

厚朴酚纳米胶束的制备及性能研究

邵东旭, 郑冬梅, 张 欢, 杨 薇

(琼州学院理工学院, 海南 三亚 572022)

摘 要:以单甲氧基聚乙二醇-外消旋聚乳酸为载体制备包载厚朴酚的纳米胶束新剂型, 观察胶束的形貌, 测定胶束的平均粒径、载药量、药物包封率及进行体外释药实验. 研究表明, 所制备的厚朴酚胶束呈规则球状, 胶束平均粒径达纳米级, 胶束的体外释药具有缓释特性.

关键词:厚朴酚; 胶束; 体外释药

中图分类号: TQ461 文献标识码: A 文章编号: 1008-6722(2012)05-0022-04

0 引言

厚朴酚(magnolol)是中药厚朴的主要化学成分, 属于联苯酚类化合物, 化学名为: 5', 5'-二烯丙基-2, 2'-联苯二酚^[1]. 厚朴酚在体内和体外均可抑制新生血管及肿瘤生长, 还具有抑菌、抗凝血、消炎、酶抑制等作用^[2]. 本文研究的抗肿瘤药物厚朴酚纳米新剂型, 属于缓释给药系统的一种新剂型^[3]. 利用聚合物胶束可以将药物包裹在直径为纳米级的微粒中, 这种微型结构类似细胞结构, 进入人体内主要被网状内皮系统吞噬而激活机体的自身免疫系统, 并改变被包封药物在体内的分布, 从而达到被动靶向作用, 使药物主要在肿瘤组织中释放, 减少药物在达到有效部位前被破坏, 延长药物的半衰期从而达到延长药物的作用时间以及降低毒副作用, 进而提高药物的治疗指数, 减少药物的治疗剂量的目的. 本文通过对实验条件的探究, 以期制得抗肿瘤药物厚朴酚纳米新剂型药物, 进而为探索治疗某些恶性肿瘤的新方案奠定基础.

1 实验部分

1.1 仪器

BS224S 电子天平(赛多利斯仪器有限公司); TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 透析袋(分子量 8000-14000, 北京索莱宝科技有限公司); 激光粒度仪(日本 HORIBA 公司); 200kV 高分辨透射电子显微镜(JEM-2100 日本光学电子); SYC-15 恒温水浴槽(南京桑力电子设备厂)

1.2 试剂

厚朴酚(对照品 98%, 西安天本生物股份有限公司); 单甲氧基聚乙二醇-外消旋聚乳酸共聚物(相对分子质量比为: 5000:10000, 以下简称: mPEG5000-PLA10000, 济南岱罡生物工程有限公司); 透析袋(8000~14000, 北京索莱宝科技有限公司); 丙酮; 95% 乙醇; 乙二醇四乙酸二钠; 碳酸氢钠; 氯化钠; 氯化钾; 磷酸氢二钠; 磷酸二氢钾; 氢氧化钠(以上未标注试剂均为分析纯)

1.3 实验方法

1.3.1 厚朴酚的光谱扫描和吸光曲线的绘制

精密称取厚朴酚对照品配成对照品标准溶液, 用作为空白对照. 经紫外分光光度计初测和精测结果显示

收稿日期: 2012-08-08

作者简介: 邵东旭(1972-), 男, 吉林长春人, 琼州学院理工学院讲师, 硕士, 主要从事应用化学研究.

基金项目: 海南省教育厅高等学校科研资助项目(Hj2009-132)

厚朴酚在 298.90nm 波长处有一稳定的吸收峰,此处的吸光度为 1.948.精密量取一定体积的上述厚朴酚标准液,在 298.90nm 处调零,分别测试标准溶液的吸光度.以吸光度 A 为纵坐标,溶液中厚朴酚的浓度 C 为横坐标,绘制标准曲线如图 1,得回归方程 $Y = 0.0230X + 0.0541$, $R = 0.9963$,表明厚朴酚在 0 - 83.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与吸光度呈现良好的线性关系.

1.3.2 胶束制备实验

选取 mPEG5000 - PLA10000 的两嵌段共聚物为载体,在室温下用丙酮为溶剂分别采用溶剂蒸发法制备空白胶束和厚朴酚载药胶束.空白胶束的制备:用有机溶剂溶解精密称取的 mPEG - PLA,以每分钟两滴的速度加入用磁力搅拌器不断搅拌的 20ml 双蒸水中,在室温下抽真空冷凝蒸发约 1h,除去有机溶剂得到聚合物药物胶束溶液.

1.3.3 厚朴酚胶束的形态分布观察

用双氧钠负染法制样,对胶束进行了显微形态观察.取 1 滴胶束混悬液滴于蜡片上,将喷碳铜网放于试液上(膜面向上),30s 后取出铜网,用滤纸小片从铜网边缘吸出多余液体.然后按照上述同样的方法,将铜网放在染液滴双氧钠上约 1min,同样用滤纸小片从铜网边缘吸干多余染液,将此铜网放入电镜即可观察.

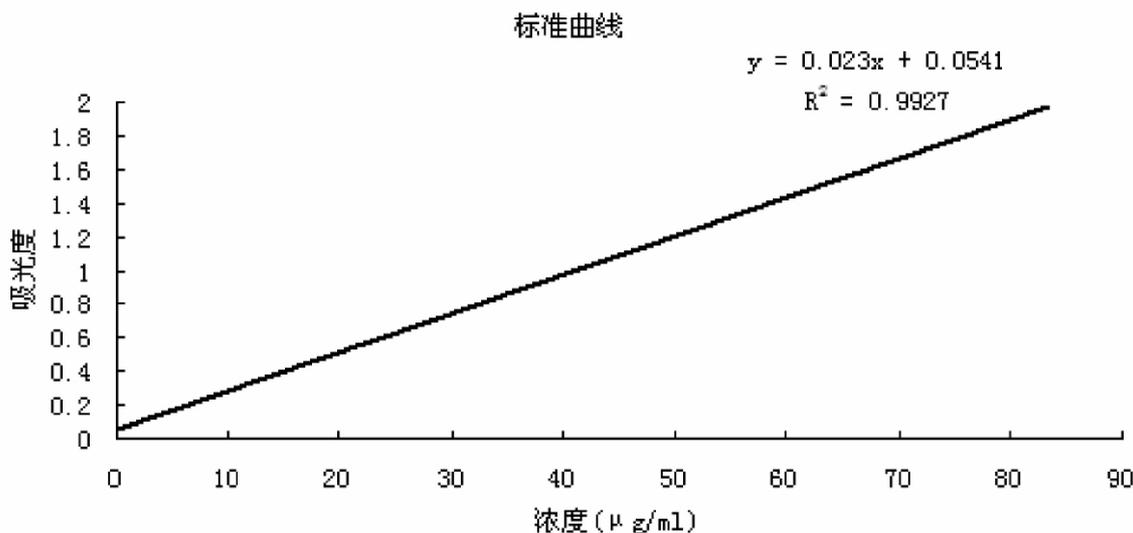


图 1 厚朴酚溶液的标准曲线

1.3.4 厚朴酚胶束的平均粒径

采用激光粒度仪测量纳米胶束的平均粒径,首先将厚朴酚胶束用蒸馏水稀释成胶束溶液,倒入样品室,根据测试情况控制调节超声时间、速度及离心泵的循环速度,进行测量.

1.3.5 包封率和载药量的测定

取 2ml 胶束溶液于比色皿中,用紫外分光光度计测定其在 298.90nm 处的吸光度,扣除空白胶束的吸收即可算得包封率和载药量^[4].计算公式:包封率(EE%) = $W_{\text{包}}/W_{\text{药}} \times 100\%$,载药量(DL%) = $W_{\text{包}}/W_{\text{总}} \times 100\%$,式中: $W_{\text{包}}$ - 聚合物胶束包裹药物量,单位 mg; $W_{\text{药}}$ - 投入的总药量,单位 mg; $W_{\text{总}}$ - 聚合物胶束的总质量,单位 mg.

1.3.6 探究实际投药质量分数不同对胶束制备的影响

在其他条件相同时,分别考察实际投药质量分数分别为 2%、5%、10%、20%、30% 对胶束溶液的包封率、载药量和胶束粒径的影响,并进行比较分析.

1.3.7 厚朴酚胶束的体外释放

精密移取2.00 mL制备的胶束溶液于已处理好的透析袋中,两端夹紧后放入装有150 mL磷酸盐缓冲液(pH=7.4)释放介质的烧杯中,于37℃条件下恒温,于0.5,1,2,4,6,8,12,24,36,48,96h时,取出6ml透析液,在298.90nm波长下用紫外可见分光光度计分别测定透析液的吸光度,然后取6ml磷酸盐缓冲溶液补充到透析烧杯中,据吸光度数据计算并绘制载药胶束的药物释放率和时间的关系曲线。

2 结果与讨论

2.1 胶束的形态与结构

所得胶束形态如图2所示,胶束呈规则球形,具核壳结构,壳层由mPG-PLA两亲性嵌段构成,亲油性PLA链段向内包裹厚朴酚形成胶束的核,亲水性mPG链段向水相伸展形成胶束壳层,从而使载药胶束很好地分散于水相。

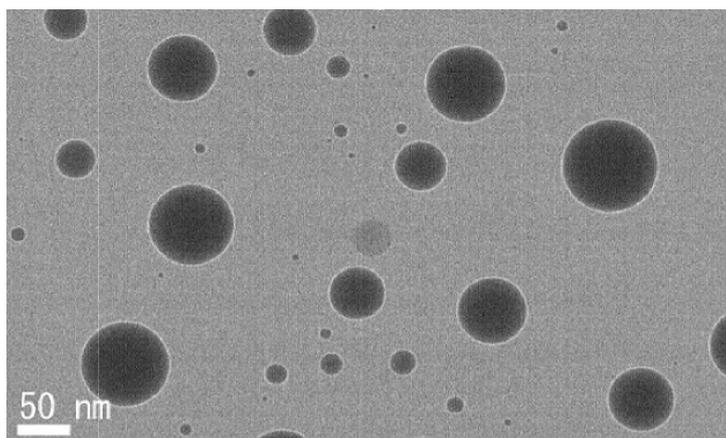


图2 厚朴酚纳米胶束TEM照片

2.2 实验条件对厚朴酚胶束的影响

用粒径分析仪检测厚朴酚胶束的粒度,其平均粒径主要分布于77.2-152.9nm之间,粒径大小符合要求,适合进一步研究。随着投药量的增大,载药胶束粒径总体明显增大,包封率降低(见表1),这是因为投药质量分数增大后,厚朴酚不能完全被嵌段共聚物包裹,或者嵌段共聚物对厚朴酚的包裹不牢,当把有机溶剂挥发完后仍有大量厚朴酚在胶束外结晶析出,从而造成载药量降低、包封率降低的结果。载药量的增大使胶束核增大,胶束粒径增大。

表1 投药量对厚朴酚胶束的影响

实际投药量 质量分数(%)	载药量 (%)	包封率 (%)	胶束平均 粒径(nm)
2	1.83	95.78	77.2
5	4.80	93.95	81.6
10	9.30	87.20	84.0
20	13.43	73.66	95.6
30	17.12	59.13	152.9

2.3 厚朴酚胶束的体外释放

分别选取中实际投药质量分数分别为 2%、5%、10%、20% 的四种胶束在 PBS (pH = 7.4) 中释放,考察不同载药质量分数纳米胶束体外释放规律,释药结果如图 3 所示。在相同释药条件下,载药质量分数低的胶束释药速率高,而载药质量分数高的胶束释药速率反而低。

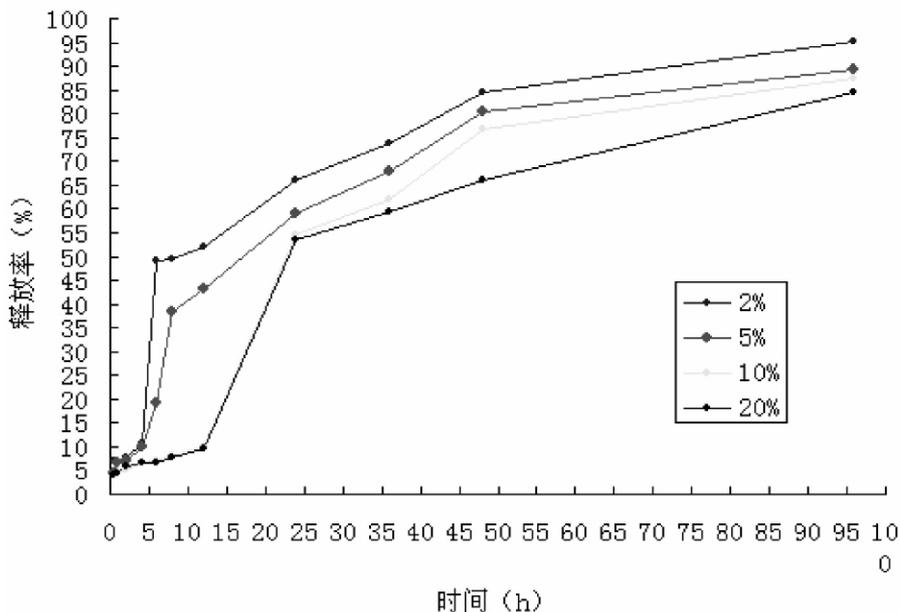


图3 投药量对厚朴酚胶束体外释放的影响

3 结论

实验表明厚朴酚在 0 - 83.6 μg/mL 浓度间与吸光度呈现线性关系。采用以丙酮为

有机溶剂, mPEG5000 - PLA10000 为载体, 制备出的厚朴酚纳米胶束的形态呈规则球形, 平均粒径在 77.2 - 152.9 nm 之间。厚朴酚纳米胶束随着实际投药质量分数的提高, 胶束的包封效果降低, 胶束粒径增大; 在实际投药量质量分数为 10% 以内的胶束载药量和包封率均较高, 胶束粒径较小。通过 96 小时体外释放实验可知制备的厚朴酚纳米胶束具有良好药物缓释性能及稳定性, 粒径与释放率成正比, 投药量与释放率成反比。在模拟体内经过一定时间之后释放率相对传统剂型更加理想, 这克服了传统厚朴酚药物无法在血管内滞留并达到有效药物浓度、无法到达特定的治疗目标等缺点, 具有一定的应用前景。

参考文献:

- [1] 殷帅文, 何旭梅, 郎锋祥, 肖宜安. 厚朴化学成分和药理作用研究概况 [J]. 贵州农业科学, 2007, 35(6): 133 - 135.
- [2] 龚建明, 林勇. 厚朴的现代研究与进展 [J]. 东南国防医药, 2008, 10(2): 125 - 126.
- [3] 阚思行, 王晓文, 唐劲天, 岳炳飞. 纳米药物控释系统研究进展 [J]. 解放军医学学报, 2009, 25(2): 169 - 171.
- [4] 陈召红, 刘皈阳, 魏亚超. 脂质体包封率测定方法研究进展 [J]. 解放军药理学学报, 2011, 27(1): 79.

Preparation and Properties of Magnolol Nano - micelle

SHAO Dong - xu, ZHENG Dong - mei, ZHANG Huan, YANG Wei

(College of Science and Engineering, Qiongzhou University, Sanya Hainan 572022, China)

Abstract: The mPEG - PLA was applied as carrier to encapsulate magnolol to form new dosage forms of nano - micelle. The shape of the nano - micelles were observed. The average size and the drug loading content and encapsulation efficiency of the nano - micelles were determined. Solvent evaporation, the prepared magnolol micelles had nanosize and size distribution, they have excellent drug sustained - release behavior.

Key words: Magnolol; micelle; encapsulation efficiency; the drug loading