

稀有人参皂苷Rg3纳米胶束的 制备工艺优化及质量评价

郝泽龙^{1,2}, 程碧君^{2*}, 李天娇^{2*}

(1. 长春大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130000) (2. 吉林农业科技学院食品科学与营养工程学院, 吉林吉林 132101)

摘要: 为增加人参皂苷 Rg3 的生物利用度, 以聚乙二醇-聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (缩写为 PEG-PLGA) 作为载体, 通过薄膜水化法制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束, 利用粒径、包封率和载药率等指标评价其性能。本研究使用单因素试验和响应面法对 Rg3 纳米胶束的制备工艺进行优化, 并对优化后的产品质量进行评价。结果表明, 经工艺优化后, Rg3 纳米胶束的载药率为 2.62%, 包封率为 90.99%。此外, Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束在体外 72 h 内累计释放率可达 93.60%。其临界胶束浓度 (CMC) 值为 3.67 $\mu\text{g/mL}$, 平均粒径大小为 46.52 nm, PDI 值为 0.09, Zeta 电位为 -24.37 mV; 冻干粉为白色粉末状; 复溶液为乳白色液体, 平均粒径大小为 52.27 nm, PDI 为 0.408, Zeta 电位为 -22.44 mV; 粘度约为 0.89 mPa·s (cP)。体外释放结果显示, Rg3 纳米胶束具有较好的缓释效果。经优化的制备工艺稳定可行, 所得到的纳米胶束具有均一的粒径分布, 包封率和载药率较高, 且具备缓释功能。研究证明该制备方法简便、安全, 为其在以后的医学, 食品等相关领域的使用提供基础。使 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束产品具有重要的实用意义。

关键词: 人参皂苷 Rg3; 纳米胶束; 聚乙二醇-聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (PEG-PLGA); 响应面法优化

文章编号: 1673-9078(2025)11-201-212

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.11.1296

Preparation Optimization and Quality Evaluation of Rare Ginsenoside Rg3 Nanomicelles

HAO Zelong^{1,2}, CHENG Bijun^{2*}, LI Tianjiao^{2*}

(1.College of Food Science and Engineering, Changchun University, Changchun 130000, China)(2.Food Science and Nutrition Engineering College, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101, China)

Abstract: To enhance the bioavailability of ginsenoside Rg3, Rg3-PEG-PLGA nanomicelles were prepared by thin-film hydration using polyethylene glycol-poly(lactic-co-glycolic acid) copolymer (PEG-PLGA) as a carrier. The properties of the nanomicelles were evaluated using parameters such as particle size, encapsulation efficiency, and drug-loading capacity. This study optimized the preparation process of Rg3 nanomicelles using single-factor experiments and response surface methodology, followed by an assessment of the quality of the optimized product. The results showed that after process optimization, the drug-loading capacity of Rg3 nanomicelles was 2.62% and the encapsulation efficiency was 90.99%. Additionally, the cumulative *in vitro*

引文格式:

郝泽龙,程碧君,李天娇.稀有人参皂苷Rg3纳米胶束的制备工艺优化及质量评价[J].现代食品科技,2025,41(11):201-212.

HAO Zelong, CHENG Bijun, LI Tianjiao. Preparation optimization and quality evaluation of rare ginsenoside rg3 nanomicelles [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(11): 201-212.

收稿日期: 2024-08-31; 修回日期: 2024-10-29; 接受日期: 2024-10-29

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (YDZJ202301ZYTS162); 吉林省中医药科技项目 (2024171); 吉林市科技局项目 (20230103014); 吉林省重大科技专项 (20220304002YY)

作者简介: 郝泽龙 (2000-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 生物质资源的总和利用和开发, E-mail: 3254413202@qq.com

通讯作者: 程碧君 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品, E-mail: 549193121@qq.com; 共同通讯作者: 李天娇 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 植物资源开发与利用, E-mail: 280395882@qq.com

Rg3-PEG-PLGA nanomicelle release rate reached 93.60% within 72 h. The critical micelle concentration (CMC), average particle size, polydispersity index (PDI), and zeta potential were 3.67 $\mu\text{g/mL}$, 46.52 nm, 0.09, and -24.37 mV , respectively. The lyophilized powder was white powder and the reconstituted solution was milky white liquid with 52.27 nm average particle size, 0.408 PDI, and -22.44 mV zeta potential. The viscosity was approximately 0.89 mPa·s (cP). *In vitro* release results showed that Rg3 nanomicelles exhibited good sustained-release properties. The optimized preparation process was stable and feasible, and the resulting nanomicelles possessed uniform particle size distribution, high encapsulation efficiency, high drug-loading capacity, and sustained-release properties. The study demonstrated that this preparation method is simple and safe, laying the foundation for its future applications in the fields of medicine, food, and others. The Rg3-PEG-PLGA nanomicelle product has significant practical significance.

Key words: ginsenoside Rg3; nanomicelles; PEG-PLGA; response surface methodology-based optimization

在中药人参中，稀有的人参皂苷 Rg3 是一种重要成分。其含量极低，仅占人参总皂苷含量的十万分之三，但具有独特的药理活性，在多个方面展现出显著的功效^[1]。然而，由于 Rg3 的生物利用度较低，易被肾脏代谢^[2]，因此只有极少量的 Rg3 能够到达目标部位发挥疗效。为提高 Rg3 口服生物利用度，使用纳米胶束作为 Rg3 的传递或输送系统是一种有效的方法^[3]。聚乙二醇-聚乳酸聚乙醇酸共聚物（PEG-PLGA）是一种可生物降解亲水-疏水嵌段共聚物，常用于药物输送应用^[4]。

制备纳米胶束的常见方法包括真空旋转蒸发法、超声波法、反相微乳法、溶剂蒸发法和薄膜水化法^[5]。薄膜水化法制备的纳米胶束具有粒径调控能力强、适用范围广、制备过程简单且稳定性高等优点，因此在纳米技术和生物医学领域具有重要的应用价值^[6]。

人参皂苷 Rg3 有两种结构，分别是 S-Rg3 和 R-Rg3，而 S-Rg3 具有更好的生物活性^[7]，所以本研究以稀有的人参皂苷 S-Rg3 为模型药物（结构图见图 1），采用 PEG-PLGA 作为药物载体（结构图见图 2），通过薄膜水化法结合响应面试验优化实验条件，成功制备了人参皂苷 Rg3 纳米胶束，并从粒径分布、电势形态等方面对其进行了质量评价。这项研究为提高 Rg3 的生物利用度和发挥其药理活性提供了参考和基础。

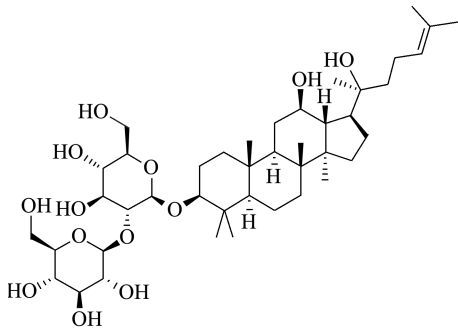


图 1 Rg3 的分子结构式

Fig.1 Molecular structure formula of S-Rg3

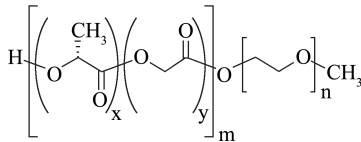


图 2 PEG-PLGA 的分子结构式

Fig.2 The molecular structure formula of PEG-PLGA

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

Rg3 标准品（质量浓度 $\geq 98\%$ ），上海源叶生物科技有限公司；聚乙二醇-聚乳酸聚乙醇酸共聚物（PEG-PLGA），西安瑞禧生物科技有限公司；乙腈（色谱纯），瑞典欧森巴克化学公司；甲醇（色谱纯），天津市大茂化学试剂厂；二氯甲烷（色谱纯），天津市大茂化学试剂厂；丙酮（色谱纯），天津市大茂化学试剂厂；1×PBS，上海源叶生物科技有限公司；三氯甲烷（色谱纯），天津市大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

K2025 型高效液相色谱仪，山东悟空仪器有限公司；H3-16KR 型台式高速离心机，湖南湘可成仪器有限公司；RE-3000A 型旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；JA1003 型电子天平，上海浦春计量仪器有限公司；BeNano 90 Zeta 型纳米胶束电势仪，丹东百特仪器有限公司；GWB-2T 型超纯水制造系统，北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱：5 μm ，4.6 mm×250 mm；流动相：乙腈（60%A）-水（40%B）；检测波长：203 nm；进样量：20 μL ；流量：1.0 mL/min；柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2 制备对照品溶液和供试品溶液

Rg3 对照品溶液：称取 1.00 mg Rg3 标准品置于烧

杯中,加入甲醇溶解,置入 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度线,摇匀,使用 0.45 μm 滤膜过滤,得到质量浓度为 0.1 mg/mL Rg3 对照品储备液。

Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液:取 100 μL Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束混悬液于 EP 管中,加入甲醇,使 Rg3 释放。使用 0.45 μm 滤膜过滤,得到供试品溶液。

空白纳米胶束对照溶液:取 100 μL 空白纳米胶束混悬液,按照 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液制备方法进行处理,得到空白纳米胶束阴性对照溶液。

1.3.3 标准曲线的绘制

取出 Rg3 对照品溶液作为母液,然后制备成一系列质量浓度的标准品溶液。使用 0.45 μm 的滤膜过滤,按照“1.3.1 项下”的色谱条件开始检测。以人参皂苷 Rg3 的质量浓度(X)为横坐标,HPLC 检测得到的峰面积值(Y)为纵坐标,绘制标准工作曲线,线性回归方程为 $y=16.023\ 29x-17.019\ 22$, $R^2=0.996\ 96$,表明 Rg3 在 10~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量范围内的线性良好。

1.3.4 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的制备

使用薄膜水化法^[8]制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束。称取一定量的 Rg3 和 PEG-PLGA,按照 1:10 的比例置于旋蒸瓶中,加入 5 mL 色谱甲醇和 5 mL 二氯甲烷,超声处理至澄清透明状态,使用旋转蒸发器在 37 $^{\circ}\text{C}$, 80 r/min 的条件下旋转蒸发 2 h 形成白色薄膜。滴入 10 mL 的超纯水使薄膜水化,并在 50 $^{\circ}\text{C}$ 温度下水化 60 min,再进行超声处理 30 min。静置一段时间后,利用高速离心机以 5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液^[9],即得到人参皂苷 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束。

1.3.5 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的冻干与复溶后的质量考察

将制备的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束中加入质量分数 5% 的甘露醇作为冻干保护剂,振摇使其溶解,分装于 15 mL 离心管中,每瓶 3 mL,置 -80 $^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中预冻 48 h 后,迅速移入冷冻干燥机中,真空条件下冷冻干燥 48 h,即得 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的冻干粉^[10]。这些冻干的样品通过轻轻的手动振摇重新分散在超纯水中。然后每一份分散的胶束溶液被平行分成三份,在进行测定复溶液的粒径,PDI 与电位测评其复溶质量^[11]。

1.3.6 包封率及载药率的测定

取 100 μL Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液于 EP 管中,加入 0.9 mL 色谱甲醇,使其成为澄清溶液。使用高效液相色谱(HPLC)检测纳米胶束中 Rg3 药物量(记为 W_1),将 100 μL Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液

加入超滤管中,使用超速离心机以 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min 的条件下离心 10 min^[12]。取上清液,加入一定量的色谱甲醇使 Rg3 得到释放。使用同一方法测出纳米胶束所包含的药物量(记得 M_1)。并计算出纳米胶束的包封率和载药率^[13]。

$$A_0 = \frac{W_1}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

A_0 ——纳米胶束的载药率;

W_1 ——纳米胶束中 Rg3 药物量;

A_1 ——纳米胶束中胶束和药物总质量。

$$A_2 = \frac{M_1}{W_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

A_2 ——纳米胶束的包封率;

W_1 ——纳米胶束中 Rg3 药物量;

M_1 ——纳米胶束所包含的药物量。

1.3.7 单因素试验

1.3.7.1 有机溶剂对包封率和载药率的影响

依据“1.3.4 项下”所述的制备方法,保持同样的投药量,用不同有机溶剂(①:二氯甲烷与甲醇体积分数比为 1:1;②:二氯甲烷;③:三氯甲烷与二氯甲烷体积分数比 1:1;④:甲醇)分别溶解处方中的人参皂苷 Rg3 和 PEG-PLGA,从而筛选出制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的最佳有机溶剂。

1.3.7.2 水化时间对包封率和载药率的影响

依据“1.3.4 项下”所述的薄膜水化法制备方法,保持同样的投药量,分别采用 30、60、90、120 和 150 min 五种不同的水化时间,制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束。参照:“1.3.7 项下”公式测定并计算各组纳米胶束的包封率和载药率,从而筛选出适合制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的最佳水化时间。

1.3.7.3 水合溶剂对包封率和载药率的影响

依据“1.3.4 项下”所述的制备方法,保持同样的投药量,分别使用不同的水合溶剂^[14](①.PBS(pH 值 7.4);②.超纯水)对薄膜进行水化,从而筛选出适合制备 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的最佳水合溶剂。

1.3.8 响应面法优化处方工艺

根据“1.3.6 项下”的实验结果,采用响应面法对该制备工艺进行优化,以载药率和包封率为评价指标,对处方工艺中的药物与共聚物比例、水化时间、超声时间以及二氯甲烷与甲醇的体积比进行优化。以纳米胶束的载药率和包封率作为指标进行四因素三水平设计试验进行响应面分析得到最优组^[15]。

表 1 因素与水平
Table 1 Factor and level

水平	药物与共聚物 比例	水化时间/ min	超声时间/ min	二氯甲烷与甲醇 的体积比
-1	1:5	50	20	2:1
0	1:10	60	30	1:1
+1	1:15	70	40	1:2

1.3.9 验证性实验

综合单因素考察结果和响应面法实验结果，确定最佳的纳米胶束制备工艺。制备三份样品，依据“1.3.1 项”下的方法测包封率和载药率，计算相对标准偏差（RSD）。

1.3.10 Rg3-PEG-PLGA纳米胶束的质量评价

1.3.10.1 粒径、多分散系数与 Zeta 电位测定

采用优化后的方法制备出 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液。取 1 mL 该溶液，使用 BeNano 90 Zeta 纳米胶束电势仪测定其粒径分布、多分散系数和 Zeta 电位。

1.3.10.2 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束粘度检测

使用旋转粘度计来测定纳米胶束的粘度^[16]，取 10 mL Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液倒入粘度计的杯中，注意不要超过刻度线，将粘度计插入溶液中，启动旋转粘度计，等待一段时间，直到液面稳定，记录粘度计的读数，重复上述步骤，记录多组数据，取平均值作为粘度值。

1.3.10.3 临界胶束浓度检测

采用经典的茚测定方法^[17]，将等体积的 6.0×10^{-6} mol/L 茚丙酮溶液分别加入到一系列 10 mL 的棕色瓶中，在黑暗条件下放置 24 h，使丙酮完全挥发。将 PEG-PLGA 纳米胶束溶液使用 PBS 溶液稀释至质量浓度为 1~10 $\mu\text{g/mL}$ ，并分别置于棕色瓶中，使每个瓶中茚的终浓度均为 6.0×10^{-7} mol/L。室温下放置过夜。利用荧光分光光度计计算 336 nm 和 334 nm 波长处发射光谱强度比值 (I_{336}/I_{334})，得到临界胶束浓度 (CMC)。

1.3.10.4 体外释放的测定

采用透析法^[18]考察 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束中 Rg3 在不同介质中的释放行为。分别取含有 0.5 mg Rg3 对照品溶液和含 0.5 mg Rg3 的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液，装入透析袋（截留相对分子质量为 3 000）中扎紧。将透析袋分别置于 200 mL 磷酸盐缓冲液（pH 值 7.4）和胃酸模拟液^[19]（pH 值 1.4）的释放

介质中，并在 37 ℃ 下进行释放实验。分别在 1、2、4、6、8、10、12、18、24、36、48、60、72 h 时取出 0.5 mL 的释放介质进行检测，同时补入等温等量的磷酸盐缓冲液和胃酸模拟液。通过检测每个时间点释放介质中 Rg3 的质量浓度，绘制累积释放曲线。

1.4 统计学分析

所有实验都重复进行三次；采用 Design-Expert V11.0 软件和 Origin 2022 软件进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 纳米胶束溶液及冻干粉和复溶液外观

本试验合成的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束以及纳米胶束冻干粉复溶后的液体呈现乳白色半透明液体状态；冷冻干燥后的纳米胶束粉末呈乳白色粉末（见图 3）。冷冻干燥通常用于将液体样品转变为固体样品，以便更容易存储和运输^[20]。

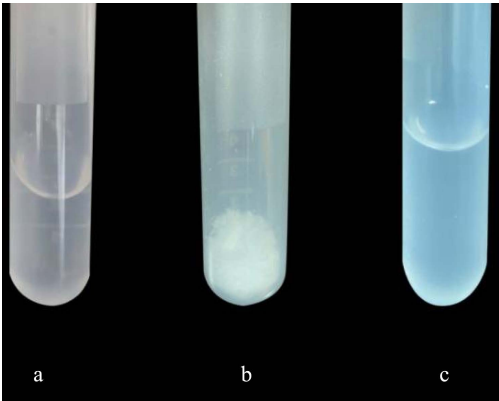


图 3 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液和冻干粉以及复溶后外观
Fig.3 Rg3-PEG-PLGA nanomicelle solution and powder appearance and appearance after re dissolution

注：（a）纳米胶束溶液；（b）纳米胶束冻干粉；（c）纳米胶束冻干粉复溶液。

2.2 专属性考察

如图 4 所示，人参皂苷 Rg3 与基质成分之间有良好的分离效果，并呈现尖锐的峰形，阴性对照组未观察到干扰峰。表明所采用的方法在分析人参皂苷 Rg3 时具有良好的专属性^[21]，即能够有效地分离目标成分并准确检测其存在。尖锐的峰形和缺乏干扰峰进一步表明该方法具有高度的选择性和准确性，有助于确保分析结果的可靠性和准确性。

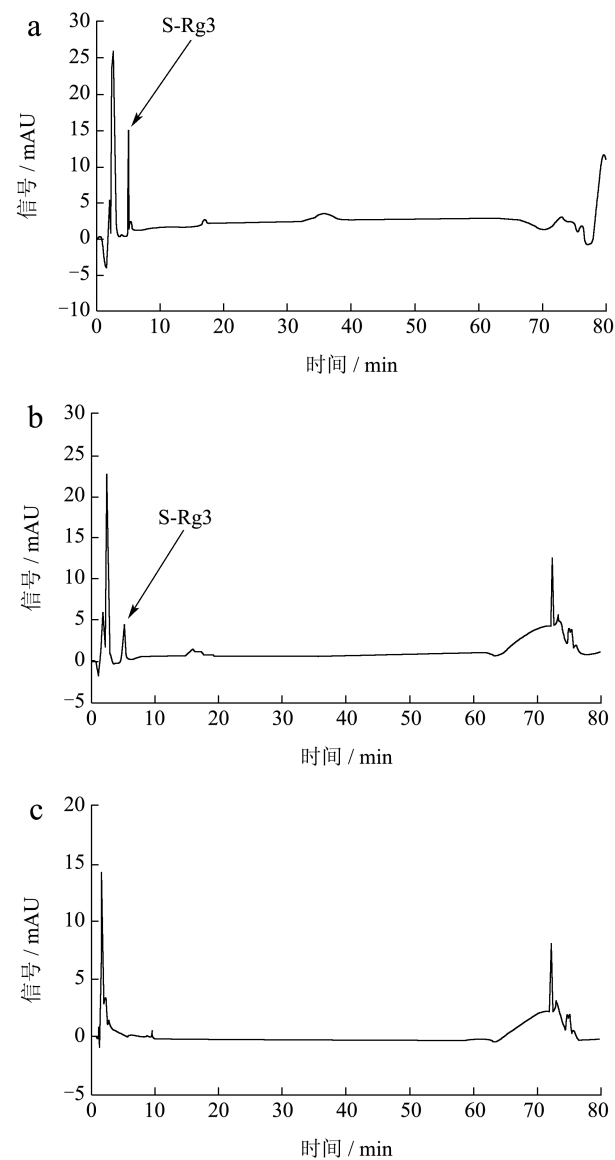


图 4 专属性考察

Fig.4 Exclusivity inspection

注：(a) 对照品 (Rg3)；(b) 供试品 (Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束)；(c) 空白纳米胶束 (PEG-PLGA)。

2.3 单因素考察

2.3.1 有机溶剂对包封率和载药率的影响

实验结果表明（如图 5 所示），当二氯甲烷与甲醇的体积比为 1:1 时，载药率和包封率最高。二氯甲烷和甲醇的混合提供了最适合纳米载药系统的条件，使得药物能够有效地被载入纳米载体中并且保持稳定性。这种最佳比例可能导致更高的药物负载量和更高的包封率，从而提高了纳米载药系统的效率和性能。

2.3.2 水化时间对包封率和载药率的影响

结果如图 6 所示，水化时间在 30~60 min，载药率

和包封率缓慢增加；水化时间在 60~90 min，载药率骤然降低，包封率也缓慢降低；水化时间在 90~150 min，载药率和包封率持续降低。较高的温度可能导致纳米胶束结构的改变^[22]，从而影响载药率和包封率。在实验中，可以尝试在不同温度下进行水化过程，观察载药率和包封率的变化情况，以确定最适合的温度条件。因此，本文初步确定 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的最佳水化时间为 60 min。

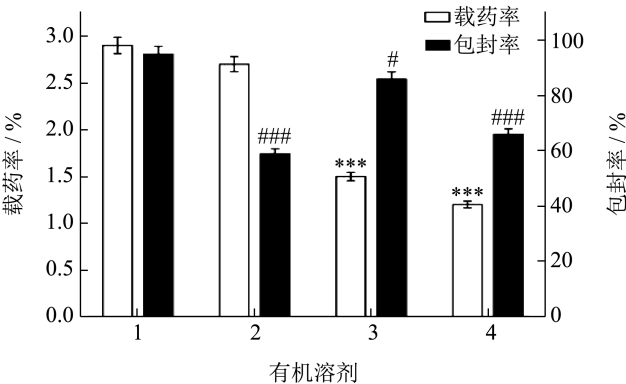


图 5 有机溶剂的选择

Fig.5 Selection of organic solvents

注：横坐标 1 表示二氯甲烷与甲醇体积分数比为 1:1；2 表示二氯甲烷；3 表示三氯甲烷与二氯甲烷体积分数比 1:1；4 表示甲醇。*** 表示具有显著性差异 $P < 0.001$ ；# 代表具有显著性差异 $P < 0.05$ ；### 表示具有显著性差异 $P < 0.001$ 。

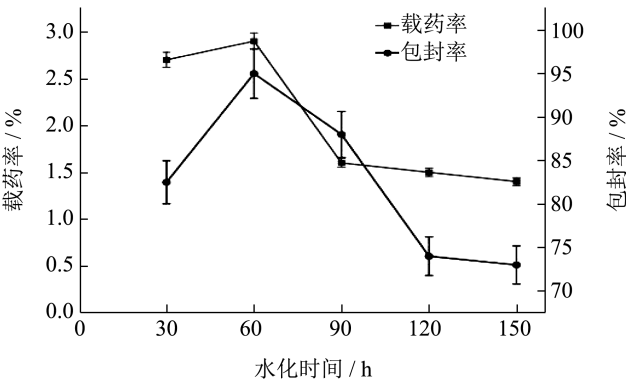


图 6 水化时间的选择

Fig.6 Selection of hydration time

2.3.3 水合溶剂对包封率和载药率的影响

实验结果表明（如图 7 所示），对于不同水合溶剂对纳米胶束载药率和包封率的影响，可以推断出水质的纯度可能是一个关键因素。其他水合溶剂可能含有杂质或离子，这些杂质可能影响纳米胶束的形成和药物包封效率^[21]。因此，当水合溶剂为超纯水时，包封率和载药率均达到最高。

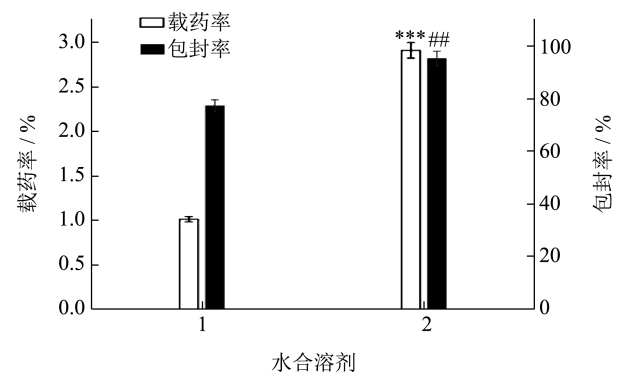


图 7 水合溶剂对包封率和载药率的影响

Fig.7 The influence of hydrated solvent on encapsulation efficiency and drug loading

注：横坐标 1 表示 PBS (pH 值 7.4)；2 表示超纯水。## 代表具有显著性差异 $P<0.01$ ；*** 代表具有显著性差异 $P<0.001$ 。

表 2 试验方案及结果

Table 2 Test protocol and results

试验号	药物与共聚物比例	水化时间/min	超声时间/min	二氯甲烷与甲醇的体积比	载药率 / %	包封率 / %
1	1	0	0	-1	0.65	33.26
2	0	0	0	0	2.53	84.12
3	-1	-1	0	0	1.59	59.02
4	0	0	-1	-1	1.84	61.64
5	0	0	0	0	2.65	83.23
6	0	0	-1	1	0.74	45.56
7	-1	0	-1	0	1.73	52.31
8	0	0	0	0	2.92	85.02
9	0	0	0	0	2.59	86.32
10	-1	0	0	1	0.84	41.24
11	1	0	1	0	1.32	43.21
12	0	0	1	1	1.35	54.36
13	-1	1	0	0	1.48	37.89
14	0	1	-1	0	2.23	44.24
15	0	0	1	-1	1.25	72.45
16	-1	0	0	-1	1.76	64.13
17	1	-1	0	0	1.34	40.32
18	1	1	0	0	0.84	34.98
19	-1	0	1	0	1.64	45.65
20	0	0	0	0	2.87	90.56
21	1	0	-1	0	1.23	46.32
22	0	-1	0	1	1.18	45.21
23	1	0	0	-1	1.37	32.26
24	0	-1	0	-1	1.98	60.65
25	0	1	0	1	0.92	47.24
26	0	-1	-1	0	1.42	55.74
27	0	-1	1	0	2.14	54.26
28	0	1	1	0	1.56	48.65
29	0	1	0	-1	2.15	54.31

2.4 响应面法优化实验结果

2.4.1 模型的设计与分析

采用响应面法对方工艺进行优化，以载药率和包封率为评价指标，考察了药物与共聚物比例、水化时间、超声时间以及氯仿与甲醇体积比等因素的影响。实验方案和结果由 Design-Expert 8.0.6 软件设计，见表 2。

以载药率 (Y_1) 和包封率 (Y_2) 为响应变量，采用 Design-Expert 11.0 软件对表 2 中的数据进行回归分析，以四个因素及其相互作用为自变量，建立了相应的回归方程：

$$Y_1 = +2.67 - 0.18A - 0.060B + 0.068C - 0.39D - 0.098AB + 0.045AC + 0.061AD - 0.35BC - 0.095BD + 0.28CD - 0.82A^2 - 0.44B^2 - 0.49C^2 - 0.74D^2$$

$$Y_2 = +85.31 - 4.87A - 3.36B + 1.22C - 6.55D + 3.95AB + 0.89AC + 4.28AD + 1.47BC + 2.85BD + 0.72CD - 25.56A^2 - 19.07B^2 - 13.83C^2 - 14.80D^2$$

对上述回归方程的进行方差分析，结果见表 3 和表 4。

表 3 包封率响应面试验方差分析 (Y_1)

Table 3 Analysis of variance for the response surface test of encapsulation rate (Y_1)

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	$P_{r>F}$
模型	10.84	14	0.77	17.79	<0.000 1
A-共聚物与药物的比例	0.33	1	0.33	7.62	0.015 3
B-水化时间	0.038	1	0.038	0.88	0.364 1
C-超声时间	0.049	1	0.049	1.12	0.308 8
D-二氯甲烷与甲醇的体积比	1.82	1	1.82	41.76	<0.000 1
AB	0.038	1	0.038	0.87	0.365 7
AC	8.10E-03	1	8.10E-03	0.19	0.672 7
AD	0.016	1	0.016	0.36	0.555 6
BC	0.48	1	0.48	11.1	0.004 9
BD	0.039	1	0.039	0.89	0.361 6
CD	0.33	1	0.33	7.69	0.015
A^2	4.38	1	4.38	100.68	<0.000 1
B^2	1.27	1	1.27	29.1	<0.000 1
C^2	1.55	1	1.55	35.69	<0.000 1
D^2	2.68	1	2.68	61.64	<0.000 1
残差	0.61	14	0.044		
失拟项	0.49	10	0.049	1.63	0.337 5
纯误差	0.12	4	0.03		
总和	11.44	28			

注：* $P_{r>F}$ 值小于 0.05 为显著； $R^2=0.946 8$ ； $R^2_{adj}=0.893 5$ 。

表 4 载药率响应面试验的方差分析 (Y2)					
Table 4 Analysis of variance in response surface test of loading rate (Y2)					
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F
模型	7 604.1	14	543.15	16.35	<0.000 1
A-共聚物与药物的比例	250.5	1	250.5	7.54	0.015 8
B-水化时间	118.84	1	118.84	3.58	0.079 4
C-超声时间	15.82	1	15.82	0.48	0.501 3
D-二氯甲烷与甲醇的体积比	514.44	1	514.44	15.49	0.001 5
AB	62.33	1	62.33	1.88	0.192 3
AC	3.15E+00	1	3.15E+00	0.095	0.762 6
AD	78.57	1	78.57	2.37	0.146 3
BC	8.67	1	8.67	0.26	0.617 3
BD	34.95	1	34.95	1.05	0.322 4
CD	2.25	1	2.25	0.068	0.798 5
A ²	4 236.19	1	4 236.19	127.54	<0.000 1
B ²	2 357.77	1	2 357.77	70.99	<0.000 1
C ²	1 240.74	1	1 240.74	37.36	<0.000 1
D ²	1 059.38	1	1 059.38	31.9	<0.000 1
残差	465	14	33.21		
失拟项	432.04	10	43.2	5.24	0.062 2
纯误差	32.95	4	8.24		
总和	8 069.1	28			

注: *Pr>F 值小于 0.05 为显著; R²=0.942 4; R²_{adj}=0.884 7。

方差分析结果显示, 载药率和包封率模型的 *P* 值均达到极显著水平, 表明模型拟合良好。失拟项检验结果显示, 载药率和包封率的失拟值分别为 0.337 5 和 0.062 2, 均不显著, 说明实验误差较小。进一步分析发现, 表 3 和表 4 中, 因素 D、BC、CD、A²、B²、C²、D² 对载药率影响显著; 包封率的方差分析结果显示, 因素 A、D、A²、B²、C²、D² 对包封率影响显著。

2.4.2 Rg3-PEG-PLGA最佳制备工艺的确定及验证

利用 Design-Expert 11.0 软件, 根据 2.7.1 节的回归方程绘制了交互因素的三维响应面图和等高线图。结果表明, 共聚物与药物比例和二氯甲烷与甲醇体积比这两个因素的相互作用对包封率有较大影响, 而超声时间和水化时间这两个因素的相互作用对载药率有较大影响。软件优化得到的最佳处方工艺为: 药物与共聚物比例为 1:11.48, 水化时间为 59.20 min、超声时间为 30.48 min 以及二氯甲烷与甲醇体积比为 1:1.09,

预测的载药率和包封率分别为 2.589 2% 和 82.194%。结合实际, 最终确定纳米胶束的最佳制备处方为: 药物与共聚物比例为 1:10, 水化时间为 60 min, 超声时间为 30 min, 二氯甲烷与甲醇体积比为 1:1。

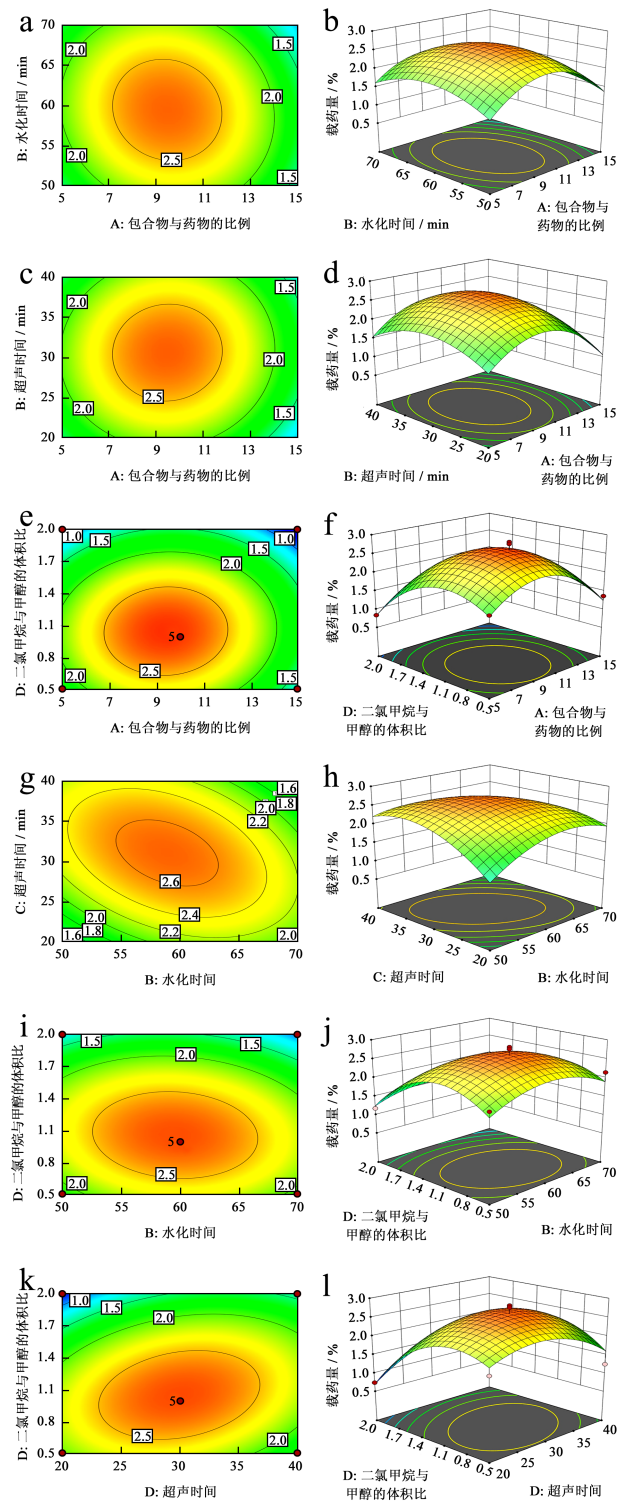


图 8 各因素对纳米胶束载药率的影响
Fig.8 Influence of various factors on drug loading of nanomicelles

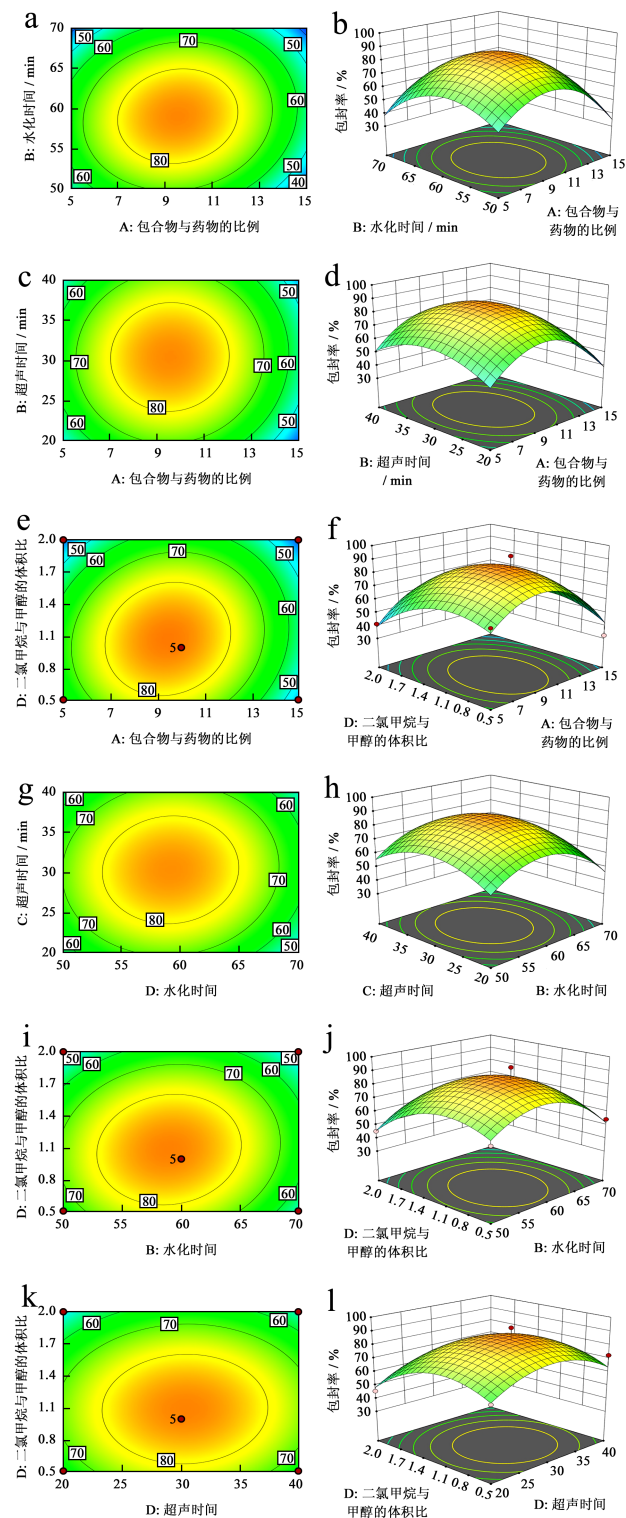


图 9 各因素对纳米胶束包封率的影响

Fig.9 Influence of various factors on the encapsulation efficiency of nanomicelles

2.5 验证性试验结果

根据最终优化的处方，制备三份纳米胶束样品。实验结果如表 5 所示：载药率分别为 2.54%、2.63% 和

2.68%，相对标准偏差（RSD）为 1.01%；包封率分别为 91.54%、90.21% 和 91.23%，RSD 为 0.76%。

表 5 验证性实验（%）

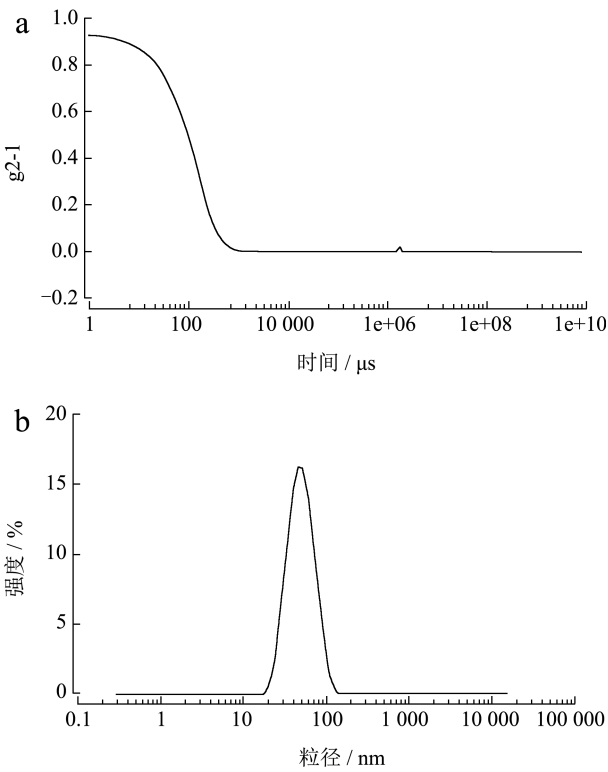
Table 5 Confirming experiments (%)				
序号	载药率	RSD	包封率	RSD
1	2.54		91.54	
2	2.63	1.009	90.21	0.764 7
3	2.68		91.23	

2.6 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的表征

2.6.1 粒径测定

PDI 分散系数是指聚合物分子量分布的宽度，也称为聚合物分子量分散度^[23]。多相分散指数（PDI）反映了纳米颗粒尺寸分布的均匀性。PDI 值越大，表明纳米颗粒尺寸分布越宽，均匀性越差；反之，PDI 值越小，则表明纳米颗粒尺寸分布越集中，均匀性越好。一般来说，PDI 值小于 0.3 表明体系具有良好的分散性。如图 10 所示，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的平均粒径为 46.52 nm，PDI 为 0.09<0.3。表明结合响应面法优化的处方制备的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束具有良好的分散性，粒径分布均匀。

测试结果:				
Z-均粒径: 46.520 nm				
PDI: 0.091				
截距: 0.930				
	均径(d.nm)	面积(%)	峰标准差(nm)	CV(%)
峰1	52.16	100.00	18.92	36.27
峰2				
峰3				



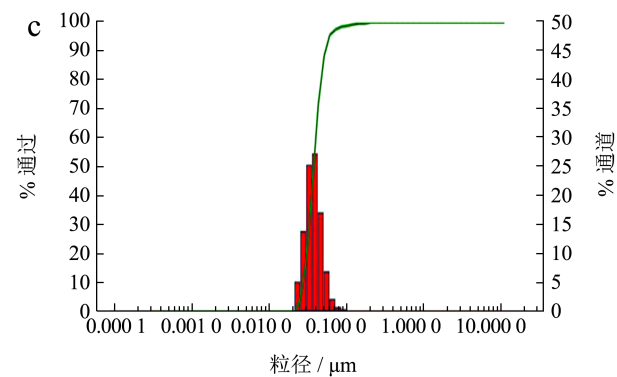


图 10 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的粒径分布

Fig.10 Particle size distribution of Rg3-PEG-PLGA nanomicelles

2.6.2 Zeta电位检测结果

Zeta 电位的数值与胶态分散的稳定性相关^[24]。Zeta 电位的绝对值（正或负）越高，体系越稳定，若 Zeta 电位绝对值小于 15 mV 的胶体体系，其稳定性较差。如图 11 所示，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的 Zeta 电位为 -24.37 mV。该结果表明，根据优化后的处方制备的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束具有较好的稳定性。

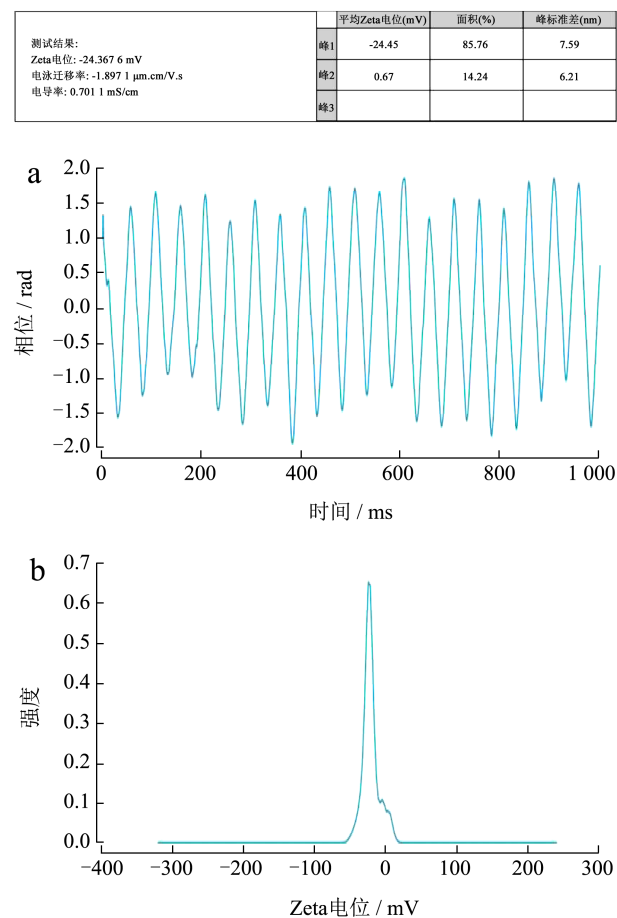


图 11 Zeta 电位测定结果

Fig.11 Zeta potential measurement results

2.6.3 粘度检测结果

为了方便纳米胶束溶液的使用、加工和运输。使用旋转粘度计来确定液体的黏性大小。经测量，结果见表 6，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束溶液的粘度为 0.89 mPa·s (cP)，而水的粘度指标约为 0.89 mPa·s (cP) 左右，所以初步判断适宜运输^[25]。

表 6 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束粘度验证性实验

Table 6 Rg3-PEG-PLGA nanomicelle viscosity verification experiment

粘度/[mPa·s(cP)]					均值±标准差
0.897 2	0.893	0.892 9	0.894 0	0.893 8	0.894 2±0.001 7

2.6.4 临界胶束浓度

如图 12 所示，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的临界胶束浓度 (CMC)，质量浓度约为 3.67 μg/mL。

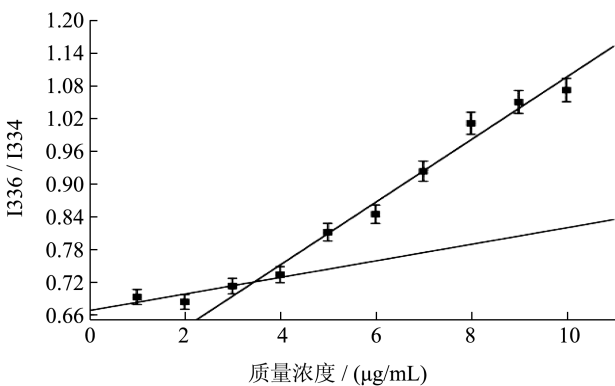


图 12 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束 CMC 值检测

Fig.12 CMC value detection of Rg3-PEG-PLGA nanomicelles

2.6.5 体外释放实验

为了模拟体内生物环境，体外释放研究分别在 PBS (pH 值 7.4) 和模拟胃酸液 (pH 值 1.4) 中进行。两种介质中 Rg3 和 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束的累积释放率如图 13 所示。Rg3 在溶液 (pH 值 7.4) 中释药速度快于纳米胶束，在 18 h 时累积释药率已达 98.72%。而 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束在溶液 (pH 值 7.4) 中释药速度比 Rg3 较慢，在 72 h 时累积释药率为 93.60%。这表明在模拟人体中性环境中的释药效果中，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束具有更好的缓释作用。在胃酸模拟液中，在 18 h 时，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束中 Rg3 的累积释放量 (70.1%) 比 Rg3 (99.34%) 要慢得多。这表明 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束可以在胃酸模拟液中有效保护 Rg3^[26]。Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束在 2 h 和 4 h 时，累积释放率为 3.18% 和 12.58%，所以具有一定的胃酸稳定性^[27]。对释药数据进行一级动力学模型拟合^[28](累计释放率为 Q ， t 为时间)，拟合方程和拟合度见表 7。

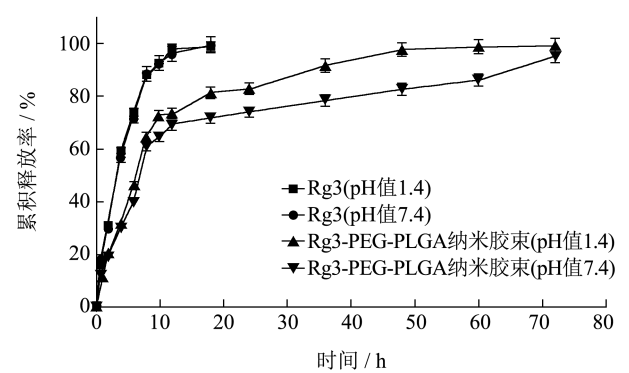


图 13 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束及 Rg3 的体外释放

Fig.13 Rg3-PEG-PLGA nanomicelles and Rg3 release *in vitro*

表 7 Rg3和Rg3-PEG-PLGA释药模型的拟合方程

Table 7 Fitting equations for the Rg3 and Rg3-PEG-PLGA drug release models

分组	拟合方程	相关系数
Rg3 (pH 值 1.4)	$Q=113.07 (1-e^{-0.16t})$	$R^2=0.989 4$
Rg3 (pH 值 7.4)	$Q=109.39 (1-e^{-0.18t})$	$R^2=0.993 0$
Rg3-PEG-PLGA 纳米胶 (pH 值 1.4)	$Q=112.22 (1-e^{-0.05t})$	$R^2=0.887 3$
Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束 (pH 值 7.4)	$Q=93.48 (1-e^{-0.06t})$	$R^2=0.925 0$

测试结果: Z-均粒径: 52.570 nm PDI: 0.408 截距: 0.960		均径(d.nm)	面积(%)	峰标准差(nm)	CV(%)
	峰1	36.69	91.67	8.08	22.02
	峰2	12 823.02	8.33	0.00	0.00
	峰3				

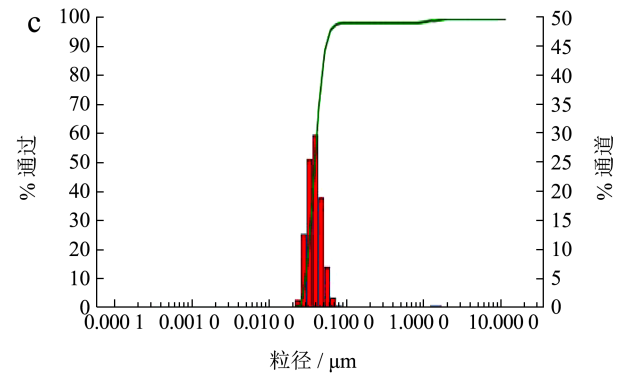
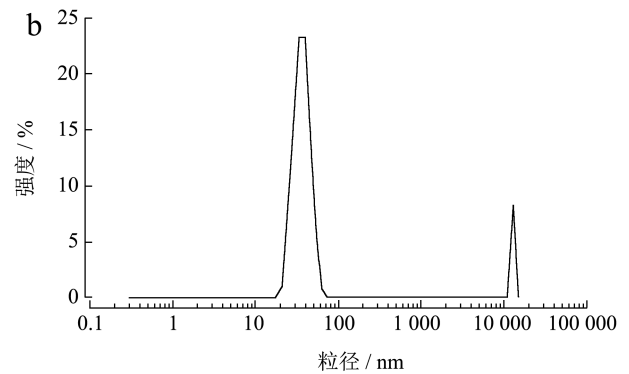
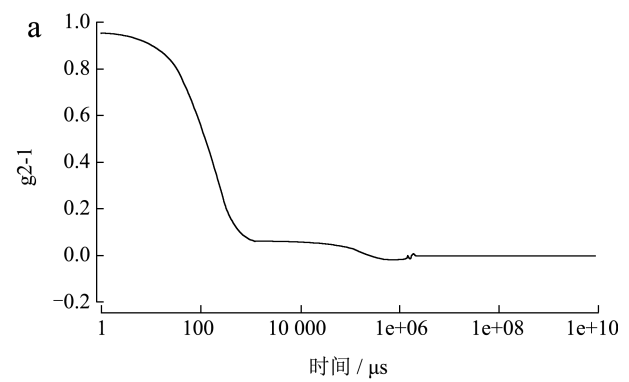


图 14 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶液的粒径分布

Fig.14 Particle size distribution of the reconstituted solution of Rg3-PEG-PLGA nanomicelles lyophilized powder

2.7 Rg3-PEG-PLGA纳米胶束冻干粉复溶液的质量评价

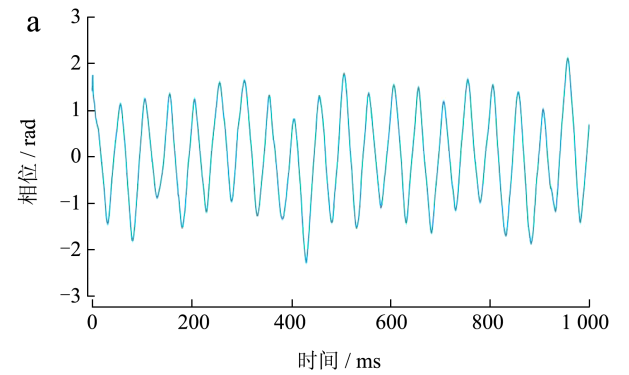
2.7.1 粒径测定

如图 14 所示，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶后的平均粒径为 52.27 nm，PDI 为 0.408 > 0.3。表明 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶后的分散性比纳米胶束略差，可能是在胶束冻干过程中胶束发生了聚集^[29]。与冻干前纳米混悬剂的粒径分布相比，尽管平均粒径有所增大，但仍处于 1~100 nm。

2.7.2 Zeta电位检测结果

如图 15 所示，Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶后的 Zeta 电位为 -22.44 mV。该结果表明，根据优化后的处方制备的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶后具有较好的稳定性。

测试结果: Zeta电位: -22.440 6 mV 电泳迁移率: -1.747 1 μm.cm/V.s 电导率: 0.618 4 mS/cm		平均Zeta电位(mV)	面积(%)	峰标准差(nm)
	峰1	-19.18	100.00	18.27
	峰2			
	峰3			



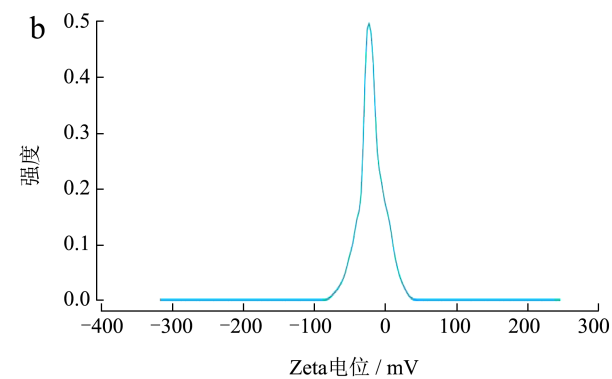


图 15 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束冻干粉复溶液的 Zeta 电位

Fig.15 Zeta potential of the reconstituted solution of Rg3-PEG-PLGA nano-micelles lyophilized powder

2.7.3 Rg3-PEG-PLGA纳米胶束冻干粉复溶液的稳定性

如表 8 所示，冻干粉复溶后其纳米粒径、PDI 和 Zeta 电位均无明显变化，也无肉眼可见的聚集或沉淀现象，说明 Rg3-PEG-PLGA 纳米混悬剂冻干粉复溶后基本稳定^[30]。

表 8 稳定性实验

Table 8 Stability test

	粒径/nm	PDI	Zeta 电位 /mV
1	52.51 ± 0.91	0.45 ± 0.04	-21.43 ± 0.79
2	52.16 ± 0.91	0.48 ± 0.05	-21.59 ± 1.02
3	52.42 ± 0.84	0.48 ± 0.02	-22.49 ± 1.69

3 结论

采用薄膜水化法制备了载有人参皂苷 Rg3 的 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束。通过单因素实验确定了纳米胶束制备的最佳参数范围，并利用响应面分析法进行优化，最终得到最佳处方工艺。结果显示：Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束为乳白色半透明液体，粉末为白色；平均粒径大小为 46.52 nm，小于 100 nm，显著缩小，符合口服吸收的粒径范围；PDI 值为 0.09；Zeta 电位为 -24.37 mV；冻干粉为白色粉末状；复溶液为乳白色液体，平均粒径大小为 52.27 nm，PDI 为 0.408，Zeta 电位为 -22.44 mV；粘度约为 0.89 mPa·s（cP），初步判断其适宜运输；CMC 值约为 3.67 μg/mL；纳米胶束在 72 h（pH 值 7.4）的累积释药率为 93.60%，在胃酸模拟液（pH 值 1.4）的累积释放率为 98.14%；说明 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束对 Rg3 有持续释放效果，同时在模拟胃酸环境下有一定的稳定性。因此，本研究成功制备了 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束，实现了 Rg3-PEG-PLGA 纳米胶束口服适用性及体外缓释作用。该制备方法简便、安全，在下一步研究中，笔者将对人

参皂苷 Rg3 纳米胶束进行体内体外实验，以进一步阐释其靶向性及制剂优势。

参考文献

[1] 杨乾方,王帆,潘立民,等.人参皂苷Rg3提取制备、化学结构及其药理作用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(12):196-202.

[2] ZHAO X, WU J, ZHANG K, et al. The synthesis of a nanodrug using metal-based nanozymes conjugated with ginsenoside Rg3 for pancreatic cancer therapy [J]. Nanoscale Advances, 2021, 4(1): 190-199.

[3] 史雄喜,李江,邝艳婷,等.聚合物胶束在纳米载药体系的应用研究进展化学与生物工程[J].化学与生物工程,2024,41(5):19-24.

[4] ZHANG K, TANG X, ZHANG J, et al. PEG-PLGA copolymers: their structure and structure-influenced drug delivery applications [J]. Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 2014, 183: 77-86.

[5] TEJA P K, MITHIYA J, KATE A S, et al. Herbal nanomedicines: recent advancements, challenges, opportunities and regulatory overview [J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2022, 96: 153890.

[6] LUO D, WANG X, ZHONG X, et al. MPEG-PCL Nanomicelles platform for synergistic metformin and chrysin delivery to breast cancer in mice [J]. Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2022, 22(2): 280-293.

[7] 蔡钰峰,刘婷,李峰,等.人参皂苷20(S)-Rg3通过调节DNMT3A/miR-603/HK2信号通路抑制卵巢癌细胞Warburg效应[J]中国老年学杂志,2024,44(16):3949-3955.

[8] 赵月.人参皂苷Rh2和Rh2-PEG-PLGA纳米胶束对肿瘤细胞凋亡和自噬的影响研究[D].长春:中医药大学,2021.

[9] SHAO X R, WEI X Q, ZHANG S, et al. Effects of micro-environmental pH of liposome on chemical stability of loaded drug [J]. Nanoscale Research Letters, 2017, 12(1): 504.

[10] WANG T, XUE J, HU Q, et al. Synthetic surfactant- and cross-linker-free preparation of highly stable lipid-polymer hybrid nanoparticles as potential oral delivery vehicles [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2750.

[11] WANG X, YANG B, MA C, et al. Preparation of copolymer 7-hydroxyethyl chrysin loaded PLGA nanoparticles and the *in vitro* release [J]. Journal of Zhejiang University Medical Sciences, 2024, 53(1): 116-125.

[12] LANGRIDGE T D, GEMEINHART R A. Toward understanding polymer micelle stability: density ultracentrifugation offers insight into polymer micelle stability in human fluids [J]. Journal of Controlled Release, 2020, 319: 157-167.

[13] MOUSAVI M M, TORBATI M, FARSHI P, et al. Evaluation of design and fabrication of food-grade nanofibers from chitosan-gelatin for nanoencapsulation of stigmasterol using the electrospinning method [J]. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2021, 11(3): 514-521.

[14] HE K, WANG T, CHEN J, et al. A pegylated liposome loaded with raddeanin a for prostate cancer therapy [J]. International Journal of Nanomedicine, 2023, 18: 4007-4021.

[15] LU X Y, BI J Y, LI M H, et al. Optimization of extraction process for

- classic prescription Yihuang Decoction based on Box-Behnken design-response surface methodology, standard relation, and analytic hierarchy process combined with entropy weight method [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(21): 5798-5808.
- [16] ZHAO L, TONG Q, GENG Z, et al. Recent advances of octenyl succinic anhydride modified polysaccharides as wall materials for nano-encapsulation of hydrophobic bioactive compounds [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(14): 6183-6192.
- [17] WU R, TIAN M, SHU C, et al. Determination of the critical micelle concentration of surfactants using fluorescence strategies [J]. Soft Matter, 2022, 18(47): 8920-8930.
- [18] GAO F, CHEN Z, ZHOU L, et al. Preparation, characterization and *in vitro* study of bellidifolin nano-micelles [J]. RSC Advances, 2022, 12(34): 21982-21989.
- [19] SANTOYO-ALEMAN D, SANCHEZ L T, VILLA C C. Citric-acid modified banana starch nanoparticles as a novel vehicle for β -carotene delivery [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(14): 6392-6399.
- [20] GOU M, MEN K, SHI H, et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. Nanoscale, 2011, 3(4): 1558-1567.
- [21] 刘颖,吴美玉,刘伊,等.纳米生物材料标准化检测和评价的现状与展望[J]科学通报,2023,68(32):4281-4301.
- [22] ZHANG Y, CHEN W, JING M, et al. Self-assembled mixed micelle loaded with natural pyrethrins as an intelligent nano-insecticide with a novel temperature-responsive release mode [J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 361: 1381-1391.
- [23] SUN Y, CHEN D, ZHAO Y, et al. Exploitation of nanocrystal suspension as an effective oral formulation for oxfendazole [J]. Drug Delivery and Translational Research, 2022, 12(5): 1219-1229.
- [24] SRIVASTAVA S, KUMAR A, YADAV P K, et al. Formulation and performance evaluation of polymeric mixed micelles encapsulated with baicalein for breast cancer treatment [J]. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2021, 47(9): 1512-1522.
- [25] VOGTT K, BEAUCAGE G, WEAVER M, et al. Thermodynamic stability of worm-like micelle solutions [J]. Soft Matter, 2017, 13(36): 6068-6078.
- [26] JIN M, LIU B, ZHANG Z, et al. Catechin-functionalized cationic lipopolymer based multicomponent nanomicelles for lung-targeting delivery [J]. Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla), 2024, 36(17): e2302985.
- [27] DIAN L H, HU Y J, LIN J Y, et al. Fabrication of paclitaxel hybrid nanomicelles to treat resistant breast cancer via oral administration [J]. International Journal of Nanomedicine, 2018, 13: 719-731.
- [28] WANG X, FOK M R, PELEKOS G, et al. *In vitro* and *ex vivo* kinetic release profile of growth factors and cytokines from leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) preparations [J]. Cells, 2022, 11(13): 3271.
- [29] WANG J, LV F, SUN T, et al. Sorafenib nanomicelles effectively shrink tumors by vaginal administration for preoperative chemotherapy of cervical cancer [J]. Nanomaterials (Basel, Switzerland), 2021, 11(12): 11123271.
- [30] WANG Y, HUANG T, LI H, et al. Hydrous icaritin nanorods with excellent stability improves the *in vitro* and *in vivo* activity against breast cancer [J]. Drug Delivery, 2020, 27(1): 228-237.