

## 姜黄素纳米粒冻干粉的反溶剂法制备工艺优化及溶出特征

葛云龙, 赵修华, 祖元刚\*, 张 印, 祖 畅, 刘艳杰

东北林业大学 森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

**摘要:** 目的 优化姜黄素 (Cur) 纳米粒冻干粉 (CNLP) 制备工艺。方法 以丙酮作为溶剂, 去离子水作为反溶剂, 聚山梨酯-80 (P80) 作为表面活性剂, 甘露醇作为冻干保护剂通过反溶剂法制备 CNLP, 采用单因素分析法进行 CNLP 制备工艺的优化。影响 CNLP 粒径大小的因素有 Cur 质量浓度、溶剂与反溶剂体积比、表面活性剂用量、沉积时间、搅拌速率、冻干保护剂用量; 得到的 CNLP 与原粉进行饱和溶解度和体外溶出对比实验。**结果** 制备 CNLP 最优工艺为 Cur 质量浓度 8 mg/mL、溶剂与反溶剂比 1 : 5、表面活性剂用量 0.05%、沉积时间 5 min、搅拌速率 400 r/min、冻干保护剂甘露醇与 Cur 质量比 4 : 1; 获得的 CNLP 平均粒径大小为  $(172.2 \pm 4.6)$  nm; CNLP 复溶液 Zeta 电位为  $(-19.7 \pm 3.7)$  mV; SEM 图谱显示 Cur 原粉呈不规则的大块状, 粒径在 20  $\mu\text{m}$  左右。CNLP 呈不规则的均匀块状结构, 粒径在 170 nm 左右, 与原粉相比粒径明显减小。从以上 CNLP 的形态来看, 由激光粒度仪测得的 CNLP 平均粒径是基本一致的。通过饱和溶解度检测, 在去离子水中, CNLP 的饱和溶解度是原粉的 41.32 倍; 在人工胃液中, CNLP 饱和溶解度是原粉的 1.74 倍; 在人工肠液中, CNLP 饱和溶解度是原粉的 4.11 倍。通过溶出度检测, 在去离子水中, CNLP 的溶出速率是原粉的 14.51 倍; 在人工胃液中, CNLP 的溶出速率是原粉的 2.33 倍; 在人工肠液中, CNLP 的溶出速率是原粉的 44.79 倍。**结论** 反溶剂法制备的 CNLP 可以改善 Cur 水溶性, 有利于提高 Cur 的生物利用度。

**关键词:** 姜黄素; 纳米粒; 冻干粉; 反溶剂法; 单因素优化; 粒径; 饱和溶解度; 体外溶出

**中图分类号:** R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2016)14 - 2447 - 07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.009

## Preparation, optimization, and dissolution characteristics of curcumin nanoparticles lyophilized powder by antisolvent method

GE Yun-Long, ZHAO Xiu-Hua, ZU Yuan-Gang, ZHANG Yin, ZU Chang, LIU Yan-Jie

Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Northeast Forestry University, Ministry of Education, Harbin 150040, China

**Abstract: Objective** Curcumin nanoparticles lyophilized powder (CNLP) were prepared by antisolvent method which was optimized using single factor method. In this process, acetone was used as solvent, deionized water was used as antisolvent, tween-80 was used as surfactant and mannitol was used as lyoprotectant. **Methods** The main factors affecting the particle size of CNLP included the concentration of curcumin, volume ratio of solvent and antisolvent, dosage of surfactant, precipitation time, stirring speed, and dosage of lyoprotectant. The contrast experiments on dissolution *in vitro* was done between CNLP and raw curcumin powder. **Results** The mean particle size of CNLP was  $(172.2 \pm 4.6)$  nm; The Zeta potential of CNLP redissolving in water was  $(-19.7 \pm 3.7)$  mV. The SEM graphs indicated the raw curcumin was in irregular and massive shape and its particle size was about 20  $\mu\text{m}$ . The CNLP exhibited regular block structure and its particle size was about 170 nm which was obviously reduced compared with raw curcumin. The mean particle size of CNLP obtained from laser particle analyzer was in accord with the morphology of CNLP. The saturated solubility of CNLP was 41.32 times of raw curcumin powder in deionized water, 1.74 times in simulated gastric fluid and 4.11 times in simulated intestinal fluid through saturated solubility test, respectively. The dissolution rate of CNLP was 14.51 times of raw curcumin powder in water dissolution medium, 2.33 times in simulated gastric fluid and 44.79 times in simulated intestinal fluid through dissolution determination, respectively. **Conclusion** The preparation process of CNLP using antisolvent method could improve the drawback of poor water solubility and enhance the bioavailability of curcumin.

收稿日期: 2016-03-24

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2572014AB11); 国家自然科学基金资助项目 (21473023)

作者简介: 葛云龙 (1987—), 男, 博士生, 主要研究方向为植物化学与植物药。Tel: 15045056735 E-mail: 65402588@qq.com

\*通信作者 祖元刚, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事植物药开发研究。E-mail: yuangangzu@163.com

**Key words:** curcumin; nanoparticles; lyophilized powder; antisolvent method; single factor optimization; particle size; saturation solubility; dissolution *in vitro*

天然化合物姜黄素 (curcumin, Cur) 是从姜科 (Zingiberaceae)、天南星科 (Araceae) 等植物的根茎中提取出来的一种相对分子质量较小的多酚类物质<sup>[1-2]</sup>。通常认为它是姜黄中最有效的活性成分<sup>[3]</sup>, 在食品生产中常用作色素和调味剂<sup>[4]</sup>, 在植物界中是很少见的二酮类色素, 为二酮类化合物<sup>[5-6]</sup>。近年来, 很多学者研究发现, Cur 具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗肿瘤、保护肝肾、清除体内自由基等药理作用, 对心脑血管、消化系统也具有保护功能<sup>[7-8]</sup>。Cur 开发应用前景广阔, 具有较为理想的药用价值, 且毒性很低, 具有良好的临床应用潜力<sup>[9-10]</sup>。但是 Cur 水溶性差, 口服生物利用度低, 使其应用受到了限制。

为了提高难溶性药物的溶解度, 可以通过制备颗粒小、粒径分布均匀的纳米粉来解决, 药物纳米化常用的方法有湿磨法、气流粉碎法、高压均质技术、超临界流体技术和反溶剂法等, 其中机械粉碎法是目前应用最广泛的, 但是缺点是耗能大、效率低和粒径分布不均匀。高压均质技术和超临界流体技术存在投资大、产率低、不易在工业中放大等缺点。反溶剂法<sup>[11-13]</sup>是把药物溶于它的良溶剂中后, 加入到它的不良溶剂中, 从而通过降低良溶剂的溶解能力, 使药物迅速达到过饱和状态而结晶析出的一种传统微粉化技术。随着含有药物的溶液滴加到反溶剂中, 溶剂与反溶剂体系对药物的溶解度骤降, 药物达到过饱和, 从而结晶析出。可通过添加相应的表面活性剂, 控制药物的结晶, 促进晶核的形成, 抑制结晶的团聚, 获得平均粒径较理想的纳米药物。此方法操作简单、效率高、成本低、生产过程可以一步完成, 得到的药物颗粒的特点是制备的粉体颗粒小、活性中心多、吸附能力强、粒度分布均匀。目前, 通过该方法已成功制备了多种难溶性口服药物。例如, 许文佳等<sup>[14]</sup>采用反溶剂重结晶法制备甘草酸纳米粒, 得到的纳米粒平均粒径为 220 nm 左右; 赵修华等<sup>[15]</sup>利用反溶剂法进行反式肉桂酸微粉化的工艺研究, 所得微粉化反式肉桂酸的粒径为 130 nm 左右。

近年来, 已有很多学者通过脂质体<sup>[16]</sup>、胶束<sup>[17]</sup>、微乳<sup>[18]</sup>、熔融<sup>[19]</sup>、纳米结晶<sup>[20]</sup>等方法进行 Cur 纳米化研究, 虽然得到的纳米 Cur 提高了其溶解度和生

物利用度, 但是 Cur 纯度低、辅料多、在生产中不易放大, 以高分子材料作为辅料会产生安全性等问题。所以本研究通过反溶剂法制备 Cur 纳米粒 (curcumin nanoparticles, CN) 冻干粉 (CN lyophilized powder, CNLP) 来提高 Cur 的溶解度和生物利用度, 减少其用量, 节省资源; 改变 Cur 传统剂型, 丰富 Cur 的剂型选择和给药途径, 增强 Cur 的临床药效<sup>[21-22]</sup>。本研究主要利用反溶剂法制备 CNLP, 采用单因素优化实验方法对药物质量浓度、表面活性剂用量、水和有机相的比例、搅拌速率、沉积时间、Cur 和甘露醇的质量比 6 个因素进行考察研究, 得到制备 CNLP 的最优制备条件, 并对 CNLP 的粒径检测、饱和溶解度、溶出速率情况进行研究。

## 1 仪器与材料

SHJ-A4 水浴恒温磁力搅拌器, 常州华奥仪器制造有限公司; ZetaPALS 激光粒度仪, 美国布鲁克海文; Quanta-200 扫描电子显微镜 (SEM), 荷兰 FEI 公司; Scientz-18N 型冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; LXJ-IIB 型离心机, 上海安亭科学仪器厂; Waters1525 高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司。

Cur, 质量分数 98%, 西安源森生物科技有限公司, 批号 B20614; Cur 对照品, 质量分数  $\geq 98\%$ , 中国食品药品检定研究院, 批号 20140516; 聚山梨酯-80 (P80)、甘露醇, 分析纯, 天津市天力化学试剂有限公司; 丙酮, 天津市富于精细化工有限公司; 去离子水, 实验室自制; 乙腈, 色谱级, 山东禹王实业有限公司; 盐酸, 分析纯, 新乡市宏盛化工有限公司; 冰乙酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠, 分析纯, 天津市致远化学试剂有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 反溶剂法制备 CNLP

本实验通过反溶剂法制备 CNLP。将一定质量的 Cur 溶解在适量溶剂丙酮中, 超声 10 min, 然后以 4 000 r/min 离心 10 min 去除杂质, 取上清。在磁力搅拌器适当搅拌速率条件下, 将 Cur 丙酮溶液匀速加入含有 P80 的水溶液中, 搅拌 5 min。将得到的 CN 混悬液用旋转蒸发仪进行旋蒸, 去除溶剂丙酮, 最后在混悬液中加入适量甘露醇作为冻干保护剂, 混合均匀后放入  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中预冻 (12 h), 再

将其放入冻干机中进行冷冻(-80 °C)干燥48 h,最后得到CNLP。

## 2.2 单因素优化

通过预试验进行考察研究,确定了以丙酮作为溶剂、水作为反溶剂,影响粒径大小的因素有药物质量浓度、P80用量、溶剂和反溶剂体积比(丙酮-水体积比)、搅拌速率、沉积时间、Cur和甘露醇的质量比共6个因素。例如,研究沉积时间时,其他因素设置为药物质量浓度8 mg/mL、溶剂和反溶剂的比例1:5、表面活性剂P80用量0.1%、搅拌速率1 200 r/min,每组实验重复3次,得到的Cur纳米混悬液通过激光粒度仪来检测粒径,计算平均值。因素范围设置如下:Cur质量浓度为0.1~10 mg/mL,溶剂和反溶剂的比例为1:1~1:20,表面活性剂P80用量为0.01%~0.3%,沉积时间为2~60 min,搅拌速率为200~2 000 r/min,甘露醇与Cur质量比为0:1~6:1。

**2.2.1 表面活性剂P80用量对CN平均粒径的影响**保持其他实验工艺条件不变(Cur质量浓度为10 mg/mL、反溶剂与溶剂比例为1:5、沉积时间为10 min、搅拌速率为1 200 r/min)的情况下考察表面活性剂P80用量分别为0.01%、0.015%、0.025%、0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25%、0.3%对得到的CN混悬液平均粒径的影响,结果平均粒径分别为(547.9±6.2)、(517.9±5.3)、(125.0±3.1)、(49.5±4.3)、(57.5±6.7)、(52.4±2.1)、(52.1±3.9)、(51.4±4.1)、(56.1±3.3) nm。当表面活性剂P80用量从0.01%增加到0.05%时(按P80水溶液计算),CN混悬液的平均粒径从547.9 nm降低至49.5 nm,然而随着表面活性剂P80用量增加至0.3%时,CN混悬液的平均粒径并没有发生明显变化。通过观察,平均粒径先随着表面活性剂用量增加而减小,然后基本保持不变,原因是P80作为非离子型表面活性剂,用量越高时它的亲水能力就越强,这样也会增强Cur在水中的分散性,所以导致CN混悬液的平均粒径变小,但是用量过大时,因P80为油性物质,所以导致在冻干过程中不易冻干。继续增加表面活性剂用量时,粒径基本保持不变,综合考虑,0.05%的表面活性剂P80用量被确定为最佳用量。

**2.2.2 Cur质量浓度对CN平均粒径的影响**在其他工艺条件不变(表面活性剂用量为0.05%、反溶剂与容积比为1:5、沉积时间为10 min、搅拌速率为1 200 r/min)的情况下考察Cur质量浓度分别为

0.1、0.25、0.5、1、2、4、6、8、10 mg/mL对得到的CN混悬液平均粒径的影响,结果平均粒径分别为(151.9±2.3)、(162.8±1.6)、(182.0±2.9)、(136.6±3.1)、(61.4±2.8)、(51.70±1.7)、(55.8±2.6)、(46.1±3.1)、(61.5±2.5) nm。Cur的质量浓度从0.1 mg/mL增加至4 mg/mL时,Cur平均粒径呈减小趋势,增加至8 mg/mL时平均粒径无明显变化,当增加到10 mg/mL时平均粒径有增大趋势。这是由于Cur丙酮溶液质量浓度过高时,沉积过程中产生的药物微粒数量增多,同样也会增大药物微粒间的碰撞和团聚几率,在重结晶过程中就会生成大量的微粒团聚物,导致粒径增大;药物质量浓度过小易造成产品得率较低等问题。因此综合考虑,将8 mg/mL作为Cur最佳质量浓度用来制备CN。

**2.2.3 溶剂与反溶剂体积比对CN平均粒径的影响**在其他工艺条件不变(表面活性剂用量为0.05%、Cur质量浓度为8 mg/mL、沉积时间为10 min、搅拌速率为1 200 r/min)的情况下考察溶剂与反溶剂体积比分别为1:2、1:2.5、1:3、1:4、1:5、1:10、1:15、1:20对得到的CN混悬液平均粒径的影响,结果平均粒径分别为(102.3±2.9)、(94.9±3.1)、(65.7±2.5)、(65.7±1.4)、(44.5±3.2)、(62.2±2.8)、(76.0±3.6)、(107.6±2.6) nm。当体积比从1:1增加到1:5时,CN混悬液的平均粒径从102.27 nm减小到44.53 nm;当体积比从1:5增加到1:20时,平均粒径又持续增大至107.63 nm。原因是随着反溶剂比例的增加会使药物在短时间内达到过饱和,这时在沉积过程中Cur粒子会迅速结晶析出,会产生很小的Cur微粒子,反之在继续增加反溶剂的比例时,虽然会继续增大过饱和度,但是产生的小微粒不稳定,会产生团聚和聚合现象,所以粒径也随之增大。因此,选择体积比1:5为最优条件。

**2.2.4 沉积时间对CN平均粒径的影响**在其他工艺条件不变(表面活性剂用量为0.05%、Cur质量浓度为8 mg/mL、溶剂与反溶剂比为1:5、搅拌速率为1 200 r/min)的情况下考察沉积时间分别为2、5、10、20、30、60 min对得到的CN混悬液平均粒径的影响,结果平均粒径分别为(114.8±3.9)、(49.8±2.6)、(51.9±1.6)、(55.2±3.8)、(53.4±2.9)、(47.6±2.3) nm。沉积过程在5 min之前,平均粒径迅速减小,5 min以后直至60 min,平均粒径大

小虽有变化但幅度相当小,基本趋于稳定。这是因为 CN 在重结晶过程中,短时间内尚未沉积完全,导致粒径变大;达到 5 min 以后,随着沉积时间的延长,搅拌过程中,由于奥斯瓦尔德熟化效应,小粒子会相互碰撞并聚集生长为大颗粒<sup>[23]</sup>。但是在不断搅拌的条件下,又将团聚的大粒子拆分成小粒子,所以其平均粒径并未发生明显变化。综合考虑,沉积时间的长短对 CN 的得率有影响,需要进一步进行优化。

**2.2.5 搅拌速率对 CN 平均粒径的影响** 在其他工艺条件不变(表面活性剂用量为 0.05%、Cur 质量浓度为 8 mg/mL、溶剂与反溶剂比为 1:5、沉积时间为 5 min)的情况下考察搅拌速率分别为 200、400、800、1 200、1 600、2 000 r/min 对得到的 CN 混悬液平均粒径的影响,结果平均粒径分别为(84.8±3.5)、(50.9±2.3)、(49.9±3.3)、(51.0±3.1)、(51.6±1.9)、(52.1±2.6) nm。搅拌速率由 200 r/min 到 400 r/min 时,平均粒径迅速从 75.00 nm 减小到 50.93 nm;继续加速到 800 r/min,平均粒径减小到 49.93 nm;再继续加速,随着搅拌速率的增加,平均粒径基本保持不变。这是因为在低搅拌速率下,沉积出的粒子不能在体系中均匀的分散,从而使粒子团聚;反之,在沉积刚开始时,高搅拌速率,会使粒子不易团聚,破坏了粒子的聚合,继续搅拌时,也会使沉积体系更加均匀,最后粒子粒径变化趋于稳定。虽然搅拌速率为 800 r/min 时粒径最小,但综合考虑到节能环保等因素,因此选择搅拌速率较小而粒径差别不大的 400 r/min 为最佳搅拌速率。

**2.2.6 冻干保护剂甘露醇用量对 CNLP 平均粒径的影响** 在上述条件下(表面活性剂用量为 0.05%、Cur 质量浓度为 8 mg/mL、溶剂与反溶剂比为 1:5、沉积时间为 5 min、搅拌速率为 400 r/min)制备的 CN 混悬液,按照甘露醇与 Cur 的质量比为 0:1、0.5:1、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1 的比例加入到 CN 混悬液中,使其充分溶解后,进行真空冷冻干燥,最后得到 CNLP,再用去离子水复溶后,检测粒径,结果平均粒径分别为(310.3±5.1)、(220.4±4.3)、(227.9±2.6)、(212.3±3.9)、(195.6±3.1)、(172.2±4.6)、(176.9±2.5)、(175.1±3.9) nm。不加甘露醇的平均粒径为 310.3 nm,质量比从 0.5:1 增加到 4:1, CN 的平均粒径从 220.4 nm 减小到 172.2 nm;增加到 5:1,平均粒径大小为 176.9

nm;增加到 6:1,平均粒径大小为 175.1 nm。可以看出,Cur 与甘露醇的质量比增加到 1:4 后,当甘露醇的用量继续增加时,平均粒径大小并无明显变化。因此,得到了最优的 Cur 与甘露醇的质量比为 4:1。

### 2.3 最优工艺验证及表征

综合上述单因素考察结果得出制备 CNLP 最优工艺:Cur 质量浓度 8 mg/mL、溶剂与反溶剂比 1:5、表面活性剂 P80 用量 0.05%、沉积时间 5 min、搅拌速率 400 r/min、甘露醇与 Cur 质量比 4:1。在最优条件下制备 CNLP,其正态分布曲线如图 1 所示,图 1-a 为 CN 混悬液,其平均粒径为(50.9±2.3) nm,图 1-b 为 CNLP 经过复溶后样品,其平均粒径为(172.2±4.6) nm;CN 混悬液和 CNLP 复溶液 Zeta 电位如图 2 所示,其电位为(-15.1±2.9)和(-19.7±3.7) mV;SEM 图谱如图 3 所示,图 3-a 为 Cur 原粉,呈不规则的大块状,粒径在 20 μm 左右。图 3-b 为 CN 冻干粉,呈不规则的均匀的块状结构,粒径在 170 nm 左右,与原粉相比粒径明显减小。从以上 CNLP 的形态来看,由激光粒度仪测得的 CNLP 平均粒径是基本一致的。甘露醇作为冻干保护剂时,会将 CN 均匀地分散开,而不会破坏粒子结构,在冻干过程中起到框架支撑作用,能够很好地将 CN 分散均匀。在冷冻干燥过程中,粒径产生团聚,导致粒径增大,因此,冻干粉复溶后的平均粒径大于混悬液平均粒径。

### 2.4 体外溶出检测

**2.4.1 HPLC 色谱分析条件** 液相色谱柱 Diamonsil 反相 C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-4%冰乙酸水溶液(48:52),柱温 30 °C,检测波长 430 nm,体积流量 1.0 mL/min,进样量 20 μL。

**2.4.2 饱和溶解度检测** 本研究采用去离子水、人工胃液和人工肠液作为溶出介质。人工胃液配制方法:用 5 mL 37%盐酸和 1 000 mL 的去离子水制成混合溶液。人工肠液的配制方法:将 6.8 g/L 磷酸二氢钾加水 500 mL 溶解,用氢氧化钠将溶液的 pH 值调至 6.8,加水稀释至 1 000 mL。

将过量的 Cur 原粉、CNLP 和物理混合物(Cur、甘露醇、P80 的比例和 CNLP 相同)分别加入到 2 mL 溶出介质(去离子水、人工胃液、人工肠液)中,水浴温度(37.0±0.5) °C,搅拌速率 100 r/min,连续搅拌 48 h 后,取 1 mL 样品,再以 10 000 r/min 的速率离心 5 min,取上清液 20 μL 进行 HPLC 检

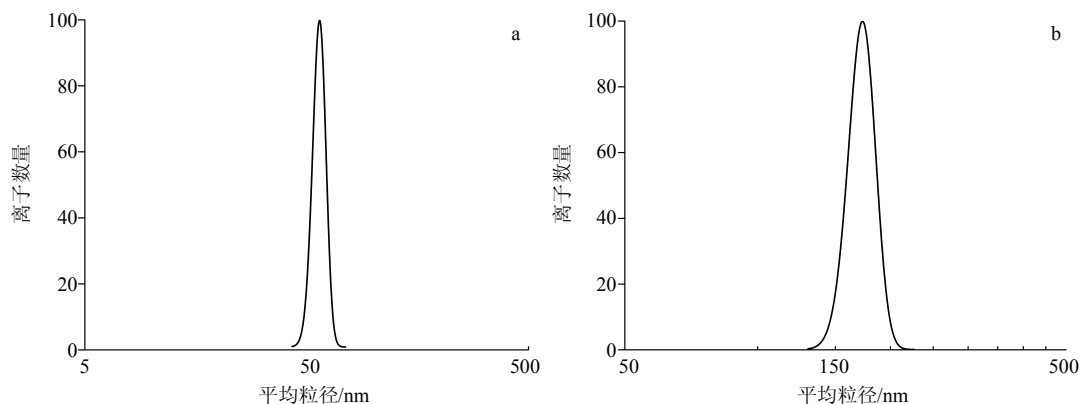


图 1 CN 混悬液 (a) 和 CNLP 复溶液 (b) 的平均粒径正态分布曲线 ( $n=3$ )

Fig. 1 Normal distribution curves of mean particle size of CN suspension (a) and redispersion fluid of CNLP (b) ( $n=3$ )

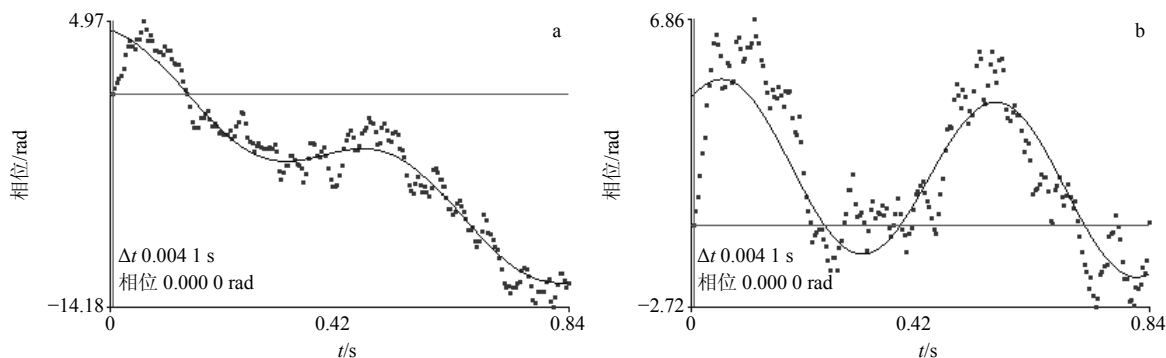


图 2 CN 混悬液 (a) 和 CNLP 复溶液 (b) 的 Zeta 电位图 ( $n=3$ )

Fig. 2 Zeta potential diagrams of CN suspension (a) and redispersion fluid CNLP (b) ( $n=3$ )

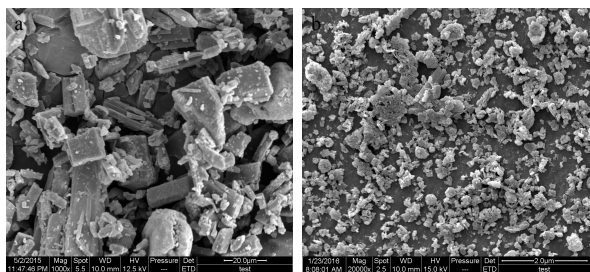


图 3 Cur 原粉 (a) 和 CNLP (b) 的 SEM 图谱

Fig. 3 SEM graphs of raw curcumin powder (a) and CNLP (b)

测。检测分析条件按照“2.4.1”项色谱条件检测。实验重复 3 次，取平均值。

如表 1 所示，根据标准曲线计算回归方程  $Y=135\ 472\ 582.065\ 6 X-100\ 339.948\ 7$  ( $R^2=0.999\ 9$ )，得出 Cur 原粉、CNLP 和物理混合物 (Cur、甘露醇、P80) 在不同溶出介质中的饱和溶解度。在去离子水溶出介质中，Cur 原粉、CNLP 和物理混合物的饱和溶解度分别为 15.44、636.4、16.35  $\mu\text{g/mL}$ ，CNLP 饱和溶解度是原粉的 41.32 倍；在人工胃液溶出介质中，Cur 原粉、CNLP 和物理混合物的饱和溶解度分别为 52.38、91.23、50.02  $\mu\text{g/mL}$ ，CNLP 饱和

表 1 Cur 原粉、CNLP 和物理混合物的饱和溶解度

Table 1 Saturated solubility of raw curcumin powder, CNLP, and physical mixture

样品名称	不同介质中饱和溶解度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	去离子水	人工胃液	人工肠液
Cur 原粉	$15.44 \pm 2.81$	$52.38 \pm 5.13$	$5.47 \pm 1.97$
CNLP	$636.43 \pm 6.92$	$91.23 \pm 6.91$	$22.48 \pm 3.84$
物理混合物	$16.35 \pm 1.53$	$50.02 \pm 4.70$	$8.03 \pm 2.11$

溶解度是原粉的 1.74 倍；在人工肠液溶出介质中，Cur 原粉、CNLP 和物理混合物的饱和溶解度分别为 5.47、22.48、8.03  $\mu\text{g/mL}$ ，CNLP 饱和溶解度是原粉的 4.11 倍。因此，可以看出能够改变粒径大小的因素并不是加了甘露醇和 P80 的原因，而是通过反溶剂法重结晶过程来改变 Cur 粒径大小的，加入 P80 的原因是起到表面活性剂的作用，增加了重结晶过程中粒子的表面活性，起到分散作用，而加入甘露醇的原因是在冻干过程中为了防止粒子的聚合，起到框架支撑作用。从而使得到的 CNLP 粒径小、比表面积大，在去离子水、人工胃液、人工肠

液中的饱和溶解度远高于原粉，因此服用同样剂量的药物，纳米粒能够更好地在体内吸收、发挥药效。

**2.4.3 溶出度检测** 将去离子水、人工胃液和人工肠液作为溶出介质，搅拌速度 100 r/min，水浴温度 (37.0±0.5) °C。称取 26 mg Cur 原粉和 Cur 质量为 26 mg 的 CNLP 分别加入 200 mL 去离子水中，称取 5.2 mg Cur 原粉和 Cur 质量为 5.2 mg 的 CNLP 分别加入 200 mL 人工胃液中，称取 3 mg Cur 原粉和 Cur 质量为 3 mg 的 CNLP 分别加入 200 mL 人工肠液中，并且在 10、20、30、45、60、90、180、240、360、480、600、720 min 时间点上进行溶出取点。每次取 5 mL，每次取完样品溶液后重新添加 5 mL 溶出介质，再以 10 000 r/min 的速率离心 5 min，取上清液 20 μL 直接进行 HPLC 检测，检测分析条件按照“2.4.1”项色谱条件检测。实验重复 3 次，取平均值。然后计算出 Cur 原粉和 CNLP 在 3 种不同介质中的累积溶出率。

$$C_i' = C_1$$

$$C_{i+1}' = C_{i+1} - (V - V_i)C_i'$$

$$Q_i = \sum_{i=1}^i C_i' V / M$$

$C_1$  表示第 1 个取样点药物质量浓度， $C_i$  表示每个时间点中取样品中的药物质量浓度， $C_i'$  为每个时间间隔药物质量增加量， $V$  为溶出介质的总体积， $V_i$  为每次取样体积， $M$  为药物质量， $Q_i$  为每个取样点上溶出速率

由于物理混合方法 (Cur 原粉、甘露醇和 P80) 不能提高 Cur 在 3 种介质中的溶解度，排除了干扰因素。所以本课题只做了 Cur 原粉和 CNLP 在 3 种介质中的溶出实验。图 4-a 为 Cur 原粉和 CNLP 在水中溶出曲线，在溶解度实验开始 30 min 内，Cur 原粉的溶出率为 4.3%，CNLP 的溶出率已经达到了 62.4%，是原粉的 14.51 倍。图 4-b 为 Cur 原粉和 CNLP 在人工胃液中的溶出曲线，在溶解度实验开始 90 min 内，Cur 原粉的溶出率为 32.02%，CNLP 的溶出率已经达到了 74.65%，是原粉的 2.33 倍。图 4-c 为 Cur 原粉和 CNLP 在人工肠液中的溶出曲线，在溶解度实验开始 90 min 内，Cur 原粉的溶出率为 1.22%，CNLP 的溶出率已经达到了 54.65%，是原粉的 44.79 倍。在 3 种溶出介质中，CNLP 的溶出率较原粉均有显著提升，这应归因于 CNLP 的粒径减小、比表面积大，增加了 Cur 的溶解度。Noyes-Whitney 方程指出，药物的溶解速度与药物在溶剂中的表面积呈正比<sup>[24]</sup>。因为该药纳米粉的粒径减小，增大了与溶出介质接触的面积，所以与 Cur 原粉相比，低结晶度和药物粒径小的 CNLP 有较高的溶解速率和溶解度，可以使 CNLP 能够更好地在体内吸收，提高了 Cur 在体内的生物利用度，为其体外与体内相关性分析提供了有利依据。

### 3 讨论

本实验利用单因素实验对 CNLP 的制备工艺进

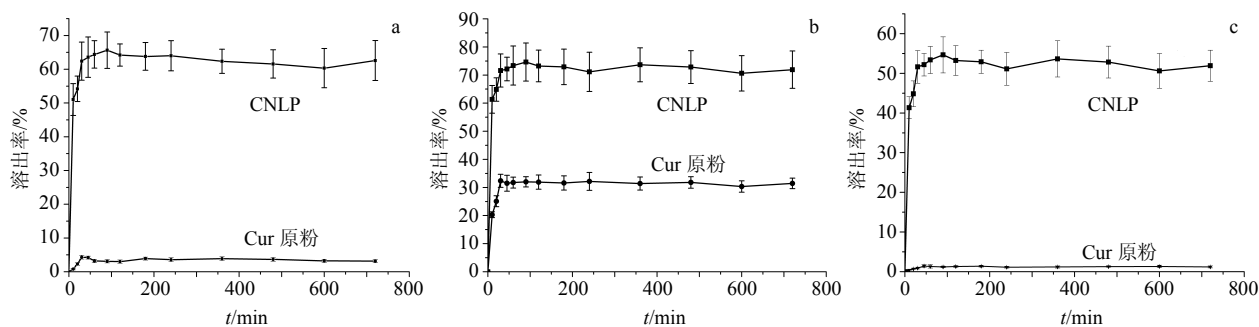


图 4 CNLP 和 Cur 原粉在去离子水 (a)、人工胃液 (b) 和人工肠液 (c) 中溶出曲线

Fig. 4 Dissolution profiles of CNLP and raw curcumin powder in deionized water (a), simulated gastric fluid (b), and simulated intestinal fluid (c)

行优化。采用反溶剂法对药物溶液质量浓度、表面活性剂用量、溶剂与反溶剂比、沉积时间、搅拌速率、冻干保护剂用量 6 个因素进行考察研究，总结出 CNLP 的最优制备条件如下：药物溶液质量浓度为 8 mg/mL、表面活性剂用量为 0.05%、溶剂与反溶剂比为 1 : 5、沉积时间为 5 min、搅拌速率为 400

r/min、Cur 与甘露醇的质量比为 1 : 4。在上述最优条件下，所得 CNLP 复溶后的平均粒径为 172.2 nm。通过溶解度检测，在去离子水中，CNLP 的饱和溶解度是原粉的 41.32 倍；在人工胃液溶出介质中，CNLP 饱和溶解度是原粉的 1.74 倍；在人工肠液溶出介质中，CNLP 饱和溶解度是原粉的 4.11 倍。通

过溶出率检测,同等时间内,在去离子水中,CNLP 的溶出率是原粉的 14.51 倍;在人工胃液中,CNLP 的溶出率是原粉的 2.33 倍;在人工肠液中,CNLP 的溶出率是原粉的 44.79 倍。通过反溶剂法得到的 CNLP 粒径小,在去离子水、人工胃液、人工肠液中的溶解度和溶出速率远高于原粉。

本实验以水溶性差药物 Cur 为研究对象,考察了反溶剂法制备 CNLP 的可行性,并确定了最佳制备工艺条件。CNLP 的粒径的减小增大了药物的比表面积,从而带来了溶解度和溶出率的提高,使得药物更好被吸收。本研究为提高 Cur 类药物的生物利用度提出了新思路。

#### 参考文献

- [1] 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.
- [2] Guo L D, Chen X J, Hu Y H, *et al.* Curcumin inhibits proliferation and induces apoptosis of human colorectal cancer cells by activating the mitochondria apoptotic pathway [J]. *Phytother Res*, 2013, 27(3): 422-430.
- [3] 刘春艳. 姜黄的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [4] 袁鹏,陈莹,肖发,等. 姜黄素的生物活性及在食品中的应用 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(14): 371-375.
- [5] 赵丽艳,余秀娟,韩天云,等. 姜黄素神经保护作用研究进展 [J]. 神经药理学报, 2012, 2(2): 58-64.
- [6] Agnihotri N, Mishra P C. Scavenging mechanism of curcumin toward the hydroxyl radical: A theoretical study of reactions producing ferulic acid and vanillin [J]. *J Phys Chem A*, 2011, 115(49): 14221-14232.
- [7] 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.
- [8] 郑玉强,邓立普. 姜黄素药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(2): 212-214.
- [9] 胡铭,翟延君,刘洋. 纳米中药技术的应用与前景评析 [J]. 中医药学刊, 2002, 20(2): 163-165.
- [10] 王春战,景华. 姜黄素抗炎抗氧化作用的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2012, 25(6): 658-660.
- [11] 杨雁,钟杰,沈志刚,等. 头孢拉定微粉化的研究 [J]. 北京化工大学学报, 2004, 31(3): 15-17.
- [12] 宋湘玲. 反溶剂重结晶法制备超细萘普生颗粒的研究 [D]. 北京: 北京化工大学, 2007.
- [13] 胡婷婷,乐园,降立川,等. 反溶剂重结晶法制备布地奈德超细颗粒及其肺部给药体外评价 [J]. 高校化学工程学报, 2009, 23(1): 99-104.
- [14] 许文佳,赵修华,祖元刚,等. 反溶剂法制备甘草酸纳米粒的表征与体外透皮特性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(8): 1068-1071.
- [15] 赵修华,刘影,王卫国,等. 微粉化反式肉桂酸的反溶剂重结晶法制备与表征 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2165-2171.
- [16] 孟路华,赵怡,潘黎军,等. 维生素 A-姜黄素脂质体的制备及细胞毒性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(14): 1104-1107.
- [17] Song F, Zhang L, Yu H X, *et al.* The mechanism underlying proliferation-inhibitory and apoptosis-inducing effects of curcumin on papillary thyroid cancer cells [J]. *Food Chem*, 2012, 132(1): 43-50.
- [18] 李秀英,郑力,姜同英,等. 姜黄素鼻用微乳凝胶剂的制备及性质考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(2): 98-104.
- [19] 刘延敏,王传胜,韩刚,等. 姜黄素固体分散体的制备及体外溶出度测定 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2006, 40(4): 327-328.
- [20] 孙冬妮,吴焯,牛垒,等. 姜黄素长循环固体脂质纳米粒的制备及其理化性质 [J]. 中国药剂学杂志, 2011, 9(6): 105-112.
- [21] 苏旬,贺秀丽,刘秀菊,等. 姜黄素的临床研究进展 [J]. 食品与药品, 2012, 14(5): 193-198.
- [22] Tripanichkul W, Jaroensupparerch E O. Curcumin protects nigrostriatal dopaminergic neurons and reduces glial activation in 6-hydroxydopamine hemiparkinsonian mice model [J]. *Int J Neurosci*, 2012, 122(5): 263-270.
- [23] 曲秋莲,张英鸽. 纳米技术和材料在医学上应用现状与展望 [J]. 东南大学学报, 2011, 30(1): 157-163.
- [24] 谢玉洁,王洁欣,乐园,等. 反溶剂重结晶法制备阿奇霉素超细粉体 [J]. 北京化工大学学报, 2011, 38(3): 17-21.