

姜黄素聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物纳米粒的制备及其质量评价

戴东波¹, 尤佳¹, 何雯洁¹, 王彬辉², 李范珠¹, 徐秀玲^{1*}

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310000

2. 台州市立医院, 浙江 台州 318000

摘要: **目的** 制备姜黄素(Cur)聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物(mPEG-PLA)纳米粒(Cur-mPEG-PLA-NPs), 并考察其理化性质、体外释药特性及抗肿瘤活性。**方法** 采用乳化溶剂挥发法制备 Cur-mPEG-PLA-NPs, 通过正交设计优化处方工艺。利用透射电子显微镜观察纳米粒形态; 激光粒度仪考察其粒径和 Zeta 电位; 超速离心法测定其包封率及载药量; 透析法考察其体外释药特性; 四甲基偶氮唑盐(MTT)法考察其对人肝癌细胞 SMMC-7721 的抑制作用。**结果** 根据优化处方工艺制备的 Cur-mPEG-PLA-NPs 外观呈圆形或类圆形, 平均粒径为 (129.24 ± 1.45) nm, 包封率和载药量分别为 $(82.15 \pm 1.07)\%$ 和 $(4.03 \pm 0.11)\%$; 体外释药符合 Weibull 方程; 与原料药 Cur 比较, Cur-mPEG-PLA-NPs 对 SMMC-7721 细胞具有更强的抑制作用 ($P < 0.05$)。**结论** 乳化溶剂挥发法可成功制备 Cur-mPEG-PLA-NPs, 为 Cur 新剂型的研究开发提供了实验基础。

关键词: 姜黄素; 纳米粒; 聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物; 乳化溶剂挥发法; 抗肿瘤活性

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)02-0194-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.02.009

Preparation of curcumin-loaded mPEG-PLA nanoparticles and its quality evaluation

DAI Dong-bo¹, YOU Jia¹, HE Wen-jie¹, WANG Bin-hui², LI Fan-zhu¹, XU Xiu-ling¹

1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, China

2. Taizhou Municipal Hospital of Zhejiang Province, Taizhou 318000, China

Abstract: Objective To prepare curcumin-loaded methoxy polyethylene glycol-poly(lactic acid) nanoparticles (Cur-mPEG-PLA-NPs), to characterize their physicochemical properties, and to study the *in vitro* release behavior and antitumor activity on hepatoma cells SMMC-7721. **Methods** The Cur-mPEG-PLA-NPs were prepared by emulsification-solvent evaporation method and the formulation was optimized through orthogonal test. The transmission electron microscope was used to observe the particle appearance, Zetasizer instrument was used to detect the diameter and Zeta potential, and ultracentrifugation was utilized to determine entrapment rate and drug-loading rate. Dynamic dialysis method was used to study the *in vitro* release behavior of the NPs. The antitumor activity on SMMC-7721 cells was determined by MTT method. **Results** The optimal NPs were round with the nanometric size of (129.24 ± 1.45) nm, high entrapment rate of $(82.15 \pm 1.07)\%$, and drug-loading rate of $(4.03 \pm 0.11)\%$. The *in vitro* release behavior showed the accordance with Weibull equation. Compared with free Cur, Cur-mPEG-PLA-NPs showed stronger cytotoxicity and inhibition on hepatoma cells SMMC-7721 ($P < 0.05$). **Conclusion** The emulsification-solvent evaporation method could be used to prepare Cur-mPEG-PLA-NPs, which could lay the foundation for the research on novel Cur preparations.

Key words: curcumin; nanoparticles; methoxy polyethylene glycol-poly(lactic acid); emulsification-solvent evaporation method; antitumor activity

姜黄素(curcumin, Cur)是从姜科姜黄属 *Curcuma* L. 植物姜黄、莪术、郁金等中药的根茎中提取的一种小分子多酚类物质, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、保肝等多种药理作用^[1]。研究发现, Cur

收稿日期: 2013-08-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274089/H2806); 浙江省自然科学基金资助项目(Y12H280017); 浙江省医药卫生科技计划资助项目(2011KB144)

作者简介: 戴东波, 男, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型与新技术。Tel: (0571)86633173 E-mail: ddongbo001@163.com

*通信作者 徐秀玲, 女, 硕士, 讲师, 研究方向为药物新剂型与新技术研究。

Tel: (0571)86633030 Fax: (0571)86613607 E-mail: xuxiuling@zcmu.edu.cn

不仅可通过调节核因子- κ B (NF- κ B)、激活蛋白-1 (AP-1) 和 p53 蛋白等信号通路, 抑制癌细胞的转移、增殖, 还能够下调 P-糖蛋白 (P-gp)、多药耐药相关蛋白 1 (MRP1) 和乳腺癌耐药相关蛋白 (ABCG2) 表达, 以多途径逆转肿瘤多药耐药, 是一种极具开发前景的抗肿瘤药物^[2-3]。但由于 Cur 水溶性差 (pH 7.3 时, 约 0.3 μ g/mL), 易降解, 生物半衰期短, 限制了其在临床上的应用^[4]。

纳米粒 (nanoparticles, NPs) 作为一种新型药物载体, 具有提高药物稳定性、控制药物释放及靶向给药等优势^[5]。聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物 (methoxy polyethylene glycol-poly(lactic acid), mPEG-PLA) 是一种生物可降解的合成聚合物载体材料, 其 PLA 嵌段能够较好地包裹疏水性药物, 而 PEG 嵌段可改善聚合物的亲水性和柔顺性, 防止蛋白质的吸附并避免网状内皮系统的识别与吞噬^[6]。因此, 本实验以 mPEG-PLA 为载体材料, 采用乳化溶剂挥发法制备了 Cur-mPEG-PLA-NPs, 通过正交设计优化处方工艺, 并对所制备纳米粒的理化性质、体外释药特性及抗肿瘤活性等进行了考察, 为 Cur 新剂型的研究开发提供了实验基础。

1 仪器与材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); JEM-1200EX 透射电子显微镜 (日本 Jeol 公司); Nano-ZS 型粒径分析仪 (英国 Malvern 公司); Optima MAX 超速离心机 (美国 Beckman 公司); 99-II DN 型超声波细胞粉碎机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); RE52CS-1 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Bio-RAD 680 酶标仪 (美国 Bio-RAD 公司); 透析袋 (美国 Viskase 公司, 截留相对分子质量为 7 000)。

Cur 原料药 (成都普思生物技术有限公司, 质量分数 >98%, 批号 12041502); Cur 对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110823-201004); mPEG-PLA (山东岱罡生物科技有限公司, M_w 为

10 000, 其中 mPEG 嵌段 M_w 为 2 000); 聚乙烯醇 (PVA, 美国 Sigma 公司, M_w 为 13 000~23 000, 批号 10918AE); 聚山梨酯 80 (成都科龙化工试剂厂, 批号 20090708); 四甲基偶氮唑盐 (MTT)、胰蛋白酶 (美国 Sigma 公司); 人肝癌细胞 SMMC-7721 (中国科学院上海细胞生物研究所); 乙腈 (色谱级, 美国 Honeywell Burdick & Jackson 公司); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 纳米粒的制备

称取处方量的 Cur 和 mPEG-PLA (固定药物与载体质量比为 1:20), 溶于 2 mL 一定比例的二氯甲烷-丙酮混合溶剂中, 构成有机相; 另取处方量的 PVA 水溶液, 构成水相; 有机相与水相混合后, 冰浴中间歇式超声 (540 W, 40 s, 23 kHz) 得到初乳; 0.5% PVA 水溶液 20 mL 作为连续相, 将初乳缓慢滴加至高速磁力搅拌下的连续相中, 滴毕, 继续搅拌 10 min, 室温减压蒸去有机溶剂和部分水, 得到带黄色乳光的 NPs 混悬液。超速离心 (40 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C) 60 min, 取沉淀物用蒸馏水洗涤 3 次, 经水分散后加入 2% 蔗糖作为冻干保护剂, 冻干即得 Cur-mPEG-PLA 嵌段共聚物 NPs (Cur-mPEG-PLA-NPs)。

2.2 分析方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钠水溶液 (60:40, 磷酸调 pH 值至 3.0); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 检测波长 425 nm; 进样量 20 μ L。

2.2.2 方法专属性 分别量取适量 Cur 对照品、空白 NPs 混悬液和 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液, 加入适量甲醇稀释, 超声 (200 W, 40 kHz, 30 min, 无乳光即表示成功破乳), 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。Cur 色谱峰峰形良好, 辅料和溶剂对药物测定无干扰, 见图 1。

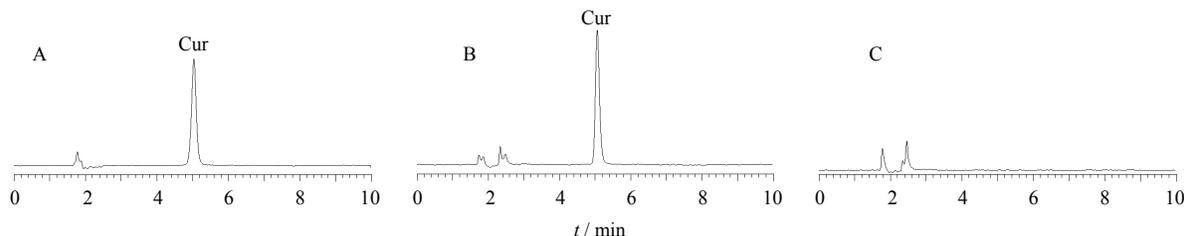


图 1 Cur (A)、Cur-mPEG-PLA-NPs (B) 和空白 NPs (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of Cur (A), Cur-mPEG-PLA-NPs (B), and blank NPs (C)

2.2.3 线性关系考察 精密称取减压干燥至恒定质量的 Cur 对照品 5.0 mg，置于 50 mL 棕色量瓶中，用甲醇溶解，稀释至刻度，配制成质量浓度为 100 μg/mL 的 Cur 对照品储备液。分别精密量取 Cur 对照品储备液适量，加甲醇稀释成质量浓度分别为 50.0、20.0、10.0、5.0、2.0、1.0、0.5 μg/mL 的系列对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，以峰面积积分值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归，得 Cur 回归方程 $Y=198.07 X+20.639$ ， $r=0.9999$ ，结果表明 Cur 在 0.5~50.0 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验 取低、中、高 (0.5、5.0、50.0 μg/mL) 3 个质量浓度的 Cur 对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，分别于 1 d 内测定 5 次，连续测定 5 d，计算得日内和日间精密度，RSD 分别为 1.06%、0.66%、1.07% 和 1.35%、0.86%、1.22%，符合方法学要求。

2.2.5 重复性试验 取同一批次制备的 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液 6 份，加入适量甲醇溶液稀释，超声，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，结果 RSD 为 1.47%，符合方法学要求。

2.2.6 回收率试验 吸取 1 mL 空白 NPs 混悬液于 10 mL 棕色量瓶中，分别精密加入 Cur 对照品适量，用甲醇稀释至刻度，配成低、中、高 (0.5、5.0、50.0 μg/mL) 3 个质量浓度的样品溶液。经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算得平均回收率分别为 (97.72±1.32)%、(101.01±0.94)%、(98.97±1.75)% ($n=3$)，符合方法学要求。

2.2.7 稳定性试验 取同一批次制备的 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液，加入适量甲醇溶液稀释，超声，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液分别于 0、2、4、8、6、12、24 h 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，结果 RSD 为 1.04% ($n=6$)，符合方法学要求。

2.3 包封率和载药量测定

精密量取 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液于具塞离心管中，离心 (40 000 r/min, 4 °C) 60 min，取上清液 1 mL，置 10 mL 棕色量瓶中，用甲醇稀释至刻度，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算游离 Cur 的量，记作 W_1 ；取离心后沉淀物，蒸馏水洗涤 3 次，真空冷冻干燥后精密称定总质量，记作 W 。另精密量取 Cur-

mPEG-PLA-NPs 混悬液 1 mL，置 10 mL 棕色量瓶中，用甲醇稀释至刻度，超声，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算纳米粒混悬液中总的药物量，记作 W_0 ，按公式计算纳米粒的包封率和载药量。

$$\text{包封率}=(W_0-W_1)/W_0$$

$$\text{载药量}=(W_0-W_1)/W$$

2.4 正交设计优化制剂处方工艺

根据预试验和单因素考察结果，选择对 Cur-mPEG-PLA-NPs 制备工艺、理化性质影响较大的 4 个因素：mPEG-PLA 用量 (A)、二氯甲烷与丙酮的体积比 (B)、有机相与水相的体积比 (C)、水相 PVA 质量分数 (D) 作为考察因素，每个因素选取 3 个水平，进行 $L_9(3^4)$ 正交试验。以纳米粒粒径 (y_1) 和包封率 (y_2) 的综合加权评分值作为评价指标。综合加权评分法^[7]的计算公式为综合评分值 (y) = $50 \times (1 - y_1/y_{1max}) + 50 \times y_2/y_{2max}$ 。试验设计与结果见表 1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果 ($n=3$)

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

| 试验号 | A / mg | B | C | D / % | y_1 / nm | y_2 / % | y |
|-------|--------|-----------|-----------|---------|------------|-----------|-------|
| 1 | 30 (1) | 4 : 1 (1) | 1 : 2 (1) | 2.0 (1) | 168.30 | 69.99 | 46.62 |
| 2 | 30 (1) | 3 : 1 (2) | 1 : 3 (2) | 2.5 (2) | 126.10 | 63.55 | 53.91 |
| 3 | 30 (1) | 2 : 1 (3) | 1 : 4 (3) | 3.0 (3) | 155.29 | 63.53 | 46.27 |
| 4 | 60 (2) | 4 : 1 (1) | 1 : 3 (2) | 3.0 (3) | 171.04 | 67.97 | 44.73 |
| 5 | 60 (2) | 3 : 1 (2) | 1 : 4 (3) | 2.0 (1) | 160.07 | 73.53 | 50.82 |
| 6 | 60 (2) | 2 : 1 (3) | 1 : 2 (1) | 2.5 (2) | 131.14 | 82.82 | 63.77 |
| 7 | 90 (3) | 4 : 1 (1) | 1 : 4 (3) | 2.5 (2) | 191.37 | 64.44 | 37.37 |
| 8 | 90 (3) | 3 : 1 (2) | 1 : 2 (1) | 3.0 (3) | 153.85 | 86.21 | 59.80 |
| 9 | 90 (3) | 2 : 1 (3) | 1 : 3 (2) | 2.0 (1) | 140.67 | 80.13 | 59.72 |
| K_1 | 146.80 | 128.72 | 170.19 | 157.16 | | | |
| K_2 | 159.32 | 164.53 | 158.36 | 155.05 | | | |
| K_3 | 156.89 | 169.76 | 134.46 | 150.80 | | | |
| R | 12.52 | 41.04 | 35.73 | 6.36 | | | |

极差分析结果表明各因素对纳米粒粒径和包封率两者综合加权评分值的影响程度依次为 $B > C > A > D$ ；由方差分析 (表 2) 可知，相对于因素 D，因素 B、C，即二氯甲烷与丙酮的体积比和有机相与水相的体积比，对纳米粒的粒径和包封率具有显著影响 ($P < 0.05$)。综合极差分析和方差分析确定优化的处方为 $A_2B_3C_1D_1$ ，即 mPEG-PLA 用量为 60 mg，二氯甲烷与丙酮的体积比为 2 : 1，有机相与

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

| 方差来源 | 离差平方和 | 自由度 | F 值 | 显著性 |
|-------|---------|-----|--------|------------|
| A | 29.385 | 2 | 4.200 | |
| B | 332.666 | 2 | 47.551 | $P < 0.05$ |
| C | 220.866 | 2 | 31.570 | $P < 0.05$ |
| D(误差) | 6.996 | 2 | | |

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

水相的体积比为 1 : 2, PVA 质量分数为 2.0%。

2.5 验证试验

按“2.4”项下纳米粒优化的处方工艺, 制备了 3 批 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液, 分别测定其粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI)、Zeta 电位、包封率和载药量, 结果见表 3。粒径、PDI、Zeta 电位、包封率和载药量分别为 (129.24 ± 1.45) nm、 0.208 ± 0.007 、 (-1.77 ± 0.20) mV、 (82.15 ± 1.07) %、 (4.03 ± 0.11) % ($n=3$)。

表 3 验证试验结果

Table 3 Results of validation

| 批次 | 粒径 / nm | PDI | Zeta 电位 / mV | 包封率 / % | 载药量 / % |
|----|---------|-------|--------------|---------|---------|
| 1 | 127.87 | 0.198 | -1.85 | 83.21 | 4.15 |
| 2 | 131.25 | 0.210 | -1.96 | 80.69 | 3.89 |
| 3 | 128.60 | 0.216 | -1.49 | 82.55 | 4.04 |

2.6 外观形态、粒径及其分布和 Zeta 电位考察

取适量 Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液, 用 2.0% 磷钨酸溶液负染, 透射电子显微镜 (TEM) 观察 ($\times 60\ 000$), 结果见图 2。NPs 呈圆形或类圆形, 大小及分布较均匀, 粒子之间未见粘连和聚集现象。取适量 NPs 混悬液, 蒸馏水稀释, Nano-ZS 型粒径分析仪测定平均粒径及 Zeta 电位, 结果见图 3。

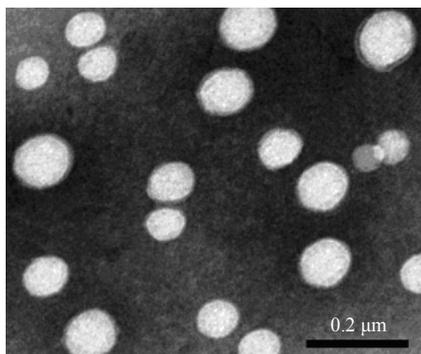


图 2 Cur-mPEG-PLA-NPs 的 TEM 图

Fig. 2 TEM photograph of Cur-mPEG-PLA-NPs

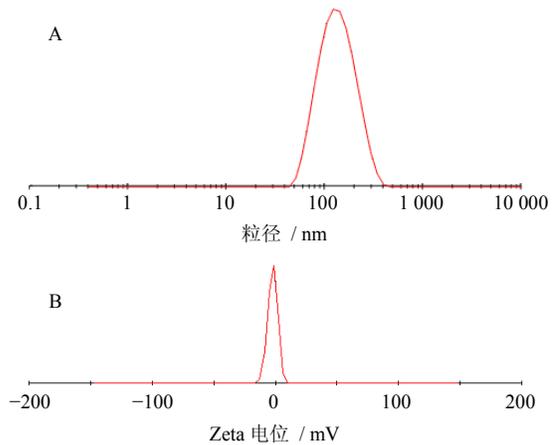


图 3 Cur-mPEG-PLA-NPs 的粒径分布 (A) 和 Zeta 电位分布 (B)

Fig. 3 Distribution of particle size (A) and Zeta potential (B) of Cur-mPEG-PLA-NPs

2.7 体外释药特性研究

分别精密称取 Cur 原料药粉末和 Cur-mPEG-PLA-NPs 冻干粉适量 (含药 1.5 mg), 分散于 2 mL 释放介质 (即 pH 5.8 PBS 缓冲液, 含 1% 聚山梨酯 80), 装入预先处理好的透析袋, 密封后置于 200 mL 释放介质中, 于 (37 ± 0.5) °C 恒温水浴振荡 (75 r/min), 定时取样 1 mL, 并补充同温等量释放介质。样品用 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 取续滤液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算累积释放率, 绘制释药曲线, 见图 4。可知, Cur 原料药在释放介质中释放较快, 在 4 h 内几乎完全释放, 累积释放率为 94.6%。而 Cur-mPEG-PLA-NPs 在 8 h 累积释放率为 53.2%, 在 24 h 累积释放率达到 77.4%, 具有明显的缓释特征。分别用零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程和 Weibull 方程对 Cur-mPEG-PLA-NPs 的体外释药进行拟合, 结果其释药行为符合 Weibull 方程, 为 $\ln \ln [1/(1-Q)] = 0.569\ 3 \ln t - 1.476\ 3$, $r = 0.995\ 9$ 。

2.8 体外细胞毒性研究

取对数生长期的 SMMC-7721 细胞用胰酶消化、洗涤、离心后将其制备成细胞悬液 (2.0×10^5 个/mL), 取 100 μL 接种于 96 孔板中。将细胞培养板置于细胞培养箱中于 37 °C, 5% CO_2 孵育 24 h, 显微镜下观察可见细胞贴壁生长, 然后分别加入含 Cur 3.125、6.25、12.50、25.00、50.00 $\mu\text{g/mL}$ 的 Cur 溶液、Cur-mPEG-PLA-NPs 混悬液, 以空白 NPs 混悬液孔作阴性对照。药物处理细胞 48 h 后, 去掉原培养溶液, 加入新鲜的培养液, 每孔加入 5 mg/mL

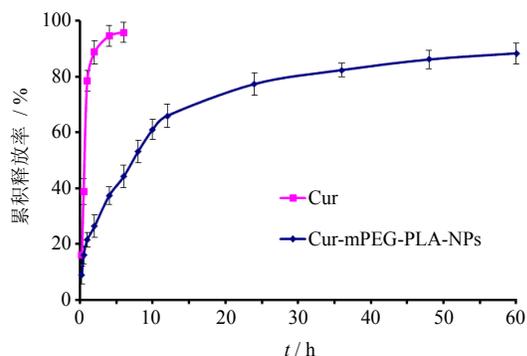


图4 Cur与Cur-mPEG-PLA-NPs的体外释药曲线($n=3$)

Fig. 4 *In vitro* release curves of Cur and Cur-mPEG-PLA-NPs ($n=3$)

的MTT 20 μL 继续培养4 h, 吸掉液体, 每孔加入200 μL 二甲基亚砜, 置摇床低速振荡10 min, 用酶标仪于490 nm处测定各孔吸光度(A)值, 计算不同质量浓度下的细胞抑制率。每组重复3次, 每个质量浓度设3个复孔。

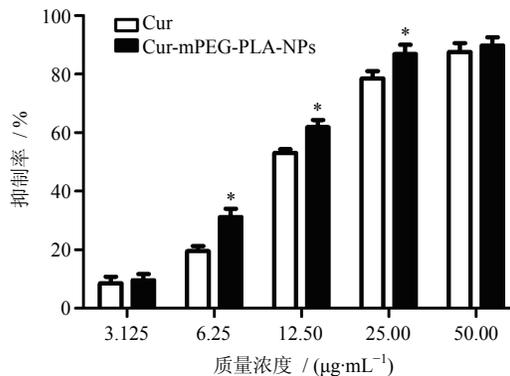
$$\text{抑制率} = 1 - A_T/A_C$$

A_T 为加入原料药或纳米粒后在490 nm处 A 值, A_C 为阴性对照组在490 nm处 A 值

由图5可见, Cur处理细胞48 h后, SMMC-7721细胞存活率降低, 并呈质量浓度依赖性。在同一质量浓度下, Cur-mPEG-PLA-NPs组对SMMC-7721细胞的抑制率均高于Cur组。在3.125~50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 前者的抑制率从9.6%升高至89.8%, 后者的抑制率从8.5%升高至87.6%。其中, 质量浓度为6.25、12.50、25.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 两组间存在显著性差异($P<0.05$, t 检验)。应用GraphPad prism 5.0软件拟合数据得Cur-mPEG-PLA-NPs组及Cur组对SMMC-7721细胞的 IC_{50} 值分别为8.96、11.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3 讨论

本实验采用乳化溶剂挥发法制备了Cur-mPEG-PLA-NPs。正交试验结果表明, 二氯甲烷与丙酮的体积比和有机相与水相的体积比对NPs的粒径和包封率具有显著影响。其中, 二氯甲烷与丙酮均能较好地溶解Cur和mPEG-PLA, 但二者性质不同。二氯甲烷在水中溶解度小, 虽沸点低, 易除去, 使聚合物快速沉降包裹药物, 但单用时, 制备的NPs粒径较大^[8]; 丙酮可与水互溶, 随着在有机相中所占比例增大, 粒径呈减小趋势, 但所占比例过大时, 形成的初乳不稳定, 且有机相向水相扩散过快, 包封率反而降低。实验结果表明, 当二氯甲烷与丙酮



与Cur组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs Cur group

图5 处理48 h后Cur与Cur-mPEG-PLA-NPs对SMMC-7721的抑制率($n=3$)

Fig. 5 Inhibitory rates of Cur and Cur-mPEG-PLA-NPs on SMMC-7721 cells after 48 h treatment ($n=3$)

(2:1)混合时, 能得到较优的粒径分布与包封率。实验中固定有机相体积为2 mL, 水相体积从4 mL增加到8 mL时, NPs的粒径呈减小趋势, 但包封率也随之降低, 其原因可能是, 随着水相体积的增大, 有机相在乳化剂的作用下, 更易形成细小的乳滴, 但对Cur在水相的增溶作用亦变大。

验证试验结果表明, 优化工艺所制备的Cur-mPEG-PLA-NPs工艺重现性好, 平均粒径小(130 nm左右), 包封率较高(82%左右)。由于载体材料mPEG-PLA的PEG嵌段能在NPs的表面形成亲水性的水化层, 产生有效的立体稳定作用, 同时会导致其Zeta电位(绝对值)显著减小^[9], 故本实验制备的Cur-mPEG-PLA-NPs Zeta电位接近于0。

结合文献报道^[10-11], 在预试验中分别考察了1%十二烷基硫酸钠、30%乙醇及1%聚山梨酯80对Cur的增溶作用。结果发现, 后两者对Cur的增溶效果明显, 但过高的乙醇用量易使NPs破乳, 因此, 本实验选择含1%聚山梨酯80的PBS(pH 5.8)作为释放介质。体外释药结果表明, NPs突释现象不明显; 后期药物的释放主要依赖载体材料的降解及药物因浓度梯度从NPs表面孔隙向释放介质扩散^[12], 所以释药较为缓慢。

Cur对肝癌细胞具有较强的抑制作用, 因此本实验选择人肝癌细胞SMMC-7721对Cur-mPEG-PLA-NPs进行体外抗肿瘤作用研究^[13]。结果表明, 与原料药相比, Cur-mPEG-PLA-NPs对SMMC-7721细胞具有更强的抑制作用($P<0.05$), 其 IC_{50} 值减小了21%, 且与剂量呈正相关。其原因可能是由于

载体材料 mPEG-PLA 与细胞的生物相容性好, 而所制备的 NPs 近电中性, 可被肿瘤细胞更大程度地摄取而发挥更强的抑制作用。

参考文献

- [1] 许东晖, 王 胜, 金 晶, 等. 姜黄素的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(11): 1737-1740.
- [2] Hatcher H, Planalp R, Cho J, *et al.* Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(11): 1631-1652.
- [3] Um Y, Cho S, Woo H, *et al.* Synthesis of curcumin mimics with multidrug resistance reversal activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(7): 3608-3615.
- [4] Anand P, Kunnumakkara A B, Newman R A, *et al.* Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. *Mol Pharm*, 2007, 4(6): 807-818.
- [5] 张洪兵, 朱雪瑜, 张铁军. 纳米技术应用于中药制剂的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(3): 208-211.
- [6] Dong Y, Feng S. Methoxy poly (ethylene glycol)-poly (lactide) nanoparticles for controlled delivery of anticancer drugs [J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 2843-2849.
- [7] 魏颖慧, 赵燕敏, 李 静, 等. 壳聚糖修饰雷公藤多苷纳米粒的制备及其体外释药研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 541-546.
- [8] 李洁丽, 郑春丽, 刘建平, 等. 多柔比星 PLGA 纳米粒的处方工艺优化及体外释药行为研究 [J]. 药学学报, 2013, 48(5): 759-766.
- [9] Song Q, Wang X, Hu Q, *et al.* Cellular internalization pathway and transcellular transport of pegylated polyester nanoparticles in Caco-2 cells [J]. *Int J Pharm*, 2013, 445(1/2): 58-68.
- [10] Tsai Y, Chien C, Lin L, *et al.* Curcumin and its nano-formulation: the kinetics of tissue distribution and blood-brain barrier penetration [J]. *Int J Pharm*, 2011, 416(1): 331-338.
- [11] 唐 勤, 孙晓辉, 陈 毫, 等. 制备方法和工艺对姜黄素-磷脂复合物-壳聚糖微球体外性质的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2377-2385.
- [12] Musumeci T, Ventura C A, Giannone I, *et al.* PLA/PLGA nanoparticles for sustained release of docetaxel [J]. *Int J Pharm*, 2006, 325(1): 172-179.
- [13] Sharma R A, Gescher A J, Steward W P. Curcumin: the story so far [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(13): 1955-1968.