

第二章 姜黄素 PLGA 纳米粒的制备及体外评价

纳米粒是当前药剂学研究的新亚微粒给药系统，具有靶向性给药，改变药物体内分布，调节释药速度，改善药物口服吸收，提高生物利用度，降低药物毒副作用等优点，已成为国内外药剂学研究的热点领域。纳米粒的制备方法通常有乳化-溶剂挥发法、乳化-溶剂扩散法、聚合法、薄膜-超声法、高压乳匀法等等^[34]，可根据药物性质选择不同的制备方法，通常采用药物粒径大小、包封率、回收率、载药量等指标来对纳米粒的制备工艺进行评价。乳化溶剂挥发法是目前常用的纳米粒制备方法，主要包括单次乳化法和复乳法，其中单次乳化法也称一级溶剂蒸发法。单次乳化法即药物和聚合物形成 O/W 型乳。由于这种乳化法对水溶性药物如蛋白质多肽等有较低的包封率，药物容易从油相渗入到水相连续相中，在微球表面会有水溶性药物的细小结晶析出。所以 O/W 乳化法被广泛的应用于制备脂溶性药物如类固醇。对于水溶性药物可以采用 W/O 乳化法。药物和或溶于一种与水相混溶的有机溶剂如乙睛中，然后将此溶液分散于内有油溶性表面活性剂如司盘的轻质矿物油中。最后，随着有机溶剂的挥发或萃取，形成纳米粒。复乳法是在单次乳化的基础上，再次进行乳化形成 W/O/W 的过程，这种方法也是目前最为广泛使用的制备水溶性药物纳米粒的方法。姜黄素是一种典型的脂溶性药物，因此我们采用单次乳化溶剂挥发法制备姜黄素 PLGA 纳米粒，具有工艺稳定可控、重现性好的优点，所制备的纳米粒载药量高、粒径可控。本文根据实验室条件并参考相关文献^[35]，考察了有机溶剂的种类、超声强度、PVA 的浓度、水相体积、PLGA 的浓度、有机相体积等因素对纳米粒制备的影响，以粒径和载药量作为指标，同时兼顾制备难易及实验室条件，通过单因素考察纳米粒制备工艺，确定了最佳处方。同时考察了不同浓度、不同种类的冻干保护剂对冻干结果的影响，以粒径为主要指标。另外考察了加入不同的附加剂对粒径、载药量及释放的影响。

1 仪器与材料

1.1 仪器

匀浆机 (IKA T18), 广州仪科实验室技术有限公司;
真空冷冻干燥机 (LG-5), 上海市离心机械研究所;
超声细胞粉碎仪 (JY92-II), 宁波新芝生物科技股份有限公司;

恒温振荡器 (HH-4) 金坛市富华仪器制造有限公司;
恒温磁力搅拌器 (85-2A), 金坛市富华仪器制造有限公司;
高速低温离心机, Beckman 公司;
透射电镜 (TecnaiG220), 美国 FEI 公司;
激光粒度分析仪 (HPP 5001), 英国马尔文公司。

1.2 材料

姜黄素 (AR), 国药集团化学试剂有限公司;
吐温 80 (AR), 国药集团化学试剂有限公司;
PLGA (AR), 济南岱罡生物技术有限公司;
聚乙烯醇 17-88 (工业级) 苏州市中远化工供销有限公司。
其余试剂均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。

2 实验方法

2.1 姜黄素 PLGA 纳米粒分析方法的建立

2.1.1 姜黄素最大吸收波长的确定

精密称取姜黄素适量, 用丙酮溶解; 另取适量 PLGA 以适量丙酮溶解; 另取适量 PVA、蔗糖以适量蒸馏水溶解。将上述 4 种溶液在 200 ~ 600 nm 范围内扫描, 姜黄素和 PLGA 以丙酮作空白, PVA 和蔗糖以蒸馏水为空白。姜黄素在 425 nm 处有最大吸收与文献报道一致^[36], 而 PLGA、PVA、蔗糖在此波长处无吸收, 对测定无干扰, 故选择 425 nm 作为测定波长。

2.1.2 标准曲线的绘制

精密称取姜黄素 10mg, 置于 10mL 的容量瓶中, 加丙酮充分溶解, 并加丙酮至刻度, 得 $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液①。将其稀释 10 倍得浓度为 $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液②。分别精密吸取 0.1mL、0.3mL、0.5mL、1.0mL、1.5mL 的溶液②于 10mL 的容量瓶中, 用丙酮稀释至刻度。以丙酮为空白对照, 在 425nm 波长处测定吸光度值。以浓度对吸光度作图, 得姜黄素标准曲线, 见图 2-1。

测定结果, 姜黄素在浓度 $1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\sim 15\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内与吸光度具有很好的线性关系。其标准曲线方程如下:

$$A=0.149C+0.0291 \quad r=0.9997$$