

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，临幊上主要有栓剂、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 苦参碱含有量测定

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 °C；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

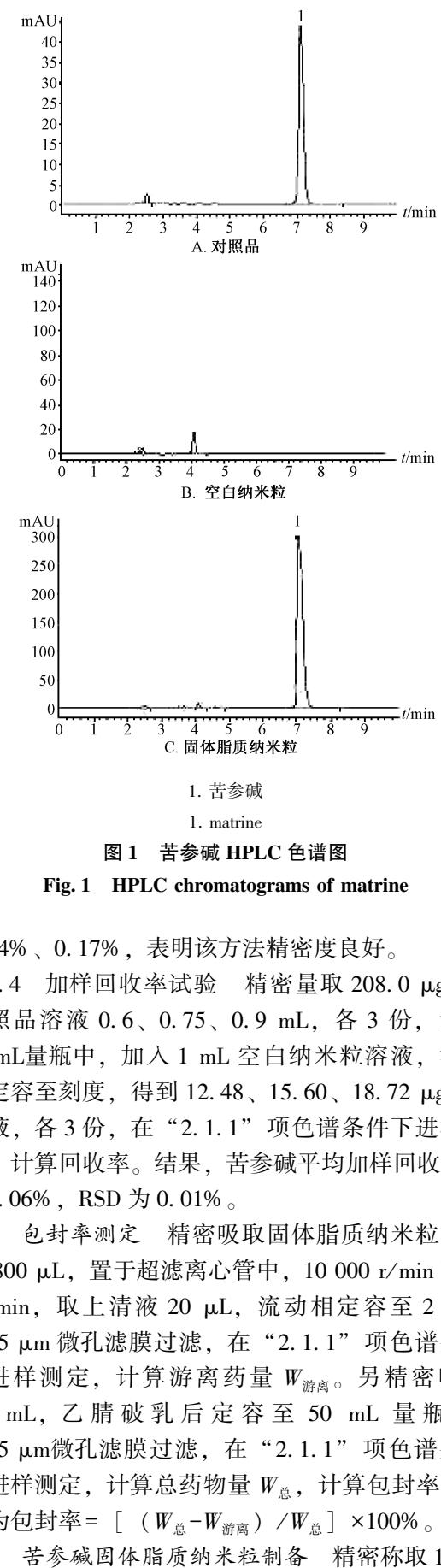


图 1 苦参碱 HPLC 色谱图

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 $W_{\text{游离}}$ 。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 $W_{\text{总}}$ ，计算包封率，公式为包封率 = $\left[(W_{\text{总}} - W_{\text{游离}}) / W_{\text{总}} \right] \times 100\%$ 。

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 °C下加热熔融作为油相; 取纯化水适量, 加热至 85 °C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 $A_3B_2C_2$, 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和力, 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-inflammatory activities of 4-[(1-phenyl-1H-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. 田藜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, 曹春凤, 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