

姜黄素-介孔二氧化硅纳米粒固体分散体的制备与表征

何黎黎¹, 袁志翔², 郑云³, 顾健^{1*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 四川农业大学动物医学院 药理学系, 四川 成都 611130

3. 柳州市人民医院 柳州市文昌司法鉴定所, 广西 柳州 545006

摘要: 目的 以介孔二氧化硅纳米粒 (MSN) 为载体制备姜黄素-介孔二氧化硅纳米粒固体分散体 (Cur-MSN-SD) 并研究其对姜黄素 (Cur) 溶出速率及溶解度的影响。方法 采用聚合法制备了 MSN, 并运用溶剂法制备 Cur-MSN-SD。通过扫描电镜、氮气吸附实验、红外光谱分析、差示扫描量热法表征 Cur-MSN-SD, 随后比较了 Cur 与 Cur-MSN-SD 溶出速率及溶解度。结果 所制备的 MSN 平均孔径为 2.737 nm, 具有典型的介孔结构特征, Cur 分散于孔道内。当 Cur 与 MSN 质量比为 1:4 时, 药物累积溶出率和溶解度改善效果最佳。结论 以 MSN 为载体制备的 Cur-MSN-SD 能显著改善 Cur 累积溶出率和溶解度, 为解决 Cur 的水不溶性提供了一种有效的方法。

关键词: 姜黄素; 介孔二氧化硅纳米粒; 固体分散体; 溶出速率; 溶出度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)13-2283-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.13.013

Preparation and characterization of curumin solid dispersion using mesoporous silica nanoparticle

HE Li-li¹, YUAN Zhi-xiang², ZHENG Yun³, GU Jian¹

1. College of Pharmacy, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

2. Department of Pharmacy, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

3. Liuzhou Wenchang Judicial Identification Institution, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, China

Abstract: Objective Taking mesoporous silica nanoparticle (MSN) as carrier, to prepare curcumin (Cur)-MSN-solid dispersion (SD) for study on its effect on the dissolution rate and solubility of Cur. **Methods** MSN was prepared by condensation method and Cur-MSN-SD was obtained using solvent evaporation method. Then, Cur-MSN-SD was characterized with scanning electron microscope, nitrogen adsorption test, infrared spectrum analysis, and differential scanning calorimetry. Then the dissolution rate and solubility between Cur and Cur-MSN-SD were compared. **Results** The average pore diameter of prepared MSN was 2.737 nm, with the feature of typical mesoporous structure, and Cur was distributed in the channel. The cumulative dissolution rate and solubility of the drug were the best as the mass ratio of Cur to MSN was 1:4. **Conclusion** The Cur-MSN-SD prepared with the MSN as carrier could improve the cumulative dissolution rate and solubility of Cur, which provides an effective method for solving the water non-solubility of Cur.

Key words: curumin; mesoporous silica nanoparticle; solid dispersion; dissolution rate; solubility

姜黄素 (curumin, Cur) 是从多年生草本植物姜黄的根茎中提取出来的一种多酚类化合物, 具有抗炎、抗癌、抗氧化等药理作用^[1-6]。但由于其水中溶解度极低、口服生物利用度低、成药性差等缺点, 严重限制了姜黄素的临床应用^[7]。有学者尝试了采

用制剂学方法改善姜黄素的溶解度及口服生物利用度, 取得了一定效果^[8-12]。

近年来, 无机纳米材料以其独特的优势, 在药剂学领域得到越来越多的应用。其中介孔二氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticles, MSN) 作

收稿日期: 2016-02-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81302729); 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2016NZYQN15)

作者简介: 何黎黎, 副教授, 博士, 研究方向为药物新制剂及新剂型。Tel: (028)85522315 18628270031 E-mail: lilihes@163.com

*通信作者 顾健, 教授, 博士, 研究方向为中药有效成分研究。Tel: (028)85522315 E-mail: gujian_3@163.com

为一种新型无机高分子药物载体,逐渐成为研究热点^[13-16],其具有良好的生物相容性、稳定性及吸附性能,有望成为一种新型固体分散体(SD)载体材料^[17],但目前研究多局限于化学药物载药领域。为了克服姜黄素的水溶性差、生物利用度低等问题,在本研究中,首次采用了 MSN 为载体材料,制备姜黄素-介孔二氧化硅纳米粒固体分散体(Cur-MSN-SD),以提高药物的溶出速率和溶解度,增强药物成药性。

1 仪器与材料

S4800 型扫描电镜,日本 Hitachi 公司;Q2000 差示扫描仪,美国 TA 公司;Quadrascorb SI 比表面孔径分析仪,美国 Quantachrome 公司;IRAffinity-1 红外光谱仪,日本 Shimadzu 公司;UV-2401PC 紫外分光光度计,日本 Shimadzu 公司;Optima L-80xp 超速冷冻离心机,美国 Beckman 公司;BS210S 电子天平,德国 Sartorius 公司。Cur,批号 20140516,质量分数>98%,购自成都科龙化工有限公司;正硅酸四乙酯(tetraethoxysilane, TEOS)和十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)购自上海阿拉丁试剂有限公司;其他试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 MSN 的制备

根据参考文献的方法^[18]并加以改进:将 0.56 g CTAB 置于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 150 mL 蒸馏水使其完全溶解,然后加入 6 mL 2 mol/L 的 NaOH 溶液,水浴升温至 60 °C,持续高速搅拌下缓慢滴加 6 mL TEOS,并维持恒温高速搅拌 2 h 后,经抽滤、洗涤后得到白色固体,转入三口烧瓶中,加入 150 mL 酸性乙醇溶液(乙醇-盐酸 4:1)充分分散后,80 °C 加热回流 3 h 除去 CTAB,再次经抽滤、洗涤后,50 °C 真空干燥,即得。

2.2 Cur-MSN-SD 的制备

按照 Cur 与 MSN 质量比为 1:1、1:2、1:4,分别制备不同比例的 Cur-MSN-SD:精密称取 100 mg Cur,溶于 100 mL 80%乙醇溶液后,按照质量比加入适量的 MSN 粉末,水浴超声将载体完全分散,磁力搅拌 4 h 后,于 50 °C 旋转蒸发溶剂,得到均一的黄色固体,进一步真空干燥 24 h 后,研细,过 80 目筛,即得。

2.3 外观形态

以 Cur 与 MSN 质量比为 1:2 制备的 SD 为例,与 Cur 原药、MSN 以及两者物理混合物(1:2)进行微观显微比较。将样品粉末均匀置于样品平台上,用导电胶固定后喷金。电压加至 5 kV,扫描电镜观察样品外观形貌、分散性和均匀性。结果如图 1 所示,Cur 微观结构呈现明显的晶体颗粒状(图 1-A);MSN 则是外观为球形,大小均一,分散性好的纳米粒,粒径大小约为 100 nm(图 1-B);Cur 和 MSN 等量混合物样品呈现纳米粒与晶体掺杂在一起(图 1-C);而 Cur-MSN-SD 完全不同于混合物样品,未见明显的晶体颗粒(图 1-D),说明 Cur 已经很好地分散到 MSN 中。

2.4 氮气吸附-解吸实验

将 MSN 以及 Cur-MSN-SD(选择 1:2 的样品为例)样品适量,置于真空干燥箱干燥 12 h 以上,随后将样品装入样品管中,80 °C 下脱气 4 h 后,于液氮下测定样品比表面积、孔径分布以及孔容积分析。结果如图 2 所示,MSN 孔径分布曲线在 2~4 nm 处出现尖峰,说明 MSN 具有均匀且较窄的孔径分布,平均孔径为 2.737 nm,孔径大小主要分布在 10 nm 以下(图 2);图 3 呈现了 MSN 和 Cur-MSN-SD 的氮气吸附/脱附等温线,MSN 曲线形状接近 IV 型吸附/脱附等温线,说明制备的 MSN 具有典型的介孔(2~50 nm)结构特征。MSN 载药前后,吸附比

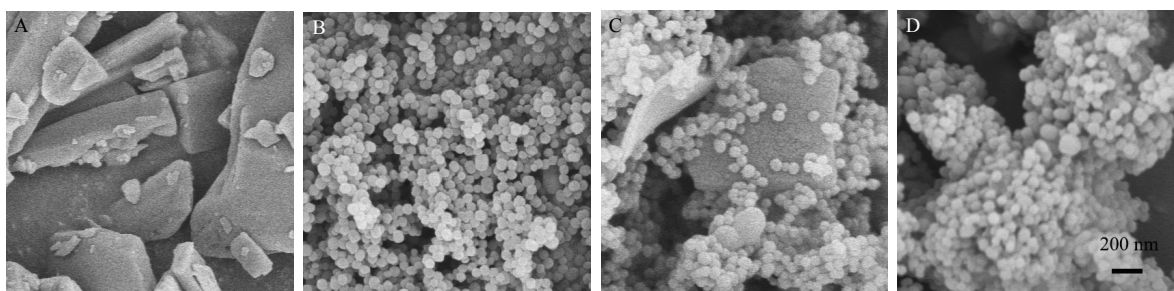


图 1 Cur (A)、MSN (B)、Cur 和 MSN 物理混合物 (1:2, C) 和 Cur-MSN-SD (D) 的扫描电镜图 (放大倍数: $\times 20\,000$)
Fig. 1 Scanning electron microscopy imagings of Cur (A), MSN (B), physical mixture of Cur crystal and MSN (1:2, C), and Cur-MSN-SD (D) (magnification: $\times 20\,000$)

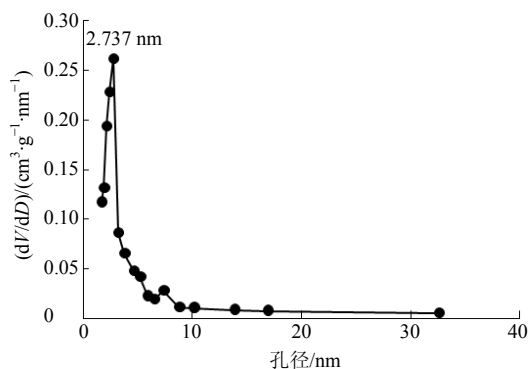


图 2 MSN 介孔孔径分布 (dV/dD 代表吸附总量-孔径微分量)
Fig. 2 MSN pore diameter distribution (dV/dD is the total adsorption-aperture micro components)

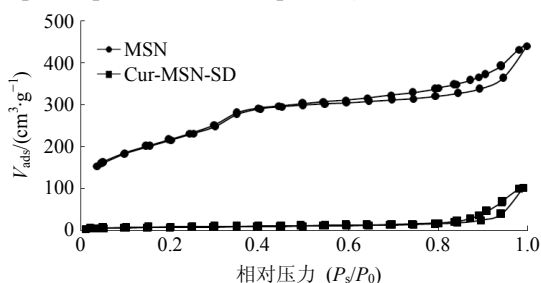


图 3 MSN 及 Cur-MSN-SD 氮气吸附/脱附等温线 (V_{ads} 代表吸附气量)

Fig. 3 Nitrogen adsorption/desorption isotherms of MSN and Cur-MSN-SD (V_{ads} is adsorbed gas content)

表面积显著下降。经计算, 比表面积和孔容积分别为 $788.6 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $681.8 \text{ mm}^3/\text{g}$; 载药后, Cur-MSN-SD 的比表面积和孔容积为 $25.05 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $157.2 \text{ mm}^3/\text{g}$, 说明 Cur 已经被吸附到 MSN 孔道中。

2.5 红外光谱分析

取 Cur 原药、MSN、Cur 与 MSN 物理混合物 (1:2) 以及 Cur-MSN-SD (1:2) 适量, 分别于 KBr 压片后进行红外光谱扫描。结果见图 4, Cur 的特征吸收峰清晰可见, 如 O-H 3510 cm^{-1} , C=C 1628 、 1508 cm^{-1} ; MSN 的特征吸收峰主要集中在 1086 、 964 、 797 cm^{-1} , 对应于 Si-O-Si 产生的振动峰; 物理混合物以及 Cur-MSN-SD 的图谱中均可见 Cur 的吸收振动峰, 而且无明显迁移, 说明 Cur 与 MSN 并未形成新的化学键, 只存在相互作用的范德华力和氢键。

2.6 差示扫描量热法 (DSC) 分析

取 Cur 原药、MSN、Cur 与 MSN 物理混合物 (1:2) 以及 Cur-MSN-SD (1:2) 适量, 分别进行 DSC 分析。扫描范围: $25 \sim 250 \text{ }^\circ\text{C}$, 扫描速度: $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 。由图 5 可知, Cur 原药在 $177 \text{ }^\circ\text{C}$ 处有 1

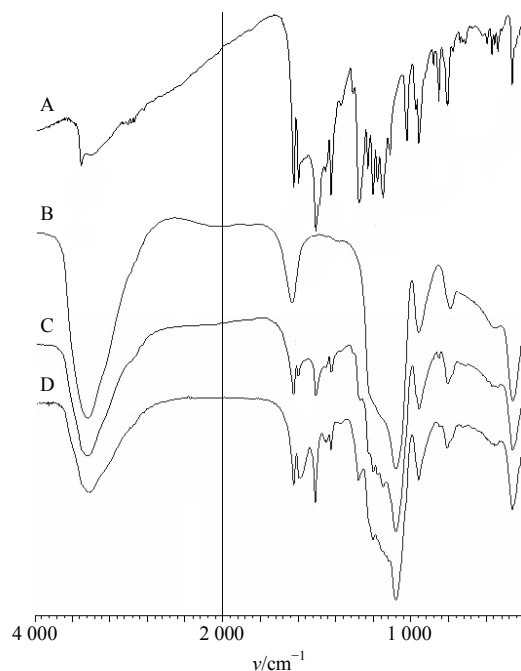


图 4 Cur (A)、MSN (B)、Cur 与 MSN 物理混合物 (1:2, C) 和 Cur-MSN-SD (D) 的红外光谱图

Fig. 4 FTIR spectra of Cur (A), MSN (B), physical mixture of Cur and MSN (1:2, C), and Cur-MSN-SD (D)

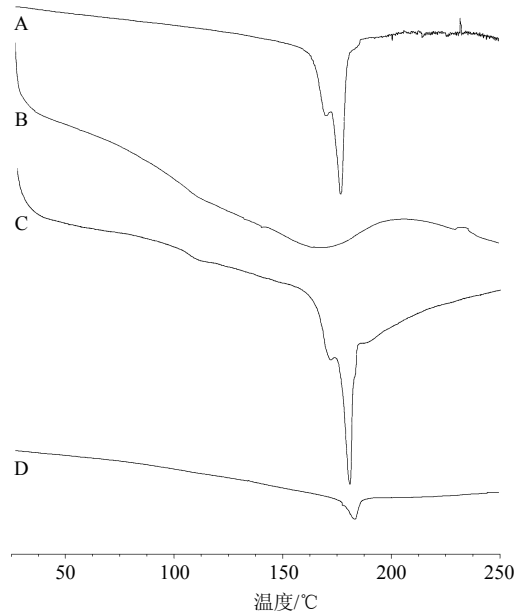


图 5 Cur (A)、MSN (B)、Cur 晶体与 MSN 物理混合物 (1:2, C) 和 Cur-MSN-SD (D) 的 DSC 图谱

Fig. 5 DSC thermograms of Cur (A), MSN (B), physical mixture of Cur and MSN (1:2, C), and Cur-MSN-SD (D)

个明显的吸热峰, 对应于 Cur 的熔点; MSN 在 $100 \sim 200 \text{ }^\circ\text{C}$ 出现吸热峰, 可能是纳米粒表面的硅醇基脱去产生的; 混合物中, 仍可见 Cur 的吸热峰, 而 Cur-MSN-SD 在 $177 \text{ }^\circ\text{C}$ 的吸热峰强度明显降低, 可

能是少量药物吸附在 MSN 表面造成的。

2.7 溶出度比较

2.7.1 标准曲线的建立 精密称取 Cur 对照品, 用无水乙醇配制成 105.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 得对照品储备液。精密量取储备液适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用 0.2% SDS 溶液稀释至刻度, 摇匀, 得到质量浓度分别为 0.526、1.052、2.104、4.208、6.312、8.416 $\mu\text{g/mL}$ 工作液, 运用紫外分光光度计测定各质量浓度样品在 425 nm 检测波长下的吸光度(A)^[19]。将 A 和质量浓度进行回归, 得到回归方程 $Y=0.137X-0.002$, $r=0.9999$, 表明 Cur 在 0.526~8.416 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。高、中、低 3 种质量浓度样品的加样回收率分别为 (102.10 $\pm$ 1.36)%、(98.50 $\pm$ 3.76)%、(95.90 $\pm$ 4.35)%, 日内精密密度 RSD 为 2.65%, 日间精密密度 RSD 为 3.58%, 符合要求。

2.7.2 溶出度测定 按照《中国药典》2015 年版规定的溶出度测定法第二法(桨法)进行实验^[20]。以 0.2% SDS 水溶液 900 mL 为溶出介质, 转速为 100 r/min, 水浴温度为 (37.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。将精密称取的 Cur 以及各种比例 Cur-MSN-SD (均含有约 10 mg Cur), 分别均匀分散到介质中, 分别于 5、10、20、30、45、60、90、120 min 取样 5 mL, 并补加预热的等量溶出介质。样品立即以 15 000 r/min 离心 3 min, 取上清液于 425 nm 检测波长下测定 A 。所得 A 值根据回归方程计算药物累积溶出度。每个样品平行试验 6 次, 计算平均值, 绘制累积溶出率曲线。结果如图 6 所示, 可见 SD 的溶出速率均明显快于 Cur 原药, 随着 MSN 用量的增加, Cur-MSN-SD 中药物的溶出速率和相同时间点的累积溶出率均明显增加, 其中以 Cur-MSN (1:4) 时制备的 Cur-MSN-SD 溶出效果最好, 120 min 累积溶出率可达 71.49%。

2.8 溶解度比较

取过量 Cur 以及 Cur-MSN-SD (1:4) 置于 10 mL 容量瓶中, 加入溶液后, 超声得到过饱和溶液, 再置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡器内振摇 24 h, 使其达到溶解平衡。取出样品 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液适当稀释后于 245 nm 处测定 A 值, 计算溶解度。Cur 在水和 0.2% SDS 溶液中的溶解度分别为 (0.23 $\pm$ 0.08) 和 (51.48 $\pm$ 4.60) $\mu\text{g/mL}$, 而 Cur-MSN-SD 在上述 2 种溶液中的溶解度 (以 Cur 计算) 分别为 (2.48 $\pm$ 0.17) 和 (338.20 $\pm$ 21.90) $\mu\text{g/mL}$, 可见 Cur-MSN-SD 显著增加了 Cur 的溶解度。

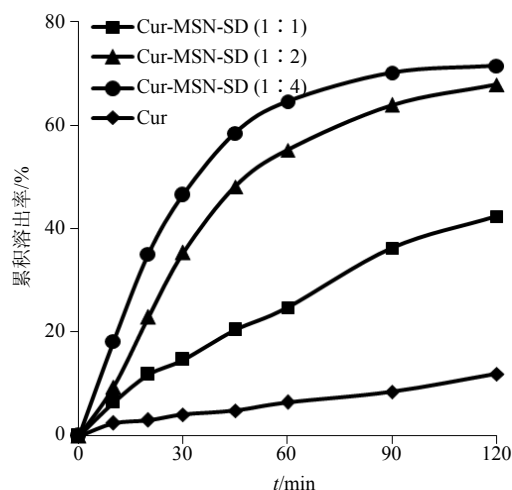


图 6 累积溶出率曲线比较 ($n=6$)

Fig. 6 Comparison on cumulative dissolution curves ($n=6$)

3 讨论

MSN 作为一种生物相容性好、载药性能强的无机物载体, 在药剂学领域有很好的应用前景, 近年来正日益受到关注, 但目前 MSN 多限于化学药的载药^[21-24], 对中药及其有效成分的载药研究报道较少。本实验创新地采用 MSN 作为载体, 解决姜黄素水溶性差的问题, 为 MSN 在中药及其有效成分载药领域的研究提供了新思路。

在溶出度样品制备过程中, 通常会选用 0.22 μm 或 0.45 μm 的微孔滤膜过滤样品, 以便紫外测定。在本研究中, 由于所制备的 Cur-MSN-SD 粒径约为 100 nm, 采用上述方法不可能完全除去 Cur-MSN-SD, 会严重影响紫外测定结果; 同时, 在实验中发现, 滤膜对 Cur 有较强的吸附作用, 这也势必会影响测定的准确性, 因此本研究参照了黄秀旺等^[25]采用的取样后短时间高速离心的方法, 以便后续测定准确且方便。Cur 具有较强的生物活性, 但由于其极低的水溶性, 生物利用度低, 限制了其药效的发挥。为了解决上述问题, 有研究报道可采用 PVP、F68 等高分子材料与 Cur 制备 SD^[25-26]。本研究中, 首次报道了运用 MSN 为载体, 与 Cur 形成 SD, 实现增加 Cur 溶出速率和溶解度的目的。MSN 良好的生物相容性及生物可降解性能, 使得 Curr-MSN-SD 具有良好的应用前景, 这也为后期的进一步研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 张梦翔, 施高翔, 严园园, 等. 姜黄素对 5 种非白念珠菌菌丝及生物膜形成的抑制作用 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 549-553.

- [2] Babaei E, Sadeghizadeh M, Hassan Z M, *et al.* Dendrosomal curcumin significantly suppresses cancer cell proliferation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1): 226-234.
- [3] 李小江, 贾英杰, 张文治, 等. 姜黄素对 A549 细胞亚群 SP 及 NON-SP 细胞凋亡的诱导作用 [J]. 中草药, 2013, 44(18): 2581-2584.
- [4] Cai X Z, Wang J, Li X D, *et al.* Curcumin suppresses proliferation and invasion in human gastric cancer cells by downregulation of PAK1 activity and cyclin D1 expression [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14): 1360-1368.
- [5] 狄建彬, 顾振纶, 赵笑东, 等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 853-856.
- [6] 郭立达, 薛佳伟, 渠开跃, 等. 姜黄素联合奥沙利铂对人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的抗癌作用研究 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2261-2266.
- [7] Anand P, Kunnumakkara A B, Newman R A, *et al.* Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. *Mol Pharm*, 2007, 4(6): 807-18.
- [8] 李 纳, 汤丹丹, 王丽雯, 等. 喷雾干燥法制备姜黄素磷脂复合物壳聚糖微球干粉吸入剂及其表征 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2475-2481.
- [9] 柯秀梅, 杨荣平, 郭响香, 等. 自乳化释药系统 (SEDDS) 对姜黄素类组分增溶作用的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 935-941.
- [10] 戴东波, 尤 佳, 何雯洁, 等. 姜黄素聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物纳米粒的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 194-199.
- [11] 张玉霞, 贾运涛, 田 睿, 等. 新型载姜黄素结肠定位胶囊的制备及其体外释药行为研究 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 42-45.
- [12] 琚 辉, 郝存江, 尹 飞, 等. 姜黄素固体脂质纳米粒的制备及表征 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 420-426.
- [13] Slowing I I, Vivero-Escoto J, 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.
- [14] Wang Y, Zhao Q, Han N, *et al.* Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications [J]. *Nanomedicine*, 2015, 11(2): 313-327.
- [15] Park S B, Joo Y H, Kim H, *et al.* Biodegradation-tunable mesoporous silica nanorods for controlled drug delivery [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 50(1): 64-73.
- [16] 郭曼曼, 王国伟, 徐骏军, 等. 载三氧化二砷 pH 值响应介孔二氧化硅纳米粒的制备及体内外评价 [J]. 中草药, 2015, 46(7): 982-989.
- [17] Xu W, Riikonen J, Lehto V P. Mesoporous systems for poorly soluble drugs [J]. *Int J Pharm*, 2013, 453(1): 181-197.
- [18] 王彦竹, 孙立章, 宋爱华, 等. 介孔二氧化硅纳米粒的制备及对载药与药物溶出度的影响 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(4): 258-263.
- [19] 张李巧, 栾立标, 吴 炎, 等. 姜黄素 CTPP-PEG-PCL 胶束的制备及体外评价 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(13): 2109-2113.
- [20] 中国药典 [S]. 四部. 2015.
- [21] 王天怡, 赵勤富, 韩 旭, 等. 介孔二氧化硅制备尼莫地平纳米固体分散体 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(13): 1139-1145.
- [22] 王彦竹, 赵勤富, 孙 清, 等. 两种介孔二氧化硅载体用于改善西洛他唑溶出度的比较 [J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(1): 1-8.
- [23] 徐爱仁, 马卫成, 应景艳, 等. 载多柔比星介孔二氧化硅-聚乙二醇纳米粒的制备及体外评价 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(24): 1901-1905.
- [24] 任丽霞, 王 柏. 卡维地洛-中空介孔二氧化硅固体分散体的制备与表征 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(1): 59-64.
- [25] 黄秀旺, 许建华, 吴国华, 等. 姜黄素固体分散体的制备及体外溶出特性 [J]. 福建中医学院学报, 2008, 18(5): 30-33.
- [26] 黄秀旺, 许建华, 温彩霞. 姜黄素-聚维酮固体分散体的制备及溶出度的测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(21): 1819-1822.