrogen bonding receptor; drug loading amount

口服给药因众多的优势,成为最佳给药途径<sup>[1]</sup>。但是,对于水溶性较差的难溶性药物而言,其较差的水溶性限制了药物的溶出,制剂在胃肠道溶出速率慢,使药物在被胃肠道吸收之前就被排出了体外,限制了其在临床的口服应用<sup>[2-3]</sup>。目前,介孔二氧化硅纳米粒(MSN)因其刚性的骨架结构、较高的载药量及较好的生物安全性等优势,成为难溶性药物口服递送给药的热点研究载体<sup>[4]</sup>。国内外各课题组通过改变孔道结构、表面功能化修饰及聚合物包覆等手段,实现了MSN给药系统的缓控释放行为的改变<sup>[5-6]</sup>。然而,对于MSN给药系统的释放速率具有重要影响的因素、各因素与释放行为之间的关系并没有明确的研究成果出现。目前,难溶性药物对于MSN载体的选择仍然存在较大的盲目性,多为不同孔道结构、不同孔径的载体用于不同模型药的广泛尝试,然后将具有预期释放行为的给药系统保留<sup>[7-8]</sup>。该方法既带来了额外的巨大工作量,又降低了工作效率,导致了资源的无效损耗。

本研究从目前难溶性药物在MSN载体选择方面的盲目性出发,将药物的氢键受体及载药量作为调控释放速率的重要因素,通过Design Expert软件进行2因素3水平析因设计,并进行体外释放实验,以2、24 h累计释放度作为因变量,拟合数学模型,预测释放行为,为需要实现特定释放行为的难溶性药物的MSN口服给药系统构建提供理论指导。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);DGF30/7-IA电热鼓风干燥箱(南京实验仪器厂);SX2-4-10箱式电阻炉(上海龙

跃仪器设备有限公司);SHB-III G循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);ZRS-6智能溶出试验仪(天津大学无线电厂);TECNAI G2 F20场发射透射电子显微镜(TEM,FEI公司,美国);SUPRA35场发射扫描电子显微镜(SEM,卡尔·蔡司股份公司,德国);LDZ5-2低速自动平衡离心机(北京京立离心机有限公司);HC-3018R高速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);V-Sorb 2800P比表面积及孔径分析仪(北京金埃谱科技有限公司);UV-6100S紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

### 1.2 主要试剂

尼莫地平、甲硝唑、双硫仑为沈阳药科大学友情赠送;正硅酸乙酯(Tetraethoxysilane, TEOS)、1, 3, 5-三甲苯、十二烷基硫酸钠(天津市大茂化学试剂厂);十六烷基三甲基溴化铵(CTAB,北京雅安达生物技术有限公司);冰乙酸、乙酸乙酯、氢氧化钠、过硫酸钾(天津博迪化工有限公司);无水乙醇、氨水(天津市永大化学试剂有限公司);乙醚、丙酮、浓盐酸及其他试剂(山东富禹化工有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 MSN载体的制备

研究采用溶胶-凝胶法制备MSN载体,具体操作过程如下:称2.0 g CTAB置于280 mL水、80 mL无水乙醇和6.4 mL 1, 3, 5-三甲苯的混合液中,室温下700 r/min搅拌1 h,再加入80 mL无水乙醚,于1 000 r/min下搅拌至均匀,加入3.2 mL浓度为25%~28%的氨水,再搅拌1 h,将10.0 mL TEOS逐滴加入,加毕继续搅拌反应12 h。反应结束,布氏漏斗过滤,得白色固体,用蒸馏水充分淋洗,60 °C烘箱内干燥24 h,将干燥后样品在550 °C箱式电阻内煅烧6 h,所得白

色产物即为MSN载体。

## 2.2 比表面积分析

利用 V-Sorb 2800P 比表面积分析仪测定 MSN 的比表面积、孔容积及孔径分布,具体操作过程为:称取约 100 mg 干燥样品,80 °C 下脱气 3 h,然后进行比表面积测定,孔径分布和孔体积大小可通过 BET 和 BJH 程序分析。

## 2.3 SEM 分析

采用 SEM 观察 MSN 载体的整体形貌,过程如下:将少量样品粉末铺于导电胶上,轻压,喷金处理,置于 SEM 样品台中抽真空,在加速电压 15 kV 下观察。

## 2.4 TEM 分析

采用 TEM 对 MSN 的孔道结构及孔径进行分析,方法如下:将 0.4 mg 样品置于 3 mL 无水乙醇中,超声分散,将 TEM 观察铜网置于混悬液中 4 s,使 MSN 样品沉积到镀有碳膜的铜网上,45 °C 烘箱烘干 2 h,置于 TEM 样品台中抽真空,在加速电压 200 kV 下观察。

## 2.5 载药体系构建

由于载药过程简便,制备制剂稳定,研究采用溶剂挥发法制备制剂,载药制剂制备成功后通过紫外法测定,实际载药量在 3%~50%。具体操作方法如下:称取固定量的药物与载体,向混合物中加入少量药物的良溶剂,超声使均匀分散,常温下密封搅拌 4 h,然后敞口搅拌至溶剂完全挥发,置 40 °C 烘箱干燥 24 h,得载药制剂。

## 2.6 体外释放实验

参照 2015 年版《中国药典》二部溶出度测定方法(浆法),具体方法如下:①尼莫地平:pH 4.5 的醋酸盐缓冲液(取醋酸钠 0.299 g,加水 50 mL,振摇使溶解,加冰醋酸 0.714 g,用水稀释至 100 mL,摇匀,即得)900 mL 作为溶出介质,分别加入尼莫地平不同载药量

制剂(均含尼莫地平 20 mg),转速为 75 r/min,检测波长 238 nm;②甲硝唑:盐酸溶液(9 mL 盐酸加水稀释成 1 000 mL)900 mL 作为溶出介质,分别加入甲硝唑不同载药量制剂(均含甲硝唑 100 mg),转速为 100 r/min,检测波长 277 nm;③双硫仑<sup>[9]</sup>:2% 十二烷基硫酸钠的纯水溶液 1 000 mL 为溶出介质,分别加入双硫仑不同载药量制剂(均含双硫仑 250 mg),转速为 100 r/min,检测波长 250 nm。分别于 5、10、15、20、30、45、60、120、240、480、720、1 440 min 取样 5 mL,同时补加等温等量空白溶出介质,立即过 0.22 μm 微孔滤膜,弃去初滤液,取续滤液 3 mL 在最大吸收波长下测定吸光度(A)值,计算累积释放度。

## 2.7 释放模型构建

利用 Design Expert(版本 8.0.5.0)软件进行 2 因素 3 水平析因实验设计,如表 1 所示,分别以氢键结合受体和载药量为影响因素  $X_1$ 、 $X_2$ ,以 2、24 h 累积释放度为响应值  $Y_1$ 、 $Y_2$ ,随机组合 9 组试验,再以最终所得数据运用 Design Expert 软件,构建  $Y_1$ 、 $Y_2$  响应值的数学模型及回归方程;最终得到药物氢键受体和载药量对 2、24 h 累积释放度的综合响应曲面图。

## 3 结果

### 3.1 比表面积分析结果

如图 1A 所示,MSN 的氮气吸附/解吸附等温曲线呈现典型的 IV 型等温线的特点,根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)规定,其属于介孔材料的特

表 1 实验设计的影响因素及水平

Table 1 Variables and levels in factorial design

因素	水平			
		-1	+1	
氢键受体数量	$X_1$	0	4	6
载药量/%	$X_2$	3		50

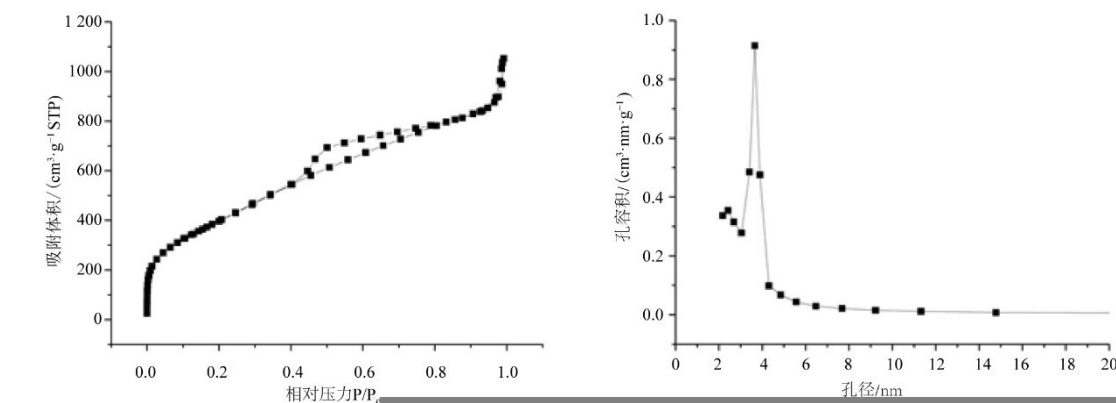


图 1 MSN 的氮吸附解吸附曲线(A)和孔径分布结果(B)

Fig. 1  $N_2$  adsorption - desorption isotherm (A) and pore size distribution curve (B)



征曲线。由图1B看出,MSN的孔径主要集中在3.6 nm,表明载体的孔结构有序度较好;比表面积和孔容积分别为1 494.3 m<sup>2</sup>/g和1.63 cm<sup>3</sup>/g,为药物的高效装载提供可能。

### 3.2 SEM及TEM结果

研究通过溶胶凝胶法制备的MSN纳米载体,如图2A所示,其外观呈均匀的单分散球体,粒径约为400 nm;图2B的TEM结果显示MSN的孔道结构为均匀的放射状孔道结构,孔径均一。

### 3.3 体外释放实验结果

研究根据氢键受体数量的不同,在BCS II类药物

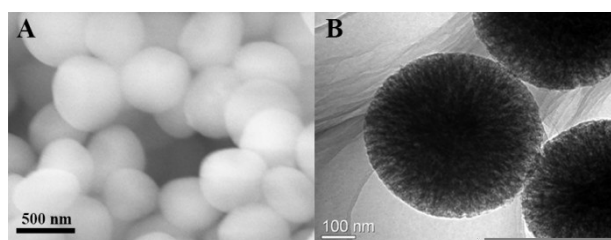


图2 MSN的SEM(A)和TEM结果(B)

Fig. 2 SEM (A) and TEM (B) images of MSN

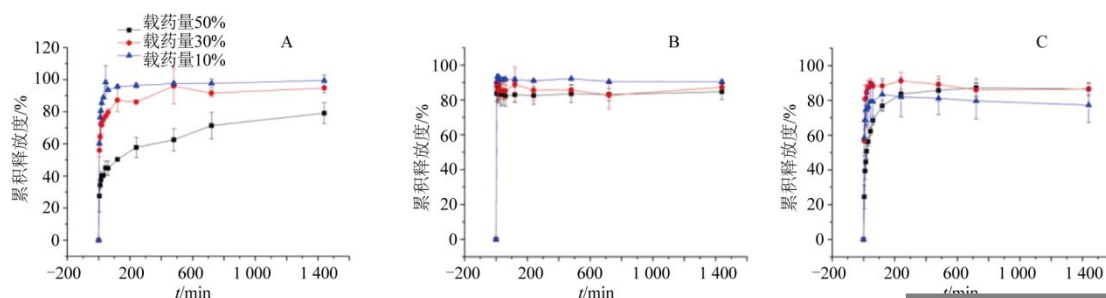


图3 24 h的体外释放曲线尼莫地平(A)、甲硝唑(B)、双硫仑(C)

Fig. 3 *In vitro* release profiles of nimodipine (A), metronidazole (B), and disulfiram (C)

表2 响应面试验设计和结果

Table 2 Experimental runs and corresponding observed responses

编号	X <sub>1</sub>	X <sub>1</sub> 编码值	X <sub>2</sub>	X <sub>2</sub> 编码值	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>
7	0.00	-1.000	50.00	1.000	76.798 3	86.431 1
3	6.00	-1.000	3.89	-0.962	95.681 9	99.440 1
2	4.00	0.333	6.28	-0.860	91.690 8	90.385 0
1	0.00	-1.000	10.00	-0.702	83.371 8	77.221 0
9	6.00	1.000	50.00	1.000	50.308 2	79.107 8
6	6.00	1.000	15.19	-0.481	87.215 6	94.761 4
4	0.00	-1.000	30.00	0.149	88.293 6	86.611 0
5	4.00	0.333	17.11	-0.400	88.878 0	87.313 8
8	4.00	0.333	32.87	0.271	82.933 2	84.691 0

$$\text{编码值} = 2X_i - (X_{\max} + X_{\min}) / X_{\max} - X_{\min}$$

$$\text{coded value} = 2X_i - (X_{\max} + X_{\min}) / X_{\max} - X_{\min}$$

物中选取尼莫地平、甲硝唑、双硫仑为模型药,氢键受体数量依次为6、4、0。如图3所示,尼莫地平(A)、甲硝唑(B)、双硫仑(C)的10%、30%及50% MSN制剂均呈现出较快的释放速率,且均随着载药量的增高,释放速率降低。载药量为50%时,对于氢键受体数量最多的尼莫地平,其释放速率最慢,该释放结果说明,载药量及药物的氢键受体对药物的释放行为有一定的影响。

### 3.4 数学模型的构建

根据Design Expert软件指导设计的9组2因素3水平析因设计实验及结果如表2所示,将数据输入Design Expert软件进行分析拟合得到因变量Y<sub>1</sub>(2 h累积释放度)、Y<sub>2</sub>(24 h累积释放度)与自变量X<sub>1</sub>(氢键受体数量)、X<sub>2</sub>(载药量)之间的数学模型, Y<sub>1</sub> = 77.317 21 + 4.912 2X<sub>1</sub> + 0.799 04X<sub>2</sub> - 0.147 82X<sub>1</sub>X<sub>2</sub> - 0.348 4 8X<sub>1</sub><sup>2</sup> - 0.015 829X<sub>2</sub><sup>2</sup>, R<sup>2</sup> = 0.988 6; Y<sub>2</sub> = 75.831 7 + 4.119 07X<sub>1</sub> + 0.242 9X<sub>2</sub> - 0.113 22X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = 0.949 4,模型的R<sup>2</sup>值较大,表明相关性较好。综合图4响应曲面图结果,可以得出载药量比氢键受体数量对2 h累积释放度影

响更大,随着载药量的增加,2 h累积释放度逐渐下降。24 h累积释放度则根据载药量的不同随着氢键受体数的改变呈现相反趋势,当载药量较低时,与氢键受体数呈正相关;当载药量较高时,与氢键受体数呈负相关。总体来看,药物的氢键受体数量对于释放行为的影响并不是特别明显,载药量对于药物的速缓释放的影响具有重要的调控作用,低载药量可以实现药物的2 h快速释放及24 h的完全释放,高则反之。

### 4 讨论

目前对于MSN与难溶性药物之间的相互作用关系并不明确,以往发表文章对于难溶性药物-二氧化硅速释给药系统的构建,多将研究重点置于药物是否在载体中形成了非晶状态(非晶态不稳定,药物分子间结合力弱,可以加速药物的释放速率),往往在

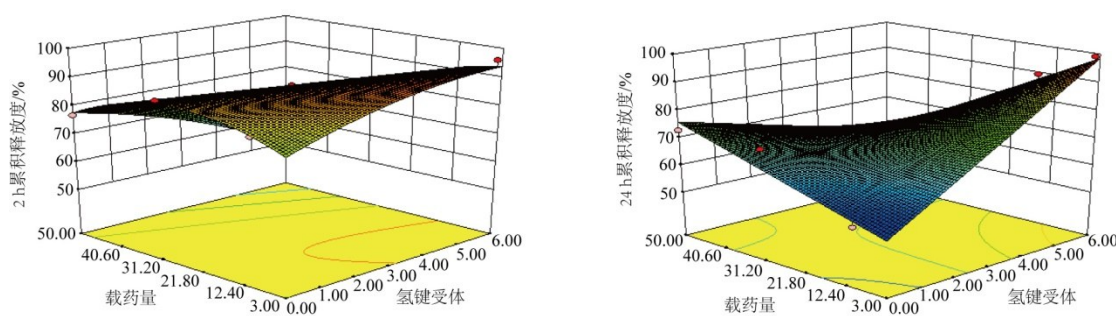


图4 氢键受体数量 $X_1$ 和载药量 $X_2$ 对2 h 累积释放度 $Y_1$ (A)及24 h 累积释放度的响应曲面图

Fig. 4 3D plots of influence of number of hydrogen bond acceptor  $X_1$  and drug loading degree  $X_2$  on cumulative release in 2 h (A) and cumulative release in 24 h (B)

制剂外围增加聚合物以降低药物的释放速率<sup>[5-6]</sup>。因此,MSN与难溶性药物之间的相互作用关系并不明确,难溶性药物在MSN载体选择方面具有盲目性。

未经过特殊表面修饰的口服微粒在体内的平均滞留时间为10~12 h,因此,对于口服给药系统,12 h更具有临床应用的实际意义,本研究将释放实验的时间增加至24 h,主要是考虑研究中的部分制剂在12 h内并未释放完全,并且为从理论上提供更加完整充分的MSN-难溶性药物给药系统的整体释放行为,将释放实验时间增加至24 h。

二氧化硅载体的粒径,对于载体被肠道细胞的摄取吸收具有重要影响,普通肠细胞可以内吞粒径最大约为500 nm的纳米粒,巨噬细胞可以摄取粒径最大约为1 000 nm的纳米粒,但是由于肠腔和肠上皮细胞间还有一层黏液层,黏液层的黏蛋白间形成的致密网格仅允许粒径小于200 nm的纳米粒通过<sup>[10]</sup>,因此,本研究制备的粒径约为400 nm的纳米粒不会通过纳米粒被肠上皮细胞摄取的形式增加制剂的口服吸收,使研究结果更加聚焦在本研究考察的模型药氢键受体数量及载药量上。

本研究采用溶胶-凝胶法制得具有均一介孔孔道的MSN载体,孔径为3.6 nm;选择溶剂挥发法作为载药方法,构建了不同载药量的介孔硅纳米载药体系。根据体外释放结果及数学模型的构建,发现如果要限制最初2 h的药物突释,氢键结合受体数目应在5~6,载药量应在44.10%~50%;如果想实现24 h的药物完全释放,氢键结合受体数目应在5~6,载药量应在3.22%~19.70%;如果要实现2 h的药物完全释放,氢键结合受体数目应在4~6,载药量在3.09%~13.35%,上述结果说明载药量比氢键受体数量对药物的释放速率具有更重要的影响作用。24 h的累计释放度结果也证明了这一结论,对于24 h的累计释

放度,载药量的改变导致氢键受体数的变化出现相反的结果,分析原因可能是由于在载药量较低时,药物分子与载体之间的相互作用力弱,导致氢键结合差;当载药量增大时,药物分子与载体之间的相互作用力增强,相互之间氢键结合力紧密,导致释放减少。

药物的氢键受体数量对于难溶性药物-MSN给药系统释放行为的影响并不是特别明显,载药量对于药物的速缓释放具有重要调控作用,低载药量可以实现药物的2 h快速释放及24 h完全释放,高则反之。

#### 参考文献

- [1] Zhang Y, Zhi Z, Jiang T, et al. Spherical mesoporous silica nanoparticles for loading and release of the poorly water-soluble drug telmisartan [J]. *J Control Release*, 2010, 145 (3): 257-263.
- [2] Meriskoliversidge E, Liversidge G G. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2011, 63(6): 427.
- [3] Somani A A, Thelen K, Zheng S, et al. Evaluation of changes in oral drug absorption in preterm and term neonates for Biopharmaceutics Classification System (BCS) class I and II compounds [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 81(1): 137-147.
- [4] 李胜男, 王计瑞, 张继琼, 等. 浸渍离心法制备不同难溶性药物介孔二氧化硅纳米粒载药规律及机制研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(13): 2638-2644.
- [5] Hu L, Sun H, Zhao Q, et al. Multilayer encapsulated mesoporous silica nanospheres as an oral sustained drug delivery system for the poorly water-soluble drug felodipine [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 47: 313-324.

- [6] Hu Y, Zhi Z, Zhao Q, et al. D cubic mesoporous silica microsphere as a carrier for poorly soluble drug carvedilol. *Microporous Mesoporous Mater* [J]. *Microporous & Mesoporous Materials*, 2012, 147(1): 94-101.
- [7] Sun L, Wang Y, Zheng X, et al. A novel chitosan functionalized spherical nanosilica matrix as a sustained drug delivery system for the poorly water-soluble drug carvedilol [J]. *J Control Release*, 2013, 172(1): 103-113.
- [8] Zhang Y, Zhi Z, Li X, et al. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol [J]. *Int J Pharm*, 2013, 454(1): 403-411.
- [9] Jing G, Zhong Y, Zhang L, et al. Increased dissolution of disulfiram by dry milling with silica nanoparticles [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2015, 41(8): 1328-1337.
- [10] Lundquist P, Artursson P. Oral absorption of peptides and nanoparticles across the human intestine: Opportunities, limitations and studies in human tissues [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 15, 106(Pt B): 256-276.