

苦参碱固体脂质纳米粒的制备和处方优化

李莹莹, 孙冰冰, 张廷廷, 李松涛, 赵红玲, 王汝兴*
(承德医学院中药研究所, 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 制备苦参碱固体脂质纳米粒, 并进行处方优化。**方法** 选择硬脂酸作为固体脂质, 吐温-80 作为乳化剂, 高压均质法制备苦参碱固体脂质纳米粒。以吐温-80 用量、均质压力、药脂比为影响因素, 包封率为评价指标, 正交试验优化制备工艺。**结果** 最佳处方为吐温-80 用量 0.3 g, 均质压力 90 MPa, 药脂比 1 : 5, 包封率 (94.15±1.44)%。**结论** 该方法简便可靠, 可用于制备苦参碱固体脂质纳米粒。
关键词: 苦参碱; 固体脂质纳米粒; 制备; 处方; 高压均质法; 正交试验
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)01-0012-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.003

Preparation and formulation optimization of matrine solid lipid nanoparticles

LI Ying-ying, SUN Bing-bing, ZHANG Ting-ting, LI Song-tao, ZHAO Hong-ling, WANG Ru-xing*
(Hebei Provincial Key Laboratory for Research and Development of Chinese Materia Medica; Institute for Chinese Materia Medica, Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

ABSTRACT: AIM To prepare matrine solid lipid nanoparticles and to make formulation optimization. **METHODS** Taking stearic acid as solid lipid and Tween-80 as emulsifier, the solid lipid nanoparticles were prepared by high-pressure homogenization method. With Tween-80 consumption, homogenization pressure and drug-lipid ratio as influencing factors, encapsulation efficiency as an evaluation index, the preparation process was optimized by orthogonal test. **RESULTS** The optimal formulation was determined to be 0.3 g for Tween-80 consumption, 90 MPa for homogenization pressure, and 1 : 5 for drug-lipid ratio, the encapsulation efficiency was (94.15±1.44)% . **CONCLUSION** This simple and reliable method can be used for the preparation of matrine solid lipid nanoparticles.
KEY WORDS: matrine; solid lipid nanoparticles; preparation; formulation; high-pressure homogenization method; orthogonal test

苦参为我国传统中药材, 其主要化学成分为苦参碱, 具有抗肿瘤、强心、抗炎、抗菌、免疫抑制等多种药理作用^[1]。目前, 临床上主要有栓剂、肠溶片、注射剂、胶囊剂等传统剂型^[2]。
固体脂质纳米粒是以毒性低、生物相容性好、稳定性高、以生物可降解的固态天然或合成类脂为载体, 与表面活性剂共同构成不规则骨架, 将药物

吸附或包裹于其中而制成的新型纳米粒给药系统^[3-4]。纳米粒是一种在室温及体温下为固态的胶状微粒, 平均粒径 50~1 000 nm, 可控制药物释放、靶向传递, 适合多种给药途径^[5-7], 其所含的亲脂性材料使药物包裹于脂质结构中, 可提高包封率和细胞透过率, 从而增加细胞内药物浓度^[8-9], 制备方法有高压均质法、微乳法、溶剂蒸发法、乳

收稿日期: 2019-08-20
基金项目: 河北省自然科学基金项目 (H2017406022); 河北省高等学校科学技术研究重点项目 (ZD2017003); 河北省高校重点学科建设项目 (冀教高 [2013] 4); 承德医学院高层次人才科研启动基金 (201705)
作者简介: 李莹莹 (1996—), 女, 硕士生, 研究方向为药物新剂型。Tel: 15231295199
* 通信作者: 王汝兴 (1973—), 男 (回族), 博士, 副教授, 研究方向为药物新剂型。Tel: (0314) 2290629, E-mail: wangru1973@sina.com

化蒸发-低温固化法、熔融超声法、高剪切乳化超声法、溶剂注射法等^[10]，其中超声分散法制备苦参碱纳米粒时操作简单，易于控制，但所得纳米粒稳定性较差，振荡后会产生白色絮状物^[11]；乳化蒸发-低温固化法制备时虽然稳定性较好，但存在引入毒性有机溶剂、包封率不高等问题^[12]。因此，本实验采用高压均质法制备苦参碱固体脂质纳米粒，并通过正交试验优化其处方，为该成分临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 JA2003 电子天平（上海精密科学仪器有限公司）；JY92-II N 超声波细胞粉碎机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；FSH-2 高速分散均质机（常州市伟嘉仪器制造有限公司）；GT16-3 高速离心机（北京时代北利离心机有限公司）；ZEN3690 激光粒度仪（英国马尔文公司）；Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；LGJ-22D 冷冻干燥机（北京四环科学仪器厂有限公司）；AH-2010 高压均质机（ATS 工业系统有限公司）。

1.2 试剂与药物 苦参碱对照品、原料药（批号 17061508）（成都普菲德生物技术有限公司）。吐温-80（天津市化学试剂批发公司）；硬脂酸（天津市东丽区天大化学试剂厂）。其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苦参碱含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm)；流动相乙腈-磷酸二氢钾（6：94）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 210 nm；进样量 10 μL。

2.1.2 线性关系考察 精密称取苦参碱对照品 3.0 mg，以“2.1.1”项下流动相定容于 10 mL 量瓶中，得 300.0 mg/mL 贮备液，流动相分别稀释至 6.25、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 μg/mL，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标（Y），溶液质量浓度为横坐标（X）进行回归，得方程为 $Y = 16.17X - 14.531$ ($r = 0.9999$)，在 6.25~200.0 mg/mL 范围内线性关系良好。色谱图见图 1。

2.1.3 精密度试验 取 25.0、50.0、100.0 μg/mL 对照品溶液，每天在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，考察日内精密度；连续测定 3 d，每天 1 次，考察日间精密度，测得两者 RSD 分别为

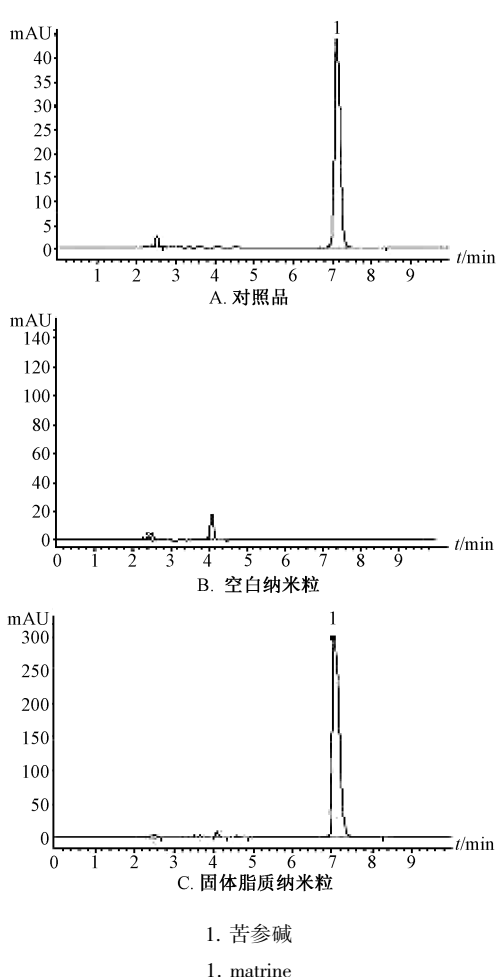


图 1 苦参碱 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of matrine

0.14%、0.17%，表明该方法精密度良好。

2.1.4 加样回收率试验 精密量取 208.0 μg/mL 对照品溶液 0.6、0.75、0.9 mL，各 3 份，置于 10 mL 量瓶中，加入 1 mL 空白纳米粒溶液，流动相定容至刻度，得到 12.48、15.60、18.72 μg/mL 溶液，各 3 份，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，苦参碱平均加样回收率为 101.06%，RSD 为 0.01%。

2.2 包封率测定 精密吸取固体脂质纳米粒混悬液 800 μL，置于超滤离心管中，10 000 r/min 离心 30 min，取上清液 20 μL，流动相定容至 2 mL，0.45 μm 微孔滤膜过滤，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算游离药量 $W_{游离}$ 。另精密吸取 0.5 mL，乙腈破乳后定容至 50 mL 量瓶中，0.45 μm 微孔滤膜过滤，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算总药物量 $W_{总}$ ，计算包封率，公式为包封率 = $[(W_{总} - W_{游离}) / W_{总}] \times 100\%$ 。

2.3 苦参碱固体脂质纳米粒制备 精密称取 1.0 g

硬脂酸、0.30 g 吐温-80，80 ℃ 下加热熔融作为油相；取纯化水适量，加热至 85 ℃ 作为水相。精密称取苦参碱 0.2 g，超声溶于水相中，1 300 r/min 搅拌下将水相迅速加到油相中，继续搅拌 10 min，形成初乳，12 000 r/min 下高速分散 5 min，高压均质机在 90 MPa 压力下作用 40 个循环，冰浴过夜，即得。

2.4 粒径、Zeta 电位测定^[13] 称取适量苦参碱固体脂质纳米粒，室温下纯水稀释，探头超声处理后激光粒度仪测定其粒径、PDI 和 Zeta 电位。结果，三者分别为 90.41 nm、0.303、-24 mV。

2.5 正交试验 根据预试验和单因素试验结果，以吐温-80 用量（A）、均质压力（B）、药脂比（C）为影响因素，包封率为评价指标，采用 L₉(3⁴) 正交设计表安排试验。因素水平见表 1，结果见表 2，方差分析见表 3。

表 1 因素水平
Tab. 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 吐温-80/g	B 均质压力/mPa	C 药脂比
1	0.1	80	1 : 3
2	0.2	90	1 : 5
3	0.3	100	1 : 7

表 2 试验设计与结果
Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A	B	C	D(误差)	包封率/%
1	1	1	1	1	73.13
2	1	2	2	2	89.68
3	1	3	3	3	79.61
4	2	1	2	3	81.71
5	2	2	3	1	75.66
6	2	3	1	2	81.07
7	3	1	3	2	91.98
8	3	2	1	3	83.71
9	3	3	2	1	86.07
k ₁	80.81	82.27	79.30	78.29	—
k ₂	79.48	83.02	85.82	87.58	—
k ₃	87.25	82.25	82.42	81.68	—
k _R	6.45	0.77	6.52	9.29	—

表 3 方差分析
Tab. 3 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	104.41	2	52.20	86.12	<0.05
B	63.29	2	31.65	52.21	<0.05
C	132.49	2	66.25	109.28	<0.01
D(误差)	1.21	2	0.61	—	—

注：F_{0.05(2,2)} = 19.00，F_{0.01(2,2)} = 99.0。

由表可知，各因素对包封率均有显著影响

(*P*<0.05，*P*<0.01)，影响程度依次为 *C*>*A*>*B*；最优处方为 A₃B₂C₂，即吐温-80 用量 0.3 g，均质压力 90 MPa，药脂比 1 : 5。

按优化处方制备 3 批固体脂质纳米粒，测得包封率分别为 95.02%、94.94%、92.49%，平均 (94.15±1.44)%，表明工艺稳定可行。

3 讨论与结论

高压均质法是超微细化液体物料或以液体为载体的一种新技术，它可使物料细化为微米级至纳米级^[14]，在制药工业中广泛用于制备脂质体、纳米粒、微乳等剂型，其核心应用设备为高压均质机。一般来说，高压均质机均质压力越大，均质循环次数越多，则原料粒径越小。

课题组前期预实验发现，硬脂酸固体脂质在高压均质机内进行均质时，没有立即堵塞高压均质机管道，故可进行操作。本实验对吐温-80 用量、剪切机转速、均质压力、均质次数、温度、溶剂用量等因素进行了考察，发现在使用高压均质机前以热水预热时，所得纳米粒的粒径和 PDI 较小，而在常温下恰好相反；考察药脂比时发现，热水预热后高压均质机所得纳米粒的粒径均小于 100 nm，表明热匀法制备效果更好。

在单因素试验中以粒径和 Zeta 电位为评价指标，考察处方和工艺对纳米粒的影响，然后在此基础上采用正交试验优化最终处方。结果，优化处方所得纳米粒的粒径和 Zeta 电位变化不大，而处方变化对包封率影响较大，其原因可能是由于这会改变纳米粒与苦参碱的亲合力，进而影响了对该成分的包封效果，而高压均质机具有较强的机械力，可消除正交试验范围内的粒径变化。因此，在正交试验中只选择包封率作为评价指标，最终优化处方也印证了该结果。

与以往文献报道比较，虽然本实验也制备了苦参碱固体脂质纳米粒，但由于采用高压均质法，故粒径较小，分布较均匀，包封率较高，同时避免了向体系内加入毒性较大的有机溶剂，以及因超声法分散时间过长而引起的金属污染等问题，适合工业化生产，具有一定应用前景。

参考文献：

[1] Silva D P, Florentino I F, Oliveira L P, et al. Anti-nociceptive and anti-inflammaory activities of 4- [(1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl) methyl] 1-piperazine carboxylic acid ethyl ester: A new piperazine derivative[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 137: 86-92.

[2]

苏婷婷, 傅春升, 张学顺. 苦参碱制剂的研究进展[J]. 中南药学, 2016, 14(3): 295-299.

[3]

Kumar M, Kakkar V, Mishra A K, *et al.* Intranasal delivery of streptomycin sulfate (STRS) loaded solid lipid nanoparticles to brain and blood[J]. *Int J Pharm*, 2014, 461(1-2): 223-233.

[4]

Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(2-3): 165-196.

[5]

Ying X Y, Hu F Q, Yuan H. Preparation and physicochemical properties of carbamazepine loaded stearic acid solid lipid nanoparticles[J]. *Chin J Pharm*, 2002, 33(11): 543-546.

[6]

Rostami E, Kashanian S, Azandaryani A H, *et al.* Drug targeting using solid lipid nanoparticles[J]. *Chem Phys Lipids*, 2014, 181: 56-61.

[7]

Baek J S, Cho C W. Controlled release and reversal of multidrug resistance by coencapsulation of paclitaxel and verapamil in solid lipid nanoparticles[J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(2): 617-624.

[8]

邓向涛, 阮晓东, 郝海军. 马钱子碱固体脂质纳米粒凝胶骨架缓释片的研制[J]. 中草药, 2018, 49(22): 5298-5304.

[9]

谭梅娥, 姜 雯, 曾 诚, 等. 田蓟苷固体脂质纳米粒的优化及其在 Caco-2 细胞模型中的吸收和转运研究[J]. 中草药, 2017, 48(10): 2051-2060.

[10]

宋春晓, 何书莲, 曹春风, 等. 固体脂质纳米粒和纳米结构脂质载体在药物传递中的研究进展[J]. 药学研究, 2016, 35(4): 234-236; 245.

[11]

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.

[12]

陈江飞, 张典瑞, 张学顺, 等. 苦参碱固体脂质纳米粒的试制及物相分析[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(4): 214-217.

[13]

王文喜, 代 凯, 唐 岚. 八聚精氨酸修饰的载 ASODN 脂质体的构建及体外评价[J]. 浙江工业大学学报, 2014, 42(3): 334-337.

[14]

艾德平. 高压均质技术在化工行业中的应用[J]. 江西化工, 2008(4): 194-196.

四物汤防潮颗粒的制备

梁春霞¹, 王爱潮², 薛志峰¹, 张月林¹, 祁东利^{1*}, 刘志东^{1*}

(1. 天津中医药大学, 现代中药发现与制剂技术教育部工程中心, 天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 301617; 2. 金耀集团天津药业研究院有限公司, 天津 300384)

摘要: **目的** 制备四物汤防潮颗粒。**方法** 以外观、溶化性、吸湿性为评价指标, 乳糖、甘露醇、糊精为辅料, 流化床一步制粒技术制备防潮颗粒, 流化床底喷包衣技术进行包衣。然后, 考察 3 种包衣材料 (HPMC-E5、OPADRY amb、Kollicoat IR) 对吸湿性的影响, 扫描电子显微镜对包衣前后形态变化进行表征。**结果** 乳糖、甘露醇、Kollicoat IR 防潮效果较好, 最佳药辅比为 1 : 2 和 1 : 1.5, 所得颗粒均匀圆整。包衣增重为 8%、10%、12% 时吸湿率显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 以 12% 更明显。包衣后, 颗粒表面更光滑, 空隙减少。**结论** 该方法可明显改善四物汤颗粒防潮性能, 提高其质量。

关键词: 四物汤; 防潮颗粒; 制备; 流化床一步制粒技术; 流化床底喷包衣技术

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)01-0015-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.004

Preparation of moisture-proof granules for Siwu Decoction

LIANG Chun-xia¹, WANG Ai-chao², XUE Zhi-feng¹, ZHANG Yue-lin¹, QI Dong-li^{1*}, LIU Zhi-dong^{1*}

(1. Ministry of Education Engineering Center for Modern Chinese Medicine Discovery and Preparation Technique, Tianjin Municipal Key Laboratory for

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 天津市高等学校科技发展基金计划项目一般项目 (2017KJ134)

作者简介: 梁春霞 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药制剂研究。Tel: 18222185271, E-mail: LCX199505@163.com

* 通信作者: 祁东利 (1983—), 男, 博士, 助理研究员, 从事中药制剂和中药新药开发研究。Tel: (022) 59791991, E-mail: qidongli@tjutcm.edu.cn

刘志东 (1978—), 男, 博士, 研究员, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: (022) 59596170, E-mail: liuzhidong@tjutcm.edu.cn