

## 基于 PGA/姜黄素纳米颗粒的制备及缓释

周观淘, 于雪寅, 余作龙

浙江树人学院 浙江杭州

**【摘要】**以  $\gamma$ -聚谷氨酸(PGA)和壳聚糖(CS)作为基材, 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、三聚磷酸钠(STPP)作为稳定剂和交联剂制备缓释姜黄素的纳米颗粒。通过比较不同浓度比配方下的姜黄素在纳米颗粒中的包埋率、结构表征及红外光谱分析确定最优配方; 采用动态透析法考察包埋姜黄素的纳米颗粒在 2 种 pH 值中的体外释放特性。结果表明得到姜黄素纳米颗粒最优配方: 姜黄素浓度 0.26mg/mL、PGA 浓度 0.2%、STPP 浓度 0.2%、PVP 浓度 0.1%、CS 浓度 0.02% (以 100mL 水溶液计); 纳米颗粒平均粒径为 526.3nm, 分散系数为 0.288; 制得的纳米粒对姜黄素具有良好的缓释作用。

**【关键词】**姜黄素;  $\gamma$ -聚谷氨酸; 纳米颗粒; 制备; 缓释

### Preparation and slow release of nanoparticles based on PGA/curcumin

Guantao Zhou, Xueyin Yu, Zuolong Yu

Zhejiang Shuren University, Hangzhou, Zhejiang

**【Abstract】** Nanoparticles were prepared using  $\gamma$ -polyglutamic acid(PGA), curcumin, and chitosan(CS) as matrix, polyvinylpyrrolidone(PVP) and sodium tripolyphosphate(STPP) as stabilizers and cross-linking agents. The optimal formula was determined by comparing the encapsulation rate, structural characterization and infrared spectroscopy of curcumin in nanoparticles with different concentration ratio formulations; the in vitro release of nanoparticles containing curcumin in two media were investigated by dynamic dialysis. The optimum formula for the production of curcumin nanoparticles were obtained as follows: curcumin concentration was 0.26mg/mL, PGA concentration was 0.2%, STPP concentration was 0.2%, PVP concentration was 0.1% and CS concentration was 0.02% (in 100mL aqueous solution). The average particle size of the nanoparticles was 526.3nm and the dispersion coefficient was 0.288. The prepared nanoparticles had a good slow release effect on curcumin.

**【Keywords】** Curcumin;  $\gamma$ -polyglutamic acid; Nanoparticles; Preparation; Slow release

姜黄素是一种二酮类化合物, 化学式为  $C_{21}H_{20}O_6$ , 是姜黄的重要特征成分和活性成分<sup>[1]</sup>。它具有较高的药理作用, 应用前景十分广泛, 但同样存在许多限制其生物利用率的缺点。随着科学技术日新月异, 姜黄素诸多局限性正被逐步研究攻破, 包埋姜黄素的纳米载体俨然成为其中的研究重点<sup>[2]</sup>。而 PGA 具有肽键的高分子聚合物, 具有良好的水溶性及可降解性, 可以利用其特性包裹住化学性质不稳定的姜黄素, 增加姜黄素的利用率扩大优势, 也因其对人体健康无害, 在药物缓释方面能有更大的发挥空间。CS 是甲壳素 N-脱乙酰基的产物, CS 具有良好的抗菌、降解和生物相容性, 可以抑制许多细

菌和真菌的生长。将 CS 溶于醋酸、盐酸等溶液后, 发现 CS 具有一定的成膜性, 可调节生物代谢过程延长其保鲜时间<sup>[3]</sup>。PGA 和 CS 是可降解的天然聚合物, 作为药物的载体被广泛应用。其中 CS 不仅可以提高细胞膜的渗透性, 还具有优秀的抵抗细菌入侵的性能。而聚氨基酸材料, 有着调节的亲疏水性并含有多种活性基团<sup>[4]</sup>, 所以 PGA/CS 作为药物载体的应用范围正在推广<sup>[5]</sup>。

### 1 实验部分

#### 1.1 实验设备与材料

BGZ-140 数显恒温磁力搅拌器, 杭州仪表电机有限公司; TG-16G 高速离心机, 常州市金坛勤普仪

器有限公司; UV-765 紫外分光光度计, 上海精科电子有限公司; FDU-1200 立式冷冻干燥机, 东京理化器械株式会社; MS-3000 马尔文激光粒度分析仪, 马尔文激光粒度分析仪。

PGA, 广州美懿生物科技有限公司; CS、STPP 和 PVP, 上海麦克林生化技术有限公司; 姜黄素, 上海源叶生物科技有限公司; 冰乙酸, 天津市永大化学试剂有限公司等。

## 1.2 实验方法

### (1) 单因素实验

姜黄素纳米颗粒的制取方为分别称取一定量的 PGA、STPP 和 PVP 并加入去离子水中, 得到 PGA 溶液、STPP 溶液与 PVP 溶液。称取一定质量的姜黄素, 用无水乙醇定容至刻度线, 放置避光阴凉处备用。称取一定质量的 CS 与 1% 冰醋酸混合, 搅拌并放置过夜。将相同体积已配置好的 PGA、STPP、PVP 溶液、姜黄素溶液混合, 充分搅拌混合均匀。取适量 CS 溶液放入 100mL 烧杯中并投入磁力搅拌石放置于磁力搅拌器上, 缓慢滴入姜黄素-PGA-STPP-PVP 混合溶液, 直至混合溶液泛黄色乳光, 且静置一段时间后未生成沉淀<sup>[6]</sup>。计算平均包埋率。

$$\text{包埋率} / \% = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100$$

式中:  $W_0$ —溶液中姜黄素的总质量, mg

$W_1$ —溶液中游离的姜黄素质量, mg

### (2) 结构表征分析

利用马尔文纳米粒径激光分析仪配有 He-Ne 激光器 (633nm), 散射检测角设置为 90°, 在室温条件下测量姜黄素纳米颗粒水溶液的平均粒径 (Z-Ave)、粒径分布 (PDI) 和表面电位 (Zeta) 平行测量三次, 再进行统计分析<sup>[7]</sup>。

### (3) 体外释放

精密量取 0.1mg/mL 的姜黄素储备液 0.5mL、0.75mL、1.0mL、1.25mL、1.5mL 于 25mL 棕色容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度线。得 2 $\mu$ g/mL、3 $\mu$ g/mL、4 $\mu$ g/mL、5 $\mu$ g/mL、6 $\mu$ g/mL 等不同质量浓度的姜黄素溶液, 在波长是 425nm 处测定其吸光度<sup>[8]</sup>, 制得姜黄素标准曲线。采用动态透析法<sup>[5]</sup>考察姜黄素体外释药特征。在最优制取工艺的基础上, 配得姜黄素纳米颗粒水溶液, 测定吸光值计算浓度, 取适量放入 45mL 离心管中, 在 22℃、8500r/min 的

条件下离心 20min 后, 取其上清液测定吸光值计算浓度并测量体积。倒去上清液后, 注入 10mL 无水乙醇, 并将其装入透析袋, 投入 70mL 释放介质<sup>[9]</sup>在室温条件下, 以 300r/min 的速度匀速搅拌, 定时定点移取 5mL 缓冲液测定姜黄素纳米粒含量, 并补入相同体积的空白缓冲液, 计算累计释放率并绘制曲线。计算公式如下:

$$R_c = \frac{V_0 \rho_i + V \sum \rho_{i-1}}{m} \times 100\%$$

式中:

$R_c$ —姜黄素纳米颗粒在释放介质中的累积释放率, %

$V_0$ —释放介质的总体积, mL

$V$ —姜黄素纳米颗粒在透析袋中的体积, mL

$\rho_i$ —姜黄素纳米颗粒的浓度,  $\mu$ g/mL

$m$ —释放前姜黄素纳米颗粒总添加量,  $\mu$ g

## 2 实验结果与分析

### 2.1 溶液配方对纳米颗粒形成量的影响

#### (1) 姜黄素浓度对纳米颗粒形成的影响

PGA 浓度为 0.2%, STPP 浓度为 0.2%, PVP 浓度为 0.1%。改变姜黄素溶液范围为 0.20mg/mL、0.24 mg/mL、0.26mg/mL、0.28mg/mL、0.30mg/mL, 分别配得五种不同浓度的姜黄素混合溶液, 并在 0.02% CS 溶液中分别滴入混合溶液, 观察纳米颗粒的形成状况, 计算平均包埋率。结果如图 1。

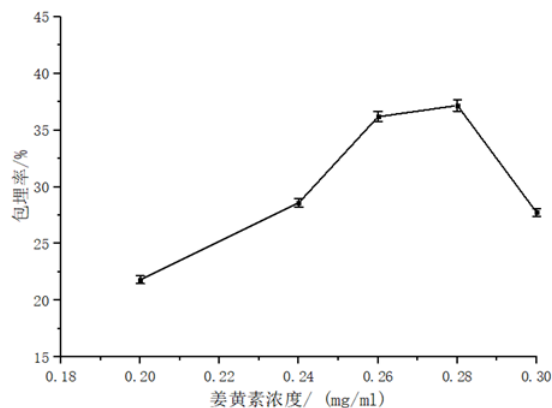


图 1 姜黄素浓度对纳米颗粒形成的影响

姜黄素纳米粒包埋率在 21.80%~37.18% 之间, 但在姜黄素溶液浓度为 0.30mg/mL 时, 包埋率急剧下降至 27.74%, 且溶液呈略混浊状态<sup>[10]</sup>。为了使姜黄素纳米颗粒的包埋率处于较高水平, 且溶液澄清稳定, 故选择姜黄素的浓度为 0.26mg/mL。

### (2) PGA 浓度对纳米颗粒形成的影响

PVP 浓度 0.1%, STPP 浓度 0.2%, 姜黄素浓度 0.26mg/mL。改变 PGA 浓度范围分别为 0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%，分别配得五种不同浓度的姜黄素混合溶液，并在 0.02%CS 溶液中分别滴入混合溶液，观察纳米颗粒的形成状况，计算平均包埋率，结果如图 2。

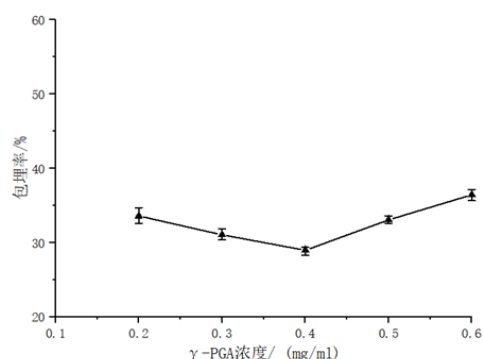


图 2 PGA 浓度对纳米颗粒形成的影响

姜黄素纳米粒的包埋率在 28.96%~36.43% 之间，因为 PGA 的侧链含有大量的亲水官能团羧基，随着 PGA 的含量增多，与水分子之间形成的氢键也越多，显著提高了溶液的亲水性，促进纳米颗粒的形成<sup>[11]</sup>，但由于边界值存在的误差较大，故此选择 PGA 浓度为 0.5%。

### (3) STPP 浓度对纳米颗粒形成的影响

PGA 浓度 0.2%，PVP 浓度 0.1%，姜黄素浓度 0.26mg/mL。改变 STPP 浓度范围分别为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%，分别配得五种不同浓度的姜黄素混合溶液，并在 0.02%CS 溶液中分别滴入混合溶液，观察纳米颗粒的形成状况，计算平均包埋率，结果如图 3。

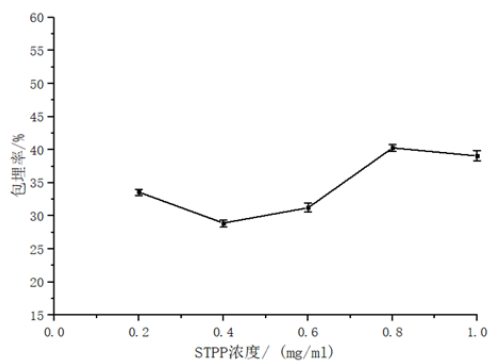


图 3 STPP 浓度对纳米颗粒形成的影响

姜黄素纳米粒的包埋率在 28.92%~40.28% 之

间，STPP 通过交联释放的阴离子与 CS 释放的阳离子形成纳米颗粒，如果两种离子的浓度相近，那么 STPP 浓度高低对纳米粒的粒径无太大影响<sup>[12-13]</sup>，因此选择 STPP 浓度为 0.8%。

### (4) PVP 浓度对纳米颗粒形成的影响

PGA 浓度 0.2%，STPP 浓度 0.2%，姜黄素浓度 0.26mg/mL。改变 PVP 浓度范围分别为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%，分别配得五种不同浓度的姜黄素混合溶液，并在 0.02%CS 溶液中分别滴入混合溶液，观察纳米颗粒的形成状况，计算平均包埋率，结果如图 4。

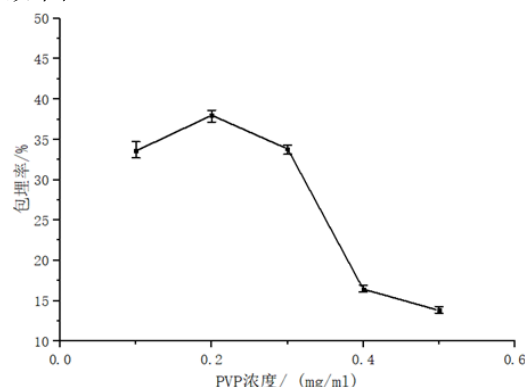


图 4 PVP 的浓度对纳米颗粒形成的影响

姜黄素纳米粒的包埋率在 13.81%~38.00% 之间，随 PVP 浓度增大，纳米粒形成量在不断下降，这是因为溶液的表面张力变大，不利于纳米粒在溶液中的分散<sup>[14]</sup>，因此选择 PVP 浓度为 0.2%。

### (5) CS 浓度对纳米颗粒形成的影响

PGA 浓度 0.2%，STPP 浓度 0.2%，PVP 浓度为 0.1%，姜黄素浓度为 0.26mg/mL。改变 CS 的浓度范围：0.01%、0.02%、0.04%、0.06%、0.08%，将混合溶液滴至不同浓度的 CS 的溶液中，观察纳米粒形成及颜色状况，计算平均包埋率。结果如图 5。

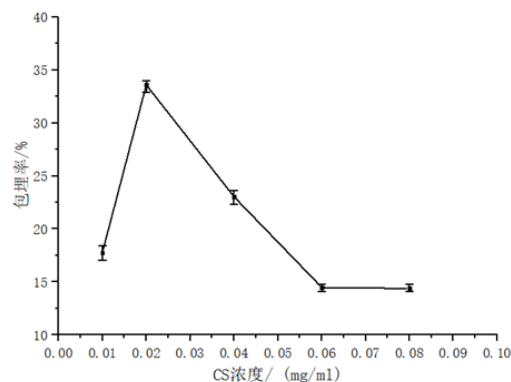


图 5 CS 的浓度对纳米颗粒形成的影响

姜黄素纳米粒的包埋率在 14.37%~33.59% 之间, 当 CS 浓度为 0.02% 时, 与 PGA 之间会形成良好的分散体系<sup>[15]</sup>, 有效提高了姜黄素的包埋率, 故此选择 CS 浓度为 0.02%。

## 2.2 结构表征分析

在最佳配方下, 即姜黄素浓度为 0.26mg/mL、PGA 浓度在 0.2%, STPP 浓度在 0.1%, PVP 浓度在 0.2%, CS 浓度在 0.02% 的条件下配得姜黄素纳米颗粒, 并利用马尔文纳米粒径激光分析仪在温度为 25°C 的条件下<sup>[16]</sup>, 测定 Z-Ave、PDI 及 Zeta。测得姜黄素纳米颗粒的 Z-Ave、PDI、Zeta 电位分布如表 1 所示。

表 1 最佳配比和空白纳米粒的 Z-Ave、PDI、Zeta 电位

样品名称	Z-Ave/d.nm	PDI	ZP/mV
最佳配比	526.3	0.288	22.0
空白纳米粒	421.4	0.261	37.7

在同等条件下, 最佳配比的姜黄素纳米颗粒溶液虽然混浊有所增加, 但总体溶液澄清呈黄色乳光, 并且在静止较长时间后未出现沉淀物, 说明该姜黄素纳米颗粒体系具有良好的稳定性<sup>[17]</sup>。

## 2.3 体外释放结果分析

按 1.2.3 操作得姜黄素标准液的吸光度与浓度的方程  $Y=0.0148x-0.0009$  ( $R^2=0.998$ ), 在 2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -6.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度范围内呈较好线性相关。

以取样时间点和累积释放率作图, 得药物释放曲线如图 6 和图 7。由图 6 可知, 在 pH1.2HCl 溶液中的 20~75min 时间段是姜黄素纳米颗粒的快速缓释阶段, 期间姜黄素释放速度极快; 而后 180min 释放速度趋于平稳, 姜黄素纳米颗粒在释放介质中缓慢释放, 进入缓释阶段。由图 7 所示, 姜黄素纳米颗粒在 pH6.8PBS 溶液中的前 300min 处于初始的突释-释放阶段, 累积释放率快速增加, 随后, 在缓释时间点 540min 处进入较慢的第二释放阶段<sup>[18]</sup>。在释放 1380min 后, 姜黄素纳米颗粒在该释放介质中达到最高释放率。

对比姜黄素纳米颗粒在两种不同 pH 释放介质中的累积释放率可知: 在 pH1.2 溶液中, 药物释放速度较快速, 缓释时间与在 pH6.8 溶液中相比较要短一些, 但累计释放量多于后者。观察所得数据发现: 药物在进行缓释实验时, 使用紫外分光光度法

作为测定方法, 测定的吸光度是在波长为 245nm 下所有物质的吸收, 即配方中辅料的干扰吸收导致数值出现误差; 且在缓释过程中, 存在释放介质挥发、药物降解等问题, 使得累积释放率超过 100%。

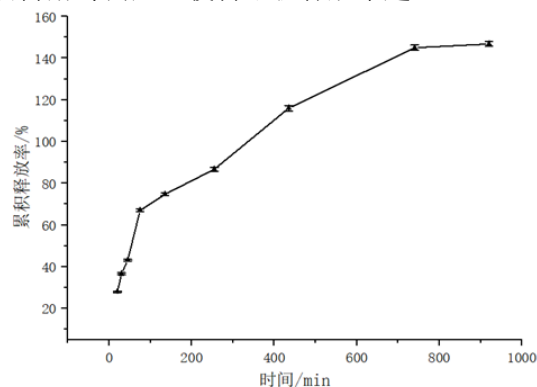


图 6 姜黄素纳米粒在 pH 1.2 中的释放曲线

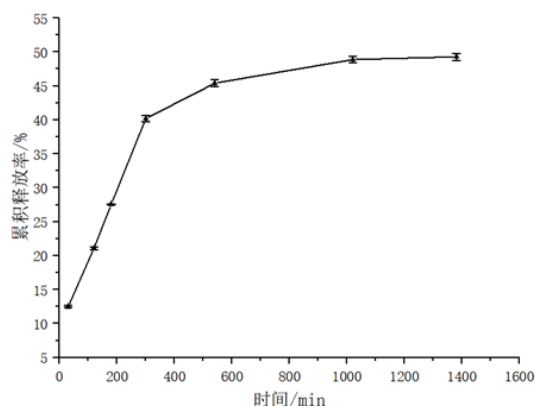


图 7 姜黄素纳米粒在 pH 6.8 中的释放曲线

## 3 结论

本文以姜黄素、CS 和 PGA 作为主要物质材料, 加入 STPP、PVP 作为螯合剂与稳定剂, 制取纳米颗粒。利用马尔文激光粒度分析仪、傅里叶红外光谱仪对纳米颗粒粒径进行测量, 结构的分析, 确定最佳配方。在最佳配方下制取姜黄素纳米颗粒, 采用动态进行体外释放实验, 观察记录包含姜黄素纳米颗粒在介质中的释放特征。结构表征分析表明在最佳配方下, 姜黄素纳米颗粒的粒径大小为 526.3nm、分散系数为 0.288、Zeta 电位为 22.0mV。制取得到的姜黄素纳米颗粒溶液具有良好的稳定性。体外释放实验结果表明: 在 pH1.2 溶液中, 姜黄素纳米颗粒的累积释放率均超过 90%; 在 pH6.8 溶液中, 姜黄素纳米颗粒的累积释放率最高达到了 49.30%, 且缓释时长平均约为 19h, 说明本实验制取的姜黄素纳米粒具有良好的缓释作用。



## 参考文献

- [1] 刘伟,顾秀竹,吴筱霓,等. 姜黄素药理作用的研究进展[J]. 华西药学杂志,2021,36(03):336-340.
- [2] 张晓璐,李英鹏,吕邵娃,等. 姜黄素纳米载体与应用的研究进展[J].当代化工,2021,50(11):2685-2688.
- [3] 肖开兴,许引虎,王旭,等. CS 在食品工业上的应用研究[J].酿酒科技,2021(10):71-75.
- [4] 沈一平. 聚氨基酸纳米递药系统构建及抗肿瘤作用研究[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2020.
- [5] 赵倩. 基于金、银纳米簇构建化学/生物传感研究[D].湘潭:湖南科技大学, 2015.
- [6] 谭少聪,邱梦辉,黄德金,等. 基于稳定剂和微胶囊化联用技术制备姜黄素纳米颗粒[J].食品研究与开发,2021,42(15):112-118.
- [7] 潘飞,赵磊,陈艳麟,等. CS/ $\gamma$ -聚谷氨酸负载黑米花色苷纳米粒的制备、表征及缓释性能[J].食品科学,2020,(07):1-12.
- [8] Jong-Ho Kim et al. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel[J]. Journal of Controlled Release, 2005,111(1):228-234.
- [9] Tan QY, Wang N, Yang H, et al. Characterization, stabilization and activity of uricase loaded in lipid vesicles[J]. Int J Pharm, 2010,384(1-2):165-172.

**收稿日期:** 2022 年 4 月 19 日

**出刊日期:** 2022 年 6 月 24 日

**引用本文:** 周观淘, 于雪寅, 余作龙, 基于 PGA/姜黄素纳米颗粒的制备及缓释[J]. 国际材料科学通报, 2022,4(1):18-22  
DOI: 10.12208/j. ijms.20220005

**检索信息:** 中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

**版权声明:** ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**OPEN ACCESS**