

姜黄素固体脂质纳米粒的制备及表征

琚 辉, 郝存江*, 尹 飞, 宋丽丽, 陈春林, 肖 婷

天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193

摘 要 **目的:** 制备姜黄素 (Cur) 固体脂质纳米粒 (SLN)。**方法:** 用薄膜超声法制备 Cur-SLN, 以 $m_{\text{Cur}} : m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} : m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} : m_{\text{卵磷脂}} : m_{\text{聚山梨酯-80}}$ 质量浓度、超声时间为考察因素, 以包封率为指标, 用正交试验优选处方, 并考察其粒径分布、Zeta 电位。**结果:** 当 $m_{\text{Cur}} : m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} = 1 : 3$ 、 $m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} : m_{\text{卵磷脂}} = 1 : 2.5$ 、聚山梨酯-80 质量浓度 2.5%、超声时间 12 min 时, 所制得的 Cur-SLN 平均粒径为 (145.6 ± 5) nm, Zeta 电位为 (-31.9 ± 1.5) mV, 包封率为 (97.42 ± 0.39) %, 载药量为 (7.92 ± 0.05) %。**结论:** 采用薄膜-超声法制备 Cur-SLN 可行, 为开发姜黄素新型给药系统提供试验依据。

关键词 姜黄素; 固体脂质纳米粒; 制备; 表征; 薄膜-超声分散法

中图分类号: R283.69 R944.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2010)06-0420-04

Preparation and characterization of curcumin solid lipid nanoparticles

JU Hui, HAO Cun-jiang, YIN Fei, SONG Li-li, CHEN Chun-lin, XIAO Ting

Tianjin Key Laboratory of Chemistry and Analysis of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract **Objective:** To optimize technique for preparing curcumin solid lipid nanoparticles (Cur-SLN) by film-ultrasonic dispersion. **Methods:** The influences of various factors, such as the ratios of curcumin and monostearin, monostearin and lecithin. Taking the concentration of Tween-80 and ultrasonic time (min) as on factors and the entrapment efficiency as index, the optimum formula was selected and particle size distribution and Zeta potential were studied by orthogonal test. **Results:** The optimized preparation conditions were as follows: $m_{\text{Cur}} : m_{\text{monostearin}} = 1 : 3$; $m_{\text{monostearin}} : m_{\text{lecithin}} = 1 : 2.5$; The concentration of Tween-80 was 2.5%; Ultrasonic time was 12 min. The average particle size diameter was (145.6 ± 5) nm; Zeta potential was (-31.9 ± 1.5) mV; Entrapment efficiency was (97.42 ± 0.39) %; Drug loading was (7.92 ± 0.05) %.
Conclusion: It is feasible to prepare Cur-SLN by film-ultrasonic dispersion techniques and the study results provide the test evidence for developing new curcumine drug delivery system.

Key words curcumin (Cur); solid lipid nanoparticles (SLN); preparation; characterization; film-ultrasonic dispersion

姜黄素 (curcumin, Cur) 是姜科姜黄属植物姜黄、莪术、郁金等根茎中分离出的酚类物质, 近年来对 Cur 的实验研究表明, Cur 可以保护正常细胞免受各种不良因素的损伤; 有抗炎、抗氧化、调节免疫功能、抗肿瘤多药耐药等作用, 且具有抗癌谱广, 毒副作用小等优点^[1-5], 是一种具有良好应用前景的抗癌新药。但 Cur 水溶性差, 口服生物利用度低, 体内代谢快, 在体外易被氧化^[6], 这给 Cur 的临床应用带来了一定难度。因此, 需要进一步研制开发 Cur 新剂型, 以提高其生物利用度, 增强

其药理作用。

固体脂质纳米粒 (SLN) 是近年来正在发展的一种新型给药系统, 它作为药物载体综合了含药微乳和脂质体的优点, 可以提高药物的生物利用度、生理相容性好、可控制药物释放及良好的靶向性^[7]。

本实验研制的姜黄素固体脂质纳米粒 (Cur-SLN), 以固态的天然类脂为载体, 将药物包裹于类脂核中^[8], 减少了 Cur 与水分散相及外界环境的接触, 提高了 Cur 的稳定性, 同时解决了 Cur 不易溶于水的难题, 以包封率 (ER) 和载药量 (DL) 为评

收稿日期: 2010-07-06

作者简介: 琚 辉 (1982—), 男, 硕士研究生, 研究方向为纳米载药系统的研究。E-mail: juhui_1@yahoo.cn Tel: (022) 23051250

* 通讯作者 郝存江, 男, 教授, 研究生导师, 主要从事药物制剂研究。E-mail: haocunjiang63@126.com

价指标, 采用单因素实验初选后, 再以正交实验法优选各因素条件, 确定了薄膜-超声法制备姜黄素固体脂质纳米粒的制备工艺, 并对其药剂学性质进行了表征, 可为开发 Cur 新型给药系统提供实验依据。

1 仪器与药品

激光粒度分析仪 NONA-ZS (马尔文公司), 岛津 UV2401PC 型紫外-可见分光光度计 UV-6100 PCS (上海美谱达仪器有限公司), 天平 FA1004N (上海精密科学仪器有限公司), 旋转蒸发器 RE-52A (上海亚荣生化仪器厂), SHZ-(III) 型循环水多用真空泵 (河南省予华仪器有限公司)。

姜黄素 (天津一方科技有限公司, 质量分数 98.0%), 卵磷脂 (北京奥博星生物技术责任有限公司), 单硬脂酸甘油酯 (分析纯, 天津市北辰驿跃化学试剂厂), 葡聚糖凝胶 G-50 (上海蓝季科技发展

有限公司), 二氯甲烷 (天津市江天化工有限公司)。

2 方法与结果

2.1 姜黄素固体脂质纳米粒 (Cur-SLN) 的制备

取处方量的姜黄素、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂溶于一定量的二氯甲烷中, 减压回收溶剂, 使成膜材料在瓶壁形成均匀薄膜。另取聚山梨酯-80 溶液, 置于成膜的烧瓶中, 旋转将膜洗脱, 超声处理得 Cur-SLN 混悬体系, 4℃ 保存备用。

2.2 专属性考察

取空白纳米粒 0.10 mL, 甲醇定容 10 mL 得空白对照溶液; 取 Cur 对照品以甲醇定容 10 mL, 稀释成 2.28 μg/mL 得对照品溶液; 取 0.1 mL Cur-SLN 悬浮液置于 10 mL 量瓶中, 加少量甲醇超声溶解定容, 得 Cur-SLN 待测溶液。由图 1 可见处方辅料对姜黄素紫外-可见吸收测定无影响。

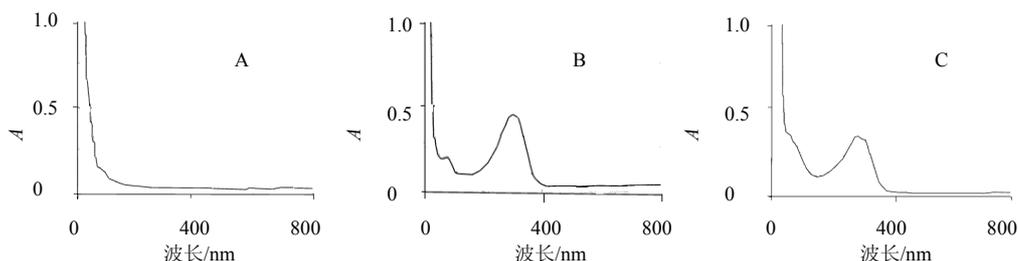


图 1 空白纳米粒(A)、姜黄素对照 (B)、姜黄素固体脂质纳米粒 (C) 的紫外-可见吸收光谱图
Fig. 1 UV-Vis absorption spectra of blank nanoparticles (A), cur control (B), and Cur-SLN (C)

2.3 紫外分光光度法测定 Cur-SLN 中姜黄素的量

精密称取姜黄素对照品, 以无水甲醇为溶剂配制质量浓度为 26.08 μg/mL 储备液, 分别精密吸取 0.1、0.5、0.8、1.0、1.5、2.0 mL 的储备液于 10 mL 棕色量瓶中, 用无水甲醇稀释, 定容。以溶剂为空白于 420 nm 处测定吸光度 (A)。以姜黄素对照品浓度为纵坐标, 吸光度为横坐标, 得到标准曲线为: $C = -0.510 + 6.249 A$ ($r = 1.000, n = 6$)。线性范围为 0.260~5.216 μg/mL。

2.4 ER 和 DL 的测定

移取 Cur-SLN 混悬液 100 μL, 过 Sephadex G-50 凝胶柱, 以纯化水为洗脱液, 收集含纳米粒的洗脱液, 甲醇溶解, 定容 10 mL; 另移取未过柱的 Cur-SLN 混悬液 100 μL, 甲醇溶解, 定容 10 mL; 紫外分光光度法测定姜黄素的量, 计算 ER 和 DL。

$$ER = W_o / W_t$$

$$DL = W_o / W$$

式中 W_o 为被包裹的药量; W_t 为纳米粒混悬液

中总药量; W 为处方中脂质 (单硬脂酸甘油酯和卵磷脂) 量。

2.5 加样回收率试验

分别精密吸取 0.114 mg/mL Cur 对照品溶液 0.1、0.2、0.3 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 各加入 0.5 mL 空白对照溶液, 加甲醇适量, 超声溶解, 室温下甲醇定容。每个浓度重复测定 3 次, 计算平均加样回收率分别为 100.0%、98.8%、100.0%, RSD 分别为 0.15、0.14、0.24 ($n = 3$), 表明本法回收率符合要求。

3 处方优化

3.1 正交试验优化处方

在单因素实验的基础上发现, 药酯比、单硬脂酸甘油酯和卵磷脂比、聚山梨酯质量浓度、超声时间对 ER 和 DL 有较大影响。因此, 选 $m_{cur} : m_{单硬脂酸甘油酯}$ (A)、 $m_{单硬脂酸甘油酯} : m_{卵磷脂}$ (B)、聚山梨酯质量浓度 (C)、超声时间 (D) 为考察因素, 以 ER 为指标, 按 $L_9(4^3)$ 正交表进行试验, 筛选最佳

处方。因素水平见表 1；正交试验结果见表 2；方差分析结果见表 3。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A	B	C /%	D /min
1	1 : 2	1 : 1.5	1.5	11
2	1 : 3	1 : 2.0	2.0	12
3	1 : 4	1 : 2.5	2.5	13

表 2 正交试验结果
Table 2 Results of orthogonal test

试验号	因素				ER /%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	74.7
2	1	2	2	2	84.3
3	1	3	3	3	94.8
4	2	1	2	3	78.2
5	2	2	3	1	93.0
6	2	3	1	2	86.8
7	3	1	3	2	91.7
8	3	2	1	3	87.9
9	3	3	2	1	89.9
K1	84.60	81.53	83.13	85.87	
K2	86.00	88.40	84.13	87.60	
K3	89.83	90.50	93.17	86.97	
R	5.23	8.97	10.03	1.73	

表 3 方差分析
Table 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	均方	F	P
A	44.04	2	9.54	19.00	$P < 0.10$
B	131.96	2	28.59	19.00	$P < 0.05$
C	183.27	2	39.70	19.00	$P < 0.05$
D	4.616	2	1.00	19.00	$P > 0.10$
误差	4.62	2			

由表 2、3 可知，各因素影响的主次顺序是 $C > B > A > D$ ，说明聚山梨酯-80 质量浓度、单硬脂酸甘油酯和卵磷脂的比例、药脂比、超声时间对 ER 的影响依次减弱。在实验条件研究范围，B、C 对实验结果有显著影响 ($P < 0.05$)，而 A、D 对实验结构无显著影响 ($P > 0.05$)。综合分析以上结果，考虑 DL 的影响，初步确定最佳处方

组合为 A2B3C3D2，即 $m_{\text{cur}} : m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} = 1 : 3$ 、 $m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} : m_{\text{卵磷脂}} = 1 : 2.5$ 、聚山梨酯质量浓度 2.5%、超声时间 12 min。

3.2 优化处方的验证

按照优化处方的配比，制备 3 批姜黄素固体脂质纳米粒，并测定 ER、DL，试验结果如表 4。

表 4 验证试验
Table 4 Test of verification

批号	ER /%	DL /%
1	97.43	7.91
2	97.80	7.98
3	97.03	7.88
$\bar{x} \pm s$	97.42 ± 0.39	7.92 ± 0.05

4 Cur-SLN 粒径及 Zeta 电位考察

取新鲜制备的 Cur-SLN 混悬液，加水稀释至适当浓度，测定其粒径及 Zeta 电位。结果所制得的纳米粒平均粒径为 (145.6 ± 5) nm，且粒径分布较窄，基本呈正态分布，见图 2。Zeta 电位平均值为 (-31.9 ± 1.5) mV，见图 3，Zeta 电位结果表明，本实验室制备的 SLN 的稳定性良好^[9-12]。

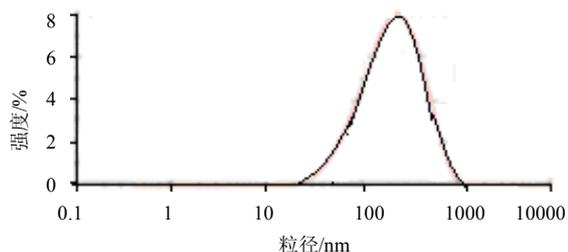


图 2 Cur-SLN 的粒径分布图

Fig.2 Particle size distribution of Cur-SLN

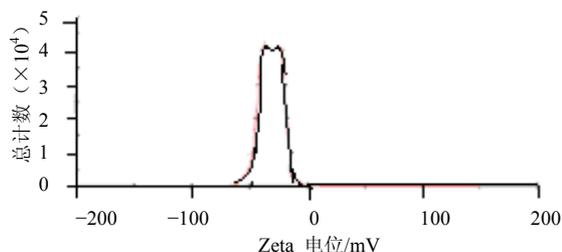


图 3 Cur-SLN 的 Zeta 电位分布图

Fig.3 Zeta potential distribution of Cur-SLN

5 讨论

制备固体脂质纳米粒的方法很多，主要有薄膜分散法、逆相蒸发-乳化分散法、高压乳匀法、微乳

法等。微乳法制备的 SLN *ER* 和 *DL* 均较低, 高压乳匀法适合工业生产不适合实验室制备, 逆相蒸发-乳化分散法需要将类脂加热到熔点以上, 可能对 Cur-SLN 的稳定性有影响, 本实验采用薄膜-超声分散法制备 Cur-SLN, 简便易行, 并通过正交试验得到了制备较好的制备处方。

本实验处方选用 $m_{\text{cur}} : m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} = 1 : 3$ 、 $m_{\text{单硬脂酸甘油酯}} : m_{\text{卵磷脂}} = 1 : 2.5$ 、聚山梨酯质量浓度 2.5%、超声 12 min, 在实验室条件下制备的 Cur-SLN 平均粒径 (145.6 ± 5) nm, Zeta 电位 (-31.9 ± 1.5) mV, *ER* 为 (97.42 ± 0.39) %, *DL* 为 (7.92 ± 0.05) %, 取得了较好的实验结果。同时还有许多问题有待解决, 如何进一步的提高 *DL*, 解决制备过程中的溶剂残留, SLN 在体内的释放机制等。

参考文献

- [1] 李建新, 刘晓城. 姜黄素调节小鼠免疫功能的实验研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2005, 14 (2): 132-135.
- [2] 王晓庆, 梁中琴, 顾振纶. 姜黄素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中草药, 2004, 35 (3): 347-349.
- [3] 余美荣, 蒋福升, 丁志山. 姜黄素的研究进展[J]. 中草药, 2009, 40 (5): 828-831.
- [4] Bengmark S, 刘青. 植物源保护剂姜黄素的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24 (1): 22-31.
- [5] 雷宇, 李森林, 林霖, 等. 活血化瘀类中药逆转多药耐药作用的研究概况[J]. 药物评价研究, 2010, 33 (2): 135-138.
- [6] Gao C X, Ding Z S, Liang B B, *et al.* Study on the effects of curcumin on angiogenesis [J]. *J Chin Med Mater*, 2003, 26 (7): 499-502.
- [7] 许海玉, 张铁军, 赵平, 等. 中药缓控释制剂的研究现状及研发思路[J]. 药物评价研究, 2010, 33 (1): 30-35.
- [8] 胡连栋. 维甲酸固体脂质纳米粒的研究[D]. 沈阳药科大学, 2005.
- [9] Zimmermann E, Muller R H. Electrolyte and pH-stabilities of aqueous solid lipid nanoparticle (SLN) dispersions in artificial gastrointestinal media [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2001, 52 (2): 203.
- [10] Freitas C, Muller R H. Stability determination of solid lipid nanoparticles (SLN) in aqueous dispersion after addition of electrolyte [J]. *J Microencap*, 1999, 16 (1): 59.
- [11] Souto E B, Muellet R H. Investigation of the factors influencing the in-corporation of clotrimazole in SLN and NLC prepared by hot high-pressure homogenization [J]. *J Microencap*, 2006, 23 (4): 377-388.
- [12] Yuan H, Huang L F, Du Y Z, *et al.* Solid lipid nanoparticles prepared by solvent diffusion method in a nanoreactor system [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2008, 61 (2): 132-137.

中草药杂志社 4 种期刊为允许刊载处方药广告的

第一批医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知, 中草药杂志社编辑出版的《**中草药**》、Chinese Herbal Medicines (CHM)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4 本期刊作为第一批医药专业媒体, 允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话: (022)27474913 23006821 传真: 23006821 联系人: 陈常青

网址: www.中草药杂志社.中国; www.tiprpress.com E-mail:zcy@tiprpress.com