

不同加入量亲水性/疏水性纳米二氧化硅对甘草次酸脂化乳稳定性的影响研究[△]

李士远*, 金 粟, 陈芳宁, 张秀荣, 王秀丽[#](北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)07-0951-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.07.25

摘要 目的:研究不同加入量亲水性/疏水性纳米二氧化硅($nSiO_2$)对甘草次酸脂化乳稳定性的影响。方法:取甘草次酸脂化乳4 mL,分别加入0.5%、1.0%、1.5%(m/m ,下同)亲水性 $nSiO_2$ 和0.4%、0.7%、1.0%疏水性 $nSiO_2$,30℃水浴孵育2 h,同时以同批次甘草次酸脂化乳为空白对照。处理后在电镜下观察形态,并测定吸光度值,根据吸光度值计算稳定参数(K_E);根据 K_E 值对 $nSiO_2$ 的加入量进行优化,制备3批制剂进行验证试验。结果:电镜下观察,球形结构为甘草次酸脂化乳,包裹在其表面的白色环状(包裹完全)或半环状结构(未包裹完全)为 $nSiO_2$ 。加入0.5%、1.0%、1.5%亲水性 $nSiO_2$ 的产品 K_E 分别为4.66%、5.01%、-2.08%,加入0.4%、0.7%、1.0%疏水性 $nSiO_2$ 的产品 K_E 分别为3.02%、4.51%、7.24%;优化的加入量为亲水性 $nSiO_2$ 0.2%、0.3%、0.4%,疏水性 $nSiO_2$ 0.1%、0.2%、0.3%, K_E 依次为6.19%、3.05%、7.84%、8.42%、2.41%、2.93%。最优加入量为0.3%亲水性 $nSiO_2$ 、0.2%疏水性 $nSiO_2$;验证试验中3批制剂均在此加入量时稳定性最佳。结论:亲水性或疏水性 $nSiO_2$ 均可提高甘草次酸脂化乳的稳定性,且以0.3%、0.2%加入量为佳。

关键词 纳米二氧化硅;甘草次酸脂化乳;稳定性;亲水性;疏水性

Study on the Effect of Hydrophilic/Hydrophobic Nano-silica with Different Adding Amount on the Stability of Glycyrrhetic Acid Lipo-emulsion

LI Shiyuan, JIN Su, CHEN Fangning, ZHANG Xiurong, WANG Xiuli(School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effect of hydrophilic/hydrophobic nano-silica with different adding amount on the stability of lipo-emulsion. METHODS: Glycyrrhetic acid lipo-emulsion 4 mL was taken, respectively adding into 0.5%, 1.0%, 1.5% (m/m , the same below) hydrophilic $nSiO_2$, and 0.4%, 0.75%, 1.0% hydrophobic $nSiO_2$, incubating 2 h in 30℃ water; the same batch of Glycyrrhetic acid lipo-emulsion was treated as blank control. The forms were observed under electron microscopy after treatment, absorbance value was determined, the stability parameter (K_E) was calculated according to the absorbance value, then the adding amount of $nSiO_2$ was optimized, 3 batches of preparations was prepared, and the verification test was conducted. RESULTS: The spherical structure was Glycyrrhetic acid lipo-emulsion in the electron microscopy, the substance wrapping its surface white ring (fully wrapped) or semi-circular structure (not fully wrapped) was $nSiO_2$. K_E of hydrophilic $nSiO_2$ were 4.66%, 5.01% and -2.08%, and K_E of hydrophobic $nSiO_2$ were 3.02%, 4.51% and 7.24%. The optimized adding amount of hydrophilic $nSiO_2$ was 0.2%, 0.3% and 0.4%, hydrophobic $nSiO_2$ was 0.1%, 0.2% and 0.3%; K_E were 6.19%, 3.05%, 7.84%, 8.42%, 2.41%, 2.93%, respectively. The optimal adding amount was 0.3% hydrophilic $nSiO_2$ and 0.2% hydrophobic $nSiO_2$; the 3 batches of preparation showed the optimum stability in its own adding amount. CONCLUSIONS: Both hydrophilic and hydrophobic $nSiO_2$ can improve the stability of Glycyrrhetic acid lipo-emulsion, and preferably 0.3%, 0.2%.

KEYWORDS Nano-silica; Lipo-emulsion; Stability; Hydrophilicity; Hydrophobicity

脂化乳是一种新型给药系统^[1],作为药物载体具有极大的优势。以甘草次酸为模型药物制备的甘草次酸脂化乳与生物膜具有良好的相容性,而提高甘草次酸脂化乳稳定性对扩展其应用范围有很大帮助。纳米二氧化硅($nSiO_2$)是一种生物相容性良好、理化性质稳定的超微纳米材料,具有低毒、易于功能化、孔体积和比表面积

大等特点,在医药领域受到广泛关注。 $nSiO_2$ 既可作为基础材料合成具有pH敏感、光敏感、磁靶向等多重功能的纳米药物控释体系^[1-4],也可作为制剂稳定性提升材料。马凤琴等^[5]研究表明,将 $nSiO_2$ 加入到乳剂系统中可有效阻止液滴聚结、提高其稳定性,还可减少甚至消除表面活性剂的不良反应。靖博宇等^[6]研究也表明一些材料可以作为自乳化药物的稳定剂,从而提高其稳定性。因此,在本研究中笔者采用操作简便易行、准确度较高的离心分光光度法^[7],测定加入亲水性/疏水性 $nSiO_2$ 后甘草次酸脂化乳的稳定性,考察 $nSiO_2$ 对甘草次酸脂化乳体系稳定性的影响,并初步确定最佳加入量,以期对

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81202928)

* 硕士研究生。研究方向:中药药剂学。电话:010-84738657。

E-mail:17801080718@163.com

通信作者:副研究员,博士。研究方向:中药复方新型给药系统与新型辅料。电话:010-84738657。E-mail:lnwangxiuli@163.com

提高甘草次酸脂化乳稳定性提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

G16型医用离心机(北京白洋医疗器械有限公司);BSL10S型万分之一电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);TU-1810型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Tscnai T20型透射电子显微镜(美国FEI公司);SCI-ENTZ-II D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 材料与试剂

甘草次酸脂化乳[北京中医药大学中药学院实验室自制^[1],批号:0160706-0160713,粒径为 (242.9 ± 5.23) nm,多分散系数(PDI)为 0.064 ± 0.01 ,Zeta电位为 (-6.16 ± 0.49) mV,载药量为 (1.27 ± 0.07) mg/mL];Degussa亲水性nSiO₂(型号:A380)、SHENNA疏水性nSiO₂(型号:SR200)均购自广州市桑纳贸易有限公司,纯度均为99.8%;试验用水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

取甘草次酸脂化乳4 mL,共6份,称取质量,分别加入0.5%、1.0%、1.5%亲水性nSiO₂(m/m,下同,加入量根据文献[5]确定)和0.4%、0.7%、1.0%疏水性nSiO₂,30℃水浴孵育2 h。同时,分别以同批次、等体积甘草次酸脂化乳为空白对照。

2.2 形态观察

根据文献[8-9]的方法进行冷冻电镜制样。取“2.1”项下制备的溶液,置于1 mL离心管中,加入适量纯净水稀释20倍,混合均匀。移液枪精密吸取10 μL准确滴加在微栅膜铜网上,用滤纸吸去多余液体,快速冲投到已被液氮充分冷却的液态乙烷中,液体水形成非晶态的冰,样品即无损地包埋在其中。保持微栅膜铜网浸没在液氮中,迅速将其移到预冷的样品杆中,将样品杆转移到冷冻样品传输架上,电镜下观察形态。形态观察结果见图1(以亲水性nSiO₂为例,其余图略)。

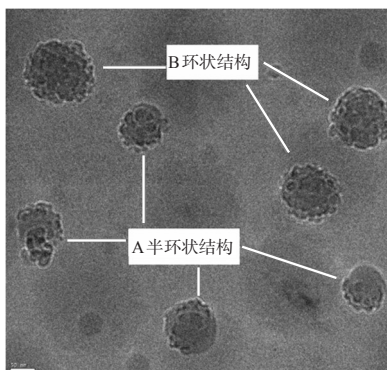


图1 亲水性nSiO₂甘草次酸脂化乳冷冻电镜照片(×1 000)

Fig 1 Freezing electron micrograph of hydrophilic nSiO₂ lipo-emulsion(×1 000)

由图1可见,甘草次酸脂化乳在电镜下为球形,包裹在其表面的白色环状或半环状结构为nSiO₂。其中,环状结构表明包裹均匀(B),半环状结构表明包裹不均匀(A)。

2.3 稳定参数考察

吸取“2.1”项下制备的溶液适量于1.5 mL尖底离心管中,以离心半径为1 cm、4 000 r/min离心10 min后,精密移取下层制剂0.1 mL(取样深度1 cm处)至10 mL量瓶中,纯净水定容,于500 nm波长下测定吸光度(A);另取未离心沉淀的溶液0.1 mL于10 mL量瓶中,纯净水定容,于500 nm波长下测定吸光度(A₀),并计算稳定参数(K_E)。K_E(%)=(A₀-A)/A₀×100%^[7]。K_E值越小,表明离心操作对制剂中分散颗粒上浮或下沉的影响越小,制剂稳定性越高,结果见表1。

表1 各溶液K_E计算结果

Tab 1 Calculating results of K_E values for each solution

加入稳定剂	K _E , %	加入稳定剂	K _E , %
空白对照	20.20	空白对照	17.60
0.5%亲水性nSiO ₂	4.66	0.4%疏水性nSiO ₂	3.02
1.0%亲水性nSiO ₂	5.01	0.7%疏水性nSiO ₂	4.51
1.5%亲水性nSiO ₂	-2.08	1.0%疏水性nSiO ₂	7.24

2.4 nSiO₂加入量的优化

由表1可知,加入1.5%亲水性nSiO₂的溶液K_E为负数,表明其产生了大量沉淀影响了吸光度;根据加入量0.5%、1.0%的K_E推测,加入量与K_E呈负相关,故将亲水性SiO₂的加入量优化为0.2%、0.3%、0.4%。疏水性nSiO₂的K_E与加入量呈负相关,故将疏水性SiO₂的加入量优化为0.1%、0.2%、0.3%。采用“2.1”项下方法制备优化后的溶液,按“2.3”项下方法计算优化后的K_E,结果见表2。

表2 优化后各溶液K_E计算结果

Tab 2 Calculating results of K_E values for each solution after optimizing

加入稳定剂	K _E , %	加入稳定剂	K _E , %
空白对照	14.90	空白对照	17.63
0.2%亲水性nSiO ₂	6.19	0.1%疏水性nSiO ₂	8.42
0.3%亲水性nSiO ₂	3.05	0.2%疏水性nSiO ₂	2.41
0.4%亲水性nSiO ₂	7.84	0.3%疏水性nSiO ₂	2.93

2.5 稳定系数之比与验证试验

为了减小误差,消除不同批次甘草次酸脂化乳对稳定性的影响,引入稳定性参数之比(K_E/K_E空白)这一概念来评价不同批次甘草次酸脂化乳加入相同量nSiO₂后对稳定性影响。其中,K_E/K_E空白=加入稳定材料的K_E/空白制剂的K_E。

为验证0.3%亲水性nSiO₂和0.2%疏水性nSiO₂的稳定作用,按照“2.4”项下nSiO₂的加入量分别制备3批甘草次酸脂化乳制剂,结果均以加入0.3%亲水性nSiO₂、0.2%疏水性nSiO₂时的K_E最小,表明制剂稳定性最佳,

且不受不同批次影响,详见表3。

表3 验证试验结果($n=3$)

Tab 3 Results of verification test($n=3$)

加入稳定剂	$K_E/K_{E空白}$			$K_E/K_{E空白}$ 平均值	RSD, %
	第1次	第2次	第3次		
0.2%亲水性nSiO ₂	0.36	0.39	0.43	0.39	8.13
0.3%亲水性nSiO ₂	0.24	0.28	0.30	0.27	9.64
0.4%亲水性nSiO ₂	0.46	0.50	0.55	0.50	9.52
0.1%疏水性nSiO ₂	0.38	0.48	0.42	0.43	12.38
0.2%疏水性nSiO ₂	0.16	0.20	0.14	0.17	18.90
0.3%疏水性nSiO ₂	0.17	0.25	0.22	0.21	18.79

3 讨论

nSiO₂为目前应用最广泛的纳米材料之一,其制备方法多样,如气相法、溶胶-凝胶法、沉淀法等。nSiO₂是无毒、无味、无污染、无定形的白色粉末,具有比表面积大、密度小、分散性能好等特点,在橡胶、塑料、涂料、油漆、化妆品、医药和造纸等领域应用广泛^[10-14]。

nSiO₂材料可通过口服、吸入、经皮、舌下、阴道等多种方式给药,已列入美国FDA评价食品添加剂的安全性指标中,而在英国相关部门规定其可用于非注射用制剂^[15]。本研究将nSiO₂吸附于甘草次酸脂化乳表面,结果表明其可提高甘草次酸脂化乳的稳定性。

本研究在前期试验中曾分别采用内加法和外加法对nSiO₂的加入方法进行了考察。内加法是在甘草次酸脂化乳制备的过程中将nSiO₂加入甘草次酸脂化乳中;外加法是在甘草次酸脂化乳制备完成后,将nSiO₂加入甘草次酸脂化乳。采用内加法时,部分nSiO₂被甘草次酸脂化乳包裹,故不采用。外加法可进一步分为直接加入法或者将材料溶于相应的溶剂中再加入甘草次酸脂化乳的方法。后者可使甘草次酸脂化乳与溶剂产生理化反应,改变其性状,故不采用。故本研究最终采用外加法中的直接加入法,即甘草次酸脂化乳制备完成后,加入nSiO₂,混合均匀后在30℃水浴条件下孵育2h,使nSiO₂可以均匀地连接在甘草次酸脂化乳表面。冷冻电镜结果显示,nSiO₂可以包裹于脂质体表面,但可以在甘草次酸脂化乳表面形成完整的圆环或半圆环的结构,具体原因有待进一步研究证实。

由本研究结果可以看出,nSiO₂加入量不宜过多,否则会出现制剂过于黏稠导致nSiO₂聚集析出沉淀,但nSiO₂加入量过少则可导致包裹不完全,因此在试验或

制备过程中应控制nSiO₂加入量,并在加入后充分混匀再进行孵育。

综上所述,亲水性或疏水性nSiO₂均可提高甘草次酸脂化乳的稳定性,且以0.3%、0.2%加入量为佳。

参考文献

- [1] 金粟,李士远,张秀荣,等.甘草次酸脂化乳的质量评价[J].中国药房,2017,28(6):800-803.
- [2] 张婷.基于介孔二氧化硅的纳米药物控释体系的研究[D].哈尔滨:哈尔滨师范大学,2016.
- [3] 储艳兰,张凯.纳米二氧化硅的研究现状与进展[J].赤峰学院学报(自然科学版),2013,29(3):122-123.
- [4] 李曦,刘连利,王莉莉.纳米二氧化硅的研究现状与进展[J].渤海大学学报(自然科学版),2006,27(4):304-308.
- [5] 马凤琴,朱家璧,葛亮.纳米二氧化硅稳定乳剂系统的研究进展[J].中国医药工业杂志,2009,40(3):219-225.
- [6] 靖博宇,郑霞,杨瑞,等.亲水性聚合物对自乳化药物传递系统稳定性的影响[J].中国药房,2016,27(7):910-912.
- [7] 马萍,辛艳茹,杨京燕,等.离心分光光度法测定乳剂的稳定性[J].药学实践杂志,2001,19(1):23.
- [8] 李茵茵,李鲲鹏,李向辉,等.含水纳米材料冷冻电镜直接成像研究[J].电子显微学报,2012,31(4):346-349.
- [9] 李承珉,周旻,李晓敏,等.冷冻电镜技术在表观遗传学研究中的应用[J].生物化学与生物物理进展,2015,42(11):1063-1072.
- [10] 李慧媛,吴清林,周定国.纳米二氧化硅/纳米纤维素复合材料制备及性能分析[J].农业工程学报,2015,31(7):299-303.
- [11] 韩静香,余利娟,翟立新,等.纳米二氧化硅的制备及表面修饰的研究进展[J].材料导报,2010,24(s1):6-8.
- [12] 刘俊渤,臧玉春,吴景贵,等.纳米二氧化硅的开发与应用[J].长春工业大学学报(自然科学版),2003,24(4):9-12.
- [13] 黄勇,郭亚昆,路学成,等.纳米二氧化硅的表面改性及其应用进展[J].塑料助剂,2006(6):1-5,28.
- [14] 芳明.纳米二氧化硅的制备、表面改性和应用前景[J].精细化工原料及中间体,2011(1):19-23.
- [15] RC·罗,PJ·舍斯基,PJ·韦勒.药用辅料手册[M].郑俊民,译.北京:化学工业出版社,2005:1-893.

(收稿日期:2016-10-16 修回日期:2017-03-02)

(编辑:刘明伟)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅