

氧化苦参碱磷脂复合物纳米结构脂质载体的制备^{*}

张科¹, 严俊丽², 李婉蓉², 贺智勇², 姜丰², 周雪², 吴林菁², 甘诗泉²,
明先彦², 沈祥春^{2**}, 陶玲^{2**}

(1. 贵州医科大学 基础医学院寄生虫学教研室, 现代病原生物学特色重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州省天然药物资源高效利用工程中心, 贵州省高等学校天然药物药理与成药性评价特色重点实验室, 贵州医科大学-贵阳市联合重点实验室, 天然药物资源优效利用重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

[摘要] 目的: 采用微乳法制备氧化苦参碱磷脂复合物纳米结构脂质载体(OMT-PC-NLC)。方法: 通过伪三元相图考察 OMT-PC-NLC 初乳处方, 再将初乳分散于冰水中固化, 以包封率为指标, 考察固化时间、外水相体积、搅拌速度对 OMT-PC-NLC 制备工艺的影响。结果: 以硬脂酸为固态脂质, 油酸为液态脂质, 吐温/泊洛沙姆组成的复合乳化剂比例为 2:1, 乙醇为助乳化剂, 乳化剂与助乳化剂的比例(K_m)为 1:1, 油相 K_m 为 1:9, 固化时间为 10 min, 外水相体积为 175 mL, 将初乳在 1 750 r/min 搅拌状态下分散于冰水中、固化, 制备得到 OMT-PC-NLC 平均粒径为 315 nm, 粒径范围为 161 ~ 650 nm。结论: 采用微乳法成功制备 OMT-PC-NLC, 制备工艺简单、操作方便。

[关键词] 氧化苦参碱; 微乳法; 纳米结构脂质载体; 包封率; 高效液相色谱法

[中图分类号] R285; TQ461 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)11-1256-07

DOI: 10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2018. 11. 004

Preparation of Nanostructured Lipid Carrier of Oxymatrine Phospholipid Complex

ZHANG Ke¹, YAN Junli², LI Wanrong², HE Zhiyong², JIANG Feng², ZHOU Xue²,
WU Linjing², GAN Shiquan², MING Xianyan², SHEN Xiangchun², TAO Ling²

(1. Department of Parasitology in Basic Medical College, Key Laboratory of Modern Pathogenic Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. State Key Laboratory on Efficacy and Utilization of Medicinal Plants, Guizhou Engineering Center for Efficient Utilization of Natural Drug Resources, High Educational Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Drug Ability, Guizhou Medical University-Guiyang Key Laboratory of Natural Medicine Resources, Key Lab of Excellent and Effective Utilization of Natural Drug Resources, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare the nanostructured lipid carrier of oxymatrine phospholipid complex (OMT-PC-NLC) by microemulsion method. **Methods:** The prescription of OMT-PC-NLC colostrum was investigated by pseudo-ternary phase diagram; the colostrum was dispersed in ice water to solidify, and the encapsulation efficiency was taken as the index. The effects of curing time, volume of external water phase and stirring speed on the preparation process of OMT-PC-NLC were investigated. **Results:** Using stearic acid as solid lipid and oleic acid as liquid lipid, the ratio of Tween / Poloxamer

^{*}[基金项目] 国家自然科学基金项目(81860752); 贵州省高层次人才百层次人才项目[贵州科技厅黔科合人才(2015)4029号]; 贵州医科大学药学院国际科技合作基地项目[黔科合平台人才(2017)5802]; 贵州省科学技术基金重点项目[黔科合 JZ 字(2015)2002号]; 黔南州科技计划项目[黔南科合社字(2017)74号]; 遵义医学院基础药理省部共建教育部重点实验室项目[黔教合 KY 字(2017)379]; 贵阳医学院博士启动基金项目[院博合 J 字(2017-24)号]; 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(QZYY-2018-086); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目[黔教合 KY 字(2018)181]

^{**} 通信作者 E-mail: shenxiangchun@126.com; 649511230@qq.com

网络出版时间: 2018-11-15 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20181115.2127.021.html>

was 2:1. The ratio of ethanol as co-emulsifier, the ratio of emulsifier to co-emulsifier (K_m) was 1:1; the oil phase Km was 1:9; Curing time was 10 mins; the volume of external water phase was 175 mL. Colostrum was dispersed in ice water at 1 750 r/min and solidified. The average particle size of OMT-PC-NLC was 315 nm and the particle size range was 161 ~ 650 nm. **Conclusion:** The preparation of OMT-PC-NLC by microemulsion method is simple and easy to operate.

[**Key words**] oxymatrine; micro-emulsion method; Nanostructured lipid carrier; encapsulation efficiency; high performance liquid chromatography

氧化苦参碱 (oxymatrine, OMT) 是从山豆根、苦参等豆科植物中提取的活性单体化合物, 具有显著的抗肿瘤、抗炎及抗病毒等作用^[1-3], 临床上亦广泛应用于慢性乙型肝炎、丙型肝炎、肝纤维化及肝癌等多种肝脏疾病的治疗, 疗效显著^[4-6]。按照传统给药方式, OMT 在体内的半衰期短及给药次数频繁, 造成病人顺应性较差, 限制了其在临床上疗效的充分发挥^[7]。近年来, 对 OMT 递送系统的研究取得了较大的进展, 危红华等^[8]研制了 OMT 二元醇质体, 万发里等^[9]制备了 OMT 新剂型 (缓释片剂), 都使 OMT 有较好的缓释作用, 但这些剂型依然存在药物易外泄、靶向性差等不足; 目前可以减少药物在正常组织和器官分布, 同时具有靶向和缓释性能的纳米递送系统研究尚不多见。纳米结构脂质载体 (nanostructured lipid carriers, NLC) 是以空间上不相容的固态脂质和液态脂质作为载体, 制成的粒径在 100 ~ 1 000 nm 范围内的纳米新型给药系统^[10-11], 在一定温度下, 向固态脂质中加入液态脂质, 使其有序排列程度降低, 形成含特殊纳米空腔的脂质载体骨架, 既可以提高载药量与包封率、减少被包封药物的外泄, 又可以更好地调节药物释放效果, 是一种极具开发前景的新型药物载体系统, 作为经皮、口服及静脉注射给药的载体已经得到了广泛的应用^[12-13]。目前, 国内外已有将兰索拉唑、反式阿魏酸等药物制备成 NLC 的研究^[14-17], LV 等^[18]制备了鸦胆子油 NLC 并检测了其抗肿瘤活性, 结果表明该药物抗肿瘤活性显著增强, 且显示被动靶向性。本研究拟在氧化苦参碱磷脂复合物 (OMT-phospholipid complex, OMT-PC) 药物脂溶性的基础上, 进行粒径适宜的氧化苦参碱磷脂复合物纳米结构脂质载体 (OMT-PC-NLC) 的制备研究, 并对其靶向效果、给药次数、血药浓度波动幅度、毒副作用及病人顺应性进行考察, 为 OMT 的临床应用提供剂型参考, 为其下一步开发研究提供指导。

1 材料

主要仪器: ME104/02 型分析天平 [梅特勒 - 托利多仪器 (上海) 有限公司], BT-9300H 激光粒度分布仪 (丹东百特仪器有限公司), 1260 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司)。药物及主要试剂: OMT 原料药 (南京广润生物制品有限公司, 批号 GR-133-151019, 纯度 98%), OMT 对照品 (成都普思生物科技有限公司, PS018-0020, 纯度 >98.5%), 硬脂酸和四氢呋喃 (THF, 广东汕头西陇化工有限公司, 060329, 20140922), 单硬脂酸甘油酯 (国药集团化学试剂有限公司, 20150313), 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯 (Kolliphor HS 15, 德国巴斯夫公司, 25612368E0), 注射用大豆磷脂 (磷脂酰胆碱质量分数 90%, 上海太伟药业有限公司, 201601032), 大豆油 (浙江田雨山药用油有限公司, 20161203), 中链甘油三酯 (上海佑创实业有限公司, 20140206), 橄榄油 (国药集团化学试剂有限公司, 20161110), 油酸 (西陇科学股份有限公司, 170329), 吐温-80 (西陇科学股份有限公司, 120429), 甘油 (浙江遂昌惠康药业有限公司, 20160522), 乙腈 (美国天地公司, 16125112), 三乙胺 (天津市科密欧化学试剂有限公司, 20150507), 磷酸 (天津市恒兴化学试剂制造有限公司, 10641202); 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Ultiamte® AQ-C18 (4.6 mm × 250 mm, 4.5 μm) 柱, 流动相为乙腈: 水: 三乙胺 (体积比 8:92:0.2, 用磷酸调节 pH 至 3.4); 检测器为 VWD, 波长 210 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。

2.2 OMT 含量测定方法的建立

2.2.1 OMT 对照品溶液的配制 称取 OMT 对照品 30.0 mg,加水溶解并定容至 50 mL,得 0.6 g/L 对照品储备液。吸取储备液 2 mL 用蒸馏水稀释并定容至 25 mL,配制成浓度为 48 mg/L 的 OMT 对照品溶液,过 0.22 μm 的微孔滤膜,备用。

2.2.2 供试品溶液的配制 精密量取 OMT-PC-NLC 混悬液 2 mL,加入少量乙醇超声溶解,加水稀

释并定容至 10 mL,得 OMT 质量浓度为 8.57 mg/L 的供试品溶液;取空白 NLC 同法制备样品。

2.2.3 专属性实验 精密移取上述对照品溶液,供试品溶液和空白 NLC 溶液各 20 μL ,按照 2.1 项下色谱条件进行测定。结果表明,OMT 的出峰时间为 7.144,对称性为 1.225,辅料峰不干扰含量测定,药物峰和辅料峰的分离度 R 为 17.35,分离度符合要求。见图 1。

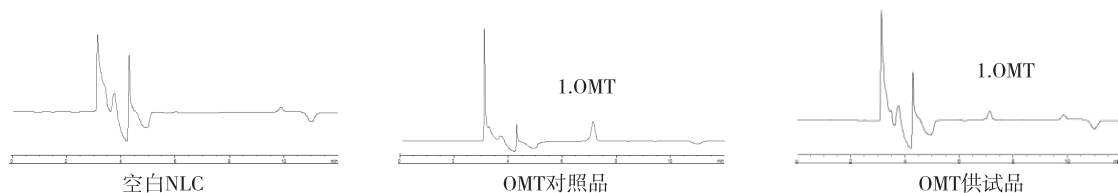


图 1 OMT 高效液相色谱结果

Fig. 1 Results of OMT high performance liquid chromatography

2.2.4 线性关系的考察 分别精密吸取浓度为 600 mg/L 的 OMT 对照品储备液 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 及 8.0 mL 至 6 个 25 mL 量瓶中,蒸馏水定容,分别配制成 6、12、24、48、96 及 192 mg/L 的 OMT 系列标准溶液,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,20 μL 进样,HPLC 测定,记录峰面积。以峰面积(Y)对 OMT 浓度(X)进行线性回归。回归方程为 $Y = 27.806X + 27.9$, $R^2 = 0.9999$,线性范围 6 ~ 192 mg/L。

2.2.5 精密实验 精密吸取浓度为 96 mg/L 的 OMT 对照品溶液,按 2.1 项色谱条件下,连续测定 6 次,计算峰面积的 RSD 值为 0.2%,表明仪器精密密度良好。

2.2.6 重复性实验 取 OMT-PC-NCL 混悬液 2 mL,平行 6 份,分别用少量乙醇超声溶解后,蒸馏水定容至 10 mL,按 2.1 项色谱条件测定,计算该混悬液中 OMT 平均质量浓度为 42.86 mg/L, RSD 值为 0.4%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性实验 取同一供试品样品溶液 2 mL,用少量乙醇超声溶解后,蒸馏水定容至 10 mL,分别于 0.2、4、6、8、12 及 24 h 测定,计算得峰面积的 RSD 值为 0.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 回收率实验 取 OMT-PC-NCL 混悬液 2 mL,分别置于 10 mL 量瓶,少量乙醇超声溶解,分别加入 2.2.1 项 OMT 对照品溶液 0.12、0.15 及 0.18 mL,蒸馏水稀释至刻度,配制低、中、高样品溶液各 3 份,按 2.1 项色谱条件测定,计算得低、

中、高质量浓度的平均回收率分别为 101.9%、99.5% 及 101.5%,相对标准偏差(RSD)分别为 0.5%、0.4% 及 0.7%。

2.3 离心超滤法考察包封率

精密吸取 OMT-PC-NCL 混悬液适量,置于 3 kDa 的超滤管内,3 000 r/min 离心 10 min,得滤液。按 2.1 项下色谱条件测定 OMT 含量,计算包封率,包封率 = $(W_{\text{总}} - W_{\text{游}})/W_{\text{总}} \times 100\%$ 计算包封率($W_{\text{游}}$ 为 OMT-PC-NCL 混悬液中游离 OMT 的质量, $W_{\text{总}}$ 为 OMT 的投药量)。

2.4 OMT-PC 制备^[19-20]

称取 OMT 100 mg 与 PC 300 mg 于磨口三角锥形瓶中,加入 THF 20 mL,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下,1 400 r/min 冷凝回流磁力搅拌 1 h,放至室温,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,收集滤液和洗液,回收 THF,收集滤纸上沉淀,计算复合率 = $(W_{\text{总}} - W_{\text{沉}})/W_{\text{总}} \times 100\%$ ($W_{\text{沉}}$ 为未复合 OMT 的沉淀量, $W_{\text{总}}$ 为 OMT 的投药量),复合率为 94%。

2.5 OMT-PC-NLC 的制备

采用微乳法,精密称取适量 OMT-PC,固态脂质,液态脂质,乳化剂,助乳化剂于 EP 管中,65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热混匀,逐滴加入同温度的蒸馏水,涡旋,即得微乳。在一定搅拌速度下,将微乳滴入冰水中,搅拌冷却固化,得 OMT-PC-NLC。

2.5.1 液态脂质材料的筛选 称取等量 OMT-PC 50 mg 于 EP 管中,分别加入 1 g 相同质量的大豆油、中链甘油三酯、橄榄油、油酸,在相同的时间内,

涡旋,观察 OMT-PC 在 4 种油相中的溶解情况。结果表明,OMT-PC 在不同油相中的溶解情况为油酸 > 中链甘油三酯 > 橄榄油 > 大豆油,见表 1。

表 1 相同时间内 OMT-PC 在 4 种油相中的溶解情况

Tab. 1 Dissolution of OMT-PC in four Oil phases at the same time	
油相种类	溶解情况
油酸	溶解完全(溶液澄清)
中链甘油三酯	溶解较多(肉眼可见少量药物)
橄榄油	溶解较少(有部分药物)
大豆油	几乎不溶解(溶液浑浊)

2.5.2 固态脂质材料的筛选 根据 2.5.1 实验结果,确定液态脂质为油酸,固态脂质为硬脂酸,Kolli-phor HS 15 为乳化剂,乙醇为助乳化剂,乳化剂与助乳化剂比例(K_m)为 1:1,油相 K_m 比例为 1:9;按 2.5 项下方法制备 OMT-PC-NLC,以包封率为考察指标,考察单硬脂酸甘油酯、山嵛酸甘油酯和硬脂酸不同固态脂质对 OMT-PC-NLC 制备的影响。结果表明,制备的 SLN 包封率分别为 32.05%、29.59% 及 26.556%,当固态脂质为硬脂酸时,制备得到的 NLC 包封率最高。

2.5.3 固液脂质比的考察 根据 2.5.2 实验结果,确定固态脂质为硬脂酸,液态脂质为油酸,Kolli-phor HS 15 为乳化剂,乙醇为助乳化剂, K_m 为 1:1,油相与乳化剂/助乳化剂比例为 1:9;按 2.5 项下方法制备 OMT-PC-NLC,以包封率为考察指标,考察固液脂质比 3:1、2:1、1:1、1:2 及 1:3 不同比例对 OMT-PC-NLC 制备的影响。结果表明,制备的 SLN 包封率分别为 25.18%、26.89%、29.24%、27.64% 及 26.26%,当固液脂质比为 1:1 时,制备得到的 NLC 包封率最高。

2.5.4 伪三元相图的绘制及单一、复合与助乳化剂的考察 根据上述考察结果,确定 OMT-PC 为 30 mg,设置 K_m 为 1:1,油相与 K_m 分别按照 1:9、1:4、3:7、2:3、1:1、3:2、7:3、4:1、9:1 的比例混匀(固定体系重量为 1 g),65 ℃ 下涡旋混匀保温,逐滴加入同温度蒸馏水自乳化,选取能形成均一、透明溶液的处方。记录下乳剂由澄清变浑浊,再由浑浊变澄清或带淡蓝乳光时加入的蒸馏水质量。以乳化剂/助乳化剂(S/A)、油(O)和水(W)为顶点,绘制伪三元相图。根据粒径要求,结合伪三元相图,筛选出乳化剂用量较少,成乳效果好,成乳区域面积大的处方,并对最佳处方进行进一步研究。

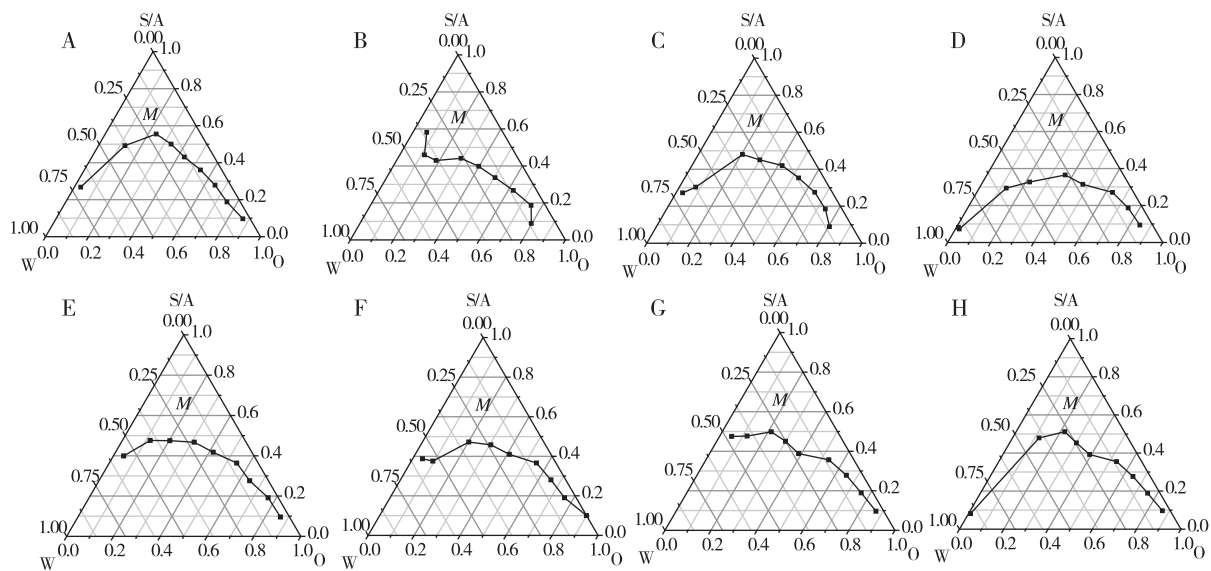
(1)单一乳化剂的考察,根据上述实验结果,确定硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,固液脂质比为 1:1,乙醇为助乳化剂,考察 Kolliphor HS 15、吐温-80、蛋黄卵磷脂、泊洛沙姆 188(F-68)不同乳化剂对成乳区域面积大小的影响;结果表明,F-68 为乳化剂,OMT-PC-NLC 的微乳区域面积最大,吐温-80 次之;见图 2。(2)复合乳化剂的考察,根据 2.5.4(1)项下实验结果,确定吐温-80 与 F-68 为复合乳化剂,硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,固液脂质比为 1:1,乙醇为助乳化剂,考察 2:1、1:1、1:2 及 1:3 不同比例复合乳化剂对成乳区域面积大小的影响。结果表明,不同比例复合乳化剂制备 OMT-PC-NLC 的成乳区域面积没有显著差别,选择粒径符合要求的复合乳化剂比例为 2:1。见图 2。(3)助乳化剂的考察,当乳化剂为单一乳化剂 F-68 时,成乳区域面积较大,故确定 F-68 为乳化剂,硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,固液脂质比为 1:1,考察乙醇、1,2-丙二醇、异丙醇不同助乳化剂对成乳区域面积大小的影响,结果表明,乙醇为助乳化剂时,OMT-PC-NLC 的成乳区域面积最大。见图 3。

2.5.5 过冷态处方的去除 分别选取成乳区域面积较大且相对安全的乳化剂 Kolliphor HS 15、F-68 及吐温-80 与 F-68 比例 2:1 制备微乳,以粒径为指标进行处方筛选,结果表明,“处方 3”易分散于固化水中,粒径也符合要求,其性状为无色透明。见表 2。

2.6 OMT-PC-NLC 制备工艺的考察

根据上述考察结果,以硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,复合乳化剂吐温-80 与 F-68 比例为 2:1,乙醇为助乳化剂、 K_m 为 1:1,油相 K_m 为 1:9,制备初乳,趁热用 65 ℃ 预热的注射器吸取初乳,将初乳以一定的速度滴入冰水浴中,磁力搅拌一定的时间,快速冷却固化,得 OMT-PC-NLC。

2.6.1 固化时间的考察 根据预实验结果,确定液态脂质为油酸,固态脂质为硬脂酸,复合乳化剂吐温-80 与 F-68 比例为 2:1,乙醇为助乳化剂, K_m 为 1:1,油相: K_m 为 1:9,固化时间为 10 min,搅拌速度为 1 500 r/min,以粒径为指标,确定微乳与水体积比为 1:30,搅拌速度为 1 500 r/min,按 2.5 项下方法制备 OMT-PC-NLC。以粒径为指标,考察 10、20、30、40、50 及 60 min 不同固化时间对 OMT-PC-NLC 制备的影响。结果表明,固化时间为 10、20 min 时,制备得到的 OMT-PC-NLC 粒径均符合要求,故选择固化时间为 10 min。见表 3。



注:A 为 Kolliphor HS 15,B 为蛋黄卵磷脂,C 为吐温 - 80,D 为 F-68, E ~ H 为吐温 - 80 与 F-68 比例分别为 2: 1、1: 1、1: 2 及 1: 3

图 2 单一乳化剂、复合乳化剂及助乳化剂的伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram of single emulsifier, composite emulsifier and co - emulsifie

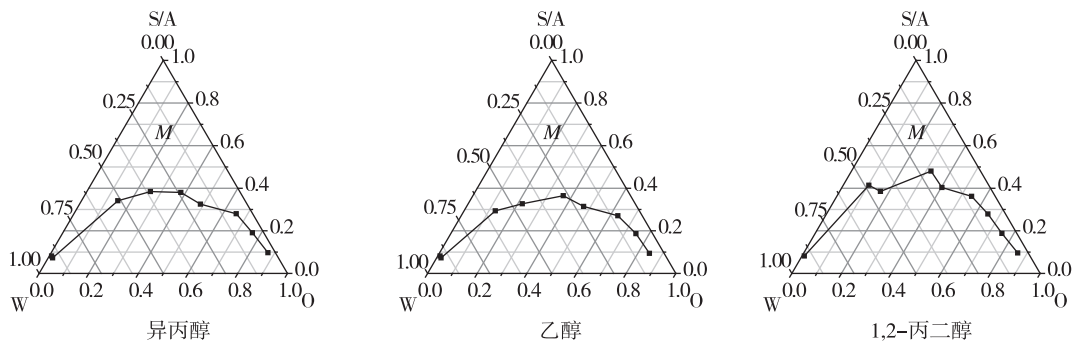


图 3 助乳化剂的的伪三元相图

Fig. 3 The pseudo-ternary phase diagram of the co-emulsifie

表 2 过冷态固化考察结果

Tab. 2 Investigation results of undercooled curing

处方	组成	各组分质量(mg)	性状	平均粒径(μm)	粒径范围(μm)
1	硬脂酸/油酸/Kolliphor HS 15 /乙醇	50/50/450/450	无色透明、变蓝色、肉眼可见粒子聚集	0.36	0.16 ~ 19.38
2	硬脂酸/油酸/F-68 /乙醇	50/50/450/450	无色透明、变蓝色、肉眼可见粒子聚集	11.61	0.20 ~ 23.56
3	硬脂酸/油酸/吐温-80 与 F-68(2:1)/乙醇	50/50/450/450	无色透明、变蓝色	0.32	0.16 ~ 0.65

2.6.2 初乳与固化水体积比的考察 根据 2.6.1 项获得的结果,确定液态脂质为油酸,固态脂质为硬脂酸,复合乳化剂吐温 - 80/F-68 比例为 2: 1,乙醇为助乳化剂、 K_m 为 1: 1,油相、 K_m 为 1: 9,固化时间为 10 min,搅拌速度为 1500 r/min,按 2.5 项下

方法制备 OMT-PC-NLC。以包封率、粒径为指标,考察 1: 25、1: 30、1: 35 及 1: 40 不同固化水体积对 OMT-PC-NLC 制备的影响。结果表明,制备的 SLN 包封率分别为 22.86%、22.28%、29.36% 及 10.05%;当微乳与水相体积比为 1: 35 时,包封率最高。

表 3 固化时间的考察结果

Tab. 3 Investigation results of curing time		
固化时间 (min)	平均粒径 (μm)	粒径范围 (μm)
10	0.272	0.156 ~ 0.712
20	0.308	0.161 ~ 0.562
30	0.301	0.159 ~ 2.227
40	0.786	0.194 ~ 25.63
50	3.452	0.261 ~ 14.75
60	4.623	0.338 ~ 18.11

2.6.3 冰浴搅拌速度的考察 根据 2.6.2 实验结果,确定液态脂质为油酸,固态脂质为硬脂酸,复合乳化剂吐温-80 与 F-68 比例为 2:1,乙醇为助乳化剂、 K_m 为 1:1,油相 K_m 为 1:9,初乳与固化水体积比为 1:35,固化时间为 10 min,按 2.5 项下方法制备 OMT-PC-NLC。以包封率、粒径为指标,考察 1 000、1 250、1 500、1 750 及 2 000 r/min 不同搅拌速度对 OMT-PC-NLC 制备的影响。结果表明,制备的 NLC 包封率分别为 26.56%、29.36%、33.68% 及 26.22%;当搅拌速度为 1 750 r/min 时,包封率最高。

2.7 最佳处方验证考察

以硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,复合乳化剂吐温-80 与 F-68 比例为 2:1,乙醇为助乳化剂, K_m 为 1:1,油相-乳化剂与助乳化剂比例为 1:9 制备初乳,初乳和外水相比为 1:35,固化时间 10 min,搅拌速度为 1500 r/min,制备 3 批 OMT-PC-NLC。按照 2.2.1 项下色谱条件进行测定,记录峰面积,计算包封率。结果表明,制备 3 批 OMT-PC-NLC,平均包封率为 $(37.54 \pm 2.26)\%$,说明 NLC 制备处方工艺重现性良好。

2.8 粒径测定

取少量 OMT-PC-NCL,用适量纯化水稀释后,采用马尔文激光粒度测定仪测定并采集粒径分布,结果表明,按最佳处方制备所得 OMT-PC-NCL 平均粒径为 315 nm,粒径范围为 161~650 nm,见图 4。

3 讨论

NLC 作为新兴的脂质纳米微粒载药系统,具备生产成本低、工艺单一、耐受性良好等诸多优点,应用广泛,有注射,口服,经皮给药方式。其制备方

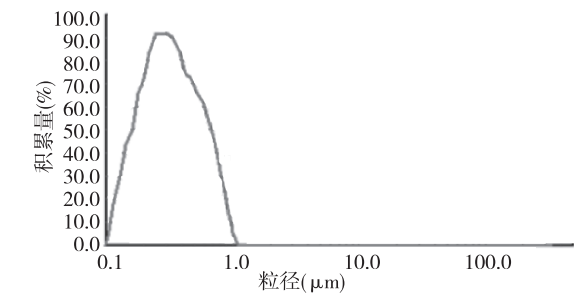


图 4 OMT-PC-NLC 粒径分布情况
Fig. 4 Particle size distribution map of OMT-PC-NLC

法常采用高压匀质法,溶剂挥发法,冷均质法,高速搅拌超声法,需使用大量的有机溶剂及较大的外力,高速甚至高压条件,本研究采用微乳法进行 NLC 初乳的处方考察,方法简便易行,结果可靠,重复性好。

本研究对乳化剂进行考察的过程中,以 F-68 为乳化剂时,其成乳面积最大,微乳处方澄清度最好;将初乳分散冰水浴中固化制备 NLC,该处方的纳米粒子在冰水浴中稳定性差而产生聚集,故后期对复合乳化剂吐温-80 与 F-68 比例进行考察,并筛选出粒径可行的微乳处方进行后续试验。根据参考文献及注射制剂中吐温-80 限量规定,使其用量在 0.2% 限定范围内。当吐温-80 与 F-68 比例为 2:1 时,吐温-80 含量达 0.19%,此时 OMT-PC-NLC 初乳的粒径也符合要求,故不再对其更高比例的处方进行考察。在制备初乳时,需要保持药物与加入的蒸馏水同时是 65℃ 的条件。在搅拌速度进行考察的过程中,由于 2 000 r/min 转速过大,粒子间碰撞机会增加,粒子聚集,1 250 r/min 以下转速过低,粒子不易被分散,易聚集,导致粒径偏大不符合要求,故选择的搅拌速度范围是 1 250~2 000 r/min。对外水相体积比的考察,既不能太高,也不能太低,因为太高搅拌仪器对液体上部无法达到正常搅拌,太低会导致溶液浓度过高,过早聚集,使粒径不符合要求。

综上,微乳法以硬脂酸为固态脂质,油酸为液态脂质,吐温/泊洛沙姆组成的复合乳化剂比例为 2:1,乙醇为助乳化剂, K_m 为 1:1,油相 K_m 为 1:9,固化时间为 10 min,外水相体积为 175 mL,将初乳在 1 750 r/min 搅拌状态下分散于冰水中、固化,制备得到 OMT-PC-NLC 平均粒径为 315 nm,粒径范围为 161~650 nm 时能成功制备 OMT-PC-NLC,制

备工艺简单、操作方便。

4 参考文献

- [1] 陈凌, 骆凯, 吴曹, 等. 氧化苦参碱抗炎作用研究新进展[J]. 医学综述, 2007, 13(15): 1167-1169.
- [2] 张彦燕, 王羿, 徐旖旎, 等. 氧化苦参碱对 TGF- β 1 诱导心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(17): 149-153.
- [3] 陈晓峡, 向小庆, 叶红, 等. 苦参碱及氧化苦参碱抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 361-364.
- [4] 史丽娟, 王磊, 宋光耀. 氧化苦参碱肝脏药理作用的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 2(16): 448-451.
- [5] LI H H, YUN M, ZHONG X. The Disposition of Oxymatrine in the vascularly perfused rat intestine-liver preparation and its metabolism in rat liver microsomes [J]. Pharm Sci-US, 2016, (105): 897-903.
- [6] 史丽娟, 石磊, 宋光耀. 氧化苦参碱肝脏药理作用的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(2): 448-451.
- [7] 刘苏, 秦晶, 陆伟根, 等. 氧化苦参碱在大鼠体内药代动力学特征[J]. 中成药, 2011, 33(6): 962-965.
- [8] 危红华, 赵晓旭, 李莎莎, 等. 苦参方二元醇质体凝胶剂的制备及体外经皮给药研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(9): 2762-2766.
- [9] 万发里, 邓树海, 苗彩云. 氧化苦参碱缓释片的制备及其体外释药动力学研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(13): 1002-1004.
- [10] KELIDARI H R, SAEEDI M, AKBARI J, et al. Formulation optimization and in vitro skin penetration of spironolactone loaded nanostructured lipid carriers [J]. Colloid Surface B, 2015, 128(3): 473-479.
- [11] JAIN S, MISTRY M A, SWARNAKAR N K. Enhanced dermal delivery of acyclovir using nanostructured lipid carriers [J]. Drug Deliv Transl Res, 2011, 1(5): 395-406.
- [12] 王宏媛, 刘强, 张云杰, 等. 尼莫地平纳米结构脂质载体的制备及大鼠体内药动学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 178-192.
- [13] 曹丰亮, 郭晨煜, 李其禄, 等. 纳米结构脂质载体的制备与应用研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33(1): 93-96.
- [14] 于莲, 刘洋, 杨金儒, 等. 葛根素纳米结构脂质载体的制备及理化性质[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 7-10.
- [15] SABA K, SHAHARYAR M, MOHAMMAD F, et al. Tacrolimus-loaded nanostructured lipid carriers for oral delivery-Optimization of production and characterization [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 108(2016): 277-288.
- [16] WEN J L, YI S D. Nanostructured lipid carriers for transdermal delivery of acid labile lansoprazole [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 108(2016): 297-303.
- [17] ZHANG Y, LI Z, ZHANG K, et al. Ethyl oleate-containing nanostructured lipid carriers improve oral bioavailability of trans-ferulic acid as compared with conventional solid lipid nanoparticles [J]. Int J Pharm, 2016, 511(2016): 57-64.
- [18] LV W, ZHAO S, YU H, et al. Brucea javanica oil-loaded nanostructure lipid carriers (BJO NLCs): Preparation, characterization and in vitro evaluation [J]. Colloids and Surfaces A, 2016, 504(2016): 312-319.
- [19] 游荣辉, 王陆军, 从龙波, 等. 氧化苦参碱磷脂复合物的理化性质研究[J]. 解放军药理学学报, 2007, 23(3): 190-194.
- [20] 蒋楠, 李晔, 陈钢, 等. 鸦胆子油自微乳的制备及溶出度考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 45-47.

(2018-09-02 收稿, 2018-11-03 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 乐 萍