

姜黄素纳米混悬剂制备及体外溶出度研究

张小飞¹, 果秋婷², 孙静¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712000)

摘要:目的: 制备姜黄素纳米混悬剂, 并研究其体外溶出度。方法: 采用高压均质法制备姜黄素纳米混悬剂, 以纳米混悬剂粒径分布、PdI和Zeta电位为指标, 考察了姜黄素纳米混悬剂的影响因素, 对制得的纳米混悬剂进行表征, 并比较姜黄素纳米混悬剂溶液、固化纳米混悬剂和原料药的溶出速率和溶出量。结果: 姜黄素纳米混悬剂平均粒径为 (396.4 ± 67.2) nm, PdI为 (0.369 ± 0.061) , Zeta电位为 (-16.7 ± 3.5) mV; 扫描电镜显示纳米混悬剂粒径均一。姜黄素纳米混悬剂溶液和固化姜黄素纳米混悬剂的体外累积溶出度明显高于姜黄素原料药。结论: 高压均质法制备姜黄素纳米混悬剂的工艺简单易行, 姜黄素纳米混悬剂能显著提高药物的体外溶出度。

关键词: 姜黄素; 纳米混悬剂; 体外溶出度; 高压均质

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-842X(2016)12-0053-04

Preparation and in Vitro Dissolution Study of Curcumin Nanosuspensions

ZHANG Xiaofei¹, GUO Qiuting², SUN Jing¹

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China;

2. Xianyang Vocational College, Xianyang 712000, Shaanxi, China)

Abstract: *Objective:* To prepare curcumin nanosuspensions (Cur-NS) and to investigate in vitro dissolution behavior. *Methods:* Cur-NS were prepared by the high pressure homogenization technology. The particle size, PdI and Zeta electric potential of nanosuspensions were as taken as the indexes to determinate the factors that influenced the preparation process greatly. The dissolution rate and the dissolution amount of curcumin from the nanosuspensions, solid nanosuspensions, and API were determined and compared by the paddle method. *Results:* The particle size, polydispersion index, zeta potential of Cur-NS were found to be (396.4 ± 67.2) nm, (0.369 ± 0.061) and (-16.7 ± 3.5) mV, respectively. The nanosuspensions were found to be small and homogeneous as seen in scan electron microscopy. The in vitro accumulated dissolution of Cur-NS and solid Cur-NS were higher than that of the API. *Conclusion:* The high pressure homogenization technology employed to prepare Cur-NS is feasible and Cur-NS can improve the in vitro dissolution rate notably.

Keywords: curcumin; nanosuspensions; in vitro dissolution; high pressure homogenization

姜黄素(Curcumin, Cur)是从姜科、天南星科的根茎中提取得到的一种二酮类化合物。医学研究表明,姜黄素具有降血脂、抗炎、抗氧化、抗HIV病毒等作用^[1-4]。随着研究的深入,近年来研究发现姜黄素

具有抗肿瘤的作用,已成为研究热点^[5-8],但由于姜黄素在水中溶解性较差,严重影响了药物的生物利用度^[9],有必要通过研制开发新剂型来满足临床应用。

合并2次滤液,用60%乙醇定容至50 mL。重复试验3次,实际测得化橘红总黄酮含量51.03 mg/mL,与预测值52.39 mg/mL接近。

3 讨论

酶解辅助提取是利用酶高度专一的特性,破坏细胞壁结构,使有效成分易于溶出,提取条件温和且提取完全,本试验以化橘红为研究对象,建立酶解与醇提相结合的提取方法,并采用响应面法优选最佳酶解条件,结果显示实测值与预测值接近,预测性良好,为进一步开展化橘红药用及保健方面的研究奠定基础,同时为总黄酮类化合物规模化生产提供一种新工艺。◆

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 74.
- [2] 张超洪, 肖维强, 赵鹏, 等. 广东省化橘红中黄酮类物质的HPLC测定[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(4): 483-486.
- [3] 陈永刚, 刘晓涵, 林励, 等. 超声波提取法化橘红中黄酮类物质的工艺优选[J]. 中药材, 2009, 32(1): 138-141.
- [4] 李吉华. 化橘红中柚皮苷、柚皮芸香苷、野漆树苷和柚皮素的HPLC测定[J]. 山东中医杂志, 2012, 31(4): 277-278.
- [5] 莫小路, 蔡岳文, 曾庆钱. 中药化橘红的研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 9(6): 39-41.
- [6] 李慕春, 阿力甫·阿不都, 贺飞, 等. 戈宝红麻总黄酮酶法提取工艺研究[J]. 中南药学, 2015, 13(3): 270-273.
- [7] 彭晓青, 程轩轩, 张旭红, 等. 复合酶法提取龙眼核总黄酮的工艺研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2014, 14(2): 134-136.

收稿日期: 2016-03-09

基金项目: 陕西省科技厅计划项目(2015SF203); 陕西省中药制药重点学科资助项目

作者简介: 张小飞(1982-), 男, 内蒙古赤峰人, 讲师, 硕士, 研究方向: 中药新技术与新剂型研究。



微信公众号: lnzyydxxb (或扫左侧二维码关注)

投稿平台: <http://lxzb.cbpt.cnki.net>

纳米混悬剂(Nanosuspensions, NSs)是使用表面活性剂和(或)高分子聚合物做为稳定剂,通过特殊设备将难溶性药物制备成纳米级粒子的多相分散体系。由于纳米混悬剂粒径较小,比表面积较大,可以增加难溶性药物的溶出速率和溶解度,因此可显著提高难溶性药物的口服生物利用度^[10-11]。鉴于此,本研究将姜黄素制成纳米混悬剂(Curcumin Nanosuspensions, Cur-NSs)以提高药物溶出速度,进而药物提高生物利用度,以便更好地发挥它的抗肿瘤作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司);BP211D 电子天平(德国赛多利斯集团公司);高剪切分散机(德国IKA集团公司);NanoGenizer 高压均质机(苏州微流纳米生物技术有限公司);Nicomp380 Z3000 激光粒度分布测定仪(苏州微流纳米生物技术有限公司);扫描电镜(日本电子公司)。

1.2 材料

姜黄素原料药(上海三爱思试剂公司,批号 F20110602,纯度 $\geq 97\%$);姜黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110823-201004);羟丙基纤维素(HPC,上海卡乐康包衣技术有限公司);羟丙甲纤维素(HPMC,上海卡乐康包衣技术有限公司);聚乙烯醇(PVA,巴斯夫中国有限公司);聚维酮 K30(PVP K30,巴斯夫中国有限公司);十二烷基硫酸钠(SDS,上海 Sigma 试剂公司);PEG-1000 维生素 E 琥珀酸酯(TPGS,巴斯夫中国有限公司)。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Hypersil ODS-C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-4%醋酸溶液(75:25);体积流量:1.0 mL/min;柱温室温;进样量 20 μ L;检测波长 430 nm。

2.1.2 线性关系考察

精密称定姜黄素对照品 10.0 mg 置 100 mL 棕色量瓶中,加入适量甲醇,超声溶解,加入含吐温 80(0.1%, W/V)的 pH6.8 PBS 稀释液定容,摇匀,既得对照品储备液(含姜黄素 100 μ g/mL)。分别移取 0.25、0.5、1.0、2.0、5.0 mL 对照品贮备液置 50 mL 棕色量瓶中,以稀释液稀释成含姜黄素 0.5、1.0、2.0、4.0、10.0 μ g/mL 的系列对照品溶液,摇匀。分别精密吸取系列对照品溶液 20 μ L 按照“2.1.1”项下色谱条件测定分析,以姜黄素质量浓度(C)对峰面积(A)作线性回归,回归方程为: $A=99163C-739.7$ ($r=0.9999$)。结果表明,姜黄素在 0.5~10.0 μ g/mL 质量浓度内与峰面积的线性关系良好。方法学考察表明:日内精密度 RSD=0.73%($n=6$);日间精密度 RSD=1.05%($n=6$);高、中、低 3 个浓度的平均回收率为 99.4%,RSD=1.31%($n=9$)。

2.2 姜黄素纳米混悬剂制备工艺

分别以 HPMC(1.0%, m/v)、HPC(1.0%, m/v)、PVA(1.0%, m/v)、PVP K30(1.0%, m/v)、TPGS(1.0%, m/v)作为稳定剂制备姜黄素纳米混悬

剂。具体制备工艺如下:分别将处方量的姜黄素(5.0%, W/V)原料药均匀分散到上述含有稳定剂的溶液中,开启高速剪切机(转速设置为 20000 r/min,剪切时间 10 min)分散处理,初步降低姜黄素原料药的粒径,得到微米级姜黄素混悬液;再将微米级姜黄素混悬液经高压均质机在 500 bar 压力下均质 2 次,再经 1500 bar 压力下均质 20 次,即得到姜黄素纳米混悬剂,在均质过程中第 1、5、10、15、20 次取样测定姜黄素纳米混悬剂粒径分布。称取适量甘露醇溶解到姜黄素纳米混悬剂溶液中,经喷雾干燥得到固化的姜黄素纳米混悬剂。

2.2.1 稳定剂种类对姜黄素纳米混悬剂性质影响

根据文献^[12]报道,本研究分别采用 HPMC、HPC、PVP K30、PVA、TPGS 作为稳定剂,并以纳米混悬剂平均粒径分布、多聚分散系数(PdI)、Zeta 电位作为评价指标筛选稳定剂,结果见图 1~图 2。

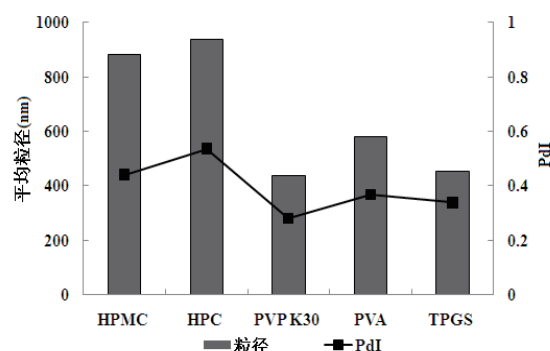


图1 不同种类稳定剂对姜黄素纳米混悬剂粒径分布、PdI的影响

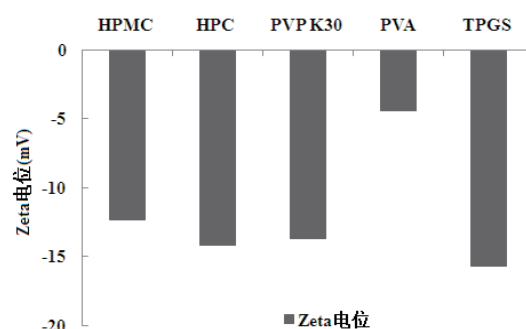


图2 不同种类稳定剂对姜黄素纳米混悬剂Zeta电位的影响

由结果可知,以 HPMC、HPC 作为稳定剂,制备的姜黄素纳米混悬剂粒径分布和 PdI 都较大;以 PVP K30 作为稳定剂,制备的姜黄素纳米混悬剂平均粒径分布和 PdI 值都较小,姜黄素纳米混悬剂粒度分布较为均匀, Zeta 电位为 -13.7 mV,有利于姜黄素纳米混悬剂的稳定。因此,本研究选用 PVP K30(1.0%, W/V)作为制备姜黄素纳米混悬剂的稳定剂。

2.2.2 均质次数对姜黄素纳米混悬剂性质的影响

按照“2.2”项制备工艺,以 PVP K30(1.0%, W/V)作为制备姜黄素纳米混悬剂的稳定剂,分别在均质过程中第 1、5、10、15、20 次取样检测姜黄素纳米混悬剂的平均粒径分布,并以纳米混悬剂平

均粒径分布、多聚分散系数(PdI)作为评价指标,考察均质次数对姜黄素纳米混悬剂性质的影响。见图3。

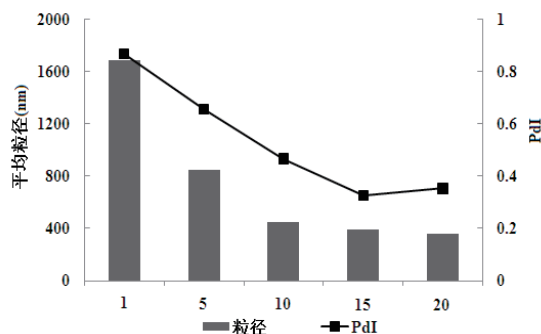


图3 均质次数对姜黄素纳米混悬剂粒径分布、PdI的影响

由结果可知,随着均质次数的增加,姜黄素纳米混悬剂的平均粒径分布逐渐减小,在均质第15次以后,姜黄素纳米混悬剂的平均粒径在400 nm左右,几乎不再减小,因此本文确定高压均质15次。

2.2.3 甘露醇浓度对姜黄素纳米混悬剂固化的影响

根据文献^[13]报道,纳米混悬剂溶液在长时间放置过程中由于Ostwald-Freundlich效应^[14]导致纳米混悬剂的粒径大小和分布将不断变化,容易出现沉降,因此需要对姜黄素纳米混悬剂固化处理,以增加其稳定性。

根据文献^[15]报道,固化纳米混悬剂的3种方式分别为:流化床干燥法、喷雾干燥法和冷冻干燥法,喷雾干燥法在固化效率和收率方面具有较大优势,且固化前后纳米混悬剂的粒径变化较小,因此得到广泛应用。根据文献^[16]报道,甘露醇作为纳米混悬剂固化的良好载体,在纳米混悬剂固化过程中粒径不会显著增加。因此,本研究以甘露醇作为固化载体,采用喷雾干燥法固化姜黄素纳米混悬剂,考察不同甘露醇浓度对姜黄素纳米混悬剂性质的影响。见图4。

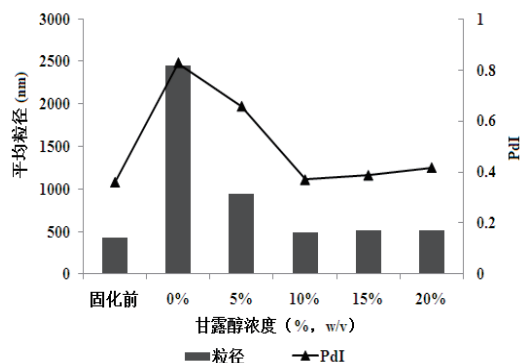


图4 甘露醇浓度对粒径分布、PdI的影响

由结果可知,不含有甘露醇的姜黄素纳米混悬剂直接进行喷雾干燥,得到的姜黄素纳米混悬剂复溶后平均粒径分布和PdI较喷雾干燥前显著增加;含有甘露醇的姜黄素纳米混悬剂经喷雾干燥后得的姜黄素纳米混悬剂的平均粒径分布和PdI得到显著改善,且甘露醇浓度为10%时,姜黄素纳米混悬剂粒径和PdI与喷雾干燥前比较变化最小。因此本研究确定甘露醇浓度为10%作为喷雾干燥固化姜黄

素纳米混悬剂的载体浓度。

2.3 姜黄素纳米混悬剂制备工艺验证与表征

根据筛选的处方和工艺参数制备3批姜黄素纳米混悬剂以验证工艺重现性。称取5 g姜黄素原料药均匀分散到100 mL含有PVP K30 (1.0%, W/V)稳定剂的溶液中,经高速剪切机分散(转速20000 r/min,剪切10 min),得到微米级姜黄素混悬液;再将微米级姜黄素混悬液经高压均质机在500 bar压力下均质2次,再经1500 bar压力下均质15次,既得到姜黄素纳米混悬剂,并对姜黄素纳米混悬剂表征。

2.3.1 扫描电镜观察

向玻璃板上吸取适量姜黄素纳米混悬剂,用蒸馏水稀释一定倍数,吸去多余的水分,自然挥干后,喷金,在电子显微镜扫描,并拍摄照片。结果见图5。

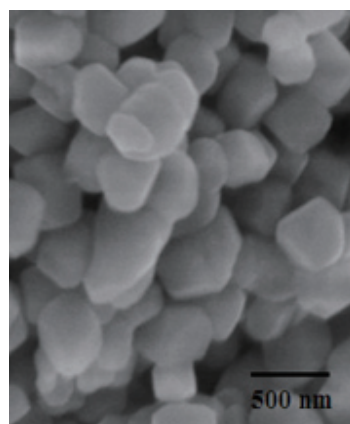


图5 姜黄素纳米混悬剂扫描电镜照片

通过扫描电镜照片可见,制备的姜黄素纳米混悬剂呈不规则颗粒状,颗粒大小较为均匀。

2.3.2 粒径分布及Zeta电位测定

移取少量姜黄素纳米混悬剂溶液,加入适量蒸馏水稀释,采用马尔文激光粒度分布测定仪测定其粒径分布和Zeta电位。结果见图6。

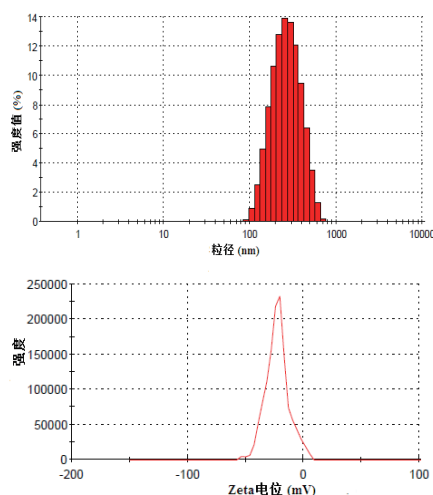


图6 姜黄素纳米混悬剂Cur-NS粒径分布及Zeta电位

由结果可知,制备的姜黄素纳米混悬剂平均粒径分布为 (396.4 ± 67.2) nm, PdI为 (0.369 ± 0.061) , Zeta电位为 (-16.7 ± 3.5) mV。

2.4 溶出度实验

采用《中华人民共和国药典》2010年版附录

XC第二法装置,分别测定姜黄素原料药、姜黄素纳米混悬剂、固化姜黄素纳米混悬剂三组样品溶出度。溶出介质为含0.1% (W/V)吐温80的PBS (pH 6.8),介质体积:900 mL,转速:(50±1) r/min,温度:(37±0.5)℃。分别在5、10、20、30、45、60 min时间点各取5 mL样品,用0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液20 μL进样检测姜黄素的含量,并计算姜黄素的累积溶出度,绘制溶出曲线。见图7。

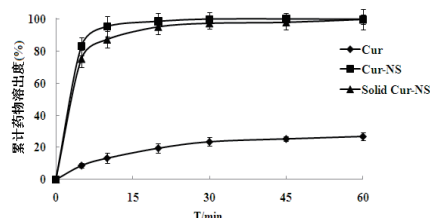


图7 姜黄素体外溶出度曲线

表1 姜黄素纳米混悬剂和固化姜黄素纳米混悬剂稳定性实验结果

时间(月)	姜黄素纳米混悬剂			固化姜黄素纳米混悬剂		
	粒径 (nm)	PdI	电位 (mV)	粒径 (nm)	PdI	电位 (mV)
0	387.1 ± 52.2	0.352 ± 0.049	-18.6 ± 3.2	487.1 ± 68.1	0.370 ± 0.055	-19.4 ± 4.2
0.5	1717.1 ± 106.2	0.531 ± 0.103	-15.1 ± 4.2	468.1 ± 59.6	0.349 ± 0.061	-20.4 ± 5.1
1	/	/	/	504.9 ± 82.3	0.382 ± 0.072	-18.9 ± 4.9
2	/	/	/	471.9 ± 79.4	0.371 ± 0.048	-18.2 ± 3.3
3	/	/	/	482.0 ± 62.9	0.369 ± 0.053	-19.9 ± 4.8

注:“/”样品在西林瓶底部形成沉淀。

径、PdI及Zeta电位基本未发生变化,说明姜黄素纳米混悬剂经过固化后可提高纳米混悬剂的稳定性。

3 讨论

高压均质法制备姜黄素纳米混悬剂所关注的不仅仅是原料药粒径的急剧减小,更多的是随药物粒径的减少而产生的量子隧道效应、小尺寸效应等使纳米粒所具有的更为特殊的理化性质,包括形态、粒径分布、Zeta电位、溶出速率、稳定性等。本研究分别就形态、平均粒径分布、Zeta电位、溶出速率、稳定性等多个方面采用多种实验方法对纳米混悬剂的制剂学进行考察评价,直观准确反映纳米混悬剂的制剂学特性。

在姜黄素纳米混悬剂制备过程中发现,采用PVP K30 (1.0%, W/V)为稳定剂的处方能够显著提高纳米混悬液的物理稳定性;采用喷雾干燥法固化,以甘露醇作为固化载体制备的姜黄素纳米混悬剂粉末,能够提高固态纳米混悬剂的物理稳定性。稳定性实验结果表明姜黄素纳米混悬剂在3个月内粒径分布、PdI及Zeta电位基本稳定。◆

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] 狄建彬,顾振纶,赵笑东,等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展[J]. 中草药,2010,41 (5): 附18-附21.
- [3] 张姐,金城,骆骄阳,等. 姜黄素类化合物体外抗凝血与抗血栓作用研究[J]. 中草药,2011,42 (10): 2070-2073.
- [4] 罗廷顺,李洪文,刘正文,等. 姜黄素的提取分离与药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床,2011,26 (2): 102-107.
- [5] Shishodia S, Amin HM, Lai R, et al. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF2 kappa B activation, induces

由结果可知,姜黄素纳米混悬剂的溶出速率较姜黄素原料药显著提高,纳米混悬剂在10 min内药物基本完全溶出,而姜黄素原料药溶出仅为15.9%;姜黄素纳米混悬剂经固化处理的溶出速率较未经固化的稍慢,可能是由于在固化过程中纳米粒子发生聚集,粒径变大,影响药物的溶出^[17]。

2.5 稳定性考察

在低温(5℃)条件下将姜黄素纳米混悬剂和固化姜黄素纳米混悬剂放置3个月,分别在0.5、1、2、3个月取样检测样品的平均粒径分布、PdI和Zeta电位,考察姜黄素纳米混悬剂和固化姜黄素纳米混悬剂的稳定性。见表1。

实验结果表明,姜黄素纳米混悬剂在低温条件下放置1周后瓶底部便出现黄色沉淀;而固化姜黄素纳米混悬剂在低温下放置3个月,平均粒

- G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma[J]. Biochem Pharmacol, 2005, 70 (5): 700-713.
- [6] 范婷婷,赵纯全,杨蕾. 姜黄素对宫颈癌Caski细胞中Pleiotrophin蛋白表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33 (7): 825-827.
- [7] 李雪倩,雷海民,王鹏龙,等. 姜黄素衍生物64PH的抗肿瘤作用研究[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35 (17): 1535-1539.
- [8] 何利兵,王险峰,王红胜,等. 姜黄素衍生物体外抑制结肠癌细胞增殖侵袭作用[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23 (1): 17-25.
- [9] Lao CD, Ruffin MT, Normolle D, et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation[J]. BMC Complement Altern Med, 2006, 6 (4): 10-17.
- [10] 谢威,郭嘉. 奈韦拉平纳米混悬液的制备及大鼠体内药动力学研究[J]. 中国药师, 2015, 18 (1): 23-27.
- [11] 郭静静,李仙义,袁海龙,等. Herpetrine纳米混悬剂的制备及药动力学初步研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47 (24): 2004-2007.
- [12] MLAD Lestari, RH Müller, JP Möschwitzer. Systematic Screening of different surface modifiers for the production of physically stable nanosuspensions[J]. J Pharm Sci, 2015, 104 (3): 1128-1140.
- [13] 谢向阳,陈晨,廖祥茹,等. 纳米混悬剂的物理稳定性研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38 (5): 369-374.
- [14] Kulshreshtha AK, Singh ON, Wall GM. Pharmaceutical suspensions: from formulation development to manufacturing[M]. New York: Springer, 2009: 39-66.
- [15] Müller RH, J Möschwitzer, Bushrab FN. Manufacturing of nanoparticles by milling and homogenization techniques[M]. New York: Inform Healthcare, 2007: 21-51.
- [16] WANG YC, LIU ZP, ZHANG DR, et al. Development and in vitro evaluation of deacety mycoepoxydiene nanosuspension[J]. Colloid Surface B, 2011, 83 (2): 189-197.
- [17] 周时光,林雯,陈晨,韩亮,汪涛. 格列本脲纳米片的制备及溶出度考察[J]. 医药导报, 2014, 33 (11): 1509-1513.