

· 药剂与工艺 ·

黄芩苷-血根碱离子对壳聚糖纳米粒的制备及表征

赵 静^{1,2}, 曾建国^{1,2*}, 邹剑锋¹, 刘德明¹, 肖 俐³, 徐 丽³

1. 湖南农业大学, 湖南 长沙 410128

2. 湖南省中药提取工程研究中心, 湖南 长沙 410331

3. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 以离子凝胶法制备黄芩苷-血根碱离子对壳聚糖纳米粒 (BSI-CS-NPs)。方法 以单因素为主要考察方法, 筛选最佳处方和制备工艺; 采用透射电子显微镜 (TEM) 观察 BSI-CS-NPs 的形态, 激光粒度分析仪测定粒径大小和 Zeta 电位, HPLC 法检测包封率和载药量。结果 所制 BSI-CS-NPs 外观圆整, 粒度分布均匀, 平均粒径为 326.4 nm, Zeta 电位为 45.7 mV, 包封率为 68.73%, 载药量为 26.68%。相比黄芩苷-血根碱离子对原料药, BSI-CS-NPs 2 h 的药物累积释放率减少了约 36.51%, 12 h 累积释放率为 92.29%。结论 离子凝胶法适用于 BSI-CS-NPs 的制备, 且具有缓释性能。

关键词: 黄芩苷-血根碱离子对化合物; 壳聚糖; 纳米粒; 离子凝胶法; 缓释

中图分类号: R283.6; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0676-07

Preparation and characterization of baicalin-sanguinarine ion-pair chitosan nanoparticles

ZHAO Jing^{1,2}, ZENG Jian-guo^{1,2}, ZOU Jian-feng¹, LIU De-ming¹, XIAO Li³, XU Li³

1. Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. Research Center of Herb Extract Engineering, Changsha 410331, China

3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To prepare chitosan nanoparticles loading baicalin-sanguinarine ion-pair (BSI-CS-NPs) by ionic gelation method. **Methods** Based on the results of single factor experiments, four factors affecting the formulation were optimized by orthogonal design. The diameters and the Zeta potentials were measured by laser particle size analyzer. Transmission electron microscope (TEM) was used to observe the particle shapes, and HPLC was used to determine the entrapment efficiency and loading rate. **Results** The mean particle size was found to be 326.4 nm with a narrow particles distribution of polydispersity index. The Zeta potential of the optimized method-loaded chitosan nanoparticles was 45.7 mV, the drug entrapment efficiency was 26.68%, and the loading rate was 68.73%. The drug release degree of BSI-CS-NPs decreased about 36.51% in 2 h compared with BSI solution and the total drug release degree in 12 h was 92.29% with the sustained releasing behavior. **Conclusion** The method of ionic gelation is appropriate for the preparation of BSI-CS-NPs, and the BSI-CS-NPs have sustained releasing effect.

Key words: baicalin-sanguinarine ion-pair (BSI); chitosan (CS); nanoparticles (NPs); ionic gelation method; release

黄芩苷-血根碱离子对化合物 (baicalin-sanguinarine ion-pair, BSI) 是由黄芩苷 (baicalin) 和血根碱 (sanguinarine) 通过离子键合成的一类新型化合物^[1]。BSI 具有黄芩苷和血根碱的性质, 且比黄芩苷具有更强的抗菌活性, 有广阔的应用前景^[2]。

但 BSI 较差的水溶性一直制约其生物利用度, 因此本研究将其制备成纳米药物, 以期提高其生物利用度。壳聚糖 (chitosan, CS) 是一种天然的高分子化合物, 由于可降解、低毒, 并具有良好的生物相容性, 近年来作为载体被广泛地应用于纳米粒给药系

收稿日期: 2011-10-25

基金项目: 中比药物植物资源利用与作物病虫害防控新技术合作研究 (2010DFA 32810)

作者简介: 赵 静 (1987—), 女, 湖南岳阳人, 在读硕士研究生, 研究方向为中药资源与开发。Tel: 15084879201 E-mail: xiaosaruli@126.com

*通讯作者 曾建国 Tel/Fax: (0731)84686560 E-mail: ginkgo@world-way.net

统^[3-6]。本实验主要研究壳聚糖作为载体制备黄芩苷-血根碱离子对化合物壳聚糖纳米粒(BSI-CS-NPs)的工艺及改进,并对BSI-CS-NPs进行质量评价,为进一步的细胞学和药效学研究提供理论依据。

1 仪器与材料

JOEL—1230 透射电子显微镜、JOEL—6380LV 扫描电子显微镜(日本株式会社),超高效液相色谱(美国 Waters 公司),DF—101S 集热式磁力搅拌器(金坛市晶玻实验仪器厂);Z323 K 冷冻离心机(Hermle 公司);冷冻干燥机(美国 VirTis 公司);激光粒度分析仪(英国 Malvern 公司)。

BSI(批号 2010729,质量分数 97.99%,湖南美可达生物资源有限公司),壳聚糖(CS)、三聚磷酸钠(TPP)购于国药集团化学试剂有限公司,NaOH(广东光华化学厂有限公司),乙酸(长沙安泰精细化工实业有限公司),盐酸、甲醇(分析纯)。

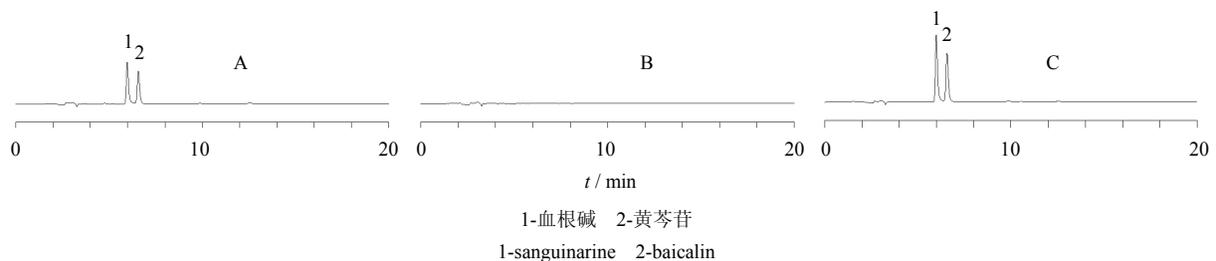


图1 BSI 对照品(A)、空白壳聚糖纳米粒(B)和 BSI-CS-NPs(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of BSI reference substance (A), blank CS-NPs (B), and BSI-CS-NPs (C)

2.1.3 线性关系考察 精密移取储备液 200、400、600、800、1 000、1 500 μL 于 10 mL 量瓶中,用 A 溶剂定容。虽然液相检测 BSI 分别出现黄芩苷和血根碱两种成分的色谱峰,但大量实验表明,其峰面积比是一定的,因此可以用 BSI 质量浓度对其中任意一种成分(本实验选择血根碱)的峰面积进行线性回归,得到以质量浓度(X)为横坐标,峰面积为纵坐标(Y)的回归方程 $Y=10\,034 X+4\,299.7$, $r=0.999\,0$;结果表明 BSI 在 4~30 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 精密移取 1、2、3 mL BSI-CS-NPs 乳液,用 A 溶剂定容于 10 mL 量瓶中,在相同的液相条件下,1 d 内每隔 2 h 测定 1 次,计算日内精密度;每天于同一时间对样品进行检测,连续测定 5 d,计算日间精密度。测得日内精密度的 RSD 分别为 0.742%、0.513%、0.268%,日间精密度的 RSD 分别为 0.980%、0.537%、0.469%。

2.1.5 稳定性试验 精密移取 1、2、3 mL BSI-CS-

2 方法与结果

2.1 检测方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ 柱(250 mm \times 4.60 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.5% 磷酸水溶液(30:70),体积流量 0.8 mL/min,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,检测波长 270 nm,进样量 5 μL 。

2.1.2 专属性考察 精密称取 BSI 2 mg,用甲醇定容于 10 mL 量瓶中,即得储备液。精密移取 800 μL 储备液于 10 mL 量瓶中,用 0.1 mol/L HCl-甲醇(1:1, A 溶剂)定容,得到 16 $\mu\text{g/mL}$ 的 BSI 溶液。移取 BSI-CS-NPs 空白乳液 2 mL,用 A 溶剂定容到 10 mL 量瓶中,为空白对照液。移取 BSI-CS-NPs 乳液 2 mL,用 A 溶剂定容到 10 mL 量瓶中,为 BSI-CS-NPs 样品溶液。按照上述液相条件进样测定,结果表明,辅料对 BSI-CS-NPs 样品中 BSI 的测定无干扰,色谱图见图 1。

NPs 乳液,用 A 溶剂定容于 10 mL 量瓶中,在相同的液相条件下,于 1、3、6、9、12 h 分别进样检测,测得血根碱峰面积的 RSD 分别为 0.860%、0.455%、0.461%,说明 BSI-CS-NPs 供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.6 重现性试验 精密移取 1、2、3 mL BSI-CS-NPs 乳液,用 A 溶剂定容于 10 mL 量瓶中,分别配成不同质量浓度的平行样品 5 份,在相同的液相条件下测定,测得 3 种质量浓度的 RSD 分别为 0.650%、0.661%、0.311%。

2.1.7 回收率试验 取低、中、高(8、12、16 $\mu\text{g/mL}$)质量浓度的 BSI 样品溶液分别加入到空白壳聚糖纳米粒中,用 A 溶剂定容,在液相条件下计算回收率。测得其平均回收率分别为 100.128%、100.986%、100.396%,RSD 分别为 0.681%、0.507%、0.168%。

2.2 BSI-CS-NPs 的制备与表征

2.2.1 BSI-CS-NPs 的制备 将 CS 溶解于 50 mL 体积分数为 2% 的醋酸水溶液中,制得 2 mg/mL CS 溶

液, 将 10 mg BSI 用 10 mL 乙醇溶解, 缓慢滴入 CS 溶液中, 以 1 000 r/min 转速搅拌, 加完 BSI 后继续搅拌 10 min, 用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 5。将 20 mL 1 mg/mL TPP 溶液以 2 滴/s 加入 CS 溶液中, 以 1 000 r/min 转速搅拌, 加完 TPP 后继续搅拌 10 min, 即得 BSI-CS-NPs 乳液。

2.2.2 粒径及 Zeta 电位测定 取适量 BSI-CS-NPs 乳液, 加水稀释 10 倍后, 用激光粒度分析仪测定粒径及 Zeta 电位。

2.2.3 透射电镜观察形态 取少量 BSI-CS-NPs 乳液滴在铜网上, 真空干燥后用透射电子显微镜观察纳米粒的形态, 进行形态测定。

2.2.4 BSI-CS-NPs 包封率测定 精密移取 2 mL BSI-CS-NPs 乳液用 A 溶剂定容于 10 mL 量瓶中, 在相同的液相条件下测定样品质量浓度 ($\rho_{乳}$); 移取 BSI-CS-NPs 冷冻离心 (10 000 r/min, 4 °C) 后的上清液 2 mL, 用 A 溶剂定容于 10 mL 量瓶中, 依法测定样品质量浓度 ($\rho_{上}$), 计算包封率。

$$\text{包封率} = (\rho_{乳} - \rho_{上}) / \rho_{乳}$$

2.2.5 BSI-CS-NPs 载药量测定 称取一定量经冷冻干燥后的 BSI-CS-NPs 冻干粉, 其质量用 $m_{纳米粒}$ 表示, 用 A 溶剂定容到 10 mL 量瓶中, 依法测定, 根据回归方程计算 BSI 质量 ($m_{药}$), 计算载药量。

$$\text{载药量} = m_{药} / m_{纳米粒}$$

2.3 BSI-CS-NPs 制备工艺优化

2.3.1 单因素考察 综合文献报道^[7], 初步设定 CS 质量浓度为 2 mg/mL, TPP 质量浓度为 1 mg/mL, CS 溶液 pH 值调节为 5, TPP 溶液 pH 值为 9, BSI 投药量为 10 mg, 转速为 1 000 r/min。

(1) CS 溶液 pH 值的影响: 用 1 mol/L NaOH 调节 CS 溶液的 pH 值分别至 3、4、5、6, 其余条件不变, 制备 BSI-CS-NPs 乳液, 计算得出其 BSI 包封率分别为 54.44%、63.20%、69.65%、68.32%; 可知 CS 溶液的 pH 值对 BSI-CS-NPs 的包封率影响较大。

(2) TPP 溶液 pH 值的影响: 分别用 1 mol/L HCl 调节 TPP 溶液的 pH 值至 8、9、10、11, 其余条件不变, 制备 BSI-CS-NPs 乳液, 计算得出其 BSI 包封率分别为 67.92%、67.04%、72.86%、68.21%; 可知 TPP 溶液 pH 值对 BSI-CS-NPs 的包封率影响不大, 因此选择 TPP 溶液的 pH 值为 9, 不用调节 pH 值。

(3) 转速的影响: 分别用 200、500、1 000、1 500

r/min 搅拌, 其余条件不变, 制备 BSI-CS-NPs 乳液, 计算得到其 BSI 包封率为 60.13%、64.55%、70.17%、72.14%, 可知转速对 BSI-CS-NPs 的包封率影响不大, 但转速太快容易使 BSI-CS-NPs 乳液溢出, 综合考虑, 选择转速为 1 000 r/min。

(4) 投药量的影响: 分别投入 BSI 5、10、15、20 mg, 其余条件不变, 制备 BSI-CS-NPs 乳液, 计算得到其 BSI 包封率为 49.24%、68.13%、72.46%、73.82%, 可知投药量对 BSI-CS-NPs 的包封率影响较大。

(5) CS 与 TPP 质量浓度比的影响: CS 是阳离子聚电解质, 可与 TPP 提供的聚阴离子相互作用, 使 CS 发生分子内和分子间交联, 从而生成 CS 纳米粒^[8]。TPP 与 CS 分子间的交联是凝胶化过程的关键, 因此纳米粒的形成只有在特定的 CS 和 TPP 质量浓度范围内发生。当 CS 和 TPP 质量浓度过低或过高时, 前者无法形成纳米粒, 后者凝聚过度而产生凝絮, 只有在 CS 质量为 75~125 mg 和 TPP 质量为 10~30 mg 时, 即 CS 与 TPP 质量浓度比为 4:1~7:1 时可观察到明显带乳光的纳米粒胶体混悬液 (图 2)。

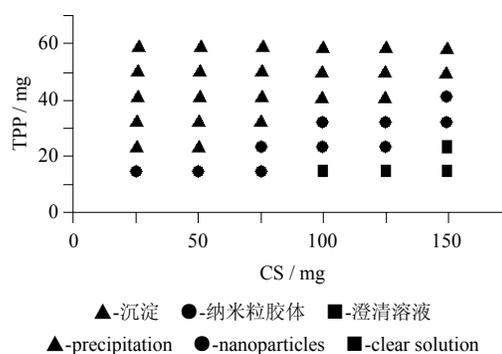


图 2 壳聚糖纳米粒形成区域图

Fig. 2 Scope of chitosan nanoparticles formation

2.3.2 正交试验 单因素考察结果显示 CS 质量 (A)、TPP 质量 (B)、BSI 投药量 (C)、CS 溶液 pH 值 (D) 对 BSI-CS-NPs 的包封率的影响较大, 因此按照 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验; 以包封率、载药量和粒径为考察指标, 优化处方工艺。将包封率和载药量的最大值定为 1, 粒径最小值设为 1, 计算相应得分 [包封率、载药量指标隶属度 = (指标值 - 指标最小值) / (指标最大值 - 指标最小值); 粒径指标隶属度 = 1 - (指标值 - 指标最小值) / (指标最大值 - 指标最小值); 综合评分 = 包封率隶属度 + 载药量隶属度 + 粒径隶属度]。由于各指标重要性相当, 因此

将包封率、载药量和粒径的权重系数都设为 1。以此为基础进行数据处理和方差分析。结果见表 1、2。

极差 R 反应各因素对指标影响程度, R 越大, 影响程度越大。由表 1、2 可知, 本试验中 4 个因素 R 值大小排列综合来说为 $D > B > C > A$; 说明 CS 溶液 pH 值的影响最大, TPP 质量浓度和投药量影

响其次, 而 CS 质量浓度的影响最小。方差分析结果表明相对于因素 A, 因素 D 具有极显著影响 ($P < 0.01$), 因素 B、C 具有显著影响 ($P < 0.05$)。综合分析以上结果, 初步确定最佳处方组合为 $A_2B_2C_3D_1$, 即壳聚糖用量 100 mg, TPP 用量为 20 mg, 投药量为 15 mg, CS 溶液 pH 为 4。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A / mg	B / mg	C / mg	D	包封率 / %	载药量 / %	粒径 / nm	综合评分
1	75 (1)	10 (1)	5 (1)	4 (1)	51.47	22.25	196.1	2.00
2	75 (1)	20 (2)	10 (2)	5 (2)	70.72	14.33	759.2	1.32
3	75 (1)	30 (3)	15 (3)	6 (3)	69.21	9.24	800.0	1.00
4	100 (2)	10 (1)	10 (2)	6 (3)	45.47	17.49	528.6	1.07
5	100 (2)	20 (2)	15 (3)	4 (1)	68.73	26.68	326.4	2.50
6	100 (2)	30 (3)	5 (1)	5 (2)	55.15	2.69	494.1	0.80
7	125 (3)	10 (1)	15 (3)	5 (2)	78.19	14.00	691.1	1.65
8	125 (3)	20 (2)	5 (1)	6 (3)	60.93	12.76	717.5	1.03
9	125 (3)	30 (3)	10 (2)	4 (1)	70.92	9.29	564.5	1.44
K_1	1.44	1.57	1.28	1.98				
K_2	1.45	1.62	1.28	1.26				
K_3	1.37	1.08	1.72	1.03				
R	0.03	0.18	0.15	0.32				

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

误差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
B	0.059	2	0.029	48.19	$P < 0.05$
C	0.043	2	0.021	34.93	$P < 0.05$
D	0.163	2	0.082	133.68	$P < 0.01$
A(误差)	0.001	2	0.001		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

2.4 优化工艺的验证试验

按照优选的工艺进行验证试验, 重复 3 次, 结果包封率为 $(68.73 \pm 0.26)\%$, 载药量为 $(26.68 \pm 0.12)\%$, 粒径为 (326.4 ± 7.2) nm, Zeta 电位为 (45.7 ± 0.36) mV。

2.5 BSI-CS-NPs 质量控制

2.5.1 外观形状 本品为蛋黄色, 稳定、均匀、有乳光的乳液。

2.5.2 透射电镜观察 按照优化后的处方制备 BSI-CS-NPs 乳液, 取适量乳液滴在铜片上, 真空干燥后用透射电镜观察, BSI-CS-NPs 的形态为均一的球形实体粒子, 见图 3。

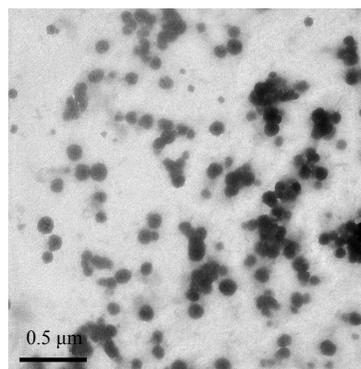


图 3 壳聚糖纳米粒透射扫描图

Fig. 3 Transmission electron microphotography of BSI-CS-NPs

2.5.3 粒径测定 经测定, BSI-CS-NPs 粒径为 326.4 nm, 多分散指数 (PDI) 为 0.374, 见图 4。粒径比透射电镜观察结果相差较大。其原因应是激光粒度分析仪的工作原理是利用颗粒对光的散射现象, 即大颗粒产生的散射较小, 小颗粒产生的散射角大的原理测量分体样品的粒度分布, 所得到的数据是一个统计学的结果。所以即使纳米粒轻度粘连也会给粒度分析仪的测定结果带来较大的误差^[9]。

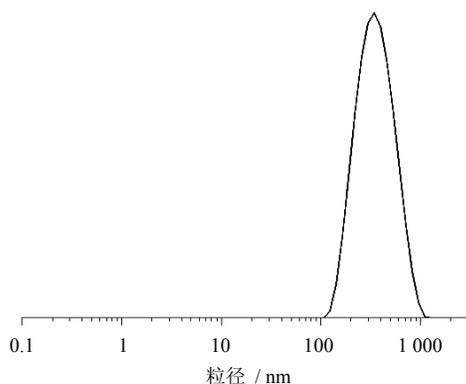


图 4 BSI-CS-NPs 粒度分布

Fig. 4 Distribution of BSI-CS-NPs particle size

2.5.4 Zeta 电位检测 经测定, BSI-CS-NPs 的 Zeta 电位为 45.7 mV, 见图 5。分子或分散粒子越小, Zeta 电位 (正或负) 越高, 体系越稳定, 即溶解或分散可以抵抗聚集。反之, Zeta 电位 (正或负) 越低, 越倾向于凝结或凝聚, 即吸引力超过了排斥力, 分散被破坏而发生凝结或凝聚。Zeta 电位一般在 ±40~±60, 说明乳液有较好的稳定性, 因此可以说明 BSI-CS-NPs 稳定。

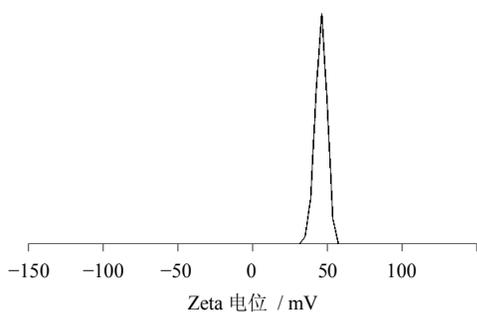


图 5 BSI-CS-NPs Zeta 电位

Fig. 5 Zeta potential of BSI-CS-NPs

2.6 体外释放

2.6.1 BSI-CP-NPs 体外释放试验 以 0.1% 聚山梨酯 80 的生理盐水作为释放介质, 取 BSI-CS-NPs 溶液 10 mL 于透析袋中, 另加入 5 mL 释放介质, 用透析夹夹紧。将透析袋加入含有 150 mL 释放介质的烧杯中, 置于 37 °C 恒温振荡箱中, 以 100 r/min 的转速振荡, 每隔 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、10.0、12.0 h 取 5 mL 透析液, 并及时补充 5 mL 释放介质以保证其体积不变。

2.6.2 体外释放曲线 BSI-CS-NPs 的释放曲线见图 6, 可分为突释和缓释两个阶段。突释阶段 BSI-

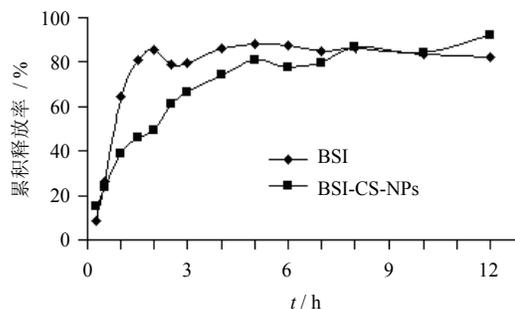


图 6 BSI-CS-NPs 与 BSI 的体外释放曲线

Fig. 6 Released curves *in vitro* of BSI-CS-NPs and BSI

CS-NPs 累积释放率在 1 h 内达到 38.6%; 缓释阶段 BSI-CS-NPs 释药持续时间长, 通过体外释放试验结果显示, CS 纳米粒有明显的缓释作用, 12 h 累积释放率 92.29%, 而 BSI 在 2 h 的累积释放率就已达 85.85%。

$$\text{BSI-CS-NPs 第 } n \text{ 小时的累积释放率} = (C_n \times 150 + \sum_{i=1}^{n-1} C_{n-1} \times 5) / \text{样品量}$$

C_n 和 C_{n-1} 分别代表第 n 和第 $n-1$ 个取样点释放液的质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), 累积释放度代表累积到第 n 个取样点的药物释放量相对于药物总量的百分数, 样品量为所含药物总量

2.6.3 释放方程拟合 分别对壳聚糖纳米粒的释放部分按照零级、一级、Higuchi 方程拟合, 结果见表 3。拟合结果说明壳聚糖纳米粒的体外释放规律符合一级动力学方程。

表 3 释放曲线结果拟合表

Table 3 Fitting of release curve

拟合模型	拟合方程	R^2
零级方程	$Q=0.0625t+0.3978$	0.7582
一级方程	$Q=0.2273 \ln t+0.4404$	0.9764
Higuchi 方程	$Q=0.3797t^{1/2}$	0.9479

2.7 BSI-CS-NPs 冻干粉的制备

2.7.1 BSI-CS-NPs 冻干粉的制备 取 BSI-CS-NPs 乳液冷冻离心 (10 000 r/min, 4 °C), 离心后取沉淀用蒸馏水分散后再次离心, 所得到的沉淀经 -80 °C 预冷冻 12 h 后, 冷冻干燥 24 h。得到 BSI-CS-NPs 冻干粉, 密封备用。

2.7.2 BSI-CS-NPs 冻干粉的评价指标

- (1) 外观: 可维持冻干前体积, 不塌陷, 不萎缩, 表面光洁, 可整块脱落但不散碎。
- (2) 色泽: 色泽均匀, 无花斑、质地细腻。
- (3) 再分散性: 取冻干品, 加注射用水 1.0 mL,

轻摇可迅速分散均匀。

(4) 粒径和 Zeta 电位: 稀释 10 倍后, 由激光粒度分析仪测定。

2.7.3 BSI-CS-NPs 冻干保护剂的选择 将葡萄糖、甘露醇、蔗糖和海藻糖分别配成 20% 的溶液, 加入 BSI-CS-NPs 乳液中, 经 -80 °C 预冷冻 12 h 后进行冷冻干燥, 得到 BSI-CS-NPs 冻干粉。以外观、色泽、再分散度以及粒径和 Zeta 电位为指标选择较优保护剂 (外观和色泽最高定为 5 分, 总分为外观和色泽各因素相加, 下同)。

从外观可以看出, 未加保护剂的乳液有严重的萎缩现象, 而不论是外观、色泽, 蔗糖作为保护剂的冻干粉都优于其他 3 种保护剂, 其次是海藻糖、甘露醇以及葡萄糖。而分散效果也是蔗糖最优, 其粒径变化最小, 其次是海藻糖、甘露醇以及葡萄糖

(表 4)。因此, 选择蔗糖为冻干保护剂。

2.7.4 BSI-CS-NPs 冻干保护剂质量分数确定 分别配制 0.1%、1%、5%、10%、15%、20%、30% 蔗糖溶液加入 BSI-CS-NPs 乳液中, 经 -80 °C 预冷冻 12 h 后进行冷冻干燥, 得到 BSI-CS-NPs 冻干粉, 以外观、色泽、再分散度以及粒径和 Zeta 电位为指标选择较优保护剂的质量分数, 结果见表 5。从外观可以看出, 未加保护剂的乳液有严重的萎缩现象, 随着蔗糖质量分数的增加, 萎缩现象渐渐消失又逐渐出现, 可能是由于蔗糖质量分数的增加起到很好的支架作用, 使萎缩现象渐渐消失, 但蔗糖质量分数太高, 由于其较强的吸湿作用, 使样品容易萎缩; 但分散时间则随着蔗糖质量分数增加越来越少。综合考虑, 选择 10% 蔗糖为 BSI-CS-NPs 的最佳冻干保护剂。

表 4 不同冻干保护剂对 BSI-CS-NPs 冻干粉的影响

Table 4 Influence of different lyoprotectant on BSI-CS-NPs freeze-dried powder

保护剂	外观			色泽	外观与色泽总分	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV	再分散时间 / s
	颜色	萎缩与否	光洁程度					
乳液	1	1	1	1	4	956.1	11.3	不溶
甘露醇	4	4	3	3	14	561.5	35.2	8
蔗糖	5	5	5	4	19	398.2	40.5	3
海藻糖	4	4	4	4	16	454.2	37.8	5
葡萄糖	3	3	2	3	11	598.7	32.3	8

表 5 不同质量分数蔗糖对 BSI-CS-NPs 冻干粉的影响

Table 5 Influence of sucrose at different concentrations on BSI-CS-NPs freeze-dried powder

保护剂	外观			色泽	外观与色泽总分	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV	再分散时间 / s
	颜色	萎缩与否	光洁程度					
乳液	1	1	1	1	4	956.1	11.3	不溶
蔗糖 0.1%	2	2	2	2	8	762.6	22.7	不溶
蔗糖 1%	3	3	3	3	12	620.3	29.4	不溶
蔗糖 5%	4	4	4	4	16	537.7	34.2	10
10%	5	4	4	4	17	435.4	38.1	5
15%	3	3	2	3	11	412.1	38.9	5
20%	2	2	1	2	7	398.9	40.5	3
30%	1	1	1	1	4	385.3	41.3	3

3 讨论

BSI 是由黄芩苷和血根碱通过离子键合成的一类新型化合物, 其在液相条件下显示的是黄芩苷和血根碱两种原料的吸收峰, 虽然并不是以 BSI 的吸收峰出现, 但黄芩苷和血根碱的物质的量之比能间

接检测 BSI 的量, 但如何直接快捷检测 BSI 的量还有待深入研究。

离子凝胶法制备壳聚糖纳米粒不仅操作简单、条件温和、产物均一, 也未使用有毒的交联剂, 适合大规模生产和应用^[10]。CS 与 TPP 质量浓度比是

决定 BSI-CS-NPs 是否形成的关键, 但其他因素对 BSI-CS-NPs 的各项质量指标也起着综合作用, 因此, 在考察影响 BSI-CS-NPs 的单因素条件后, 再考察其综合作用, 得到的优化工艺才更准确。

在纳米粒给药系统中, 药物与载体的结合多以表面吸附、镶嵌和包裹等方式存在, 药物在纳米粒表面的吸附是药物释放过程中产生突释效应的重要因素^[1]。随着时间的推移, CS 吸水溶胀, 在纳米粒表面形成了亲水凝胶层, 关闭了药物分子迅速释放通道, 此后的药物只能通过骨架慢慢地扩散或通过 CS 的降解缓慢地释放, 在释放曲线上表现为缓释阶段, 说明壳聚糖纳米粒具有一定的缓释作用。

本研究显示, 采用离子凝胶法制备的 BSI-CS-NPs 形状规则, 粒度分布均匀, 且有较高的包封率和较好的缓释性能, 为后续实验奠定了较好的基础。

参考文献

- [1] 张 雪, 曾建国, 杜方麓, 等. 原托品类生物碱离子对化合物结构探讨 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1939-1944.
- [2] 曾建国, 谭满良, 贺晓华, 等. 一种来自中药提取物的离子对药物和制备方法及其用途 [P]. 中国专利: 201010110413.7, 2010-09-08.
- [3] Janes K A, Fresneau M P, Marazuela A, *et al.* Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubilin [J]. *J Controlled Release*, 2001, 73(2/3): 255-267.
- [4] 仲 博, 张 岭, 张 莉, 等. 麻黄碱壳聚糖修饰脂质体凝胶剂的制备及体外透皮研究 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 70-73.
- [5] Sinha V R, Singla A K, Wadhawan S, *et al.* Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs [J]. *Int J Pharm*, 2004, 274(1/2): 1-33.
- [6] 周闻舞, 顾海铮. 壳聚糖微/纳米粒在定向给药系统中的应用研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 290-295.
- [7] 王娜娜, 秦成芬, 王海刚, 等. 葛根素壳聚糖纳米粒的制备 [J]. 食品与药品, 2006, 8(12): 32-35.
- [8] 张 玮, 刘 扬, 张学农, 等. 去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的表征和体外释放研究 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1477-1482.
- [9] 柳 时, 项光亚. 叶酸偶联壳聚糖纳米粒的制备及抗肿瘤作用研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [10] 林爱华, 平其能. 壳聚糖载药纳米粒研究进展 [J]. 中国药业, 2006, 15(21): 25-27.
- [11] Agnihotri S A, Mallikarjuna N N, Aminabhavi T M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery [J]. *J Controlled Release*, 2004, 100(1): 5-28.