

· 药剂与炮制 ·

氧化苦参碱磷脂复合物固体脂质纳米粒冻干粉的制备与质量评价

严俊丽¹, 李婉蓉¹, 杨佳佳¹, 王益¹, 贺智勇¹, 姜丰¹, 周雪¹, 吴林菁¹, 甘诗泉¹,
王恒², 沈祥春^{1*}, 陶玲^{1*}

- (1. 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, 天然药物资源优效利用重点实验室, 贵阳 550025;
2. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州 都匀 558003)

[摘要] 目的:制备氧化苦参碱磷脂复合物固体脂质纳米粒(OMT-PC-SLN)冻干粉,并对其进行药剂学性质评价。方法:采用伪三元相图优选微乳处方;以包封率为指标,采用单因素试验优选 OMT-PC-SLN 冻干粉的处方工艺;利用透射电子显微镜(TEM)观察该制剂的外观形态,激光粒度仪测定粒径,并考察 OMT-PC-SLN 冻干粉的体外释药性能。结果:最佳处方工艺为大豆磷脂和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(Kolliphor HS 15)为乳化剂,乙醇为助乳化剂,乳化剂与助乳化剂的比例(K_m)=3:2,油相:(乳化剂+助乳化剂)=1:9,氧化苦参碱磷脂复合物-硬脂酸-大豆磷脂-Kolliphor HS 15-乙醇(30:100:180:360:360);含4%甘露醇的水 50 mL 为外水相,1 000 r·min⁻¹冰浴搅拌固化 1 h,于-20℃预冻 24 h,取出,干燥 24 h。OMT-PC-SLN 冻干粉外观呈类球形,包封率(38.09±1.24)%,平均粒径 785.5 nm,多分散系数(PDI)0.456,Zeta 电位-24.82 mV;体外释放结果表明 OMT-PC-SLN 冻干粉 2 h 时累积释放率 72.63%,12 h 累积释放率 98.42%,原料药在 2 h 的累积释放率 98.60%。结论:优选的 OMT-PC-SLN 冻干粉处方工艺稳定、重复性好;与原料药相比,OMT-PC-SLN 冻干粉体外释放较慢,具有一定的缓释效果。

[关键词] 氧化苦参碱磷脂复合物;伪三元相图法;固体脂质纳米粒;冻干粉;体外释药性能;包封率;冻干保护剂

[中图分类号] R22;R94;R28;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)07-0146-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190306

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.0909.001.html>

[网络出版时间] 2018-11-16 12:11

Preparation of Oxymatrine Phospholipid Complex Solid Lipid Nanoparticles Lyophilized Powder and Evaluation of Its Quality

YAN Jun-li¹, LI Wan-rong¹, YANG Jia-jia¹, WANG Yi¹, HE Zhi-yong¹, JIANG Feng¹, ZHOU Xue¹,
WU Lin-jing¹, GAN Shi-quan¹, WANG Heng², SHEN Xiang-chun^{1*}, TAO Ling^{1*}

- (1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Provincial Engineering Center of Efficient Utilization of Natural Medicine Resources, High Educational Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Druggability of Guizhou Province, Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicinal Resources, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

[收稿日期] 20180617(004)

[基金项目] 贵州省高层次创新型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(黔科合 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);贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2018]181)

[第一作者] 严俊丽,在读硕士,从事中药、民族药的新药研发和药物新剂型及新技术研究,E-mail:1447743893@qq.com

[通信作者] * 沈祥春,博士,教授,从事心血管药物药理、功能天然产物化学生物学研究,Tel:0851-88416149,E-mail:shenxiangchun@126.com;

* 陶玲,硕士,教授,从事中药、民族药的新药研发和药物新剂型及新技术研究,Tel:0851-88416160,E-mail:649511230@qq.com

2. Qiannan Medical College for Nationalities, Duyun 558003, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare oxymatrine phospholipid complex solid lipid nanoparticles (OMT-PC-SLN) lyophilized powder and evaluate its pharmaceutical properties. **Method:** Pseudo-ternary phase diagram was employed to optimize the formula of microemulsion; single factor experiments were adopted to optimize the formulation process of OMT-PC-SLN lyophilized powder with encapsulation efficiency as index; the morphology of this preparation was observed by transmission electron microscope (TEM). The particle size was measured by particle size analyzer and the *in vitro* release performance of OMT-PC-SLN lyophilized powder was examined. **Result:** Optimal formulation process was as following: taking soybean phospholipid and polyethylene glycol 15-hydroxystearate (Kolliphor HS 15) as the emulsifier, ethanol as co-emulsifier, ratio of emulsifier to co-emulsifier (K_m) = 3 : 2, oil phase : (emulsifier + co-emulsifier) = 1 : 9, oxymatrine phospholipid complex-stearic acid-soybean phospholipid-Kolliphor HS 15-ethanol (30 : 100 : 180 : 360 : 360); taking 50 mL of 4% mannitol solution as the external aqueous phase, ice bath stirring at $1\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ and solidifying for 1 h, precooled at $-20\ ^\circ\text{C}$ for 24 h, took out and dried for 24 h. OMT-PC-SLN lyophilized powder was spherical in appearance with encapsulation efficiency of $(38.09 \pm 1.24)\%$, average particle size of 785.5 nm, polydispersity coefficient (PDI) of 0.456 and the Zeta potential of $-24.82\ \text{mV}$. The cumulative release rates of OMT-PC-SLN lyophilized powder were 72.63% at 2 h and 98.42% at 12 h; the cumulative release rate of oxymatrine (crude drug) was 98.60% at 2 h. **Conclusion:** This optimized formulation process of OMT-PC-SLN lyophilized powder is stable with good repeatability; compared with oxymatrine, OMT-PC-SLN lyophilized powder has a certain sustained-release effect.

[Key words] oxymatrine phospholipid complex; pseudo-ternary phase diagram; solid lipid nanoparticles; lyophilized powder; *in vitro* release performance; encapsulation efficiency; lyoprotectant

固体脂质纳米粒 (SLN) 是 1990 年代初发展起来的亚微粒给药系统, 以生物相容性好、生物可降解的固态天然或合成的类脂为载体, 将药物吸附或包裹于脂质中制成的新一代纳米给药系统, 粒径在 $50 \sim 1\ 000\ \text{nm}$, 具有控制药物释放、避免药物的降解或泄漏、靶向性良好以及易于工业化生产等优点^[1-3], 适合静脉注射、口服、肺部、眼部和皮肤局部等多种途径给药, 是一种极具发展前景的新型给药系统^[4]。此外, SLN 黏附性和粒径小的特点有利于增加载药粒子在药效部位或药物吸收部位的停留时间和接触面积, 增加药物吸收。同时, SLN 还是良好的肝靶向给药系统 (HT-DDS), 可将药物有效地输送至肝脏的病变部位, 减少药物全身分布, 并减少用药剂量和给药次数、降低不良反应、提高病人顺应性。但由于 SLN 载体材料脂溶性强的特点, 传统多用于脂溶性药物的制备, 不利于进行强水溶性药物的制备。

氧化苦参碱 (OMT) 又称苦参素, 是从苦参、山豆根、苦豆子等豆科植物中提取的活性单体化合物^[5], 水溶性好、脂溶性差。多年来, OMT 已在临床被广泛用于治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎、肝纤维化和肝癌等多种肝脏疾病, 且疗效显著^[6-8]。但由于

传统的给药方式为全身分布 (局部血药浓度低、毒副作用大且不良反应多), 口服给药生物利用度低, 注射给药病人顺应性差等问题限制了 OMT 临床疗效的发挥^[9-12]。本实验拟将 OMT 与注射用大豆磷脂以一定配比制成复合物, 以减小水溶性、增加脂溶性^[13-14], 采用微乳法制备 SLN, 提高 OMT 在脂质材料中的包封率; 采用冷冻干燥技术制备 SLN 冻干粉, 提高贮存稳定性, 为水溶性药物 SLN 的制备提供一定的研究基础。

1 材料

ME104/02 型分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司], XH-C 型漩涡混合器 (金坛市白塔新宝仪器厂), UPW-UP-10 型纯水仪 (成都天莘宁科技有限公司), BT-90 型纳米激光粒度分布仪 (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), 08-2G 型恒温磁力搅拌器 (上海梅颖溥仪器仪表制造有限公司)。

氧化苦参碱 (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, 批号 PS018-0020, 纯度 > 98.5%), 硬脂酸和四氢呋喃 (广东汕头西陇化工有限公司, 批号分别为 060329,

20140922), 单硬脂酸甘油酯(国药集团化学试剂有限公司, 批号 20150313), 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(Kolliphor HS 15, 德国巴斯夫公司, 批号 25612368E0), 注射用大豆磷脂[磷脂酰胆碱(PC)质量分数 90%, 上海太伟药业有限公司, 批号 201601032], 磷酸盐缓冲液(PBS, 北京鼎国生物技术有限公司), 水为蒸馏水或高纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 采用 Ultimate® AQ-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 4.5 μm), 流动相乙腈-水-三乙胺(8:92:0.2, 用磷酸调节 pH 3.4), 检测器为可变波长扫描紫外检测器(VWD), 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。

2.1.2 OMT 对照品溶液的配制 精密称取 OMT 对照品 30.0 mg, 加水溶解并定容至 50 mL, 得 0.6 g·L⁻¹ 对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的配制 精密量取氧化苦参碱磷脂复合物固体脂质纳米粒(OMT-PC-SLN)混悬液 1 mL, 加入少量乙醇超声溶解, 加水稀释至 10 mL, 得 OMT 质量浓度为 15 mg·L⁻¹ 的供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取 OMT 对照品储备液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 得 6, 12, 24, 48, 96, 192 mg·L⁻¹ 系列 OMT 对照品溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定。以峰面积(Y)对 OMT 质量浓度(X)进行线性回归, 得回归方程 $Y = 27.777X + 36.272$ ($R^2 = 0.9999$), 线性范围 6.0 ~ 192.0 mg·L⁻¹。

2.1.5 精密密度试验 精密吸取 96 mg·L⁻¹ OMT 对照品溶液适量, 按 2.1.1 项下色谱条件连续测定 6 次, 计算 OMT 峰面积的 RSD 0.2%, 表明仪器精密密度良好。

2.1.6 重复性试验 取 OMT-PC-SLN 混悬液 1 mL, 平行 6 份, 分别用少量乙醇超声溶解后加水定容至 10 mL, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算该混悬液中 OMT 平均质量浓度 150 mg·L⁻¹, RSD 0.9%, 表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液 1 mL, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算 OMT 峰面积的 RSD 1.3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 取 OMT-PC-SLN 混悬液

1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加少量乙醇超声使溶解, 分别加入 2.1.2 项下 OMT 对照品溶液 0.2, 0.25, 0.3 mL, 加水稀释至刻度, 配制低、中、高质量浓度的样品溶液各 3 份, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算平均加样回收率分别为 99.6%, 100.2%, 101.6%, RSD 分别为 0.9%, 0.5%, 0.2%。

2.2 OMT 磷脂复合物的制备^[13-14] 称取 OMT 100 mg 与注射用大豆磷脂 300 mg 于磨口锥形瓶中, 加入四氢呋喃(THF) 20 mL, 于 40 °C 水浴条件下 1 400 r·min⁻¹ 冷凝回流磁力搅拌 1 h, 放至室温, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 收集滤液和洗液, 回收 THF, 收集滤纸上沉淀, 按公式复合率 = $(W_{总} - W_{沉}) / W_{总} \times 100\%$ 计算, 结果复合率 94%, 式中 $W_{沉}$ 为未复合 OMT 的沉淀量, $W_{总}$ 为 OMT 的投药量。

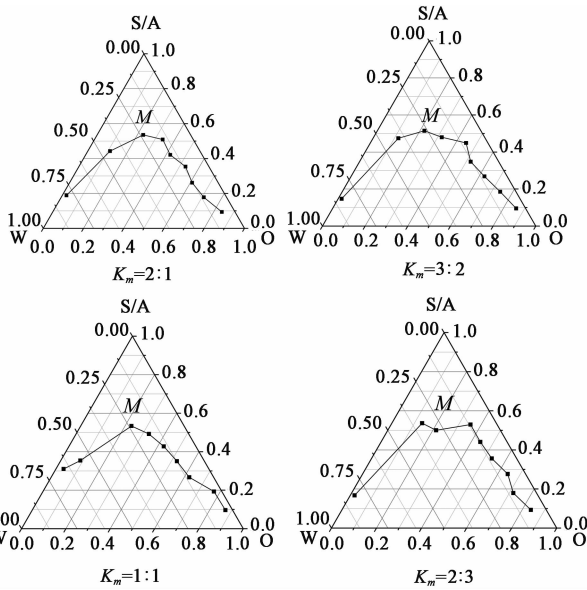
2.3 离心超滤法考察包封率 精密吸取 OMT-PC-SLN 混悬液适量, 置于 3 kDa 的超滤管内, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 得滤液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 按公式包封率 = $(W_{总} - W_{游}) / W_{总} \times 100\%$ 计算包封率, 式中 $W_{游}$ 为 OMT-PC-SLN 混悬液中游离 OMT 的质量, $W_{总}$ 为 OMT 的投药量。

2.4 OMT-PC-SLN 制备工艺考察 采用微乳法筛选 OMT-PC-SLN 处方。精密称取适量氧化苦参碱磷脂复合物(OMT-PC), 硬脂酸, 大豆磷脂, Kolliphor HS 15 和乙醇于离心管中, 65 °C 水浴加热混匀, 逐滴加入同温度的水, 涡旋, 得微乳。在 1 000 r·min⁻¹ 搅拌状态下, 恒温趁热将微乳滴入含有冻干保护剂的冰水浴中, 冷却固化 1 h, 得 OMT-PC-SLN 混悬液。将混悬液置于 -20 °C 冰箱中预冻 24 h, 取出, 干燥 24 h, 即得 OMT-PC-SLN 冻干粉。

2.4.1 脂质材料考察 根据预试验结果确定 OMT-PC 30 mg, Kolliphor HS 15 为乳化剂, 乙醇为助乳化剂, 乳化剂与助乳化剂的比例(K_m) = 3:2, 油相与(乳化剂 + 助乳化剂)的比例设定 1:9, 按 2.4 项下方法分别采用硬脂酸、单硬脂酸甘油酯制备 OMT-PC-SLN, 以包封率为评价指标, 考察脂质材料种类对包封率的影响。结果表明硬脂酸为脂质材料时, 包封率 35.64%; 单硬脂酸甘油酯为脂质材料时, 包封率 14.56%。故选择硬脂酸为脂质材料。

2.4.2 伪三元相图的绘制 根据 2.4.1 项下考察结果, 确定 OMT-PC 用量 30 mg, Kolliphor HS 15 为乳化剂, 硬脂酸为油相, 乙醇为助乳化剂; 设置 K_m 分别为 2:1, 3:2, 1:1, 2:3, 油相与乳化剂 + 助乳化剂分别按照 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 的比例混合(固定体系质量 1 g), 65 °C 涡旋混

匀,逐滴加入同温的水,取能形成均一、微透明溶液的处方,记录溶液由澄清变浑浊,再由浑浊变澄清或带淡蓝乳光时加入的水质量,以乳化剂/助乳化剂(S/A),油相(O)和水相(W)为顶点,绘制伪三元相图。结果表明不同的 K_m 下成乳区域面积区别不大,当 $K_m = 3 : 2$,油相与乳化剂 + 助乳化剂比例为 $1 : 9$ 时,制得的纳米粒粒径 $< 1 \mu\text{m}$ 且范围较窄,故选择 K_m 最佳比例为 $3 : 2$,油相:(乳化剂 + 助乳化剂) = $1 : 9$ 。见图 1。



M. 微乳区域面积(图 2~4 同)

图 1 OMT-PC 微乳的 K_m 以及油相与乳化剂 + 助乳化剂的比例考察

Fig.1 Investigation of ratio between oil phase and emulsifier/co-emulsifier of OMT-PC microemulsion with different K_m

2.4.3 乳化剂考察^[15] 固定 OMT-PC 为 30 mg,硬脂酸为油相,乙醇为助乳化剂, $K_m = 3 : 2$,分别进行大豆磷脂和 Kolliphor HS 15 为乳化剂时成乳区域面积考察。结果表明大豆磷脂为乳化剂时成乳区域面积较 Kolliphor HS 15 的大,且随着乳化剂的比例增大,体系黏度较大,无法形成流动性好的微乳液,不易分散均匀,故不单独使用大豆磷脂作为乳化剂。见图 2。

2.4.4 混合乳化剂考察 固定 OMT-PC 用量 30 mg,硬脂酸为油相,乙醇为助乳化剂,大豆磷脂与 Kolliphor HS 15 为混合乳化剂,大豆磷脂与 Kolliphor HS 15 的比例分别为 $2 : 1, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3$ 。结果表明随着 Kolliphor HS 15 用量的增加,成乳区域面积增大;且大豆磷脂与 Kolliphor HS 15 比例为 $1 : 2, 1 : 3$ 时,微乳区域面积无显著区别,故选择大豆

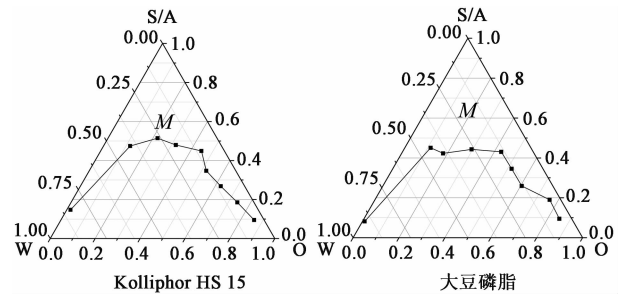


图 2 OMT-PC 微乳的单一乳化剂考察

Fig.2 Investigation of single emulsifier of OMT-PC microemulsion

磷脂-Kolliphor HS 15($1 : 2$)为混合乳化剂。见图 3。

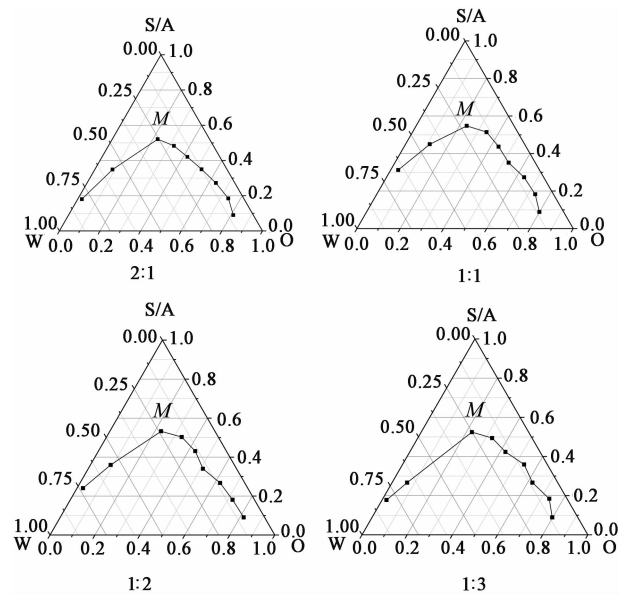


图 3 OMT-PC 微乳中大豆磷脂与 Kolliphor HS 15 用量的比例考察

Fig.3 Investigation of proportion of mixed emulsifier of OMT-PC microemulsion

2.4.5 助乳化剂考察 固定 OMT-PC 用量 30 mg,硬脂酸为油相,大豆磷脂-Kolliphor HS 15($1 : 2$)为混合乳化剂,分别考察乙醇、异丙醇及 1,2-丙二醇为助乳化剂对成乳区域面积的影响。结果表明助乳化剂为 1,2-丙二醇时成乳区域面积最小,异丙醇与乙醇成乳区域面积差别不大,考虑到异丙醇毒性较大,故选择乙醇为助乳化剂。见图 4。

2.4.6 微乳与水相的体积比考察 根据上述考察结果,固定 $K_m = 3 : 2$,油相:(乳化剂 + 助乳化剂) = $1 : 9$,氧化苦参碱磷脂复合物-硬脂酸-大豆磷脂-Kolliphor HS 15-乙醇($30 : 100 : 180 : 360 : 360$),以包封率为考察指标,分别设置微乳与水相体积比为 $1 : 5, 1 : 10, 1 : 15, 1 : 20, 1 : 25, 1 : 30, 1 : 35$,按 2.4 项下方法制备 OMT-PC-SLN。结果制备的 OMT-PC-

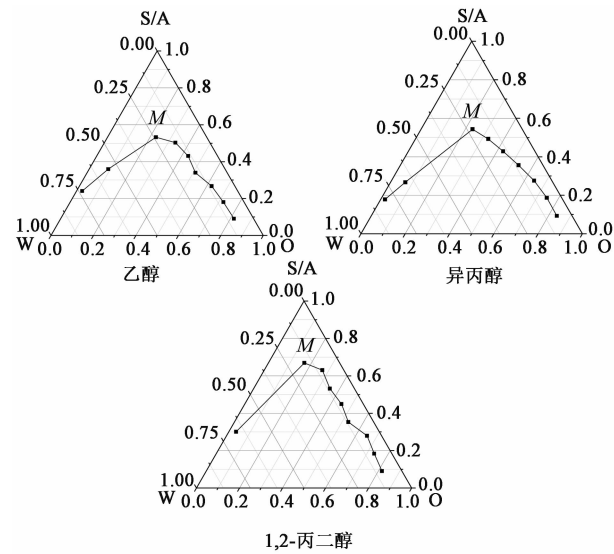


图 4 OMT-PC 微乳的助乳化剂考察

Fig. 4 Investigation of co-emulsifier of OMT-PC microemulsion

SLN 包封率分别为 35.65%, 38.44%, 28.99%, 27.74%, 26.80%, 26.01%, 24.50%; 故选择微乳与水相的体积比 1:10。

2.4.7 固化时间考察 根据上述考察结果, 固定 $K_m = 3:2$, 油相:(乳化剂+助乳化剂)=1:9, 氧化苦参碱磷脂复合物-硬脂酸-大豆磷脂-Kolliphor HS 15-乙醇(30:100:180:360:360), 以包封率为考察指标, 分别设置固化时间为 45, 60, 90, 120 min, 按 2.4 项下方法制备 OMT-PC-SLN。结果制备的 OMT-PC-

SLN 包封率分别 31.61%, 38.44%, 36.82%, 36.02%; 故选择固化时间 60 min。

2.4.8 验证试验 根据上述考察结果, 确定最佳处方及工艺为大豆磷脂-Kolliphor HS 15(1:2)为乳化剂, 乙醇为助乳化剂, $K_m = 3:2$, 油相:(乳化剂+助乳化剂)=1:9, 氧化苦参碱磷脂复合物-硬脂酸-大豆磷脂-Kolliphor HS 15-乙醇(30:100:180:360:360), 外水相为含有冻干保护剂的水 50 mL, $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 冰浴搅拌固化 1 h, 于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 预冻 24 h, 取出, 干燥 24 h。同法制备 3 批 OMT-PC-SLN, 计算包封率(38.09 ± 1.24)%, 表明该工艺稳定。

2.5 OMT-PC-SLN 冻干粉的制备 分别以蔗糖、葡萄糖、甘露醇作为冻干保护剂, 按 2.4 项下方法制备 OMT-PC-SLN 冻干粉。以纳米粒冻干的外观、色泽、再分散性为评价指标, 各指标以 10 分制进行评价。分别考察不同质量分数蔗糖、葡萄糖、甘露醇作为保护剂时对冻干样品质量的影响, 确定冻干保护剂的处方。外观以可以维持原液体积、不塌陷、不皱缩为最佳, 色泽以均匀、质地细腻、无花斑为最佳; 再分散性考察时, 取各冻干产品, 加一定量水振摇后能快速并且完全分散为最佳; 粒径考察时, 取各冻干产品加一定量水溶解分散后测定粒径, 粒径增加范围最小为最佳。见表 1, 2。结果发现处方 8 和 9 的评分最高, 考虑到使用的辅料尽可能少, 故选择 4% 甘露醇为冻干保护剂。

表 1 OMT-PC-SLN 冻干粉的评分标准

Table 1 Scoring criteria of OMT-PC-SLN lyophilized powder

分数/分	外观	色泽	再分散性	粒径/nm
0~2	萎缩, 塌陷(卅)	上下色差明显(卅)	>90 s	>800
3~5	萎缩, 塌陷(++)	上下色差明显(++)	60~90 s	500~800
6~8	萎缩, 塌陷(+)	上下色差明显(+)	30~60 s	200~500
9~10	饱满, 能较好维持原液体积	均匀无色差	<30 s	<200

2.6 OMT-PC-SLN 冻干粉药剂学性质评价

2.6.1 粒径分布及 Zeta 电位 取少量 OMT-PC-SLN 冻干粉, 用水复溶后检测其粒径分布和 Zeta 电位。结果 OMT-PC-SLN 冻干粉平均粒径 785.5 nm, 多分散系数(PDI)0.456, Zeta 电位 -24.82 mV 。

2.6.2 外观形态 取 OMT-PC-SLN 冻干粉, 加适量水复溶并稀释后, 将覆盖碳膜的铜网用纳米粒溶液完全润湿, 滤纸吸去多余的液体, 用 2% 磷钨酸钠溶液染色, 干燥, 采用透射电子显微镜(TEM)观察 OMT-PC-SLN 的形态并拍摄照片。结果发现 OMT-

PC-SLN 呈类球形, 粒径分布较均匀。见图 5。

2.7 OMT-PC-SLN 冻干粉的体外释药性能考察 取适量 OMT-PC-SLN 冻干粉置于预处理好的透析袋中, 加入 PBS(pH 7.4) 2 mL, 封口, 检漏, 置于装有 PBS(98 mL) 的具塞锥形瓶中, (37 ± 0.5) $^\circ\text{C}$ 恒温水浴, $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速振摇, 分别于 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360, 480, 600, 720 min 时间点吸取释放介质 1 mL(同时补加等量、同温的释放介质), 经孔径为 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算药物的累积释放率, 绘制体外

表 2 OMT-PC-SLN 冻干粉的保护剂考察

Table 2 Investigation of lyoprotectant of OMT-PC-SLN lyophilized powder

No.	质量浓度/%			得分/分				总分/分
	蔗糖	葡萄糖	甘露醇	外观	色泽	再分散性	粒径	
1	2			2	4	1	1	8
2	4			3	4	1	3	11
3	6			3	5	1	3	12
4		2		5	4	1	5	15
5		4		5	5	1	6	17
6		6		6	5	1	6	18
7			2	8	9	7	7	31
8			4	9	9	8	9	35
9			6	9	9	8	9	35

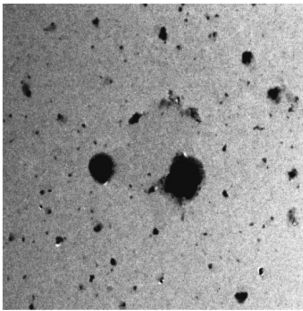


图 5 OMT-PC-SLN 冻干粉的 TEM (×6 万)

Fig. 5 TEM of OMT-PC-SLN lyophilized powder (×60 000)

累积释放曲线。另取与 OMT-PC-SLN 冻干粉中药物含量相当的 OMT PBS 溶液 2 mL, 置于透析袋内作为对照, 同上方法进行释放度考察。采用零级动力学, 一级动力学, Higuchi, Riger-Peppas, Weibull 模型分别对 OMT-PC-SLN 冻干粉的体外累积释放曲线进行拟合。结果发现在 2 h 内, OMT 原料药与 OMT-PC-SLN 冻干粉分别释放了药物的 98.60% 和 72.63%。OMT-PC-SLN 冻干粉于 12 h 时药物累积释放率 98.42%。见图 6。复相关系数 (R^2) 越接近 1, 拟合效果越好。模型拟合结果确定 OMT-PC-SLN 的体外释药过程符合一级动力学模型, 表明药物以扩散为主的方式从纳米粒中释放。见表 3。

3 讨论

SLN 制备方法主要有高速剪切法、高压乳匀法、溶剂乳化法、微乳法^[16-17]。其中高速剪切法制备 SLN 粒径范围较大, 通常有较多 > 5 μm 的大微粒; 高压乳匀法可以制备得到较好粒径和粒径范围的纳米粒, 但仪器设备操作复杂; 溶剂乳化法制备 SLN 需使用大量有机溶剂, 即使蒸发除有机溶剂, 也会有

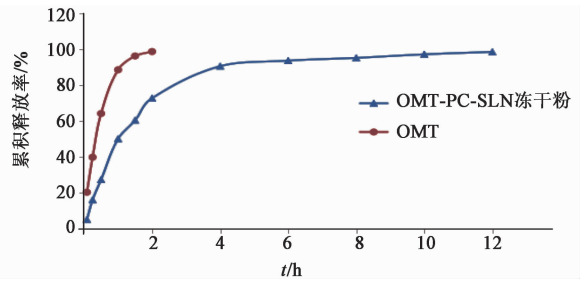


图 6 OMT 原料药与 OMT-PC-SLN 冻干粉的体外累积释放曲线
Fig. 6 *In vitro* cumulative release curves of OMT and OMT-PC-SLN lyophilized powder

表 3 OMT-PC-SLN 冻干粉在 PBS 中的体外释放模型拟合

Table 3 Fitting of *in vitro* release model of OMT-PC-SLN lyophilized powder in PBS

释放模型	拟合方程	R^2
零级动力学	$Q = 0.068t + 0.3646$	0.6850
一级动力学	$\ln(1 - Q) = 0.3351t - 0.3637$	0.9554
Higuchi	$Q = 0.291t_{1/2} + 0.1383$	0.8586
Riger-Peppas	$\ln Q = 0.558 \ln t - 1.0499$	0.9003
Weibull	$\ln[1/(1 - Q)] = 0.8401 \ln t + 1.2462$	0.8710

少量残留。本研究通过伪三元相图对构建纳米粒载体的脂质材料、乳化剂、助乳化剂处方进行考察, 采用微乳法制备 OMT-PC-SLN, 具有无需有机溶剂、设备简单、操作简便易行等优点。

由于相似相容原理, 脂质材料对水溶性药物亲和力和差、包封率低。目前, 有关水溶性药物的 SLN 制备报道较少, 提高包封率问题是此类制剂制备的难点之一。在现有报道中, 已有缓释胶囊、缓释片等剂型, 但纳米级别的缓释及靶向制剂较少。本研究将水溶性药物 OMT 制备为磷脂复合物, 在提高脂溶性的基础上, 以硬脂酸为脂质载体材料进行 SLN 的制备, 将磷脂复合物包裹于其中, 其包封率达 38.09%, 可为水溶性药物的 SLN 制备提供参考。

本研究对 OMT-PC-SLN 的处方及制备工艺参数进行了系统优化。经微乳法制备药物浓度较高的微乳, 将其于外水相中固化, 在长时间固化搅拌下, 物理作用力使得磷脂复合物分子解离, 进一步使药物分子被动向外水相中迁移, 这可能是导致制得的 SLN 包封率较其他纳米制剂低的原因。此外, 由于水相的扩大, 表面活性剂浓度降低, 包封率及粒径稳定性得不到保障; 将制备的 SLN 溶液置于 4 °C 和室温放置, 第 3 天开始, 平均粒径增大至微米级别, 可能与 SLN 微粒聚集和沉降有关^[18-20]。分别采用不同浓度的泊洛沙姆 188 和甘油加入外水相制备

SLN, 结果所得纳米粒粒径分布不均一, 出现较大比例微米级别的微粒, 且随着表面活性剂浓度的增大, 外水相黏度越大, 液滴越不易被剪切分散, 进而导致粒径增大。因此, 本研究选择水为外水相进行 SLN 冻干粉的制备。以冻干粉的外观、色泽、再分散性、粒径为评价指标考察冻干保护剂, 结果表明甘露醇为冻干保护剂时, 制得的冻干粉用水分散后, 其外观为淡蓝色半透明液体, 粒径无明显改变, 较稳定。制备 SLN 冻干粉对于提高易水解药物的稳定性、回避胶态 SLN 贮存过程中药物向外水相的释放、获得长期的物理和化学稳定性有一定的参考意义。

[参考文献]

[1] Rodenak-Kladniew B, Islan G A, de Bravo M G, et al. Design, characterization and *in vitro* evaluation of linalool-loaded solid lipid nanoparticles as potent tool in cancer therapy[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 154:123-132.

[2] 夏爱晓, 宋倩倩, 孙渊. 固体脂质纳米粒制备及应用研究进展[J]. *药学实践杂志*, 2012, 30(5):331-333.

[3] 朴林梅, 金勇, 崔艳琳, 等. 月见草油固体脂质纳米粒的制备及质量评价[J]. *中药材*, 2015, 38(6):1290-1294.

[4] 吕佳, 刘冰, 张振秋, 等. 苦参碱固体脂质纳米粒的制备[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(19):61-63.

[5] 石磊, 史丽娟. 中药单体-氧化苦参碱药理作用研究新进展[J]. *山西医药杂志*, 2015, 44(2):123-126.

[6] 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, 16(2):448-451.

[7] HUANG L H, ZHONG Y M, XIONG X H, et al. The disposition of oxymatrine in the vascularly perfused rat intestine-liver preparation and its metabolism in rat liver microsomes[J]. *J Pharm Sci*, 2016, 105(2):897-903.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 付凌云, 黄海烽, 徐旖旎, 等. 氧化苦参碱抑制 p38MAPK 磷酸化改善醛固酮诱导心肌成纤维细胞增殖[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(22):103-107.

[11] 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.

[12] 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, 39(13):1002-1003.

[13] 游荣辉, 王陆军, 丛龙波, 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):191-194.

[14] 袁海龙, 杨明, 游荣辉, 等. 氧化苦参碱磷脂复合物的制备、评价及药代动力学研究(英文)[C]//世界中医药学会联合会. 第二届中药现代化新剂型新技术国际学术会议论文集:2006 年卷. 北京:中国学术期刊(光盘版)电子杂志社, 2006:288-298.

[15] 张蕾, 訾鹏, 高洁, 等. 非离子型表面活性剂 HS 15 在药剂中的研究进展[J]. *药学进展*, 2015, 39(5):370-375.

[16] 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):45-48.

[17] 李楠, 李锡晶, 王倩. 微乳法制备姜黄素固体脂质纳米粒[J]. *中国药房*, 2015, 26(19):2698-2702.

[18] 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*, 2010, 16(14):28-30.

[19] 殷润婷, 杨阳, 张婕, 等. 固体脂质纳米粒的制备及在治疗中的应用研究[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(36):7182-7185.

[20] 陆云华, 曹丽萍, 李茜, 等. 乌索酸固体脂质纳米粒的制备及其抗肿瘤活性考察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(19):1-5.

[责任编辑 刘德文]