

# 苦参碱固体脂质纳米粒的制备

吕佳, 刘冰, 张振秋\*, 袁子民  
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** 目的: 优选苦参碱固体脂质纳米粒的处方工艺并考察其外观性状、粒径分布。方法: 采用超声分散法制备苦参碱固体脂质纳米粒, 以苦参碱包封率为指标, 通过正交试验考察苦参碱-硬脂酸质量比、硬脂酸-大豆卵磷脂质量比、泊洛沙姆质量浓度、油-水相体积比对方工艺的影响。结果: 优选的处方工艺为硬脂酸-大豆卵磷脂(1:1), 苦参碱-硬脂酸(1:6), 泊洛沙姆质量浓度  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 油-水相体积比(1:5)。制备的苦参碱固体脂质纳米粒为乳状溶液, 呈乳白色, 晃动后可能会产生白色絮状物, 有光泽, 平均包封率 82.8%, 平均载药量 5.5%。该纳米粒呈不规则类球形或椭球形, 分布较均匀, 平均粒径 155 nm。结论: 优选的处方工艺稳定可靠, 具有很大的应用前景。

**[关键词]** 苦参碱; 固体脂质纳米粒; 处方工艺; 正交试验; 粒径; 包封率

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0061-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013190061

## Preparation of Solid Lipid Nanoparticles Loading Matrine

LV Jia, LIU Bing, ZHANG Zhen-qiu\*, YUAN Zi-min

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize formulation technology of matrine solid lipid nanoparticles and investigate its appearance and particle size distribution. **Method:** Matrine solid lipid nanoparticles were prepared ultrasonic dispersion method, with entrapment efficiency of matrine as index, orthogonal test was adopted to investigate effects of ratio of matrine-stearic acid, ratio of stearic acid-soybean lecithin, poloxamer concentration

**[收稿日期]** 20130228(013)

**[基金项目]** 大连市科技局科学技术基金项目(2008J21JH007)

**[第一作者]** 吕佳, 副教授, 博士, 从事中药制药技术研究, Tel:0411-87586010, E-mail:lvjiaemail@163.com

**[通讯作者]** \* 张振秋, 教授, 博士, 从事药物质量控制研究, Tel:0411-87586058, E-mail:zhangzhenqiu@sina.com

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

[2] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 文苑出版社, 1998:98.

[3] 王春梅, 崔新颖, 李贺. 白芷香豆素的抗炎作用研究[J]. 中草药, 2003, 34(9):837.

[4] 张跃珍, 林军. 天然药物脂质体制备研究进展[J]. 中国药房, 2007, 18(21):1671.

[5] 李学涛, 赵琳, 程岚. 异长春花碱脂质体的制备及其在小鼠体内的组织分布[J]. 中国药房, 2012, 23(9):778.

[6] 董自亮, 张小维, 肖丹. 微波预处理提取白芷中总香

豆素的研究[J]. 食品与药品, 2011, 13(1):21.

[7] 禹玉洪, 李雪春, 吴涛, 等. 注射用柴胡挥发油脂质体制备工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6):521.

[8] 陈燕军, 贾燕, 金日显, 等. 黄芩苷柔性纳米脂质体的制备[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):1.

[9] 程岚, 李学涛, 唐凌. 异长春花碱脂质体的制备及安全性评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20):241.

[10] 成琪, 吕世明, 谭艾娟, 等. 丁香酚脂质体的制备及其质量评价[J]. 中国农学通报, 2011, 27(26):79.

[11] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8):530.

[责任编辑 全燕]

and oil-water phase ratio on formulation technology. **Result:** Optimum formulation technology was as following: matrine-stearic acid (1:6), stearic acid-soybean lecithin (1:1), poloxamer concentration  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , oil phase-water phase (1:5). Prepared matrine solid lipid nanoparticles was emulsion solution with luster, showed ivory white, it may produce white flocculus after shaking, average encapsulation efficiency was 82.8%, average drug loading was 5.5%. These nanoparticles were irregular spherical or ellipsoidal with uniform distribution, average particle size was 155 nm. **Conclusion:** Optimized formulation technology was feasible and stable with good application prospects.

[ **Key words** ] matrine; solid lipid nanoparticles; formulation technology; orthogonal test; particle size; encapsulation efficiency

肝纤维化是许多肝病特别是慢性病毒性肝炎和酗酒等慢性肝损伤之后组织修复过程中的代偿反应,如果未得到有效的治疗会发展成肝硬化,严重破坏肝脏的生理功能<sup>[1]</sup>。苦参碱为豆科植物苦参的一种活性成分,具有抗纤维化作用<sup>[2]</sup>,已在治疗慢性肝炎和肝纤维化等方面得以应用<sup>[3-5]</sup>。固体脂质纳米粒(SLN)是采用单硬脂酸甘油酯、胆固醇、硬脂酸、卵磷脂等生物内源性物质为载体材料,制成的靶向药物传释载体<sup>[6-8]</sup>。本实验将苦参碱制成 SLN,以提高苦参碱的肝靶向性,减少对其他脏器的不良反应<sup>[9]</sup>。

### 1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), JY92-II 型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司), TGL-18G-C 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂), Nicomp 380zls 型激光粒度仪(美国 PPS 粒度分析仪公司), JEOL JEM-1200EX 型透射电镜(日本电子公司)。

苦参碱原料药(宁夏盐池紫荆花药业有限公司,纯度 > 98%), 单硬脂酸甘油酯、硬脂酸(长沙市有机试剂厂), 泊洛沙姆 188(德国 BASF), 大豆卵磷脂(沈阳天峰公司), 苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110805-200306), 乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 苦参碱 SLN 的制备** 采用超声分散法制备。称取处方量的硬脂酸于 75 °C 加热熔融后与苦参碱混合均匀,作为油相。取处方量泊洛沙姆 188、大豆卵磷脂加至水中溶解,搅拌分散后加热至 75 °C 作为水相。搅拌下将水相趁热注入同温度油相中,75 °C 保温搅拌 0.5 h 制得初乳剂,于 60 °C 超声(300 W)处理 10 min,每持续超声 3 s 停 3 s,将超声后液体搅拌下迅速加至 10 倍体积分散相(0 ~ 2 °C,外水相)中,继续固化搅拌 15 min,即得苦参碱 SLN 混悬液。

**2.2 包封率的测定** 采用 HPLC 测定 SLN 中苦参碱含量。

**2.2.1 色谱条件** Agilent ZORBAX NH<sub>2</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-无水乙醇-3% 磷酸(86:8:6), 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长 210 nm。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取苦参碱适量,加甲醇制成  $0.208 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 采用超速离心法。取苦参碱 SLN 混悬液 2 mL 置于离心管中,于 10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 30 min,取上清液 1 mL 用无水乙醇定容于 5 mL 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,测定游离药物浓度。另取苦参碱 SLN 混悬液 3 mL,加无水乙醇溶解破坏,定容于 10 mL 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,测定总药物浓度。

$$\text{包封率} = [(\text{混悬液总药量} - \text{游离药物量}) / \text{混悬液总药量}] \times 100\%$$

**2.3 处方工艺优化** 在预试验及查阅文献<sup>[5-6]</sup>基础上,选取苦参碱与硬脂酸的质量比、硬脂酸-大豆卵磷脂质量比、泊洛沙姆质量浓度、油-水相体积比,以包封率为考察指标,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 苦参碱固体脂质纳米粒的处方工艺正交试验因素水平

水平	A 苦参碱-硬脂酸	B 硬脂酸-大豆卵磷脂	C 泊洛沙姆 188 质量浓度 /g · L <sup>-1</sup>	D 油-水相体积比
1	1:6	1:1	9	1:5
2	1:4	1:1.5	12	1:7
3	1:2	1:2	15	1:9

由直观分析可知,各因素对处方工艺的影响顺序为 B > C > A > D。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明 B 因素对包封率的影响显著,最佳条件为 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>,即苦参碱-硬脂酸(1:6),硬脂酸-大豆卵磷脂(1:1),泊洛沙姆 188 质量浓度 12

表2 苦参碱固体脂质纳米粒的处方工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	包封率/%
1	1	1	1	1	74.32
2	1	2	2	2	45.04
3	1	3	3	3	12.39
4	2	1	2	3	78.48
5	2	2	3	1	37.79
6	2	3	1	2	14.53
7	3	1	3	2	61.46
8	3	2	1	3	30.73
9	3	3	2	1	18.44
$K_1$	131.75	214.26	119.58	130.55	
$K_2$	130.80	113.56	141.96	121.03	
$K_3$	110.63	45.36	111.64	121.60	
R	7.04	56.30	10.10	3.17	

表3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	94.86	2	47.43	4.99	>0.05
B	4 813.21	2	2 406.60	253.24	<0.05
C	164.80	2	82.40	8.67	>0.05
D(误差)	19.00	2	9.50	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

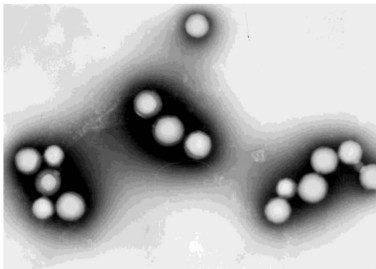
$g \cdot L^{-1}$ ,油-水相体积比(1:5)。

**2.4 验证试验** 精密称取苦参碱 50 mg,按最佳工艺制备 3 批 SLN,结果苦参碱的平均包封率 82.8%,平均载药量 5.5%。

### 2.5 SLN 的理化性质考察

**2.5.1 外观性状** 乳状溶液,呈乳白色,晃动后有的会产生白色絮状物,有光泽。

**2.5.2 SLN 的形态观察及粒径分布** 取 SLN 混悬液适量加水稀释,滴加在覆盖碳膜的铜网上,用 2% 磷钨酸钠溶液染色,在透射电镜下观察,见图 1,结果苦参碱 SLN 呈不规则类球形或椭球形,分布较均匀。取苦参碱 SLN 混悬液适当稀释,经激光粒度仪分析,结果所制得的苦参碱 SLN 的平均粒径 155 nm,粒径范围 50 ~ 260 nm,见图 2。

图1 苦参碱 SLN 透射电镜照片( $\times 60\ 000$ )

## 3 讨论

SLN 给药系统同脂质体、聚合物载体微粒、微乳

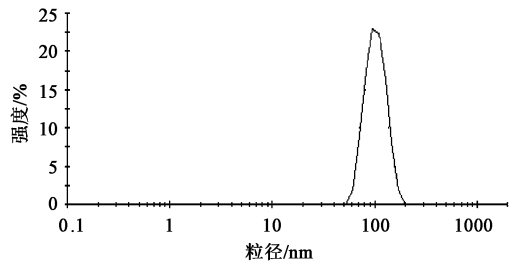


图2 苦参碱 SLN 粒径分布

等靶向制剂相比具有制备工艺简单、稳定性好、主要载体材料生物相容性良好等优点。将苦参碱制成 SLN 用于治疗肝硬化具有良好的应用前景<sup>[10]</sup>。纳米粒包封率的测定通常采用一定的手段分离游离药物,测定游离药物的含量,间接计算纳米粒的包封率。目前,常采用的将纳米粒与游离药物分离的方法有透析法、膜分离技术(膜滤、超滤)、超速离心法、凝胶柱色谱法等<sup>[11]</sup>,选择超速离心法,具有操作简单的优势。

### [参考文献]

- [1] Lotersztajn S, Julien B, Grenard P, et al. Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005, 45(1):605.
- [2] 刘爱平, 庞晓英, 顾艺难, 等. 苦参碱抗肝纤维化临床研究 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2001, 11(2):71.
- [3] 李丹, 王金平, 张楠森. 苦参碱类生物碱的研究进展及临床应用 [J]. 中草药, 1996, 27(5):308.
- [4] 焦建中, 李爱月, 吴永胜, 等. 苦参碱治疗慢性病毒性肝炎疗效观察 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2003, 13(1):46.
- [5] 甘乐文, 王国俊, 李玉莉. 苦参素对大鼠慢性肝损伤的防护作用 [J]. 中草药, 2002, 33(4):339.
- [6] Bocca C, Caputo O, Cavalli R, et al. Phagocytic uptake of fluorescent stealth and non-stealth solid lipid nanoparticles [J]. Int J Pharm, 1998, 175(2):185.
- [7] Cavalli R, Bocca C, Miglietta A, et al. Albumin adsorption on stealth and non-stealth solid lipid nanoparticles [J]. STP Pharma Sci, 1999, 9(2):183.
- [8] 厉英超, 董蕾, 贾皓, 等. 高压乳匀法制备中药固体脂质纳米粒 [J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(5):541.
- [9] 王杰, 陈大兵, 张强. 硬脂酸纳米粒混悬液表面性质的测定与体外细胞摄取 [J]. 中国药理学杂志, 2001, 36(2):102.
- [10] 胡勤, 彭芳玲, 龙荣. 固体脂质纳米粒作为药物载体的研究进展 [J]. 医学临床研究, 2008, 25(9):1701.
- [11] 梁健钦, 刘华钢. 白藜芦醇固体脂质纳米粒制备工艺及形态学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 16(14):30.

[责任编辑 全燕]