

γ -聚谷氨酸防晒纳米粒子的制备及性能

梁雪, 孟宇寰, 刘晓亚, 李小杰*

(江南大学 化学与材料工程学院, 合成与生物胶体教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 以天然大分子 γ -聚谷氨酸 (γ -PGA) 为原料, 使用疏水小分子 L-苯丙氨酸乙酯 (L-phe) 对其进行改性得到双亲大分子, 通过大分子自组装的方法负载阿伏苯宗 (AVB)、甲氧基肉桂酸异辛酯 (OMC) 和二苯甲酮-3 (BP-3) 3 种有机防晒剂得到 γ -PGA 防晒纳米粒子, 并对其光稳定性、广谱防晒性、皮肤渗透性和细胞毒性进行了研究。结果表明, 紫外辐照后, 与未负载的有机防晒剂组合物相比, γ -PGA 防晒纳米粒子在 UVA 范围的吸光度从 12% 降低至 3%, 在 UVB 范围的吸光度从 18% 降低至 4%, 光稳定性得到了提升。同时, 制备的防晒纳米粒子在整个紫外波段具有广谱防晒性、低皮肤渗透性和低细胞毒性。将该防晒纳米粒子应用于防晒霜配方中, 当添加量为配方总质量的 10% 时, 防晒霜防晒指数 (SPF) 可达 75。

关键词: 防晒; γ -聚谷氨酸; 纳米粒子; 光稳定性; 自组装; 日化原料

中图分类号: TQ658 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2022) 01-0143-07

Preparation and properties of γ -polyglutamic acid-based sunscreen nanoparticles

LIANG Xue, MENG Yuhuan, LIU Xiaoya, LI Xiaojie*

(Key Laboratory of Synthetic and Biological Colloids, Ministry of Education, School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: An amphiphilic macromolecule was synthesized by modification of natural macromolecule γ -polyglutamic acid (γ -PGA) with hydrophobic small molecule L-phenylalanine ethyl ester (L-phe). γ -PGA sunscreen nanoparticles were prepared by loading avobenzone (AVB), isooctyl methoxycinnamate (OMC) and benzophenone-3 (BP-3) as organic sunscreen agents via macromolecular self-assembly method. The photostability, broad-spectrum sunscreen properties, skin permeability and cytotoxicity of these γ -PGA sunscreen nanoparticles were characterized. Compared with those of the unloaded organic sunscreen composition, the absorbance of γ -PGA sunscreen nanoparticles in UVA range decreased from 12% to 3%, and that in UVB range decreased from 18% to 4% after UV irradiation, which proved the photostability. Meanwhile, the γ -PGA sunscreen nanoparticles had broad-spectrum sun protection in the entire ultraviolet band and low skin permeability and low cytotoxicity. Moreover, the prepared sun protection factor (SPF) of a typical sunscreen cream with a mass fraction of 10% γ -PGA sunscreen nanoparticles as sunscreen agent could reach 75.

Key words: sunscreen; γ -polyglutamic acid; nanoparticles; photostability; self-assembly; cosmetic materials

紫外线辐射会对人体造成红斑、水肿等短期炎症反应和皮肤光老化、免疫抑制以及皮肤癌等长期影响^[1-3]。为了抵挡紫外线对皮肤的伤害, 常使用防晒霜进行防护。防晒霜的有效成分主要是防晒剂,

防晒剂主要有无机防晒剂和有机防晒剂两类。无机防晒剂主要通过反射、散射紫外线达到防晒效果, 但其肤感厚重黏腻, 且光催化活性高, 限制了其在化妆品领域的应用^[4]。有机防晒剂主要通过紫外

收稿日期: 2021-06-03; 定用日期: 2021-09-06; DOI: 10.13550/j.jxhg.20210560

基金项目: 2018 年江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX18_1816)

作者简介: 梁雪 (1994—), 女, 博士生, E-mail: liangxue@stu.jiangnan.edu.cn。联系人: 李小杰 (1984—), 男, 副教授, E-mail: xjli@jiangnan.edu.cn。

线的选择性吸收而起到防晒作用, 由于其防晒能力强而且可通过组合达到广谱防晒效果等而被广泛用于防晒霜中^[5-6]。然而, 绝大多数有机防晒剂光稳定性差, 会发生光化学反应而产生过敏或毒性降解产物, 进而降低其紫外线防护能力^[7]。因此, 高稳定性是有机防晒剂有效性的重要条件。

为解决上述问题, 国内外研究者已开发出微胶囊^[8-9]、脂质载体^[10]、多孔聚合物微球^[11-12]、聚合物纳米粒子^[13-15]等负载体系以提高有机防晒剂的光稳定性。其中, 聚合物纳米粒子由于结构稳定、尺寸易调节以及适用性广等具有独特优势, 但目前仍存在合成复杂、不可降解以及潜在生物毒性等问题。大分子自组装是构筑单元之间通过相互作用自发形成有序结构的过程, 利用大分子自组装可以方便地制备各种形态的纳米或微米尺度聚集体^[16], 还可以将大分子与有机防晒剂进行共组装制备防晒纳米粒子。 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)是一种具有良好生物相容性和可降解性的亲水性生物大分子, 已被广泛应用于医药^[17-18]和化妆品领域^[19-20]。

常用的有机防晒剂多为疏水性分子, 与 γ -PGA作用力弱, 在纳米粒子中的负载量有限。为了解决这些问题, 本文采用疏水小分子 L-苯丙氨酸乙酯(L-phe)对 γ -PGA进行改性得到双亲聚合物 γ -PGA-L-phe, 再通过简单易行的大分子自组装的方法, 使得到的双亲聚合物在亲疏水作用下负载多种有机防晒剂制备 γ -PGA防晒纳米粒子, 制备示意图如图 1 所示。评估防晒纳米粒子的光稳定性、广谱防晒性、皮肤渗透性和细胞毒性, 最后探索其在防晒霜中的应用。

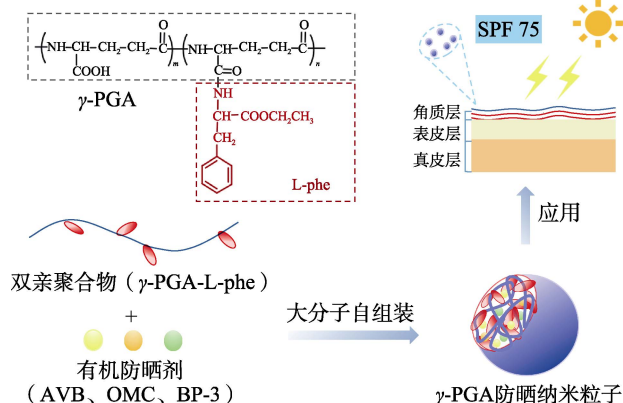


图 1 γ -PGA 防晒纳米粒子的制备示意图

Fig. 1 Schematic diagram of preparation of γ -PGA sunscreen nanoparticles

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

γ -PGA ($M_w=200000\sim 500000$), 分析纯, 日本和

光纯药工业株式会社; 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(WSC)、L-苯丙氨酸乙酯盐酸盐(L-phe, 质量分数>98%)、NaCl(分析纯), 阿拉丁试剂(上海)有限公司; 阿伏苯宗(AVB)、甲氧基肉桂酸异辛酯(OMC)、二苯甲酮-3(BP-3), 质量分数>98%, 上海麦克林生化科技有限公司; 二甲基亚砜(DMSO)、磷酸盐缓冲液速溶颗粒(PBS, pH=7.4)、 NaHCO_3 、乙醇, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

Nicolet6700 傅里叶变换红外光谱仪、Ultimate 3000 RS 超高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; AVANCE 12 HD 400 MHz 核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司; Nano-ZS 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 公司; JEM-2100plus 透射电子显微镜(TEM), 日本电子株式会社; TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计, 北京普析通用公司; XLite 600 型闸门式 UV 烘箱, 立昕科技股份有限公司; TK-12D 透皮扩散试验仪, 上海锴凯科技贸易有限公司; Nikon 80i 正置荧光显微镜, 日本尼康株式会社; Infinite M200PRO 紫外酶标仪, 瑞士 Tecan 集团; UV-2000 紫外线透过率分析仪, 美国 Labsphere 公司。

1.2 方法

1.2.1 γ -PGA-L-phe 的合成

γ -PGA-L-phe 参照文献^[21]方法合成, 不同之处在于, 使用的 NaHCO_3 溶液浓度为 50 mmol/L, 双亲聚合物 γ -PGA-L-phe 的产率为 82%。

1.2.2 γ -PGA 防晒纳米粒子的制备

负载不同含量单种有机防晒剂纳米粒子的制备: 在质量浓度为 10 g/L 的 γ -PGA-L-phe 聚合物溶液(2 mL)中, 分别加入含量为 10%、20%、30%、40%、50%(以 γ -PGA-L-phe 聚合物质量为基准, 下同)的有机防晒剂 AVB、OMC 和 BP-3, 取该聚合物溶液与 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液以 1:1 的体积比进行自组装获得胶体粒子溶液, 将上述胶体粒子在去离子水中透析 2 d(截留相对分子质量 8000~14000), 获得分别负载不同含量 3 种防晒剂的 γ -PGA 纳米粒子水分散液, 用于 3 种有机防晒剂的负载量与负载率测定。

γ -PGA 防晒纳米粒子的制备: 为了使得制备的纳米粒子在 280~400 nm 范围内具有较好的广谱防晒能力, 取质量比为 5:2:3 的 AVB、OMC 和 BP-3 溶于质量浓度为 10 g/L 的 γ -PGA-L-phe 溶液中, 并控制有机防晒剂的含量为 40%, 按照相同方法得到了负载 3 种防晒剂的 γ -PGA 防晒纳米粒子水分散液。作为对比, 同时合成了不含有机防晒剂的空白纳米粒子。

1.3 表征与性能测试

γ -PGA-L-phe 结构表征: 采用傅里叶变换红外

光谱仪, 通过衰减全内反射法 (ATR) 获得聚合物在 650~4000 cm^{-1} 范围内的红外光谱, 每个光谱扫描 32 次, 分辨率为 0.056 cm^{-1} ; 以氘代二甲基亚砷 ($\text{DMSO-}d_6$) 为溶剂, 以四甲基硅烷 (TMS) 为内标, 利用核磁共振波谱仪测定双亲大分子的核磁氢谱, 并依据特征峰积分面积之比计算出小分子 L-phe 对 γ -PGA 主链的改性率。

胶体粒子的尺寸及形貌: 将胶体粒子的溶液稀释合适倍数后使用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定胶体粒子的粒径以及粒径分布情况; 将胶体粒子水分散液滴于铜网上, 在室温下自然干燥, 使用 TEM 在 200 kV 下观察干态胶体粒子形貌。

纳米粒子的负载量与负载率测定: 采用离心法^[22]测定聚合物纳米粒子的负载量与负载率。将 1.2.2 节制备的负载不同含量单种有机防晒剂的纳米粒子分散液放入离心机以 12000 r/min 离心 1 h, 除去上清液获得沉淀即为 γ -PGA 纳米粒子, 再加入 1 mL DMSO 溶解, 用双光束紫外-可见分光光度计测量其吸光度。利用式 (1) 可计算出聚合物纳米粒子中有机防晒剂的负载量; 有机防晒剂的负载率是指被负载的有机防晒剂质量与原始所用的有机防晒剂质量之比, 利用式 (2) 可计算出有机防晒剂的负载率:

$$\text{EC}/\% = (m_0 / m_1) \times 100 \quad (1)$$

式中: EC (%) 为负载量; m_0 为纳米粒子中化学防晒剂质量, g; m_1 为聚合物质量, g。

$$\text{EE}/\% = (m_0 / m_2) \times 100 \quad (2)$$

式中: EE (%) 为负载率; m_0 为纳米粒子中有机防晒剂质量, g; m_2 为所用有机防晒剂质量, g。

光稳定性及广谱防晒性: 将 γ -PGA 防晒纳米粒子水分散液稀释到适宜浓度, 并分别配制相应浓度的溶解有 AVB、OMC 和 BP-3 3 种有机防晒剂的混合溶液, 命名为未负载的防晒剂组合物。使用闸门式 UV 烘箱在距离灯管光照度计 80 mm 高度处照射负载防晒剂的纳米粒子水分散液和未负载的有机防晒剂溶液 400 s (相当于平均暴露于太阳光 4 h^[13])。使用紫外-可见分光光度计测定照射前后纳米粒子水分散液和未负载的有机防晒剂溶液的紫外吸光度在 320~400 nm (UVA) 和 280~320 nm (UVB) 区域降低的百分比来表征有机防晒剂的光稳定性。

皮肤渗透性: 取一块新鲜猪皮, 去除毛和皮下脂肪层后, 用 PBS 缓冲液 (pH=7.4) 浸泡冲洗后剪成边长为 2.5 cm 的正方形。将猪皮置于 Franz 扩散池的进样池和接收池之间, 其中角质层面向进样池。在进样池中分别加入 γ -PGA 防晒纳米粒子水分散液和未负载的 3 种防晒剂的 DMSO 混合溶液 1 mL [$m(\text{AVB}) : m(\text{OMC}) : m(\text{BP-3}) = 5 : 2 : 3$, 3 种防晒剂的总质量分数为 32%], 使溶液均匀地完全覆盖猪

皮, 在接收池中加入体积比为 1 : 1 的无水乙醇和 PBS 缓冲液的混合溶液(接收液)。将组装好的 Franz 扩散池置于透皮扩散仪中, 在 35 $^{\circ}\text{C}$ 、转速为 500 r/min 的条件下实验。2、4、8 h 后分别取 50 μL 接收液待测, 同时补给新鲜的接收液。通过超高效液相色谱仪 (HPLC) 测定接收液中有有机防晒剂的浓度, 进样量为 5 μL , 并将 UV 检测器波长设定为 260 nm。流动相由甲醇-水 [$V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 9 : 1$] 组成, 流速为 1 mL/min 。每组实验重复 3 次以确保测试结果的准确性。

细胞毒性测试: 参照文献[23]中方法进行细胞毒性测试。选用鼠胚胎成纤维细胞 (L929) 作为评价细胞。研究了 γ -PGA 防晒纳米粒子不同含量 (10%、30%, 以细胞培养液体积为基准, 下同) 与不同培养时间 (24、48 h) 对 L929 细胞生长状态及细胞活力的影响。

防晒指数测试: 分别使用 γ -PGA 防晒纳米粒子和相同含量未负载的 3 种防晒剂的混合物 [$m(\text{AVB}) : m(\text{OMC}) : m(\text{BP-3}) = 5 : 2 : 3$, 3 种防晒剂的总质量分数为 32%] 制备防晒霜, 控制这两种成分在防晒霜配方中所占含量均为防晒霜配方整体质量的 10%, 配方如表 1 所示。

表 1 防晒霜的配方
Table 1 Formula of sunscreen cream

项目	标准中文名称	质量分数/%	
水相	水	余量	
	1,3-丁二醇	3.0	
	甲基葡萄糖醇聚醚-20	3.0	
	甘油	2.0	
	硫酸镁	0.5	
	透明质酸钠	0.1	
	泛醇	0.2	
	神经酰胺	0.1	
	烟酰胺	0.8	
	柠檬酸	0.1	
	乙二胺四乙酸二钠	0.05	
	油相	环五聚二甲基硅氧烷	5.0
		聚二甲基硅氧烷	6.0
鲸蜡硬脂醇聚甲基硅氧烷		10.0	
月桂基 PEG-9 聚二甲基硅氧乙基聚二甲基硅氧烷		2.0	
二硬脂二甲胺锂蒙脱石		1.0	
硬脂酸		1.0	
鲸蜡基 PEG/PPG-10/1 聚二甲基硅氧烷		1.0	
生育酚乙酸酯		0.1	
红没药醇		0.2	
异戊二醇		0.2	
甘草亭酸	0.1		
香精	0.2		
后加相	γ -PGA 防晒纳米粒子	10	

注: PEG 为聚乙二醇; PPG 为聚丙二醇; 10/1 的含义为 PEG 与 PPG 的共聚物质的量比为 10 : 1。

参照文献[24]方法进行防晒指数测试。具体是：将所制得的防晒霜均匀涂覆于 5 cm×5 cm 的甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 板上, 保持其涂覆量为 2 mg/cm², 每个样品涂覆 4 块 PMMA 板。将涂覆完成的 PMMA 板于暗室中静置 15 min, 取出置于紫外线透过率分析仪上在 280~400 nm 下测试防晒霜的 SPF 值, 每个 PMMA 板取 5 个点进行测试, 最后取其平均值。此外, 用同样的方法也测试了经闸门式 UV 烘箱照射 400 s (相当于平均暴露于太阳光 4 h^[13]) 后防晒霜的 SPF 值。

2 结果与讨论

2.1 γ -PGA-L-phe 的结构表征

γ -PGA-L-phe 为 γ -PGA 主链上的 -COOH 与 L-phe 上的 -NH₂ 通过酰胺化反应制得。反应过程中, WSC 可将 -COOH 转换为具有氨基反应活性的酯, 若酯基未能及时发生酰胺化反应, 则将发生水解转变为羧基。图 2 为 γ -PGA 和 γ -PGA-L-phe 的红外谱图。在 γ -PGA 的 FTIR 谱图中, 3280 和 2920 cm⁻¹ 处为 -OH 和 -NH 的特征峰; 1730 cm⁻¹ 处为羧基中 -C=O 的特征峰; 1530 cm⁻¹ 处为 C-N 的特征峰。经 L-phe 改性后, 在 1640 cm⁻¹ 处出现新峰, 该峰为酰胺键上 -C=O 的特征峰, 初步表明 γ -PGA-L-phe 被成功制备。

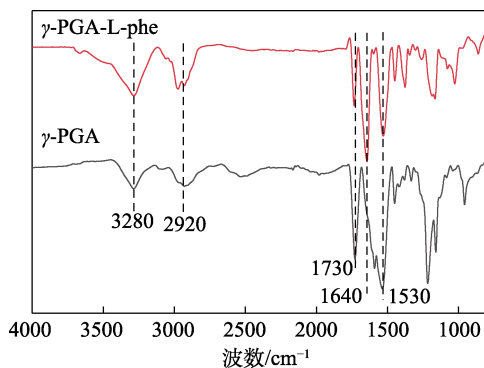


图 2 γ -PGA 和 γ -PGA-L-phe 的 FTIR 谱图
Fig. 2 FTIR spectra of γ -PGA and γ -PGA-L-phe

图 3 为 γ -PGA-L-phe 的核磁共振氢谱。从图 3 可以看出, δ 0.9~1.2 为 L-phe 上酯键末端甲基氢的信号峰; δ 1.5~2.2 为 γ -PGA 主链上亚甲基氢的信号峰; δ 3.0 为 L-phe 上与苯环相连的碳亚甲基上氢的信号峰; δ 4.0 处为 L-phe 上与酯键相连的亚甲基氢的信号峰; δ 4.2~4.4 处为 γ -PGA 主链上与氨基相连的碳上氢的化学位移; δ 4.5 处为 L-phe 上与氨基相连的碳上氢的信号峰; δ 7.1~7.4 为 L-phe 上苯环中氢的信号峰; δ 7.4~7.8 处为 γ -PGA 主链氨基上氢的

信号峰; δ 8.4 处为新生成的酰胺键中氨基上氢的信号峰, 证明了 γ -PGA-L-phe 被成功制备。用 L-phe 上苯环中的氢 (j) 和 γ -PGA 主链上与氨基相连的碳上的氢 (c) 的积分面积之比计算得出 L-phe 对 γ -PGA 的改性率为 79%。

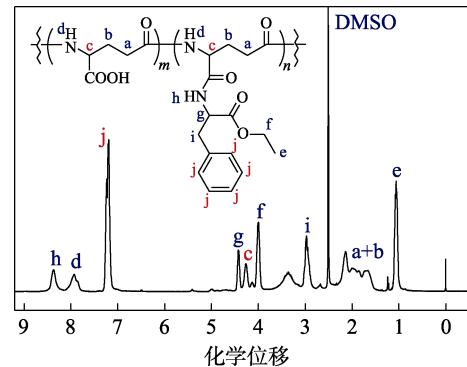


图 3 γ -PGA-L-phe 的 ¹H NMR 谱图
Fig. 3 ¹H NMR spectrum of γ -PGA-L-phe

2.2 胶体粒子的尺寸及形貌表征

随着 NaCl 水溶液的加入, 溶解在 DMSO 中的双亲性 γ -PGA-L-phe 大分子在亲疏水作用下发生自组装形成纳米粒子, 同时对有机防晒剂进行负载, 得到 γ -PGA 防晒纳米粒子。使用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪对 γ -PGA 防晒纳米粒子的粒径及分布进行表征, 结果见图 4。如图 4 所示, 空白纳米粒子的粒径为 (73.3±0.6) nm, 而负载防晒剂的胶体粒子粒径为 (96.1±0.4) nm, 粒径的增大间接表明了纳米粒子对有机防晒剂分子的有效负载。

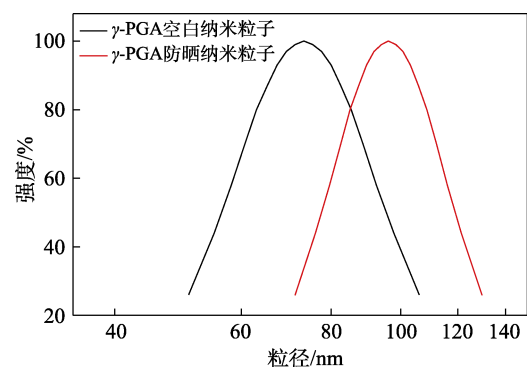
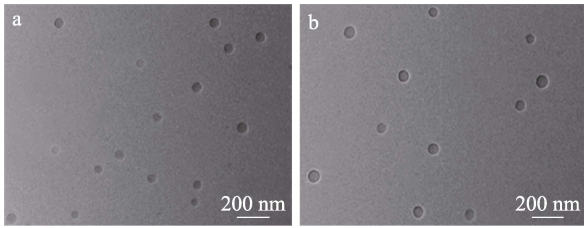


图 4 γ -PGA 空白纳米粒子与 γ -PGA 防晒纳米粒子的粒径分布
Fig. 4 Particle size distribution of γ -PGA blank nanoparticles and γ -PGA sunscreen nanoparticles

进一步使用 TEM 对 γ -PGA 防晒纳米粒子的形貌进行表征, 结果见图 5。如图 5 所示, 胶体粒子呈球形, 且分散较为均匀, 这表明纳米粒子对防晒剂的负载比较均一。与图 5a 空白纳米粒子对比可以看出, 图 5b 中负载有机防晒剂后胶体粒子粒径明显

变大, 这与纳米粒度仪的测定结果一致。然而, 与纳米粒度仪所测粒径相比, TEM 所测粒径较小, 其中未负载防晒剂的胶体粒子粒径约为 60 nm, 负载防晒剂的胶体粒子粒径约为 80 nm。这主要是由于胶体粒子在水溶液中处于溶胀状态, 粒径较大, 当胶体粒子溶液存在于铜网上时, 随着溶剂的挥发, 胶体粒子发生塌陷收缩, 导致测量的粒径偏小。



a— γ -PGA 空白纳米粒子; b— γ -PGA 防晒纳米粒子

图 5 纳米粒子的 TEM 图

Fig. 5 TEM images of nanoparticles

2.3 负载率与负载量测定

为了证明本文采用双亲性 γ -PGA-L-phe 聚合物对有机防晒剂负载策略的通用性, 选用了 AVB、OMC 和 BP-3 3 种比较常见的有机防晒剂作为代表。另一方面, AVB、OMC、BP-3 的紫外最大吸收波长分别在 360、310 和 290 nm 处, 通过三者合理复配可以在 280~400 nm 范围内达到广谱防晒的效果, 实现全方位的紫外防护。但是, 由于 3 种有机防晒剂紫外吸收光谱相互交叉, 无法计算同时负载 3 种防晒剂的纳米粒子的负载率和负载量。为了探究纳米粒子具有最佳负载率和负载量时有机防晒剂与双亲聚合物的质量比, 通过离心法分别测试了纳米粒子对每种防晒剂的负载率和负载量。从图 6 可以看出, 纳米粒子对有机防晒剂的负载量随着有机防晒剂含量的增加而增加。当 AVB、BP-3 和 OMC 3 种防晒剂含量为 40% 时具有最大的负载率, 分别为 78.3%、84.6%、87.9%。因此, 选用此条件制备同时负载 3 种有机防晒剂的 γ -PGA 防晒纳米粒子。

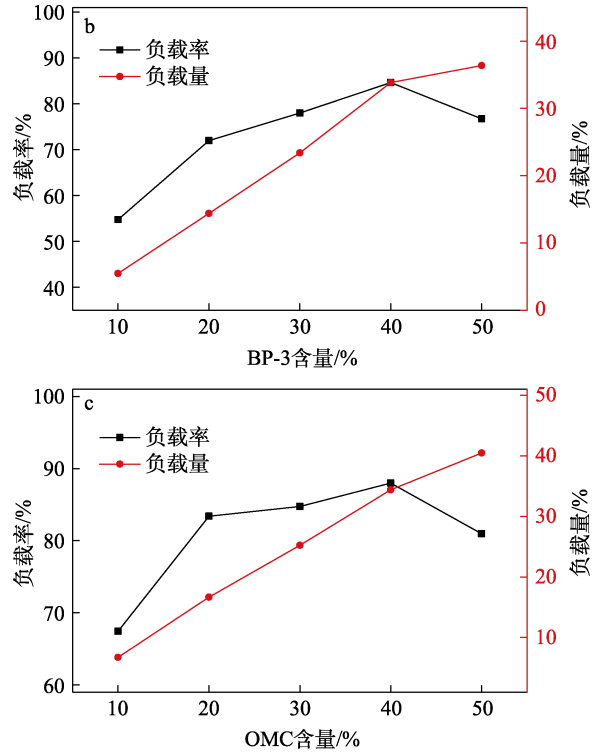
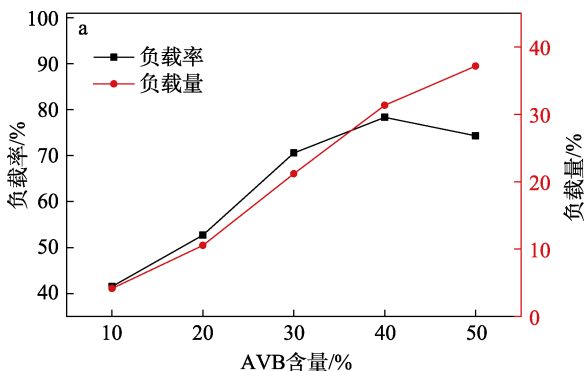
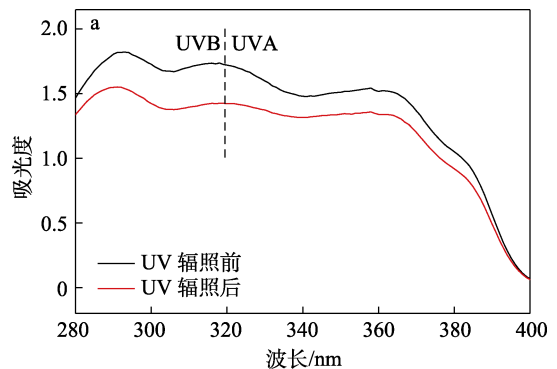


图 6 聚合物纳米粒子对不同含量有机防晒剂的负载量与负载率的影响

Fig. 6 Effects of polymer nanoparticles on loading amount and loading rate of sunscreen with different dosage

2.4 光稳定性及广谱防晒性表征

紫外线辐照前后防晒纳米粒子的紫外吸收曲线见图 7。由图 7 可以看出, 制备得到的防晒纳米粒子可以在 280~400 nm 范围内达到广谱防晒的效果。由图 7a、b 可以看出, 负载对有机防晒剂的紫外线吸收能力影响很小, 聚合物纳米粒子负载的 3 种有机防晒剂在整个 UVA/UVB 波段具有优异的广谱防晒效果。紫外光照射之后, 未负载的 3 种有机防晒剂组合物吸光度在 UVA (320~400 nm) 和 UVB (280~320 nm) 区域分别降低了 12% 和 18%, 而 γ -PGA 防晒纳米粒子的吸光度在 UVA 和 UVB 区域仅降低了 3% 和 4%。



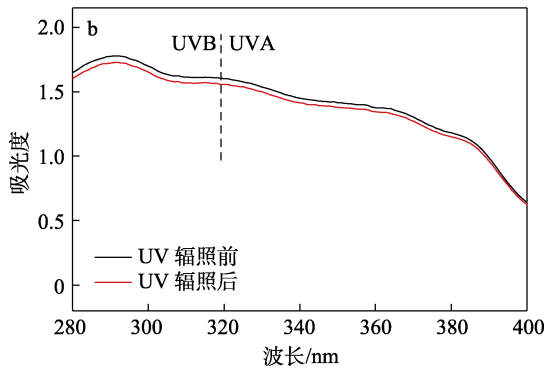


图 7 紫外线辐照前后未负载的防晒剂组合物 (a) 和 γ -PGA 防晒纳米粒子 (b) 的紫外吸收光谱

Fig. 7 UV absorption spectra of unloaded sunscreen composition (a) and loaded γ -PGA sunscreen nanoparticles (b) after UV irradiation

通过 γ -PGA 纳米粒子对有机防晒剂进行负载, 双亲聚合物结构中的苯环可能与有机防晒剂存在相互作用, 且防晒剂被纳米粒子分隔开来, 使得有机防晒剂与相邻分子的相互作用相对受限, 这些作用有效地降低了不利于有机防晒剂发挥作用的光化学反应, 提升了光稳定性。

2.5 皮肤渗透性表征

使用 Franz 扩散池来表征 γ -PGA 纳米粒子对有机防晒剂的负载对皮肤渗透性的影响, 结果如图 8 所示。未负载的有机防晒剂从 2 h 开始通过皮肤组织进入接收器溶液, 且随着时间增长, 接收液中有机防晒剂的浓度显著增大。而 γ -PGA 纳米粒子负载之后, 接收液中有机防晒剂的浓度大大降低。该结果表明, γ -PGA 纳米粒子的负载可以有效降低有机防晒剂的皮肤渗透性, 提升有机防晒剂的使用安全性。

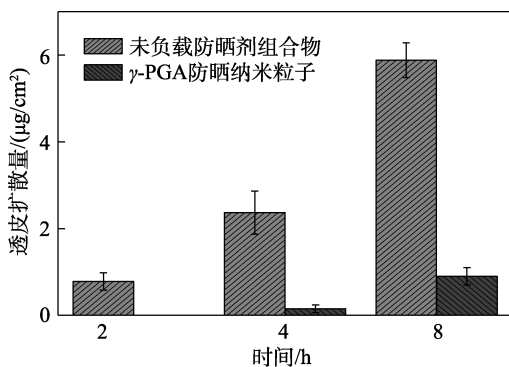


图 8 未负载的防晒剂组合物和 γ -PGA 防晒纳米粒子的透皮扩散量

Fig. 8 Transdermal diffusion amount of unloaded and γ -PGA nanoparticles loaded UV filters

2.6 细胞毒性测试

通过荧光染色法研究不同含量 (10%、30%) 的 γ -PGA 防晒纳米粒子和不同培养时间 (24、48 h) 对 L929 细胞生长状态的影响来表征其细胞毒性。结

果如图 9a 所示。当 L929 细胞与 RPMI-1640 细胞培养液 (阴性对照组) 培养 24 或 48 h 后, 细胞形态较为伸展, 说明此时细胞生长状态良好; 当 L929 细胞与仅添加 DMSO 的培养液 (阳性对照组) 培养 24 或 48 h 后, 细胞形态收缩且数量大大减少, 说明在此条件下细胞生长受到明显限制; 当 L929 细胞与 10% 防晒纳米粒子分散液培养 24 或 48 h 后, 细胞形态与阴性对照组细胞形态相同, 无畸形变化。加入 30% 防晒纳米粒子分散液与加入 10% 防晒纳米粒子分散液时细胞生长状况基本相同。

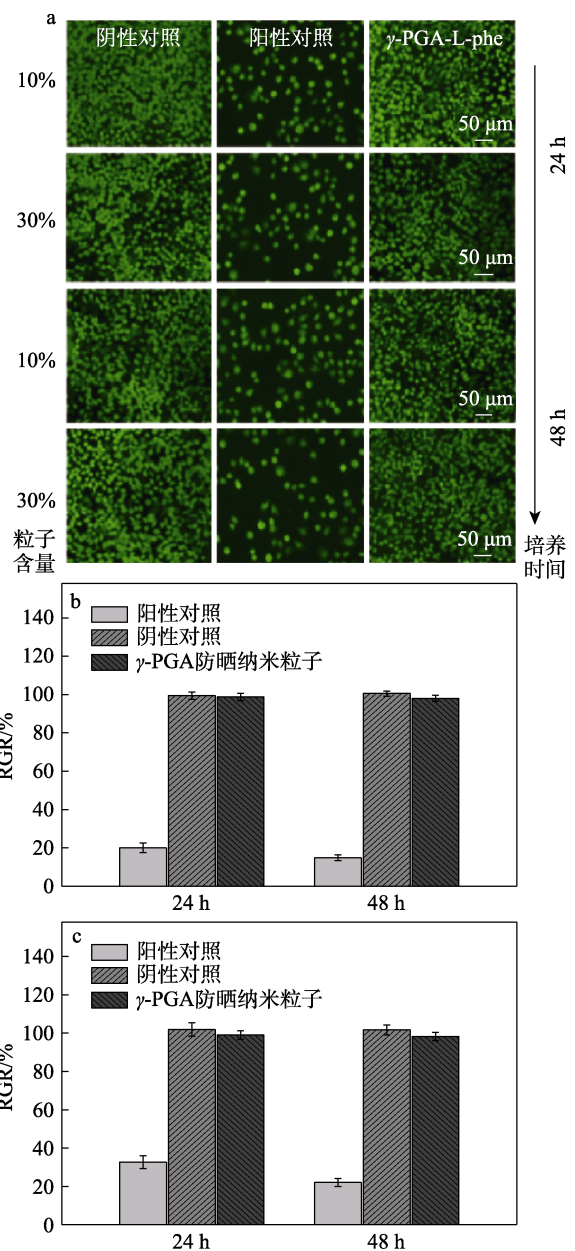


图 9 负载 3 种防晒剂的 γ -PGA 防晒纳米粒子对 L-929 细胞增殖的影响 (a) 及 10% (b)、30% (c) 粒子含量下的细胞活性

Fig. 9 Effect of γ -PGA sunscreen nanoparticles loaded with three UV filters on L-929 cell proliferation (a) and cell activity at 10% (b) and 30% (c) contents

进一步使用 MTT 法^[25]评价细胞活性。图 9b、c 为加入不同含量纳米粒子样品细胞活力值的计算结果。阴性对照组的细胞相对增殖度 (RGR) 为 100%。阳性对照组的 RGR 低于 40%。相比于阴性对照组, 在加入 10% 和 30% 纳米粒子分散液培养 24 和 48 h 后 L929 细胞的 RGR 均 >97%, 这说明 γ -PGA 防晒纳米粒子不会影响细胞增殖, 基本无细胞毒性, 这与图 9a 结果一致。

2.7 防晒指数测试

将未负载的 3 种有机防晒剂组合物以及制备得到的 γ -PGA 防晒纳米粒子应用于防晒霜配方中, 制备两种白色膏状防晒霜。其中, 添加 γ -PGA 防晒纳米粒子制备的防晒霜照片如图 10a 所示, 涂抹后肤感细腻清爽, 无颗粒感, 不假白, 容易成膜。对其防晒指数测试结果如图 10b 所示。使用添加 10% γ -PGA 防晒纳米粒子的防晒霜的 SPF 值可达 75, 明显高于对照组样品。这主要是由于防晒纳米粒子除吸收紫外线之外还具有纳米散射效应, 两者协同作用从而增强了防晒霜的 SPF 值。由图 10 还可以看出, 紫外线照射后两种防晒霜的 SPF 值都降低, 但防晒纳米粒子制备的防晒霜 SPF 降低更少。以上结果表明, 通过 γ -PGA 防晒纳米粒子制备的防晒霜具有更好的紫外防护能力。

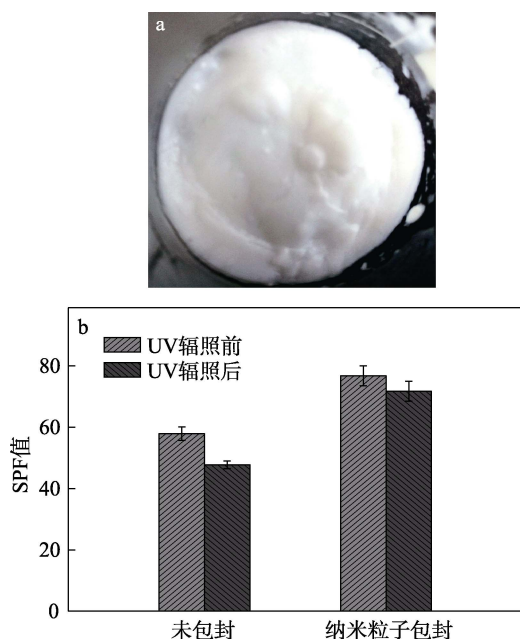


图 10 添加 γ -PGA 防晒纳米粒子制备的防晒霜照片 (a) 及两种防晒霜样品紫外光照射前后 SPF 值 (b)

Fig. 10 Photo of sunscreen prepared by adding γ -PGA sunscreen nanoparticles (a) and SPF value of sunscreen samples after UV irradiation (b)

3 结论

通过 γ -PGA 纳米粒子对 3 种有机防晒剂同时进行了负载, 制备的 γ -PGA 防晒纳米粒子具有广谱防

晒效果, 可在 280~400 nm 范围内提供广谱紫外线防护。紫外辐照后, γ -PGA 防晒纳米粒子的紫外吸光度在 UVA 和 UVB 范围的下降程度分别降低了 3% 和 4%, 提升了有机防晒剂的光稳定性。透皮扩散实验和细胞毒性实验证明, γ -PGA 防晒纳米粒子具有良好的生物安全性。当添加 10% 的 γ -PGA 防晒纳米粒子于防晒霜配方中, 制备的防晒霜的 SPF 值可达 75。本工作制备的 γ -PGA 防晒纳米粒子具有安全性以及良好的紫外防护能力, 可为开发新型防晒体系提供理论依据。

参考文献:

- [1] VELASCO M, SARRUF F, KANEKO T, *et al.* Broad spectrum bioactive sunscreens[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 363(1): 50-57.
- [2] FAN Y P (樊豫萍). Review on efficacy evaluation and future development for sunscreens[J]. *Flavour Fragrance Cosmetic (香精香料化妆品)*, 2013, (4): 49-54.
- [3] QIU X Q, LI Y, QIAN Y, *et al.* Long-acting and safe sunscreens with ultrahigh sun protection factor *via* natural lignin encapsulation and synergy[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2018, 1(5): 1276-1285.
- [4] CAO Z (曹智), ZHANG D J (张道军). Inorganic suncreening agents[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2014, 44(12): 700-705.
- [5] WANG F L (王丰玲), ZHANG Y F (张英锋), MA Z C (马子川). Classification, mechanism and evaluation of sunscreen[J]. *Chemical Education (化学教育)*, 2008, (6): 1-2.
- [6] ZHAO X M (赵小敏), CHEN Z H (陈志华), LI Y N (李亚男), *et al.* The compatibility of UV filters and their influence factors analysis[J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine (中国美容医学)*, 2015, 24(20): 78-82.
- [7] VETTOR M, PERUGINI P, SCALIA S, *et al.* Poly(D, L-lactide) nanoencapsulation to reduce photoinactivation of a sunscreen agent[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2008, 30(3): 219-227.
- [8] QIANG Z (强正). Research progress on encapsulation technology of cosmetics sunscreen[J]. *Flavour Fragrance Cosmetic (香精香料化妆品)*, 2010, (3): 43-45.
- [9] YUAN S C (袁舒畅), KANG Y Y (康园园), YU L L (余林林), *et al.* Preparation and properties of sunscreen microcapsules containing with 3 kinds of ultraviolet absorbents[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2019, 49(2): 92-97.
- [10] LING H (凌慧), ZHENG C (郑成), MAO T Y (毛桃嫣), *et al.* Encapsulation of OMC and BP-3 with biocompatible lipid nanoparticles *via* high pressure homogenization[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities (高校化学工程学报)*, 2018, 32(2): 377-385.
- [11] LI L (李璐), CHENG J (程江), YANG Z R (杨卓如). Study of adsorption and controlled release performance of actives-carrying porous microspheres[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2009, 39(5): 313-316.
- [12] LI S, WANG K, ZHANG Z R, *et al.* Preparation and characterization of porous titania-grafted poly(styrene-divinylbenzene)/maleic anhydride nanocomposite microspheres[J]. *Science China Chemistry*, 2010, 53(3): 605-611.
- [13] WU P, HUANG L N, GUO Y C, *et al.* Effects of the novel poly(methyl methacrylate) (PMMA)-encapsulated organic ultraviolet (UV) filters on the UV absorbance and *in vitro* sun protection factor (SPF)[J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology*, 2014, 131: 24-30.