

# 复乳法制备雪莲纳米粒的研究

赵心怡<sup>1</sup>, 沈琦<sup>1</sup>, 李明丽<sup>1</sup>, 贾晓光<sup>2\*</sup>, 波拉提·马卡比力<sup>2</sup>

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200231; 2. 新疆中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002)

**摘要:**目的 利用雪莲注射液中间体为原料, 制备雪莲纳米粒, 以提高患者对雪莲用药的顺应性和达到缓释作用。方法 以复乳法制备雪莲纳米粒, 雪莲原料药溶解于乙二醇中作为内水相, 聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (PLGA) 溶解在二氯甲烷-丙酮 (2:1) 的混和溶剂中作为油相, 加入乳化剂形成 W/O 型初乳后以蒸馏水作为外水相在乳化剂作用下形成 W/O/W 型复乳纳米溶液。结果 纳米粒的平均粒径在 134 nm; Zeta 电位为 -8.06; 包封率为 42.83%, 载药量为 2.17%; 12 h 体外释放 39.57%。结论 复乳法能够得到性质稳定和具有缓释功能的雪莲纳米粒。

**关键词:** 雪莲; PLGA 纳米粒; 复乳法; 缓释

**DOI 标识:** doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.07.075

**中图分类号:** R283 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2010)01-1726-02

## Preparation of Saussurea Nanoparticles by A Double Emulsion Method

ZHAO Xin-yi<sup>1</sup>, SHEN Qi<sup>1</sup>, LI Ming-li<sup>1</sup>, JIA Xiao-guang<sup>2\*</sup>, BO Latim akabili<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200240, China; 2. Xinjiang Institute of Chinese Materia Medica and Ethnobotany, Urumqi, 830002, Xinjiang, China)

**Abstract:** **Objective** To prepare saussurea nanoparticles by using of saussurea injection intermediate so to improve the patients' compliance and release slowly. **Methods** Multiple emulsion method was used to prepare the saussurea nanoparticles. Saussurea injection intermediate dissolved in ethylene glycol as internal water phase, PLGA dissolved into the mixed solution that dichloromethane-acetone was 2:1 as oil phase, adding emulsifier to form W/O type primal emulsion, then add the primal emulsion to the distilled water contain emulsifier to form W/O/W type multiple emulsion. **Results** The particles mean size of the best prescription of the nanoparticles was 134 nm, the drug loading was 42.83%, and encapsulation ratio was 16.08%. **Vitro** release rate was 39.57% in 12 hours. **Conclusion** The stable and slow-released saussurea nanoparticles can be prepared by multiple emulsion method.

**Key words:** Saussurea; PLGA nanoparticles; Multiple emulsion method; Slow-release

雪莲注射液的主要成分包括黄酮、多糖和生物碱类。其中黄酮类成分是雪莲抗炎止痛的主要成分, 能够促进肾上腺皮质激素的合成, 不但能显著提高小鼠免疫功能, 对抗风湿性关节炎<sup>[1]</sup>, 还具有抗癌、解痉、降压和平喘作用<sup>[2,3]</sup>。生物碱能够收缩血管, 改变血管通透性从而起到强心、抗炎抗风湿和镇痛作用。多糖类成分则具有消除自由基、抗疲劳作用, 并且能够兴奋子宫平滑肌, 治疗妇女小腹冷痛<sup>[1]</sup>。纳米中药作为中药现代化的重要手段之一, 为药物在机体内的吸收和发挥作用提供了更为广泛的选择, 赋予传统中药以新的功能, 如缓释、增强靶向性、丰富给药途径、提高生物利用度、降低毒副作用等<sup>[4]</sup>。本文利用包含雪莲有效成分的雪莲注射液中间体为原料药, 将传统的注射液改为复乳型纳米溶液, 为制成顺应性更高的剂型提供技术支持。

### 1 材料与仪器

1.1 试剂 雪莲原料药(雪莲注射液的中间体, 新疆民族药中药研究所提供); 聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (PLGA, 50/50, M = 15000, 山东岱罡生物公司); 芦丁标准品(中国药品生物制品鉴定所); 甲醇(上海凌峰化学试剂有限公司)为色谱纯; 氢氧化钠、磷酸二氢钾吐温-80、司班-80(上海医药集团上海化学试剂公司)、二氯甲烷、丙酮、乙二醇、甲醇、乙腈等(国药集团化学试剂有限公司)均为分析纯。

1.2 仪器 BS124S 电子天平: 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; SPD-20A 岛津高效液相色谱仪: 日本岛津公司; 布鲁克海文

激光粒径仪 Zeta PLUS-90: 美国布鲁克海文仪器公司; GG-17 旋转蒸发仪: 上海大研仪器有限公司; TGL-16C 高速台式离心机: 上海安亭科学仪器厂; 电镜: JEM-2010/NCA OXFORD, 日本。

### 2 方法<sup>[5,6]</sup>

2.1 纳米粒的制备 称取 10 mg 雪莲注射液中间体超声溶解于 1 ml 乙二醇中, 作为内水相, 称取 33.9 mg PLGA 加入烧杯中, 加入 2 ml 的二氯甲烷-丙酮至重量为 2.56 g, 作为油相, 加入司班-80 0.25 g, 吐温-80 0.50 g, 在油相中加入搅拌机, 在磁力搅拌器上高速搅拌使油相和乳化剂混合均匀, 然后用注射器抽取 0.3 ml 内水相缓缓滴加到油相中, 3 000 r/min 搅拌形成具有蓝色乳光的 W/O 型初乳。称取吐温-80 0.65 g, 加入 80 ml 蒸馏水中作为外水相, 在乳化剂作用下将制得的 W/O 型初乳滴入其中, 900 r/min 搅拌制得 W/O/W 复乳型纳米溶液。最后将制得的纳米溶液在旋转蒸发仪上旋蒸, 去除有机溶剂。

2.2 粒径测量 取适量雪莲纳米粒胶体分散体系加去离子水稀释 10 倍, 用激光散射粒度测定仪测定其粒径平均大小。

2.3 Zeta 电位 将稀释 10 倍的纳米溶液静置 1 h, 用 Zeta 电位仪测定其电位, 平行测定 6 次。

2.4 透射电镜实验 (TEM) 在经透射电镜扫描以前, 对纳米溶液应进行处理: 配制 2% 的磷钨酸溶液, 将纳米溶液滴加在铜网上后, 待表面烘干, 滴加 1~2 滴 2% 的磷钨酸溶液进行染色, 再在灯下将所制样品彻底烘干后送样观察。

2.5 载药量、包封率的测定 采用 HPLC 法对纳米粒的载药量和包封率进行测定。根据雪莲的有效成分采用芦丁 (Rutin) 作为标准品, 以黄酮类成分的含量反映药物的含量。使用迪马 C<sub>18</sub> 反相色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 在 356 nm 波长下以甲醇: 0.1% 磷酸水溶液 5:5 为流动相<sup>[7]</sup>; 流速 1 ml/min。检测得芦丁的保留时间是 4.86 min。取所制得的纳米溶液 1 ml, 用 0.1 μm 微孔滤膜滤去纳米粒, 滤液测定得游离药物的量 W<sub>F</sub>, 1 ml 纳米溶液超声破坏 30 min, 加 4 倍甲醇沉淀 PLGA, 10 000 r/min 离心 30

收稿日期: 2009-09-14; 修订日期: 2010-01-05

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30973644);

新疆维吾尔自治区重点技术创新财政补助项目 (No. 2007-1)

作者简介: 赵心怡 (1986-), 女 (汉族), 安徽宿州人, 现为上海交通大学药学院药理学硕士研究生, 学士学位, 主要从事药物制剂工作。

\* 通讯作者简介: 贾晓光 (1955-), 男 (汉族), 辽宁营口人, 现任新疆中药民族药研究所研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药民族药研究工作。

min, 进样测定所得浓度  $\times 5$  为药物总量  $W_T$ 。每毫升纳米溶液冻干后质量为  $W_N$ , 每毫升纳米溶液中药物的投入量为  $W_D$ 。按下式计算包封率、载药量。

$$\text{包封率}(\%) = (W_T - W_F) / W_T$$

$$\text{载药量}(\%) = (W_T - W_F) / W_N$$

2.6 体外释放实验<sup>[8,9]</sup> 本实验根据 2005 版《中国药典》配制磷酸盐缓冲液 PBS (pH=7.4) 作为释放介质, 考察雪莲纳米粒的体外释药曲线。剪取 10cm 长的透析袋, 用沸水煮 5~10 min, 再用蒸馏水冲洗干净。取纳米溶液 6 ml, 加 12 ml 释放介质, 转入透析袋中, 检查确保不漏液。将透析袋置于盛有 70 ml 释放介质 (PBS) 烧杯中, 加搅拌机 37 恒温 50 r/min 恒速磁力搅拌。在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 后从透析袋外取溶液 1.5 ml, 同时补充相同体积的释放介质。将取出的样品进行 HPLC 检测, 计算其中药物含量。配制相同药物浓度的雪莲原料药的 PBS 溶液, 按同样方法测量释放速率。

### 3 结果

3.1 纳米粒的制备和形态考察 本实验采用复乳法制备雪莲纳米粒, 主要以粒径及包封率为表征参数, 考察乳化剂和油相的用量对纳米粒形成的影响。

3.1.1 纳米粒的处方优化 处方优化以能形成稳定、大小适度的纳米粒和较高的药物包封率为前提, 主要从乳化剂的种类和用量、水油相之比等纳米粒形成的关键步骤来筛选优化处方。见表 1~3。

表 1 内水相乳化剂的用量对纳米粒成型的影响

编号	乳化剂的用量 m/g	粒径 l/nm
1	0.5	212.4
2	0.625	187.6
3	0.75	134.6

表 2 二氯甲烷-丙酮的体积比对纳米粒成型及包封率的影响

编号	二氯甲烷-丙酮 V/V	粒径 l/nm	包封率 (%)
1	1/1	-	-
2	2/1	134.6	42.83
3	3/1	132.4	38.62
4	4/1	129.6	23.57

表 3 油相 (二氯甲烷-丙酮) 的量对纳米粒成型的影响

编号	二氯甲烷-丙酮 m/g	粒径 l/nm
1	2.5	134.6
2	4.0	196.8
3	6.0	232.4

从上述数据得优化后的处方如下

内水相: 雪莲原料药/乙二醇 (10mg/ml) 0.3ml

油相: PLGA+二氯甲烷: 丙酮 (2/1) 2.5g (PLGA

33.9mg)

W/O 相乳化剂: 司班-80+吐温-80 0.25g+0.5g

外水相: 蒸馏水 80ml

外水相乳化剂: 吐温-80 0.65g

按此处方得乳光明显的淡蓝色纳米粒胶体分散体系。

3.1.2 粒径 测定粒径, 测定结果见图 1。纳米粒平均粒径为 134.6 nm。

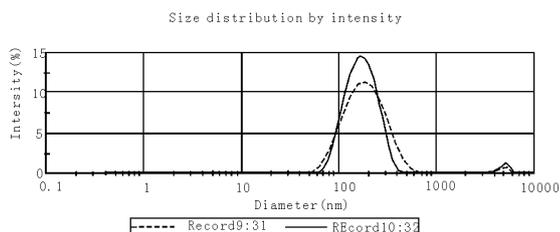


图 1 处方优化后制备成纳米粒的粒径分布

3.1.3 Zeta 电位 用 Zeta 电位仪测定其电位, 测得平均 Zeta 电位为 -8.06, 说明纳米溶液较稳定。

3.1.4 透射电镜实验 (TEM) 用透射电镜观察到纳米粒的形态。见图 2。

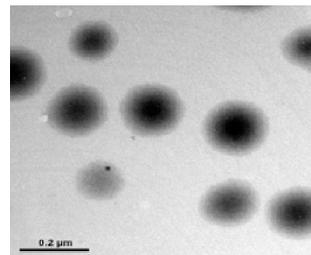


图 2 优化后处方制备纳米粒的电镜图

由电镜照片看出纳米粒形态为类球形, 表面较光滑, 大小均匀, 纳米粒之间基本无黏连。

3.2 载药量、包封率和药物利用率

$$\text{包封率}(\%) = (W_T - W_F) / W_T = 42.83\%$$

$$\text{载药量}(\%) = (W_T - W_F) / W_N = 2.17\%$$

3.3 体外释放实验 原料药和纳米粒的体外释放实验结果如图 3 所示:

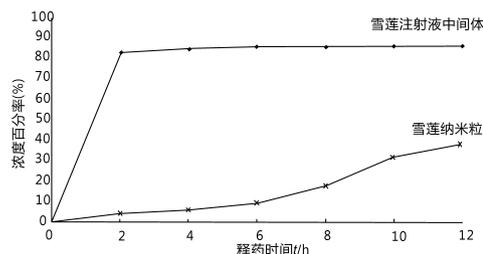


图 3 雪莲原料药和雪莲纳米粒体外释放曲线

由 HPLC 测定, 计算纳米粒溶液和雪莲原料药的体外累积释放率得知, 雪莲原料药体外释放在 2 h 达到 82.14%, 释放速度很快。而在相同条件下, 纳米粒溶液在 2 h 时释放为 2.08%, 12 h 后达 39.57%, 释放速度减缓, 说明所制得纳米粒能达到较好的缓释效果。

### 4 讨论

根据 PLGA 和雪莲原料药的理化特性, 选用复乳法制备聚合物纳米粒是行之有效的办法。本实验通过改变油相成分及用量、乳化剂用量从而制备得到理化性质较好的纳米粒溶液。

通过体外实验的考察, 雪莲纳米粒与雪莲原料药相比能达到缓释作用, 但体内是否能提高生物利用度, 还有待于进一步考察。

### 参考文献:

- [1] 赵莉, 王晓玲. 新疆雪莲的化学成分药理作用及其临床应用 [J]. 西南民族大学学报 (自然科学版), 2003, 29 (4): 424.
- [2] 陈玉珍, 李凤兰. 药用资源植物雪莲化学成分及药理作用 [J]. 中国野生植物资源, 2005, 24 (3): 1.
- [3] 李君山, 蔡少青. 雪莲花类药材的化学和药理研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 1998, 33 (8): 449.
- [4] 刘丽芳, 张阳德. 纳米中药研究与中药现代化 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19 (8): 1186.
- [5] 董鑫. PLGA 载多柔比星磁性纳米微球的制备与表征 [J]. 常熟理工学院学报 (自然科学版), 2008, 22 (10): 43.
- [6] Bergson F, OLIVEIRA, Ana E R, FERREIRA, Silvia L, FALHO & Amado SILVA - CUNHA. (2009) Lat Am J. Pharm. 28: 409.
- [7] 张慧, 赵翔. HPLC 法测定复方雪莲胶囊中芦丁的含量 [J]. 光明中医, 2009, 24 (2): 214.
- [8] 黄义, 李新中, 雷鹏, 等. 黄芩苷固体脂质纳米粒体外释放研究 [J]. 中国药房, 2009, 20 (9): 646.
- [9] 符旭东, 高永良. 缓释微球的释放度试验及体内外相关性研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2003, 12 (8): 608.