

由表 1 自制微球缓释片的半衰期为 5.73 h, 普通片的半衰期为 4.12 h。

通过对 2 种制剂的 AUC 值和自制微球缓释片的生物利用度计算可知, 自制微球缓释片相对生物利用度为 109.7%, 即受试制剂与参比制剂的 AUC 是生物等效的; 受试制剂的 $C_{\max}$ 比参比制剂的 $C_{\max}$ 降低, 受试制剂的 $T_{\max}$ 比参比制剂的 $T_{\max}$ 延长, 说明硫酸沙丁胺醇微球缓释片具有缓释特征。在微球缓释片体内外相关试验中, 运用 Wagner-Nelson 方程, 通过回归分析, 得到 $f_a=0.9331Q+16.328$, $r=0.9894$, 最终表明在不同释放时间点, 硫酸沙丁胺醇微球缓释片的体内吸收与体外释放都是具有良好的相关性。

4 讨论

硫酸沙丁胺醇在 224 nm 和 276 nm 处都有吸收, 在 224 nm 处硫酸沙丁胺醇的吸收峰比较突出, 吸收度强, 而在 276 nm 波长处的吸收峰相对较弱。由于在 224 nm 波长有末端吸收干扰影响测定结果, 紫外测定选择波长 276 nm, 并根据中国药典 2010 版, 高效液相测定选择吸收峰较强的 224 nm。

在下一步的工作中还需要对缓释载体做进一步筛选, 优化处方, 对直接压片法对微球形态和药物溶出度的影响做进一步的考察; 为微球缓释片的开发上市做进一步的研究。

REFERENCES

- [1] LI M H, YIN K H, ZHU S L. The Asthma(哮喘病学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998: 188-197.
- [2] ZHOU Q F, YU W S. Effects of salbutamol on respiratory mechanics during one-lung ventilation early in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 1054-1057.
- [3] FENG Y, ZHANG Y, YANG Y. Influence factors on preparation of citrus volatile oil microcapsules by spray drying technique [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 55 (11): 1093-1097.
- [4] GUO T. Study on preparation and release *in vitro* of salbutamol impidse tablet [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2000, 35(6): 388-390.
- [5] FENG B O. Pharmacokinetics of salbutamol-ethylated β -cyclode complexes sustained release tablets in dogs [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2002, 33(10): 491-493.
- [6] GUO T, SUI Y, LI J, et al. The study of pharmacokinetics of salbutamol in dogs [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2001, 6(2): 33-36.

收稿日期: 2013-07-21

姜黄素-PLGA 纳米粒提高口服给药生物利用度的研究

郑毅, 郑施施, 王增寿* (温州医科大学附属第二医院药学部, 浙江 温州 325027)

摘要: 目的 研究乳酸/羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米粒子提高姜黄素口服生物利用度。方法 采用乳液挥发法制备姜黄素-PLGA 纳米粒; 通过透射电镜(transmission electron microscope, TEM)观察纳米粒形态; 采用动态光散射法(dynamic light scattering, DLS)测定纳米粒大小、表面电位(Zeta 电位); 考察药物的体外稳定性以及药物释放行为; 以大鼠口服灌胃给药方式考察姜黄素和姜黄素-PLGA 纳米粒的体内药物生物利用度。结果 姜黄素-PLGA 纳米粒粒度分布均匀, 平均粒径大小约 200 nm; 姜黄素-PLGA 纳米粒具有较高的载药量和包封率以及稳定性, 体外药物释放实验结果显示具有一定的缓释效果; 口服灌胃 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素和姜黄素-PLGA 纳米粒, 给药 30 min 之后, 姜黄素-PLGA 纳米粒给药组的血药浓度水平显著高于姜黄素组($P<0.05$), 药物生物利用度提高到原来的 5.2 倍。结论 姜黄素-PLGA 纳米粒可以有效的提高姜黄素稳定性和口服给药生物利用度。

关键词: 姜黄素; 姜黄素纳米粒; 生物利用度; 口服给药

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0717-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.020

Enhancement of Oral Bioavailability of Curcumin Loaded PLGA Nanoparticles

ZHENG Yi, ZHENG Shishi, WANG Zengshou^{1*} (Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou

作者简介: 郑毅, 女, 药剂师 Tel: (0577)80288912
(0577)88002686 E-mail: wangzs@mail.wz.zj.cn

E-mail: zym9805@163.com

*通信作者: 王增寿, 男, 硕士, 主任药师 Tel:

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the enhancement of oral bioavailability of curcumin loaded PLGA nanoparticles. **METHODS** Curcumin loaded PLGA nanoparticle was developed by a emulsion method, and then characterized by a DLS, TEM and zeta potential. *In vitro* release study and *in vitro* stability test were also examined. The oral bioavailability study of curcumin and curcumin loaded PLGA nanoparticles was performed after the oral administration. **RESULTS** Curcumin loaded PLGA nanoparticles had mean diameter of 200 nm with uniform size distribution. And the developed nanoparticles with improvement of stability of curcumin had high drug encapsulation efficiency and drug loading capacity. *In vitro* release study showed that curcumin was sustained release from nanoparticles. After 30 min of oral administration of curcumin or curcumin loaded PLGA nanoparticles ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), the blood concentration of curcumin loaded PLGA nanoparticles group showed great significance with that of curcumin group. The bioavailability of curcumin was enhanced 5.2-fold in curcumin loaded PLGA nanoparticles groups as compared with curcumin group. **CONCLUSION** Curcumin loaded PLGA nanoparticles could greatly improve the stability of curcumin and oral bioavailability of curcumin.

KEY WORDS: curcumin; curcumin nanoparticles; bioavailability; oral administration

对于大多数药物而言,口服给药是最为常见的给药方式,它具有经济、安全等特点,同时可以有有效的提高病人的依从性。但是,由于脂溶性药物本身水溶性差而导致药物生物利用度不佳成为口服给药方式的主要障碍^[1-2]。据报道大约有一半以上的新活性物质由于水溶性差、制剂处方工艺复杂、口服生物利用度低等缺点严重限制了其临床应用^[3]。相比于传统药剂学的增溶手段(固体分散技术、研磨粉碎、添加增溶剂/助溶剂等),采用纳米药物载体(生物可降解聚酯纳米粒等)在提高难溶性药物口服生物利用度已经引起了广泛的关注^[4-7]。先前的大量研究表明,可降解聚酯纳米粒可以有有效的提高水不溶性药物的溶解度,还可以有有效的增加生物黏附性从而提高药物生物利用度^[3-4]。姜黄素(curcumin)是中药姜黄中提取的最重要活性成分,已经被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于食品添加剂,同时口服姜黄素联合紫杉醇治疗晚期胰腺癌的3期临床试验也在进行中。但是由于姜黄素水溶性差,稳定性差,生物利用度低(口服生物利用度仅为4%)等缺点严重阻碍了姜黄素的临床应用^[8-10]。

为了提高姜黄素的口服生物利用度,本实验选用乳酸/羟基乙酸共聚物(PLGA)为药物载体,制备一种具有高载药量和良好稳定性的姜黄素纳米粒,研究姜黄素-PLGA纳米粒的粒径、稳定性、包封率、载药量、体外释药特性等参数,评价并比较了姜黄素混悬液和姜黄素-PLGA纳米粒口服给药之后药代动力学参数。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

姜黄素(阿拉丁试剂);医用PLGA(长春圣博

玛生物材料有限公司);乙酸乙酯(温州金山试剂公司);聚乙烯醇(PVA,美国Sigma-Aldrich)。

T25 高速匀浆机(德国IKA);旋转蒸发仪(上海科升仪器有限公司)

SD大鼠,♂,体质量(250 ± 40)g,由温州医科大学动物实验中心提供,实验动物许可证号:SYXK(浙)2009-0129。

1.2 姜黄素-PLGA纳米粒的制备

采用乳液挥发法制备姜黄素-PLGA纳米粒,以1%PVA水溶液为乳化剂。将一定量的姜黄素和0.5 g PLGA共同溶解在5 mL乙酸乙酯中,形成有机相。之后向有机相中加入10 mL的1%PVA水溶液,高速匀浆($10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)5 min后,减压旋转蒸发除去有机溶剂得到具有明显乳光的姜黄素-PLGA纳米粒,采用0.45 μm 滤膜过滤除去未包裹的姜黄素,获得姜黄素-PLGA纳米粒混悬液。

1.3 姜黄素-PLGA纳米粒的形态

采用透射电子显微镜(TEM)观察姜黄素-PLGA纳米粒的形态。

1.4 姜黄素-PLGA纳米粒的粒度大小和表面Zeta电位的测定

取适量的姜黄素-PLGA纳米粒,采用蒸馏水进行稀释,置于马尔文Nano-90激光粒度仪,测定纳米粒的粒度分布以及表面Zeta电位。

1.5 载药量和包封率的测定

取0.2 mL上述姜黄素-PLGA纳米粒溶液采用真空冷冻干燥机冻干得到冻干粉,精确称重后溶解在2 mL的二甲亚砷溶液中,采用高效液相色谱仪测定姜黄素药物浓度。色谱条件:色谱柱ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.5%醋酸水溶液(65:35),流速1 mL·min⁻¹,

检测波长 420 nm, 进样量 20 μ L。

$$\text{包封率} = \frac{\text{测定的姜黄素含量}}{\text{姜黄素投药量}} \times 100\%$$

$$\text{载药量} = \frac{\text{测定的姜黄素含量}}{\text{载药纳米粒子冻干后重量}} \times 100\%$$

1.6 姜黄素-PLGA 纳米粒的稳定性实验

取 0.2 mL 姜黄素-PLGA 纳米粒或姜黄素乙醇溶液分别置于 5 mL 磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH=7.4)中得到姜黄素-PLGA 纳米粒稀释溶液和姜黄素混悬液, 不同时间点取 0.5 mL PBS 缓冲溶液, 冻干后 0.5 mL DMSO 复溶, 采用 HPLC 测定 PBS 缓冲溶液中的姜黄素浓度。

1.7 姜黄素-PLGA 纳米粒体外释药行为考察

取 0.2 mL 姜黄素-PLGA 纳米粒或姜黄素混悬液密封于透析袋(截留分子量 3 500 Da)中, 置于 20 mL PBS 溶液(pH=7.4)中, 在不同的时间点, 取出 1 mL 的 PBS 溶液测定姜黄素含量, 绘制体外释药曲线。

1.8 体内生物利用度实验

取 SD 大鼠 12 只, 随机分成 2 组, 每组给药 1.5 mL, 一组灌胃口服姜黄素混悬液(100 mg·kg⁻¹), 另外一组灌胃口服姜黄素-PLGA 纳米粒(100 mg·kg⁻¹), 给药 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240 min 后尾静脉取血 0.5 mL, 2 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 取上清液, 加入 0.2 mL 的乙酸乙酯萃取药物, 取有机相, 氮气条件下挥干 24 h, 用流动相互溶, 测定血药浓度。

2 结果

2.1 姜黄素-PLGA 纳米粒的表面形貌观察

以 1% PVA 为乳化剂制备的姜黄素-PLGA 纳米粒, 是球形规则结构, 平均粒径大小为 200 nm 左右。结果见图 1。

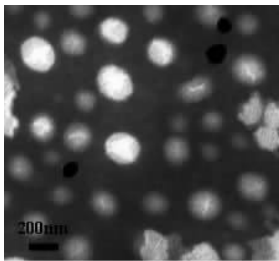


图 1 姜黄素-PLGA 纳米粒的 TEM 图

Fig 1 TEM image of curcumin-PLGA nanoparticles

2.2 姜黄素-PLGA 纳米粒的粒度大小和表面 Zeta 电位的测定

相比于空白 PLGA 纳米粒的粒径(188.5 nm), 姜黄素-PLGA 纳米粒粒径有所增加; 随着姜黄素-PLGA 投料比的增加, 纳米粒粒径也逐渐增加, 而纳米粒的表面 Zeta 电位并无明显变化(约为 -38 mV)。结果见表 1。

表 1 姜黄素-PLGA 投料比与粒径和表面 Zeta 电位的关系
Tab 1 The effect of curcumin-PLGA feed ratio on the particle size and zeta potential

姜黄素/PLGA 投料比/%	平均粒径/nm	表面 Zeta 电位/mV
0	188.5	-38.5
1	194.4	-37.7
2.5	202.7	-38.0
5	215.8	-38.3

2.3 载药量和包封率的测定

随着姜黄素/PLGA 投料比的增加, PLGA 纳米粒对于姜黄素的包封率并无明显的变化(>97%), 而纳米粒的载药量却相应的增加。结果见表 2。

表 2 姜黄素-PLGA 投料比与包封率和载药量的关系
Tab 2 The effect of curcumin-PLGA feed ratio on the drug loading capacity and drug encapsulation efficiency

姜黄素/PLGA 投料比/%	包封率/%	载药量/%
0	0	0
1	97.3±1.6	0.6±0.04
2.5	98.6±1.2	1.8±0.2
5	97.4±1.5	4.2±0.1

2.4 姜黄素-PLGA 纳米粒的稳定性实验

姜黄素混悬液在 PBS 溶液(pH=7.4)非常的不稳定, 容易发生水解, 6 h 之后几乎所有的姜黄素均发生了降解。而 PLGA 纳米粒包裹的姜黄素在 PBS 溶液(pH=7.4)中, 6 h 之后并未发生明显的降解。结果见图 2。

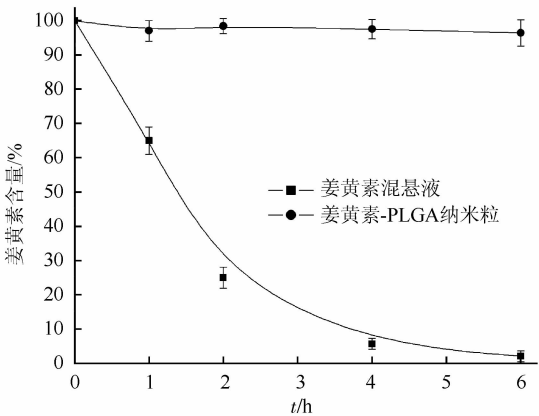


图 2 姜黄素混悬液和姜黄素-PLGA 纳米粒的稳定性考察
Fig 2 In vitro stability test of curcumin suspension and curcumin-PLGA nanoparticles

2.5 姜黄素-PLGA 纳米粒体外释药行为考察

装载在透析袋内的姜黄素混悬液在 PBS 溶液 (pH=7.4) 中释放速度非常的快, 15 min 内药物释放量达到 64%, 2 h 后药物累计释放量达到 78%, 而姜黄素-PLGA 纳米粒可以有效的降低姜黄素的突释效应, 缓慢的从 PLGA 纳米粒中释放出来, 释放 96 h 之后药物累计释放量为 75%, 说明姜黄素-PLGA 纳米粒具有一定的缓释功能。结果见图 3。

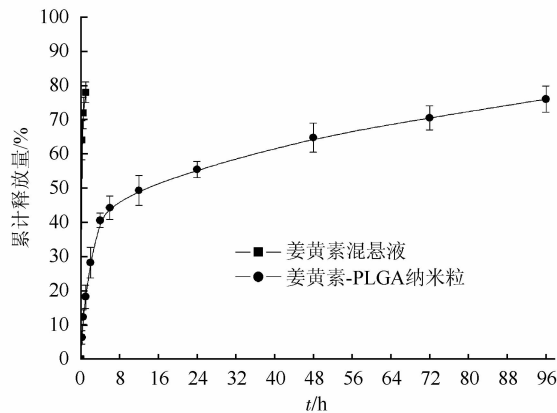


图 3 姜黄素的体外释药行为考察

Fig 3 *In vitro* release profile of curcumin from curcumin-PLGA nanoparticles

2.6 体内生物利用度实验

姜黄素-PLGA 纳米粒与姜黄素混悬液相比, 2 种制剂的入血速度较一致, 在给药 30 min 后即出现血药浓度最大值(C_{max})。姜黄素-PLGA 纳米粒组的最大血药浓度 [$C_{max}=(0.98\pm0.25)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$] 远远大于姜黄素混悬液组 [$C_{max}=(0.43\pm0.14)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$], 说明在相同剂量 ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 条件下姜黄素-PLGA 纳米粒能有效的提高姜黄素吸收进入血液。同时采用二室模型测定姜黄素在体内的药物代谢半衰期 ($t_{1/2}$), 结果显示姜黄素-PLGA 纳米粒组的体内半衰期 ($t_{1/2}=60\text{ min}$) 远远大于姜黄素混悬液组 ($t_{1/2}=35\text{ min}$), 说明姜黄素-PLGA 纳米粒在血液中的消除速度缓慢。采用梯形法计算药时曲线下面积结果显示, 姜黄素-PLGA 纳米粒组的药时曲线下面积 (ACU) 为 $(110.86\pm10.45)\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 远远大于姜黄素混悬液组的药时曲线下面积 ($21.32\pm3.56\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) ($P<0.05$)。药物生物利用度提高到原来的 5.2 倍。结果见图 4 和表 3。

3 讨论

聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 是一种具有良好安全性、生物相容性和可降解性的高分子聚合物, 并已被广泛的应用于药物缓控释给药体系

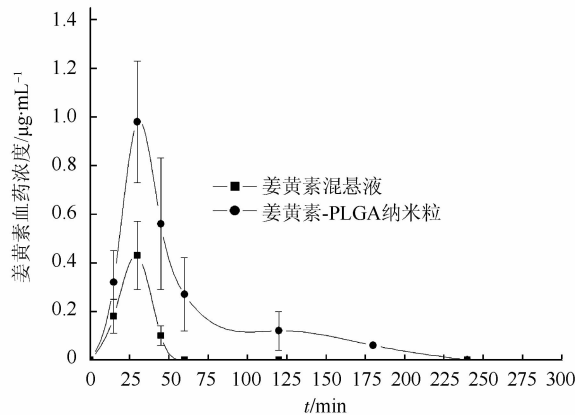


图 4 2 种口服姜黄素制剂血药浓度曲线

Fig 4 Mean concentration-time curve of curcumin suspension and curcumin-PLGA nanoparticles

表 3 姜黄素混悬液和姜黄素-PLGA 纳米粒的药动学参数
Tab 3 Pharmacokinetic parameters of curcumin suspension and curcumin-PLGA nanoparticles

参数	姜黄素混悬液	姜黄素-PLGA 纳米粒
T_{peak}/min	30	30
$t_{1/2}/\text{min}$	35	60
$C_{max}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.43 ± 0.14	0.98 ± 0.25
$AUC_{0-300\text{ min}}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	21.32 ± 3.56	110.86 ± 10.45

的研究。本实验以 1%PVA 为乳化剂, 采用乳液挥发法制备姜黄素-PLGA 纳米粒, 具有操作简单, 方便制备等优点。纳米粒形貌观察结果显示姜黄素-PLGA 纳米粒具有球形结构, 粒径分布均匀。姜黄素-PLGA 纳米粒具有较高的包封率和载药量, 说明 PLGA 分子与姜黄素分子具有良好的亲和力。随着纳米粒载药量的增加, 纳米粒粒径逐渐的增加, 说明有更多的药物分子被包裹进入疏水核中。Danhier 等^[11]研究人员也发现 PLGA 载药纳米粒的粒径随着药物投料比的增加而增大。

纳米粒作为药物载体不仅可以解决药物的水溶性差的问题, 还可以提高药物本身的稳定性以及延长药物的释放时间, 达到缓释的效果^[4,8]。姜黄素是一种不稳定的化合物, 在弱碱性条件下短时间内容易发生水解或者构型转化, 从而导致药物失活, 体内药物生物利用度低下。体外稳定性实验结果显示将姜黄素包裹进入 PLGA 纳米粒中, 可以有效的避免姜黄素的水解和降解, 从而提高药物生物利用度。体外释放结果显示姜黄素-PLGA 纳米粒具有一定缓释效果, 在最初的 4 h 内姜黄素的快速释放可能与部分姜黄素吸附于 PLGA 纳米粒表面有关, 随后, 姜黄素的释放呈现缓释性, 这使得在体内给药时, 药物突释之后达到治疗有

效浓度之后药物持续缓慢释放,可以使得药物浓度水平维持在有效浓度范围之内。体内的药代动力学实验结果显示,与姜黄素混悬液相比,姜黄素-PLGA 纳米粒具有吸收快、消除慢,血药浓度高的优点。

REFERENCES

- [1] HAAS JIMOH AKANBI M, POST E, METER-ARKEMA A, et al. Use of hydrophobins in formulation of water insoluble drugs for oral administration [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 75(2): 526-531.
- [2] MERISKO-LIVERSIDGE E, LIVERSIDGE G G. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(6): 427-440.
- [3] CHEN M C, SONAJE K, CHEN K J, et al. A review of the prospects for polymeric nanoparticle platforms in oral insulin delivery [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(36): 9826-9838.
- [4] GAUCHER G, SATTURWAR P, JONES M C, et al. Polymeric micelles for oral drug delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76(2): 147-158.
- [5] ENSIGN L M, CONE R, HANES J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(6): 557-570.
- [6] SINHA S, ALI M, BABOOTA S, et al. Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(2): 518-527.
- [7] GOU M L, MEN K, SHI H S, et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanoscale*, 2012, 3(4): 1558-1567.
- [8] CHEN J, DAI W T, XING H Y, et al. Research progress of microcarrier drug delivery system for curcumin [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(10): 885-889.
- [9] REJINOLD N S, MUTHUNARAYANAN M, DIVYARANI V V, et al. Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2011, 360(1): 39-51.
- [10] YALLAPU M M, JAGGI M, CHAUHAN S C. Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer [J]. *Drug Discov Today*, 2012, 17(1/2): 71-80.
- [11] DANHIER F, VROMAN B, LECOUTURIER N, et al. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with paclitaxel [J]. *J Control Release*, 2009, 140(2): 166-173.

收稿日期: 2013-07-07

消毒护肤喷雾剂的研制

李健和¹, 江爱², 陈贵秋³, 胡焰¹, 王琼², 邱细敏² (1.中南大学湘雅二医院药学部, 长沙 410011; 2.湖南师范大学, 长沙 410012; 3.湖南省疾病预防控制中心, 长沙 410005)

摘要: 目的 研制开发一种消毒护肤喷雾型溶液剂。方法 拟定处方组成与制备工艺, 进行性状、鉴别、检查、含量测定等质量研究, 采用加速法考察其稳定性, 观察载体喷雾杀菌试验的杀菌效果, 评价急性经口毒性试验、刺激试验、微核试验以及亚急性毒性试验的安全性, 并进行样品腐蚀性试验。结果 样品的各项质量检测结果均符合规定。样品原液作用 0.5 min 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌的杀灭对数值各次均>3.00。经稳定性加速试验确定其有效期为 2 年。对昆明种小鼠急性经口无毒, 对家兔多次完整皮肤、1 次破损皮肤及急性眼刺激试验均无刺激性。微核试验结果呈阴性。样品亚急性经口毒性试验对♀♂SD 大鼠未观察到有害作用的最大剂量为 1 000 mg·kg⁻¹, 对不锈钢、碳钢基本无腐蚀, 对铝、铜有轻度腐蚀。结论 该制剂处方合理, 制备工艺简便可行, 质量可控, 对细菌繁殖体和真菌杀菌效果好, 无毒、无刺激性、性能稳定。

关键词: 消毒护肤喷雾剂; 处方工艺; 质量控制; 杀菌效果; 稳定性; 安全性; 腐蚀性

中图分类号: R944.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0721-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.021

Preparation of the Skin-protective and Disinfectant Spray

LI Jianhe¹, JIANG Ai², CHEN Guiqiu³, HU Yan¹, WANG Qiong², QIU Ximin² (1.Department of Pharmacy, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China; 2.Hunan Normal University, Changsha 410012, China; 3.Hunan Provincial Center for Disease Prevention and Control, Changsha 410005, China)