

文章编号 1006-8147(2017)06-0562-05

论 著

## 自模板法制备中空介孔硅球及其载药释药性能的研究

佟若菲<sup>1,2</sup>, 张 因<sup>2</sup>, 李维超<sup>2</sup>, 房志仲<sup>3</sup>

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津市儿童医院药剂科,天津 300074;3.天津医科大学药学院,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070)

**摘要** 目的:采用自模板法合成中空介孔硅球(HMSNs),并对其载药释药性能进行研究。方法:采用自模板法,通过控制反应物摩尔数、温度、时间等反应条件制备 HMSNs,并进行载药研究,计算载药率、包封率与释药率。结果:合成的 HMSNs 球形度良好,具有典型的介孔分子筛特征及硅基骨架特征峰,可以进行结构确证,药物在 42 h 的累积释药百分数达 70%以上。结论:HMSNs 可用于抗癌药物伊马替尼的装载,达到缓释的目的。

**关键词** 中空介孔硅球;自模板法;表征;载药释药

中图分类号 R94

文献标志码 A

## Preparation of hollow mesoporous silica nanoparticles by template method and study of drug loading release properties

TONG Ruo-fei<sup>1,2</sup>, ZHANG Yin<sup>2</sup>, LI Wei-chao<sup>2</sup>, FANG Zhi-zhong<sup>3</sup>

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacy, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China; 3. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To use the template method to synthesize mesoporous silica hollow ball (HMSNs), to explore the drug loading and release properties. **Methods:** The self-template method was used to prepare HMSNs by controlling the molar ratio, temperature and time of reactants, and the drug loading rate, encapsulation efficiency and drug release rate were calculated. **Results:** The synthesized HMSNs had good sphericity, typical mesoporous molecular sieve and the characteristic peak of the silicon skeleton. The structure was confirmed, and the drug release rate reached more than 70% in 42 hours. **Conclusion:** The utility model can be used for the loading of anticancer drug imatinib.

**Key words** hollow mesoporous silica nanoparticles; template method; characterization; drug loading and release

介孔二氧化硅纳米球作为生物相容性优异的无机纳米材料的卓越代表,兼具介孔载药和纳米粒径的特性,被公认是一种极具潜力的可控药物传递系统<sup>[1]</sup>。然而以介孔二氧化硅纳米球作为载药系统,还存在着药物装载效率低、粒径可调范围小、药物突释、释药功能单一等问题<sup>[2]</sup>。而中空介孔硅球(HMSNs)具有低密度、比表面积大、载药性能高、稳定性好和更多元的表面修饰特性<sup>[3]</sup>,常被用于催化剂、药物载体、生物材料等<sup>[4]</sup>。本文采用自模板合成中空介孔硅球,其模板剂为二氧化硅自身。通过查阅文献研究了合成中空介孔二氧化硅球的处方工艺<sup>[5-11]</sup>,并考察了不同蚀刻时间和温度对模板剂去除效果的影响,采用氮吸附-脱附仪(BET)、扫描电镜图(SEM)、透射电镜图(TEM)、红外分光光度计(IR)、元素分析等测试技术对样品进行了结构表

征;并对其载药性能进行了研究,以甲磺酸伊马替尼为模型药物,研究其载药释药性能。

## 1 材料与方法

1.1 仪器 S-4800 场发射扫描电子显微镜(FE-SEM,日立高新技术公司);JEM-2100F 透射电子显微镜(TEM,深圳瑞盛科技有限公司);Micromeritics ASAP 2010 N2 吸附-脱附仪(北京金埃谱科技有限公司);Bruker TENSOR 27 傅立叶变换红外分光光度计、Anke TGL-16G 高速台式离心机(德国 Beckman 公司);Agilent Cary 60 紫外分光光度计(美国安捷伦公司);Mettler toledo XS105 型电子天平(瑞士 Mettler 公司);KE-BEI 型电热恒温水浴锅、SX2-4-10 马弗炉(天津天有利科技有限公司)。

1.2 药品与试剂 纯度为 98% 的甲磺酸伊马替尼(天津泰普药物科技发展有限公司);正硅酸乙酯(TEOS)(分析纯,天津市博迪化工有限公司);十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)(分析纯,天津光复精细

作者简介 佟若菲(1977-),女,副主任药师,硕士在读,研究方向:临床药学;通信作者:房志仲,E-mail:fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

化工研究所);碳酸钠、氨水、无水乙醇、氯化钠、氯化钾、磷酸二氢钾、十二水合磷酸氢二钠、盐酸(分析纯,天津市江天化工技术有限公司);超纯水(Milli-Q Academic);乙腈(色谱纯,天津康科德科技有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 中空介孔硅球的合成

1.3.1.1 二氧化硅纳米球的制备:分别量取乙醇 60 mL、水 13 mL 和氨水 700  $\mu$ L 混匀;量取乙醇 9 mL、TEOS 2.5 mL,混匀倒入针管中,用针头缓慢滴至乙醇-水-氨水混合液中。滴完开始计时,反应 6 h 后,10 000 r/min 离心 5 min,乙醇洗涤 5 次,烘干待用。

1.3.1.2 介孔核壳纳米球的制备:称取 CTAB 150 mg 溶于水-乙醇混合液(30 mL/30 mL, v/v)中,加入 0.55 mL 氨水,超声 30 min;称取 100 mg 二氧化硅纳米球,溶于 20 mL 蒸馏水中。将上述两种溶液混匀,室温搅拌 30 min,得反应液。量取 0.25 mL TEOS 加至该反应液中,静置 6 h,10 000 r/min 离心 5 min,所得产物分别用乙醇、水漂洗多次,并分散于水 15 mL 中,制得介孔核壳纳米球悬浮液<sup>[12]</sup>。

1.3.1.3 HMSNs 的制备:将 1.3.1.2 项下制得的介孔核壳纳米球悬浮液超声 20 min,搅拌 4 h,得混合液备用。称取 470 mg  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,溶于 5 mL 水中,将其加入上述混合液中,60  $^{\circ}\text{C}$  反应 16 h。10 000 r/min 离心 5 min,水洗(30 mL $\times$ 3),搅拌过夜,除去残留物,60  $^{\circ}\text{C}$  烘干,550  $^{\circ}\text{C}$  煅烧 2 h,制得 HMSNs。

1.3.2 伊马替尼甲磺酸盐标准曲线 称取 2.5 mg 伊马替尼甲磺酸盐,用乙腈-水溶解于 10 mL 离心管,并将其转移至 25 mL 容量瓶,制得 100  $\mu\text{g/mL}$  伊马替尼甲磺酸盐母液。用移液枪分别量取该母液 0.2、0.5、0.75、1、2.5、4、5 mL 至 7 个 10 mL 的容量瓶中,加乙腈-水稀释至刻度,得到浓度分别为 2、5、7.5、10、25、40、50  $\mu\text{g/mL}$  的一系列标准溶液。

采用 Waters Acquity UPLC CSH  $\text{C}_{18}$  色谱柱(100 $\times$ 2.10 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ );流动相为 0.1% g/mL 的甲酸铵水溶液(pH 8.0)(A)-乙腈(B);梯度洗脱程序为:(t/%B) 0/5, 1/15, 1.1/25, 5/25, 5.1/40, 7/48, 9/48;流速 0.5 mL/min;检测波长 269 nm;柱温 42  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量 2  $\mu\text{L}$ ,以浓度  $C(\mu\text{g/mL})$  对峰面积作图,得标准曲线。

1.3.3 中空纳米球模型药物的装载 称取 10 mg 载体(HMSNs)、10 mg 伊马替尼(IMM)分别溶于 10 mL 水中,分别配制成 1.0 mg/mL 的 HMSNs 及 IMM 的水分散液。量取 IMM、HMSNs 各 5.0 mL 混匀,再取 IMM 2.5 mL、HMSNs 5.0 mL 混匀,将两种溶液分别温和搅拌 24 h,10 000 r/min 离心 5 min,去离子水反

复洗 3 遍,收集上清液,制得 IMM 的装载,命名为 HMSNs@IMM( $R=1;0.5$ );其中  $R$  为 IMM 与 HMSNs 的质量比,分别做  $R=0.5$  和 1 的两个配比载药试验。基于 IMM 在 269 nm 的特征紫外吸收,通过 UV/Vis 测定 IMM 的吸光度,做 IMM 水溶液浓度于 269 nm 吸光度标准曲线,计算出 IMM 的浓度和质量<sup>[13]</sup>。载药率和包封率通过反测上清液中 IMM 的含量计算得到,载药率和包封率计算公式如下:

$$\text{载药率}/\% = \frac{\text{投入 IMM 的质量} - \text{上清液中 IMM 的质量}}{\text{载了 IMM 的载体的质量}} \times 100\%$$

$$\text{包封率}/\% = \frac{\text{投入 IMM 的质量} - \text{上清液中 IMM 的质量}}{\text{投入 IMM 的质量}} \times 100\%$$

1.3.4 药物释放实验 将 1.3.3 项下制得的两种载药纳米微球 HMSNs@IMM( $R=1;0.5$ )分别分散于 5 mL 去离子水中,装入截留分子量为 14 000 的透析袋中,放入 200 mL 的缓冲溶液中透析。设定缓冲溶液的条件为 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液,  $T=39^{\circ}\text{C}$ 。每隔一段时间取 1 mL 缓冲溶液,同时补充 1 mL 同等体积的缓冲溶液至释放体系。通过测定所取的缓冲溶液中 IMM 的色谱可以计算出不同时间的释药率。释药率公式如下:

$$\text{释药率}/\% = \frac{\text{缓冲溶液中 IMM 的质量}}{\text{载药载体中 IMM 的质量}} \times 100\%$$

## 2 结果

2.1 蚀刻时间和温度对合成中空介孔硅球的影响 由于实心球部分的模板为二氧化硅本身(图 1),采用碱性化合物碳酸钠,进行蚀刻反应,去除实心球部分,得到中空硅球。分别在以下 4 个条件下(常温反应 8 h、60  $^{\circ}\text{C}$  反应 8 h、60  $^{\circ}\text{C}$  反应 12 h、60  $^{\circ}\text{C}$  反应 16 h),对中空介孔二氧化硅球的蚀刻条件进行优化,由图 2 的透射电镜图可知,在 60  $^{\circ}\text{C}$  反应 16 h 的条件下,得到蚀刻完全,中空效果佳的硅球。

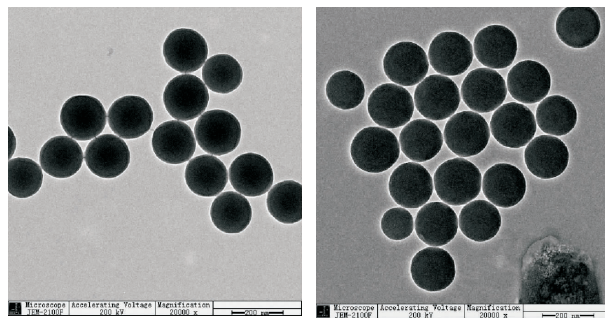
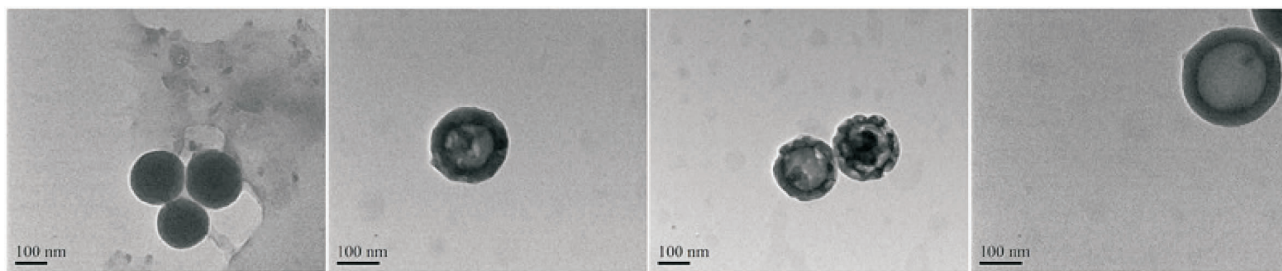


图 1 二氧化硅实心球的 TEM 图

Fig 1 TEM pictures of  $\text{SiO}_2$  solid sphere



A. 常温反应 8 h

B. 60 °C 反应 8 h

C. 60 °C 反应 12 h

D. 60 °C 反应 16 h

图 2 HMSNs 的不同蚀刻时间和温度 TEM 图

Fig 2 TEM pictures of HMSNs at different etching time and temperature

## 2.2 中空介孔硅球的表征

2.2.1 扫描电镜图和透射电镜图 采用扫描电镜和透射电镜对 1.3.1 项下制得的理想中空介孔二氧化硅纳米球进行三维立体显微孔道结构表征。如图 3、4 所示,合成的中空介孔二氧化硅球形貌良好。

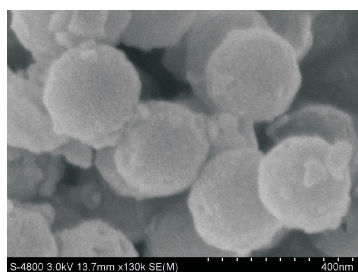


图 3 HMSNs 的扫描电镜图

Fig 3 The SEM of HMSNs

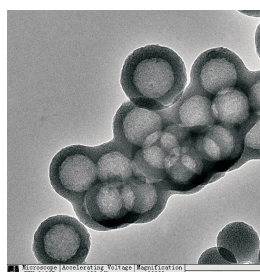


图 4 HMSNs 的透射电镜图

Fig 4 The TEM of HMSNs

2.2.2 氮气吸附-脱附曲线 从样品的氮气吸附-脱附曲线上(图 5)可见,曲线的形状接近 IV 型吸附-脱附等温线,说明 HMSNs 具有介孔(2~50 nm)分子筛的典型特征。

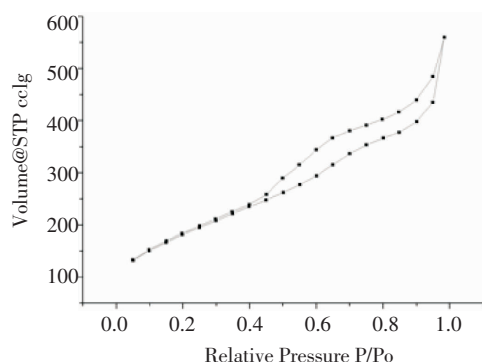


图 5 HMSNs 的氮气吸附-脱附曲线

Fig 5 N<sub>2</sub> adsorp-stripping curve of HMSNs

## 2.3 中空介孔硅球载药和释药性能的研究

2.3.1 伊马替尼甲磺酸盐标准曲线 将 1.3.2 项下配制好的一系列浓度标准溶液分别进行色谱分析,

用其浓度对峰面积作图,得到伊马替尼甲磺酸盐标准曲线(图 6), $R^2=0.9995$ 。

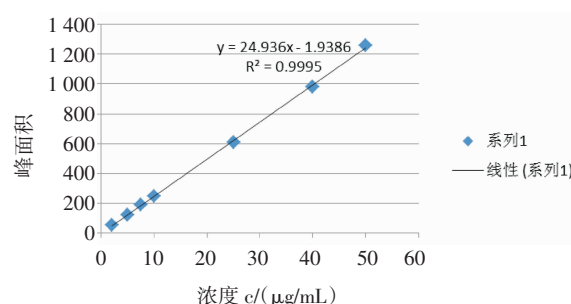


图 6 伊马替尼甲磺酸盐标准曲线

Fig 6 Standard curve of mesylate IMM

2.3.2 药物的负载 药物负载方面,我们尝试了  $R$  为 0.5 和 1 的两组试验(表 1)。结果显示,当  $R=1$  时,可以获得最佳载药率及包封率。

表 1 载体的载药试验结果

Tab 1 The results of drug loading test vector

	$R$	载药量/%	包封率/%
HMSNs@IMM	0.5	22.97	45.97
	1	36.09	36.09

2.3.3 药物的体外释放 人体正常体温为 37 °C 左右,恶性肿瘤组织附近的温度比正常部位组织的温度要高。基于这一因素,我们设计了在  $T=39$  °C,  $pH=7.5$  的环境下的药物释放,所选用的药物为抗肿瘤药物 IMM。释药曲线如图 7 所示。由图可知,在 42 h 时药物的累计释放率约在 70% 以上,达到了缓释的目的。

2.3.4 元素分析结果 对组装 IMM 后的纳米材料样品中 C 和 N 元素含量进行分析,由表 2 可知,在组装 IMM 后,对比未组装前的 C 含量可以发现, HMSNs@IMM 中的 C 含量明显增加;N 含量前后对比,载药后其含量略有增加。可以推断出,增加的 C 含量主要来自于 IMM,初步证明了 IMM 已成功负



载到中空介孔硅球中。

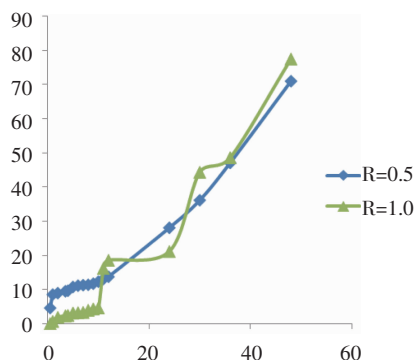


图 7 中空介孔二氧化硅纳米球在  $T=39\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH}=7.5$  条件下的释药行为

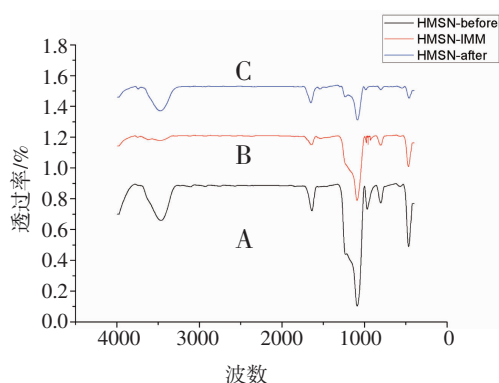
Fig 7 Drug release behavior of HMSNs at  $T=39\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH}=7.5$

表 2 C 和 N 元素分析结果

Tab 2 C and N element analysis results

	N 含量/(% Wt)	C 含量/(% Wt)	H 含量/(% Wt)
HMSNs	0.54	0.62	1.69
HMSNs@IMM(R=1)	0.59	2.86	1.69

**2.3.5 红外分析结果** 图 8 为中空介孔二氧化硅纳米球在载药前、后和释药后的傅里叶变换红外光谱图,波数区间为  $400\text{--}4\,000\text{ cm}^{-1}$ 。在图谱上,与硅骨架有关的谱峰出现在  $1\,096\text{ cm}^{-1}$  和  $810\text{ cm}^{-1}$  两处,分别为硅氧键(Si-O-Si)的不对称与对称伸缩振动; $960\text{ cm}^{-1}$  处的特征吸收峰为硅羟基(Si-OH)的对称伸缩振动; $460\text{ cm}^{-1}$  处的谱峰为 Si-O 键的弯曲振动峰。从图中分析可知,载药后,中空介孔硅球本身在  $960\text{ cm}^{-1}$  处的 Si-OH 键基本消失,表明药物分子中的某个基团可能与 Si-OH 进行氢键作用,而吸附于 HMSN 表面。而释药后,该载体的谱图基本与载药前一致,说明药物释放后,载体的结构没有发生改变。



(A)载药前的 HMSN;(B)HMSN-IMM;(C)释药后的 HMSN

图 8 红外光谱图

Fig 8 The infrared spectra

### 3 讨论

本文采用自模板法研究了合成 HMSNs 的处方工艺。以  $\text{SiO}_2$  纳米球作为模板剂,TEOS 为无机硅源,CTAB 为表面活性剂(制孔剂),在碱性条件下合成了 HMSNs。此方法极大地节约了模板剂的成本,且不会引入新的物质,省去了去除的麻烦,制得的硅球形态稳定。同时考察了不同蚀刻时间和温度对模板剂去除效果的影响,采用 SEM、TEM、FT-IR、元素分析等技术对样品进行表征。结果表明,合成的 HMSN 球形度良好,具有典型的介孔分子筛特征及硅基骨架特征峰,可以进行结构确证。

本文制备中空介孔纳米球的方法是基于 Ostwald 熟化机制。Ostwald 熟化是指溶液相中的自发重结晶过程,此过程即“由于小晶粒的溶解度更大,大晶粒通过消耗小晶粒而生长”的现象。 $\text{SiO}_2$  实心球的内部是由很多小晶粒组成,而内部晶粒的尺寸比外部晶粒更小,曲率更大,因而具有更高的表面能,更易于碱性溶液溶解,通过壳层中的孔道与外界溶液进行传质过程,最终形成中空介孔纳米球。

通过相关试验,我们实现了 HMSNs 对 IMM 的装载。在中空介孔材料载药体系中,随着药物 IMM 与载体 HMSNs 质量比(R 值)的增加,载药率有所上升,但是包封率有所下降。药物 IMM 在一定浓度范围内,随着药物浓度增加,即药物与载体的质量比增加,其载药率逐渐升高。但如果药物浓度进一步增加,有可能会造成介孔的孔道堵塞,使药物分子无法进入孔道内部,造成载药率及包封率的降低,这对于药物均匀缓慢持久的释放有一定的影响。因此,我们需要选择合适的载药比,以便获得最大的载药率及包封率。这就需要改善合成 HMSNs 的处方工艺,扩大介孔尺寸,尽可能的使 IMM 能够全部装载到介孔孔道和中空部分中。在此基础上,改善 HMSNs 对药物的载药性能,增加载药量。

中空介孔微纳结构的合成像是在纳米尺度领域进行的雕刻,而自模板法就是其中的一种最有力的雕刻手法。我们相信,自模板法未来还可以继续用来“雕刻”更多不同种类、不同功能的微纳结构材料,从而获得更多精湛的“雕刻艺术品”。

#### 参考文献:

- [1] Xu W, Riikonen J, Lehto V P. Mesoporous systems for poorly soluble drugs[J]. Int J Pharm, 2013, 453(1): 181
- [2] Gnanamoorthy P, Anandhan S, Ashok Prabu V. Natural nanoporous silica frustules from marine diatom as a biocarrier for drug delivery[J]. J Porous Mat, 2014, 21(5): 789
- [3] Li Y S, Shi J L. Hollow-structured mesoporous materials: Chemical synthesis[J]. Adv Mater, 2014, 26(20): 3176

- [4] 马雪慧,王乐善,赵彦保.中空纳米二氧化硅微球的制备及表征[J].无机化学学报,2009,25(6):1091
- [5] 张百慧,樊华,卞僮,等.自模版法制备介孔空心无机微/纳米结构[J].高等学校化学学报,2013,34(1):1
- [6] Meng Q N, Xiang S Y, Zhang K, et al. A facile two-step etching method to fabricate porous hollow silica particles[J]. J Colloid Interface Sci, 2012, 384(1): 22
- [7] Bung U Y, Moon H, Hayk H, et al. Self-templated synthesis of hollow silica microspheres using  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  precursor[J]. Micropor Mesopor Mat, 2014, 190(6): 139
- [8] Zhao Y N, Yang H, Wu H, et al. Enhanced proton conductivity of hybrid membranes by incorporating phosphorylated hollow mesoporous silica submicrospheres[J]. J Membrane Sci, 2014, 469(469): 418
- [9] Yu Q Y, Hui J F, Wang P P, et al. Anion-exchange-driven disassembly of a  $\text{SiO}_2/\text{CTAB}$  composite mesophase: the formation of hollow mesoporous silica spheres[J]. Inorg Chem, 2012, 51(17): 9539
- [10] 曹星星,张学斌,朱雅君,等.中空纳米球的制备和应用[J].广州化工,2012,40(11):3
- [11] Luo Z, Hu Y, Cai K Y, et al. Intracellular redox-activated anticancer drug delivery by functionalized hollow mesoporous silica nanoreservoirs with tumor specificity[J]. Biomaterials, 2014, 35(27): 7951
- [12] 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
- [13] 刘静,翟婷婷,于晓倩,等.Box-Behnken法优化不同孔径MCM-41包载 $\beta$ -胡萝卜素的处方工艺[J].化工进展,2015,34(9):3392

(2016-12-09 收稿)

文章编号 1006-8147(2017)06-0566-03

论 著

## 高效液相色谱法测定盐酸多奈哌齐分散片中的药物含量

李娟<sup>1</sup>,李继彬<sup>2</sup>,邢正英<sup>2</sup>,房志仲<sup>2</sup>

(1.天津医科大学第二医院药剂科,天津 300211;2.天津医科大学药学院药剂学教研室,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070)

**摘要** 目的:建立盐酸多奈哌齐分散片的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法测定盐酸多奈哌齐的含量:TIANHE® Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ ),流动相的组成为:1-癸烷磺酸钠 2.5 g 溶于 650 mL 水中,加乙腈 350 mL 和高氯酸 1 mL 的混合溶液;检测波长为 315 nm;柱温为 25  $^{\circ}\text{C}$ 。结果:盐酸多奈哌齐含量浓度在 10.18~122.01  $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围内,其浓度与峰面积呈良好线性关系, $r=0.999\ 4(n=3)$ 。总平均回收率为 100.8%( $RSD=0.4\%,n=9$ )。结论:该方法简便、准确、快速、重复性好,可作为盐酸多奈哌齐分散片的质量控制方法。

**关键词** 盐酸多奈哌齐;分散片;含量;高效液相色谱法

中图分类号 R927.2

文献标志码 A

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)又被称为老年痴呆症,是最常见的原发性神经退行性疾病。AD 是发生在老年及老年前期、以认知功能障碍和行为损害为特征的中枢神经退行性病变<sup>[1]</sup>。据国际 AD 协会(ADI)的“世界 AD2015 年报告”,目前世界范围内 60 岁以上老年人约有 9 亿人。多奈哌齐(Donepezil)是日本卫材制药有限公司开发的第二代乙酰胆碱酯酶抑制剂,中国已经本土化生产<sup>[3]</sup>,其活性较他克林强,且选择性高、无肝毒性,是继他克林之后的轻、中度 AD 患者的首选治疗药物<sup>[2]</sup>。盐酸多奈哌齐不仅可以治疗老年痴呆,改善老年痴呆患

者的精神行为及日常生活自理能力,改善生活质量,延长生存时间,而且副作用小,安全可靠,是一种安全有效的治疗血管性认知功能障碍的辅助药物,早期应用可预防及延缓痴呆的发生<sup>[4-5]</sup>。分散片(dispersible tablets)又称水分散片(water dispersible tablets),系指遇水迅速崩解形成均匀混悬液的一种片剂,它在 19~21  $^{\circ}\text{C}$  水中即可崩解,崩解后形成均匀黏性水分散体。由于分散片具有对生产条件无特殊要求,制造工艺同普通片剂,无需特殊包装,生产成本低和服用方法多样,尤其适合于老、幼和吞咽困难患者等优势,所以得到广泛重视。目前,在众多文献报道中,盐酸多奈哌齐以口腔崩解片的制备为主,但分散片的制备工艺及辅料选择方

**作者简介** 李娟(1979-),女,硕士在读,研究方向:临床药学;通信作者:房志仲, E-mail:fangzhizhong@tmu.edu.cn。