

[制 剂]

## TPGS 修饰青蒿琥酯脂质体的制备及其体外抗肿瘤活性

胡 诚, 梁 琨, 安 睿, 王新宏, 尤丽莎\*  
(上海中医药大学, 上海 201203)

**摘要:** 目的 制备聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (TPGS) 修饰青蒿琥酯脂质体, 并考察其体外抗肿瘤活性。方法 薄膜分散法制备脂质体, 透射电镜和粒径仪进行表征, 超滤离心法测定包封率。MTT 法评价其对人肝癌 HepG2 细胞的毒活性。**结果** 所得脂质体平均粒径 126.7 nm, PDI 0.182, Zeta 电位 -10.1 mV, 包封率 78.8%, 载药量 18.38%。其对 HepG2 细胞具有明显抑制作用, IC<sub>50</sub> 为 0.034 μmol/mL。**结论** 与 TPGS 未修饰青蒿琥酯脂质体相比, 该方法制备的 TPGS 修饰青蒿琥酯脂质体粒径更小, 稳定性更好, 包封率更高, 而且具有更强的体外抗肿瘤活性。

**关键词:** 青蒿琥酯; 脂质体; 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (TPGS); 制备; 体外抗肿瘤活性; 人肝癌 HepG2 细胞

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)03-0492-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.03.010

## Preparation of TPGS-modified artesunate liposomes and their *in vitro* anti-tumor activity

HU Cheng, LIANG Kun, AN Rui, WANG Xin-hong, YOU Li-sha\*  
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT: AIM** To prepare *D*-α-tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) -modified artesunate liposomes and to investigate the *in vitro* anti-tumor activity. **METHODS** The liposomes prepared by thin-film dispersion method were characterized by transmission electron microscopy and particle size analyzer, and the encapsulation efficiency was determined by ultrafiltration centrifugation. The liposomes' cytotoxicity to human hepatoma HepG2 cells was evaluated by MTT method. **RESULTS** The average particle size, PDI, Zeta potential, encapsulation efficiency, drug loading of the liposomes were 126.7 nm, 0.182, -10.1 mV, 78.8% and 18.38%, respectively. The liposomes displayed a significant inhibition on HepG2 cells with the IC<sub>50</sub> value of 0.034 μmol/mL. **CONCLUSION** Compared with non-TPGS-modified artesunate liposomes, the TPGS-modified artesunate liposomes prepared by this method afford smaller vesicle size, better stability and higher encapsulation efficiency with stronger *in vitro* anti-tumor activity.

**KEY WORDS:** artesunate; liposomes; *D*-α-tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS); preparation; *in vitro* anti-tumor activity; human hepatoma HepG2 cells

青蒿琥酯是青蒿素的主要衍生物之一, 具有高效的抗疟活性, 近年来其抗肿瘤、抗病毒、免疫调节等多种药理作用在国内外均已得到认可<sup>[1-3]</sup>。但该成分的半衰期和消除时间均较短, 导致给药频繁, 不能维持稳定的血药浓度, 从而限制其作为抗肿瘤药物在临床上的应用<sup>[4]</sup>。

脂质体作为抗肿瘤药物的载体, 能将药物聚集在肿瘤部位, 减少药物副作用, 提高肿瘤部位药物浓度, 延长药物体内血液循环时间, 从而达到治疗目的。聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (TPGS)<sup>[5]</sup> 是维生素 E 的水溶性衍生物, 由维生素 E 琥珀酸酯 (VES) 的羧基与聚乙二醇 1000

收稿日期: 2016-11-01

作者简介: 胡 诚 (1991—), 男, 硕士, 从事药物制剂研究。Tel: (021) 51322450, E-mail: 317655593@qq.com

\* 通信作者: 尤丽莎 (1977—), 女, 博士, 副教授, 从事中药研究。Tel: (021) 51322184, E-mail: youlisha@126.com

(PEG1000) 酯化而成, 其应用于纳米制剂时<sup>[6]</sup>, 可以作为载体基质的一部分构成纳米粒, 提高药物包封率, 增强药物细胞渗透性和细胞毒性, 改善药物释放特性, 提高生物利用度, 并能协同发挥抗癌疗效, 被广泛应用于纳米载药系统中。同时, 它还可以抑制 P-糖蛋白的外排作用<sup>[7]</sup>, 提高受 P-糖蛋白阻滞药物的生物利用度, 并能有效克服肿瘤细胞的多药耐药性, 故以其修饰的青蒿琥酯脂质体不仅更加稳定, 同时也可能增强抗肿瘤效果<sup>[8-9]</sup>。

由于青蒿琥酯在原药吸收后的分布以肝肠为主, 而且 TPGS 修饰脂质体具有肝靶向性<sup>[10]</sup>, 故本实验在成功制备脂质体, 并采用超滤离心法测定其包封率和载药量后, 选择人肝癌 HepG2 细胞进行体外抗肿瘤活性评价。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 旋转蒸发仪、恒温水浴锅 (上海爱朗仪器有限公司); Nano ZS90 激光散射粒径测定仪 (英国马尔文仪器有限公司); 电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪; Scientz-II D 超声波细胞粉碎机; 傅里叶红外光谱仪 (日本岛津公司); JEM-1400 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); RCZ-8 溶出仪 (上海黄海药检仪器有限公司); 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司)。

1.2 试剂 青蒿琥酯 (上海同田生物技术股份有限公司); 卵磷脂、胆固醇、聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (TPGS) (大连美仑生物技术有限公司); 胎牛血清 (美国 Hyclone 公司); DMEM 低糖培养基 (美国 GRL Gibco 公司); MTT、胰蛋白酶、青霉素、链霉素 (美国 Sigma 公司); 人肝癌 HepG2 细胞株 (中国科学院细胞库)。所用化学试剂均购自中国医药集团上海化学试剂公司, HPLC 用试剂均为色谱纯; 其他均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 制备方法 称取卵磷脂 100 mg、胆固醇 25 mg、TPGS 50 mg<sup>[10-12]</sup>、青蒿琥酯对照品 50 mg, 10 mL 氯仿溶解, 45 °C 下旋转蒸发, 直至形成均匀薄膜, 用 10 mL PBS 缓冲液 (pH = 6.4) 水化, 形成脂质体。将其置于超声波细胞粉碎机中, 450 W 超声 10 min (每超声 3 s, 间歇 3 s), 过 0.22 μm 微孔滤膜除菌, 即得。同法制备 TPGS 未修饰青蒿琥酯脂质体。

2.2 表征手段 取“2.1”项下脂质体溶液, 激光粒度仪测定其粒径和表面电位, 并采用磷酸负

染法制备透射电镜样品<sup>[13-15]</sup>。将脂质体稀释数倍后, 取少量滴于铜网上, 2% 磷钨酸溶液染色 10 min, 在室温下将铜网烘干, 观察脂质体形态。结果见表 1 和图 1。

表 1 脂质体理化参数

Tab. 1 Physical and chemical parameters of liposomes

样品	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
空白脂质体	128.1	0.179	-4.2
TPGS 修饰脂质体	126.7	0.182	-10.1
TPGS 未修饰脂质体	166.3	0.220	-5.8

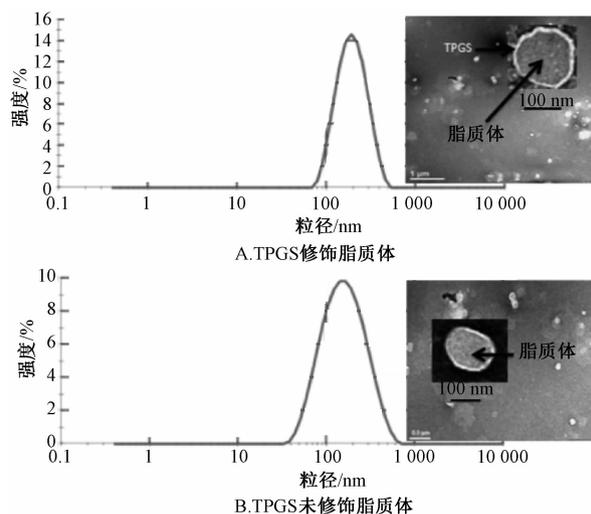


图 1 脂质体表征结果

Fig. 1 Results of liposome characterization

### 2.3 包封率测定

2.3.1 色谱条件 Capcell Pak C<sub>18</sub> MG 色谱柱 (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸 (65 : 35); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 210 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL<sup>[16]</sup>。

2.3.2 供试品及阴性对照溶液制备 精密吸取 TPGS 修饰和未修饰脂质体各 0.5 mL, 甲醇溶解, 超声 5 min 破乳, 定容至 2 mL, 即得供试品溶液 (总药物含有量测定)。再精密吸取各 0.5 mL, 置于 10 kDa 超滤离心管中, 3 000 r/min 离心 8 min, 即得供试品溶液 (游离药物含有量测定)。取空白脂质体, 同法制备缺青蒿琥酯阴性对照溶液。

2.3.3 专属性试验 在“2.3.1”项色谱条件下, 精密吸取对照品、供试品、阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 结果见图 2, 可知空白脂质体组分不干扰青蒿琥酯含有量测定。

2.3.4 线性关系考察 取 5.01 mg/mL 对照品溶液, 进样 2、4、6、8、10、12 μL 分析, 以溶液含有量为纵坐标 (Y), 峰面积为横坐标 (X) 绘制

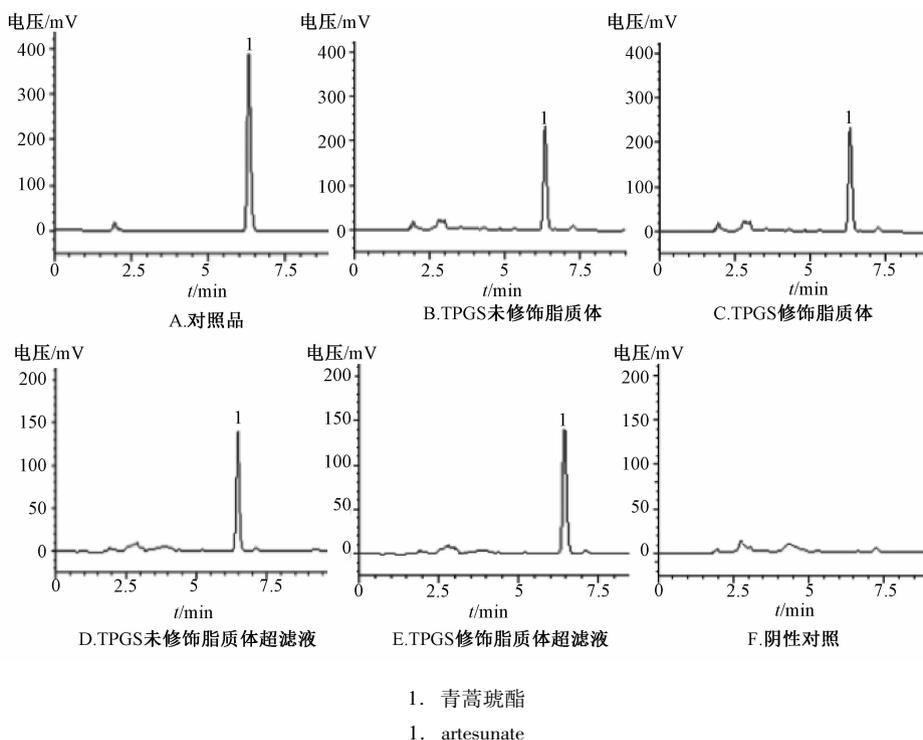


图2 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms

标准曲线，得回归方程  $Y = 0.020\ 42X - 0.224\ 63$  ( $r = 0.999\ 9$ )，在  $10.02 \sim 60.12\ \mu\text{g}$  范围内线性关系良好。

2.3.5 稳定性试验 取 TPGS 修饰和未修饰脂质体的破乳溶液和超滤液适量，在“2.3.1”项色谱条件下于 0、2、4、8、12、24 h 进样，测得青蒿琥酯峰面积 RSD 均小于 3.0%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 精密度试验 将对照品溶液分为高、中、低 3 个质量浓度，测得同 1 d 连续进样 6 次的峰面积 RSD 分别为 0.30%、0.10%、0.33%，表明日内精密度良好。隔天再进样，测得连续 3 d 的峰面积 RSD 分别为 0.55%、0.94%、0.88%，表明日间精密度良好。

2.3.7 重复性试验 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液， $0.45\ \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤，进样  $10\ \mu\text{L}$  分析，测得青蒿琥酯峰面积 RSD 分别为 1.33%、0.65%、0.89%、0.94%，表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取高、中、低 3 个质量浓度对照品溶液，加入空白脂质体 5 mL，定容于 10 mL 量瓶中，甲醇配制成 5.010、2.505、1.253 mg/mL 溶液，过  $0.45\ \mu\text{m}$  微孔滤膜，进样

$10\ \mu\text{L}$  分析。结果，平均加样回收率为 98.91%，RSD 为 0.77%。

2.3.9 吸附性考察 精密移取对照品溶液，甲醇稀释成高、中、低 3 个质量浓度，各取 1 mL，置于 10 kDa 超滤管中，3 000 r/min 离心 8 min，测得透过率为 100.72%，RSD 为 0.23%，表明超滤膜对青蒿琥酯无吸附，适用于其透过率和含有量测定。

2.3.10 包封率测定 取 TPGS 修饰和未修饰脂质体各 3 批，分别精密移取 0.5 mL，置于 2 mL 量瓶中，加入 1.5 mL 甲醇，60 °C 水浴下溶解 5 min，甲醇稀释至刻度，15 000 r/min 离心 5 min， $0.45\ \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤，进样分析，记为  $W_1$ <sup>[17-18]</sup>。再取 2 种脂质体 0.5 mL，置于 10 kDa 超滤离心管中，3 000 r/min 离心 8 min，测定滤液中游离药物量 ( $W_2$ )，计算包封率，公式为包封率 =  $[(W_1 - W_2) / W_1] \times 100\%$ ，结果见表 2。由表可知，TPGS 修饰脂质体的包封率高于未修饰脂质体，表明该方法对青蒿琥酯有较理想的包封效果。

2.4 体外释放度测定

2.4.1 实验方法 精密量取 5 mg/mL TPGS 修饰脂质体、TPGS 未修饰脂质体和青蒿琥酯 (5%  $\text{NaHCO}_3$ ) 各 3 份，每份 1 mL，置于截留分子量

表2 包封率测定结果

Tab. 2 Results of encapsulation efficiency determination

编号	样品	包封率/%	RSD/%
1	TPGS 修饰脂质体	77.19	0.92
2	TPGS 修饰脂质体	78.90	1.46
3	TPGS 修饰脂质体	80.97	0.78
4	TPGS 未修饰脂质体	68.30	1.02
5	TPGS 未修饰脂质体	73.10	1.66
6	TPGS 未修饰脂质体	66.02	0.96

14 000 Da 的透析袋中, 固定于溶出仪搅拌桨上, 以 500 mL 磷酸盐缓冲液 (pH=7.4) 为释放介质, 37 °C、100 r/min 下进行实验, 于 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、24 h 取样 5.0 mL, 同时补加同体积同温度新鲜介质。精密移取样品溶液 2 mL, 0.8 μm 微孔滤膜滤过, 测定吸光度, 绘制释放曲线。

2.4.2 方法学考察 精密配制 20 μg/mL 青蒿琥酯 PBS 缓冲液 (pH=7.4) 500 mL, 移取 0.5、1、2、4、6、8 mL, PBS 定容到 10 mL, 配成 1、2、4、8、12、16 μg/mL 对照品溶液, 移取适量至石英比色皿中, 于 210 nm 波长处测定吸光度, 以溶液质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 0.071X + 0.0019$  ( $r = 0.9991$ ), 表明青蒿琥酯在 1~16 μg/mL 范围内线性关系良好。在同一时间点平行取青蒿琥酯透析液 6 份, 测得吸光度 RSD 为 0.45%, 表明该方法重复性良好。移取青蒿琥酯透析液 5 mL, 于 0、1、2、4、6、8、12、24 h 测定, 测得吸光度 RSD 为 0.34%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。高、中、低质量浓度的日内和日间精密度 RSD 分别为 1.27% 和 1.09%, 表明仪器精密度良好。加样回收率分别为 98.01%、98.03%、98.67%, RSD 分别为 1.06%、1.31%、0.30%。

2.4.3 结果 图 3 显示, 青蒿琥酯溶液在 2 h 内

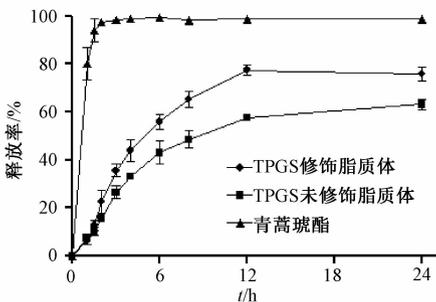


图3 体外释放曲线

Fig. 3 In vitro release curves

基本释放完全, 表明释放回收率良好, 并且 TPGS 修饰脂质体的释放速度明显快于未修饰脂质体。

## 2.5 稳定性考察

2.5.1 稳定常数测定 采用离心法测定脂质体稳定常数 ( $K_e$ )<sup>[19-20]</sup>。将 TPGS 修饰和未修饰脂质体悬浮液于 5 000 r/min 下离心 30 min, 在 590 nm 波长处测定吸光度, 记为  $A_1$ ; 取未离心的 TPGS 修饰和未修饰脂质体在 590 nm 波长处测定吸光度, 记为  $A_0$ , 计算  $K_e$ , 公式为  $K_e = (|A_0 - A_1| / A_0) \times 100\%$ ,  $K_e$  越小, 脂质体越稳定。结果, 两者  $K_e$  分别为  $(11.48 \pm 1.54)\%$  和  $(22.18 \pm 2.74)\%$  ( $n = 3$ ), 表明 TPGS 修饰后可提高脂质体稳定性。

2.5.2 脂质体在胎牛血清中的稳定性测定 将 TPGS 修饰脂质体、TPGS 未修饰脂质体和胎牛血清以 1:1 比例混合, 37 °C 下保存 2 d, 并观察其粒径变化, 结果见图 4。由图可知, TPGS 修饰脂质体粒径无明显变化, 而未修饰脂质体的粒径和 PDI 均有所增大, 表明其在血清中发生了聚集, 而 TPGS 修饰后可以提高脂质体在血清中的稳定性。

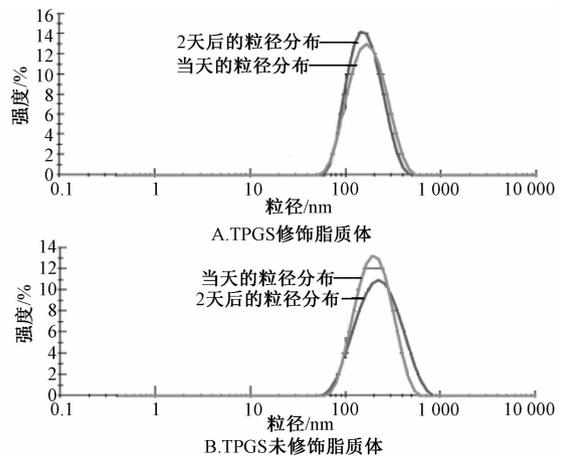


图4 脂质体在胎牛血清中的粒径分布

Fig. 4 Size distributions of liposomes in fetal bovine serum

2.5.3 渗漏率测定 将 TPGS 修饰脂质体在 4 °C 下保存, 于第 1、7、14、21、28 天测定其包封率, 结果见图 5。由图可知, 随着时间增加, TPGS 未修饰脂质体包封率的下降程度很明显, 渗漏情况严重, 从第 7 天开始, 底部有白色粉末状青蒿琥酯原料药析出; TPGS 修饰脂质体包封率在前 7 d 下降趋势较缓, 表明 TPGS 能显著提高脂质体稳定性。

## 2.6 体外抗肿瘤活性研究

2.6.1 细胞培养 以含 10% 胎牛血清的 DMEM 低糖培养基体外培养人肝癌 HepG2 细胞, 在 37 °C 含

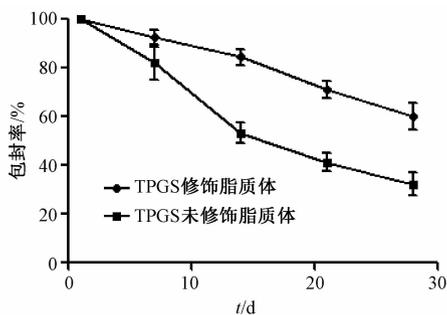


图5 脂质体渗漏率  
Fig. 5 Leak rates of liposomes

5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中常规培养, 药物终质量浓度为 6.25、12.5、25、50、100、200 μg/mL, 作用时间 24 h。其中, 空白脂质体和 25 μg/mL 质量浓度组药物的作用时间为 24、48、72 h<sup>[21-22]</sup>。

2.6.2 细胞增殖能力检测 收集对数生长期细胞, 稀释于培养基中制成单细胞悬液, HepG2 细胞密度为 2 × 10<sup>4</sup>/mL, 按 0.2 mL/孔接种于 96 孔板中, 置于培养箱中培养, 12 h 后细胞完全贴壁。将其随机分为对照组、青蒿琥酯组、TPGS 未修饰脂质体组、TPGS 修饰脂质体组, 空白脂质体组、空白 TPGS 组, 每组设 6 个复孔, 继续培养一定时间后小心吸去上清, PBS 轻轻洗涤, 弃除上清, 每孔加入 180 μL 新鲜 DMEM 培养基, 再加入 20 μL MTT 溶液 (5 mg/mL, 即终浓度为 0.5%), 继续培养 4 h。小心吸去孔内培养基, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡 10 min 使结晶物充分溶解。在 490 nm 波长处测定各孔吸光度, 应用 SPSS 21.0 软件处理数据。结果见表 3。

表3 抑制率测定结果

Tab. 3 Results of inhibitory rate determination

质量浓度/ (μg·mL <sup>-1</sup> ) 青蒿琥酯组	抑制率/%		
	TPGS 未修饰 脂质体组	TPGS 修饰 脂质体组	TPGS 修饰 脂质体组
200	94.5	94.0	95.4
100	92.8	91.6	93.0
50	70.5	82.0	86.6
25	53.6	64.3	69.6
12.5	29.7	35.7	48.1
6.25	9.9	12.8	27.3

由表可知, 青蒿琥酯组、TPGS 未修饰脂质体组、TPGS 修饰脂质体组对 HepG2 细胞生长的抑制作用均呈剂量依赖关系。作用 24 h 时, 随着药物质量浓度增加 (6.25、12.5、25、50、100、200 μg/mL), 3 组抑制率均不断上升, 并均以 TPGS 修饰脂质体组最高, 表明其抗肿瘤活性强于

其他 2 组<sup>[23-24]</sup>, 这可能是由于 TPGS 可增强细胞渗透性, 并减少其外排作用所致, IC<sub>50</sub> 分别为 0.063、0.050、0.034 μmol/mL。以 25 μg/mL 质量浓度绘制抑制曲线, 见图 6。

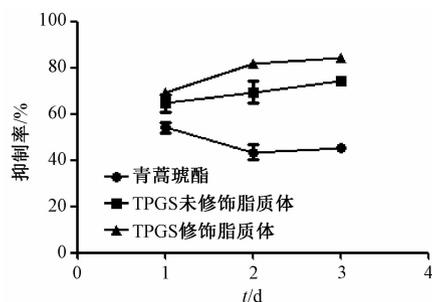


图6 抑制曲线 (25 μg/mL)  
Fig. 6 Inhibition curves (25 μg/mL)

### 3 讨论

本实验以 TPGS 修饰青蒿琥酯脂质体的基础, 发现修饰后其粒径减小, PDI 增加, 包封率提高, 抗肿瘤活性加强。其中, 粒径减小的原因可能是由于 TPGS 同时拥有亲水和亲油基团, 连接在脂质体表面后均匀分布在周围, 降低其表面张力, 形成了更小更稳定的水泡。

在选择制备方法时<sup>[25-26]</sup>, 主要以粒径和载药量为主要因素。只有粒径 100 ~ 200 nm 的脂质体才能将药物运送至特定靶点, 提高药物在肝脏中浓度, 而载药量也决定了制剂药效高低。本实验在通过薄膜水化法制备脂质体前, 还考察了逆向蒸发法<sup>[27]</sup>和乙醇注入法<sup>[28-29]</sup>, 发现前者所得脂质体的粒径即使超声后也较大, 而且难以通过挤压等方法将其减小; 后者所得脂质体的稳定性较差, 可能是由于乙醇难以从磷脂膜中除尽。

青蒿琥酯在水中的溶解度较低, 为了模拟制剂在体内的释放行为, 本实验以 PBS 缓冲液 (pH = 7.4) 为释放介质, 由于该成分结构中有 -COOH 结构, 故具有弱酸性, 在上述缓冲液中的溶解度略微增大, 约为 400 μg/mL, 而体外释放度实验中其最大质量浓度为 10 μg/mL, 远小于 3 倍溶解度, 符合漏槽条件, 可满足实验要求。虽然 TPGS 修饰脂质体在 PBS 缓冲液中的释放较快, 但渗漏率研究发现, 其拥有良好的稳定性, 储存期间的渗漏情况远低于 TPGS 未修饰脂质体, 其原因可能是体外释放度实验的温度为 37 °C, 透析袋截留分子量较大, 并且释放过程中进行了搅拌, 使得脂质体释放。而 TPGS 中聚乙二醇的亲水链可提高其亲水性, 增加

其在水中的溶解度,这可能是TPGS修饰脂质体释放更快的原因。

在包封率测定时<sup>[30-32]</sup>,本实验所采用的超滤法操作简便、耗时短、样品无需稀释、无药物泄漏问题,而且可快速有效地分离脂质体与游离药物。再考察了3、10、30 kDa超滤膜,发现3 kDa不能有效实现截留;10 kDa较为适合,并且在检测游离药物时未发现纳米粒子;30 kDa也无法分离,一部分较小粒径的脂质体会通过超滤膜,使得包封率急剧降低。同时,还考察了不同用量甲醇和乙醇对脂质体溶解性的影响,发现甲醇溶解性强于乙醇,在2倍量以上时能充分溶解脂质体,考虑到青蒿琥酯属于紫外末端吸收,稀释过多会给含有量测定带来不便,故本实验以3倍量甲醇稀释脂质体。

体外抗肿瘤活性实验显示,TPGS修饰脂质体组的IC<sub>50</sub>显著低于青蒿琥酯组和TPGS未修饰脂质体,这可能是由于在以TPGS制备的抗癌药物中,药物对细胞的渗透性有所增强,而且由于其抑制P糖蛋白外排的作用<sup>[7]</sup>,药物可以大量被癌细胞摄取,从而显著提高对肿瘤细胞的杀伤力。而且,TPGS中聚乙二醇可增加脂质体亲水性,减少在血清中与蛋白质的结合,提高了制剂的稳定性,并利用脂质体特性可使药物在特定部位富集,降低了毒副作用<sup>[6]</sup>。

参考文献:

[1] 周从明,王小渝,吴康玉,等. 青蒿琥酯的抗肿瘤作用研究[J]. 四川肿瘤防治, 2006, 19(2): 89-91, 94.

[2] 盛庆寿,李国桥. 青蒿琥酯抗肿瘤实验研究进展[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(5): 438-440.

[3] 蒋红艳,姚安贵,江尚飞. 青蒿琥酯诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(6): 181-183.

[4] 侯海霞,周莉玲,李锐. 青蒿琥酯研究进展[J]. 广东药学, 2000, 10(2): 5-8.

[5] 于永新,俞红凯,王中彦. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯应用进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(6): 407-412.

[6] 杜广盛,李德馨,魏振平. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯在纳米制剂中的应用进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(12): 981-987.

[7] 周晓星,宋双双,王东凯. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯的应用优势及其抑制P-糖蛋白的作用机制[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(23): 2758-2762.

[8] 储敏. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯(TPGS)修饰壳聚糖纳米粒作为抗肿瘤药物传递载体的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.

[9] Zhang Z, Tan S, Feng S S. Vitamin E TPGS as a molecular

biomaterial for drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(19): 4889-4906

[10] 赵春霞,沈雪松,金美华. 青蒿琥酯纳米脂质体抗肿瘤作用的特点[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1533-1534.

[11] 王文喜,张楠,单伟光,等. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯修饰多柔比星脂质体的制备和性质[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(17): 1340-1344.

[12] 孟海景. (I) PEG化青蒿琥酯纳米囊前药制备、释药性能及细胞毒性研究(II) VES化吉西他滨前药合成、制剂制备及抗肿瘤活性研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2014.

[13] 胡宏伟. 青蒿琥酯纳米乳注射液的制备与评价[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.

[14] Renu C, Sushma G, Natasha P. Artesunate-loaded chitosan/lecithin nanoparticles: Preparation, characterization, and *in vivo* studies [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2012, 38(12): 1538-1546.

[15] Gabriëls M, Plaizier-Vercammen J. Physical and chemical evaluation of liposomes, containing artesunate[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 31(4): 655-667.

[16] 夏铮铮,范琦,杨成钢,等. HPLC法测定青蒿琥酯及其片剂的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(5): 656-658.

[17] 庄英华,张中文,韩伟,等. 超滤离心法测定连翘酯苷脂质体包封率[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(18): 2209-2211, 2216.

[18] 张素娟,张永太,申利娜,等. 蟾酥固体脂质纳米粒包封率测定[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(12): 1465-1468.

[19] 周卫,陈飞,陈宁,等. 阿瑞匹坦静脉注射乳剂的研制[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(12): 1003-1006.

[20] 樊丽雅,郑春丽,朱家璧. 天然维生素E纳米乳的制备及其性质考察[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(10): 866-870.

[21] 李姝影. 吴茱萸碱脂质体的制备和体内外评价[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.

[22] 金美华. 青蒿琥酯纳米脂质体抗肝癌作用及其线粒体途径诱导凋亡机制的研究[D]. 桂林: 桂林医学院, 2012.

[23] 张楠,单伟光,王文喜. TPGS修饰脂质体对阿霉素抗肿瘤活性的增敏作用[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(4): 298-302.

[24] Cheng X D, Yan H M, Jia X B. Preparation and *in vivo/in vitro* evaluation of formononetin phospholipid/vitamin E TPGS micelles[J]. *J Drug Target*, 2016, 24(2): 1-8.

[25] 张祺照. 脂质体制备方法研究概况[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(12): 71-72.

[26] 于波涛,张志荣,曾仁杰,等. PEG表面修饰黄芩苷脂质体制备工艺研究[J]. 西南国防医药, 2005, 15(1): 33-37.

[27] 陈淑花,詹世平,张晶,等. 超临界逆向蒸发法制备葡萄糖脂质体实验及性能表征[J]. 大连大学学报, 2012, 33(6): 37-40.

[28] 金鑫. 莪术醇纳米脂质体的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.

[29] 徐昕,潘卫三,聂淑芳,等. 蟾酥提取物长循环脂质体

- 的制备及质量评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26 (7): 517-522.
- [30] 叶兆伟, 承 伟. 脂质体包封率测定方法及影响因素[J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(10): 789-792.
- [31] 陈召红, 刘皈阳, 魏亚超. 脂质体包封率测定方法研究进展[J]. 解放军药学学报, 2011, 27(1): 79-82.
- [32] 熊 非, 朱家璧, 王 维, 等. 灯盏花素纳米脂质体包封率测定方法研究[J]. 药学学报, 2004, 39(9): 755-757.

## 黄芪多糖防潮树脂复合物的制备及其吸湿性

林 浩, 李小芳\*, 罗开沛, 杨 露, 罗 佳, 吴超群

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137)

**摘要:** 目的 制备黄芪多糖防潮树脂复合物, 并考察其吸湿性。方法 静态离子交换法制备树脂复合物, 通过扫描电镜、差示扫描、红外光谱法对其进行表征, 并测定吸湿特征参数。以树脂载药量和药物利用率为评价指标, 多糖质量浓度、树脂与多糖比例、反应温度、反应时间为影响因素, 正交试验优化制备工艺。结果 最佳条件为多糖质量浓度 7 mg/mL, 树脂与多糖比例 2 : 1, 反应温度 45 ℃, 反应时间 7 h, 树脂载药量 149.0 mg/g, 多糖利用率 29.80%。所得树脂复合物为棕褐色均匀分散的小颗粒, 以化学键合方式形成, 而非物理吸附。与黄芪多糖和空白树脂相比, 其临界相对湿度有所提高, 并降低了吸湿初速度和加速度绝对值。结论 黄芪多糖制成树脂复合物后显示出良好的防潮效果, 具有一定应用价值。

**关键词:** 黄芪多糖; 防潮; 树脂复合物; 制备; 吸湿性

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)03-0498-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.03.011

## Preparation of moisture-proof resin complexes of polysaccharides from *Astragali Radix* and the hygroscopicity

LIN Hao, LI Xiao-fang\*, LUO Kai-pei, YANG Lu, LUO Jia, WU Chao-qun

(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine; Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province—State Key Laboratory Breeding Base Co-founded by Sichuan Province and MOST, Chengdu 611137, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To prepare the moisture-proof resin complexes of polysaccharides from *Astragali Radix* and to investigate the hygroscopicity. **METHODS** The resin complexes prepared by static-ion exchange method were characterized by scanning electron microscope, differential scanning calorimetry and Fourier transform infrared spectroscopy, and the moisture absorption characteristic parameters were measured. In addition to the indices of resin's drug loading and polysaccharides' utilization rate for evaluation, the polysaccharides' concentration, resin-polysaccharides ratio, reaction temperature and reaction time were taken into consideration as influencing factors for the preparation optimization by orthogonal test. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 7 mg/mL for polysaccharides' concentration, 2 : 1 for resin-polysaccharides ratio, 45 ℃ for reaction temperature, and 7 h for reaction time, the resin's drug loading was 149.0 mg/g at the polysaccharides' utilization rate of

收稿日期: 2016-07-28

基金项目: 四川省教育厅重点项目 (15ZA0094); 四川省科技厅苗子工程项目 (2016RZ0037)

作者简介: 林 浩 (1989—), 男, 硕士生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术。Tel: 13619086113, E-mail: 362090302@qq.com

\* 通信作者: 李小芳 (1964—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术。Tel: 13808195110, E-mail: lixiaofang918@163.com