

## 雷公藤内酯醇纳米脂质体的处方及制备工艺研究

阙慧卿<sup>1</sup>, 彭华毅<sup>1,2</sup>, 钱丽萍<sup>1</sup>, 郭舜民<sup>1</sup>, 林 绥<sup>1\*</sup>

1. 福建省医学科学研究所, 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001

2. 福建出入境检验检疫局技术中心, 福建 福州 350003

**摘要:** 目的 优化雷公藤内酯醇纳米脂质体 (TP-NLS) 的处方及制备工艺。方法 采用高压均质法制备 TP-NLS。依据均匀设计  $U_7(7^3)$  实验方法, 以两种脂类基质 a 与 b 的配比 (A)、泊洛沙姆 188 的用量 (B) 和均质压力 (C) 为考察因素, 以包封率、平均粒径和 Zeta 电位为考察标准, 优选 TP-NLS 的处方及制备工艺。结果 最优处方为  $A_1B_5C_7$ , 即按制备 600 mL TP-NLS 溶液, 所取脂类基质 a 为 1.2 g, b 为 0.2 g, 泊洛沙姆 188 的用量为 1.3 g, 均质压力 70 MPa, 均质乳匀 15 min。制备的 TP-NLS 溶液外观好, 平均包封率为 83.52%, 平均粒径 117 nm, Zeta 电位 31.7 mV。所得 TP-NLS 溶液置于 4 °C, 避光环境下保存 30 d, 包封率、粒径、电位等基本保持不变, 稳定性良好。结论 优化后的 TP-NLS 制备工艺简单易行, 为其进一步研究奠定了基础。

**关键词:** 雷公藤内酯醇; 纳米脂质体; 均匀设计; 高压均质法; 稳定性

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)13-2277-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.13.012

## Prescription of triptolide nanometer liposomes and its preparation technology

QUE Hui-qing<sup>1</sup>, PENG Hua-yi<sup>1,2</sup>, QIAN Li-ping<sup>1</sup>, GUO Shun-min<sup>1</sup>, LIN Sui<sup>1</sup>

1. Fujian Provincial Key Laboratory of Medical Testing, Institute of Medical Sciences of Fujian Province, Fuzhou 350001, China

2. Inspection and Quarantine Technique Centre of Fujian Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuzhou 350003, China

**Abstract: Objective:** To optimize the preparation method of triptolide-nano-liposomes (TP-NLS). **Methods** High pressure homogeneous method was used to prepare TP-SLN. According to even design  $U_7(7^3)$ , the preparation method of TP-SLN was optimized with the factors including weight ratio of phosphorlipid and cholesterol (A), quantity of Poloxamer 188 (B), and homogeneous pressure (C), using the encapsulation efficiency (EE), particle size, and Zeta potential of NLS as indexes. **Results** The optimum prescription of TP-NLS was  $A_1B_5C_7$ , i.g. lipid matrix a : b was 6 : 1, the dosage of Poloxamer 188 was 1.3 g, and the homogeneous pressure was 70 MPa, high pressure homogeneous method for 15 min. The TP-NLS prepared with the optimal method had good appearance. The EE was 83.52%, the average particle size was 117 nm, and the Zeta potential was 31.7 mV. TP-NLS solution was kept in avoiding light environment at 4 °C for 30 d, and the preservation stability was good. **Conclusion** The formula is reasonable and the preparation method of TP-NLS is feasible, which is valuable to further study.

**Key words:** triptolide; nano-liposomes; uniform design; high pressure homogeneous method; stability

雷公藤为卫矛科 (Celastraceae) 雷公藤属 *Tripterygium* Hook. f. 植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f.、昆明山海棠 *T. hypoglaucom* (Levi.) Hukeda (又名黑麦)、苍山雷公藤 *T. forretii* Dials 及东北雷公藤 *T. regelli* Sprague et Taketa 等植物干燥根或根的木质部。其味苦、辛, 性寒, 有大毒, 归肝、肾经, 有祛风湿、活血通络、消肿止痛、

杀虫解毒的功效<sup>[1]</sup>。雷公藤内酯醇 (TP) 是从上述各雷公藤植物中分离得到的二萜内酯类化合物, 是雷公藤的主要有效成分之一, 具有显著的抗炎<sup>[2-4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5-10]</sup>、抗生育、免疫抑制及肾保护作用<sup>[11]</sup>, 临床应用广泛。但因其口服、静脉注射毒性较大, 临床使用受到了限制。本课题组曾对其外用剂型透皮贴剂的制备工艺进行了研究, 所得的制剂初黏力、

收稿日期: 2016-04-22

基金项目: 国家卫生与计划生育委员会科研基金课题 (WKJ-FJ-15); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项 (2015R1031-4, 2014R1031-3);

福建省科技计划社会发展引导性 (重点) 项目 (2014Y0051); 福建省卫生厅中医药科研项目 (wzce201306)

\*通信作者 林 绥 Tel: 13605948318 E-mail: 1119852208@qq.com; linsui\_syy@sina.com

外观、持黏力及稳定性良好<sup>[12-14]</sup>。

自 1964 年, 英国科学家 Bangham 等<sup>[15]</sup>首次报道应用负染法在电子显微镜下观察到磷脂及表面活性剂修饰的化合物结构以来, 脂质体的研究得到了越来越多的关注。1971 年, 英国学者 Ryman 等<sup>[16]</sup>将脂质体作为新型载药系统应用于药学领域, 脂质体开始在药物输送系统方面发挥其独特的优势。纳米脂质体 (nano liposomes, NLS) 是一种在常规脂质体的基础上结合纳米技术发展起来的新型载药系统, 在稳定性、吸收和体内分布等方面具有纳米粒子的特殊效应, 可以携带亲水性、疏水性及两亲性药物, 直接输送至靶组织发挥药效作用。目前常用的制备方法有高压均质法<sup>[17]</sup>、乙醇注入法<sup>[18]</sup>和旋转蒸发超声法<sup>[19]</sup>等。

本研究将 TP 制备成 NLS, 使药物微粒易于透过皮肤, 后续拟研发成外用涂膜、凝胶等剂型, 药物通过体表皮渗透, 绕过肝脏的首关效应直达病灶, TP 从 NLS 中缓慢释放, 避免剂量的峰谷现象, 收获减毒增效的功效。根据预试验结果, 选择磷脂类辅料和泊洛沙姆 188 (poloxamer 188, P188) 等为基质, 采用高压均质法制备雷公藤内酯醇纳米脂质体 (TP-NLS)。

## 1 仪器和材料

Bicfuge fresco 型小型台式高速冷冻离心机, HERAEUS; 20A 型岛津制备高效液相色谱仪, 岛津公司; H01-3 型恒温磁力搅拌器, 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司; DL-I-15 台式封闭电炉, 天津市泰斯特仪器有限公司; KQ2200E 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; SHZ-III 型循环水真空泵、RE-2000B 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; AL204 型电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; ABZ1-0501-P 型艾科浦超纯水系统, 颐洋企业发展有限公司; Zeta PALS 型高分辨 Zeta 电位及粒度分析仪, 美国布鲁克海文仪器公司; GJJ 型超高压均质泵, 上海诺尼轻工机械有限公司; Nanosep®10KDa 离心超滤管, 美国 PALL 公司; Centrifuge 5810 R 高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司。

TP 对照品, 批号 111597-200502, 购自中国食品药品检定研究院; TP, 质量分数 ≥98%, 由福建省医学科学院药物所提供; 脂类基质 a (大豆卵磷脂), 批号 3204080, 上海雅心生物技术有限公司; 脂类基质 b, 批号 F20111207, 国药集团化学试

剂有限公司; 甘油 (丙三醇), 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; P188, 批号 9003-11-6, 上海源叶生物科技有限公司; 三氯甲烷, 批号 1330513, 南京利盛化学试剂有限公司; 乙腈 (色谱纯)、甲醇 (批号 1309111), 西陇化工股份有限公司; 自制超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TP-NLS 的制备

**2.1.1 TP 溶液的配制** 精密称取一定量 TP, 溶解在一定体积的甲醇中, 制成 TP 质量浓度为 1.00 mg/mL 的溶液, 备用。

**2.1.2 甘油溶液的配制** 称取一定量的甘油, 溶解于超纯水中, 制备质量分数为 1.25% 的甘油溶液<sup>[20]</sup>, 备用。

**2.1.3 TP-NLS 的制备工艺** 根据实验条件及预试验结果, 采用高压均质法制备 TP-NLS, 以制备 TP-NLS 的 2 种脂类基质 a 与 b 的配比 (A)、P188 的用量 (B) 及其均质压力 (C) 为 3 个考察因素, 设计 7 个水平。采用 3 因素 7 水平, 建立均匀实验设计表  $U_7(7^3)$  安排实验。

按均匀设计安排的基质的配比, 分别精密称取脂类基质 a 1.2 g, 脂类基质 b 0.2 g, 置于同一烧杯中, 用适量的三氯甲烷将其完全溶解, 再加入 1 mg/mL 的 TP 甲醇溶液 24 mL, 混匀, 旋转减压蒸发除尽有机溶剂, 并在圆底烧瓶的内壁上形成一层均匀薄膜, 备用。

将 P188 溶解在 80 °C、600 mL 等温等渗的 1.25% 甘油溶液, 待该溶液温度降至 40 °C 左右时, 倒入上述形成薄膜的圆底烧瓶, 缓慢旋转烧瓶, 使薄膜溶胀并脱落, 所得溶液置于磁力搅拌器充分搅拌溶胀, 即得乳白色不透明 TP 脂质体溶液, 该溶液倾入高压均质机, 按均匀实验设计表  $U_7(7^3)$  设计的均质压力, 循环均乳, 均质后溶液用 0.45 μm 微孔滤膜抽滤, 即得 TP-SLN 溶液 600 mL, 密封, 避光冷藏备用。

### 2.2 TP-NLS 的 HPLC 测定

**2.2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 分析柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (30 : 70); 体积流量 1.0 mL/min; 测定波长 220 nm; 柱温 20 °C, 进样量 20 μL。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 TP 对照品适量, 用 30% 乙腈溶液配制成 1 mg/mL 的 TP 对照品溶液, 备用。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取均匀的 TP-NLS 溶液

1 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得 TP-NLS 总量测定溶液; 另量取 TP-NLS 溶液 0.5 mL, 置于 Nanosep® 10KDa 离心超滤管上端, 高速冷冻离心机 13 000 r/min 离心 20 min, 所得滤液即为游离 TP 测定溶液。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取“2.2.2”项下 TP 对照品溶液适量, 配制系列质量浓度为 10、20、30、50、80 μg/mL 的对照品溶液, 按“2.2.1”项色谱条件测定峰面积, 计算得线性回归方程  $Y=41\ 922X+11\ 801$ ,  $r=0.999$ , 表明 TP 在 10~80 μg/mL 线性关系良好。

**2.2.5 精密度试验** 选取同一份 TP 对照品溶液(质量浓度 30 μg/mL), 精密吸取 20 μL, 按“2.2.1”项色谱条件连续进样 5 次, 测定峰面积, 计算 RSD 为 1.3%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 选取同一份供试品溶液(3 号试验所得样品, 质量浓度为 38 μg/mL), 在“2.2.1”项色谱条件下, 分别于 0、0.5、1、2、4、8 h 进样 20 μL, 测定, 计算峰面积的 RSD 为 1.7%, 表明供试品溶液在常温 8 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性试验** 按照“2.2.3”项方法平行制备 6 份供试品溶液(3 号试验所得样品, 质量浓度为 38 μg/mL), 精密吸取 20 μL, 按“2.2.1”项色谱条件进样分析, 测定峰面积, 计算 TP 质量浓度的 RSD 为 1.9%, 表明方法重复性高。

**2.2.8 加样回收率试验** 选取已知质量浓度的供试品溶液 6 份(3 号试验所得样品, 质量浓度为 38 μg/mL), 分别加入 0.03 mg/mL 的 TP 对照品溶液适量, 按照“2.2.3”项方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算平均回收率为 98.7%, RSD 为 1.3%。

### 2.3 包封率的测定

采用离心超滤法测定 TP-NLS 的包封率<sup>[20]</sup>。取

适量 TP 对照品配制成质量浓度分别为 20、40、80 μg/mL 溶液, HPLC 法测定其峰面积, 另各取 3 种不同质量浓度的 TP 对照品溶液适量, 分别置于离心超滤管上端, 13 000 r/min 离心 20 min, HPLC 测定滤液的峰面积为 1 603 979, 连续测定 3 次, 取均值, 结果平均回收率为 99.2%, 说明此超滤膜对游离药物 TP 几乎无吸附, 可用于 TP-NLS 包封率的测定。

取 1 mL TP-NLS, 13 000 r/min 离心 20 min, 取上清液进样, 测定药物总量 ( $W_{总}$ ), 另取 1 mL TP-NLS 置于离心超滤管中, 离心, 测定滤液中药物质量浓度, 计算游离药物量 ( $W_{游}$ )。按《中国药典》2015 年版<sup>[21]</sup>脂质体包封率的计算公式计算包封率, 即包封率 =  $(W_{总} - W_{游}) / W_{总}$ ,  $W_{总}$  为总药物量,  $W_{游}$  为未包封的游离药物量, 检测结果见图 1 和表 1。

### 2.4 平均粒径和 Zeta 电位的测定

取新制 TP-NLS 溶液 1 mL, 采用 Zeta PALS 型高分辨 Zeta 电位及粒度分析仪, 测定 TP-NLS 的平均粒径, 多分散系数 (PDI) 和 Zeta 电位, 粒径检测结果见图 2, Zeta 电位检测见图 3, 数据见表 1。

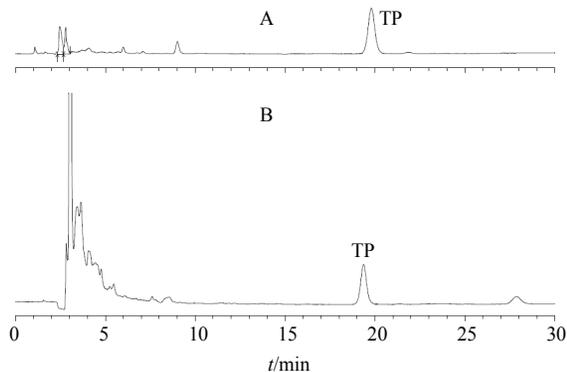


图 1 TP 对照品 (A) 和 TP-NLS 超滤溶液 (B) 的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC of TP reference substance (A) and TP-NLS ultrafiltration solution

表 1  $U_7(7^3)$  均匀设计与试验结果  
Table 1  $U_7(7^3)$  uniform design and test results

试验号	A	B/g	C/MPa	包封率评分	粒径评分	Zeta 电位评分	综合评分
1	6 : 1 (1)	0.9 (1)	40 (1)	70.36	87.38	70.34	228.08
2	7 : 1 (2)	1.0 (2)	45 (2)	60.06	72.86	71.19	204.11
3	8 : 1 (3)	1.1 (3)	50 (3)	81.59	61.34	62.37	204.30
4	9 : 1 (4)	1.2 (4)	55 (4)	86.07	79.82	76.57	242.46
5	10 : 1 (5)	1.3 (5)	60 (5)	82.81	82.20	66.93	231.94
6	11 : 1 (6)	1.4 (6)	65 (6)	75.46	69.30	60.76	205.52
7	12 : 1 (7)	1.5 (7)	70 (7)	48.68	43.53	62.12	154.33

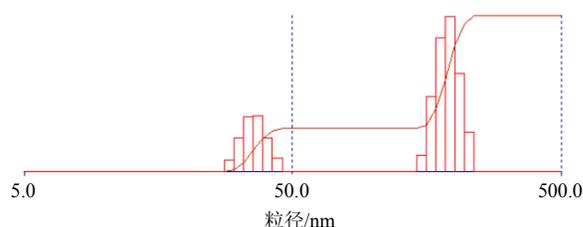


图 2 TP-NLS 的粒径及多通道分布图

Fig. 2 Size and multi-channel distribution of TP-NLS

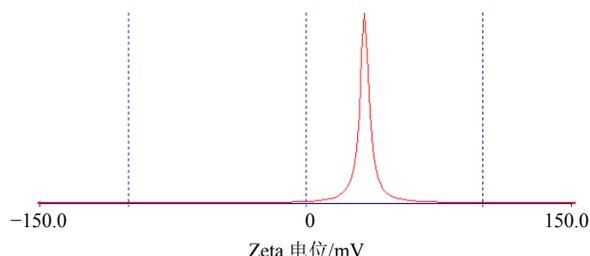


图 3 TP-NLS 的 Zeta 电位图

Fig. 3 Zeta potential of TP-NLS

## 2.5 均匀设计法优选处方

**2.5.1 实验设计及结果** 以制备 TP-NLS 的磷脂类基质 a 与 b 的配比 (A)、P188 的用量 (B) 及其均质压力 (C) 为 3 个考察因素, 设计 7 个水平。查阅均匀设计有关文献<sup>[22]</sup>, 选择  $U_7(7^3)$  配方均匀设计表进行试验, 见表 1。

**2.5.2 数据处理** 根据实验需要制定包封率、粒径、电位的评分标准, 具体如下。

包封率大于 80% 为 100 分, 80%~61% 为 99~80 分, 60%~51% 为 79~60 分, 50%~41% 为 59~50 分, 40%~21% 为 49~30 分, 小于 10% 为 30 分以下。

粒径大于 500 nm 为 0 分, 300~500 nm 为 0~50 分, 250~300 nm 为 50~60 分, 200~250 nm 为 60~70 分, 150~200 nm 为 70~80 分, 100~150 nm 为 80~90 分, 小于 100 nm 为 90~100 分。

Zeta 电位大于 50 mV 为 90~100 分, 40~50 mV 为 80~90 分, 30~40 mV 为 70~80 分, 20~30 mV 为 60~70 分, 10~20 mV 为 40~60 分, 小于 10 mV 为 40 分以下。评分结果见表 1。

根据《试验设计与数据处理》<sup>[22]</sup>, 求得的 3 元线性回归方程为  $y = 348.141 - 0.18075x_1 - 53.6105x_2 - 1.01805x_3$ ,  $y$  为因变量 (综合评分),  $x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$  为自变量 (即 A、B、C 3 个因素)。

**2.5.3 方差分析及因素主次的确定** 总平方和  $SS_T = 5048.225$ , 偏回归平方和  $SS_1 = 34.485$ ,  $SS_2 =$

$3628.037$ ,  $SS_3 = 1113.899$ , 回归平方和  $SS_R = SS_1 + SS_2 + SS_3 = 4776.421$ , 残差平方和  $SS_e = SS_T - SS_R = 3934.326$ , 复相关系数  $R = (SS_R/SS_T)^{0.5} = 0.973$ , 方差分析见表 2。

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

差异源	自由度	F 值	显著性
A	1	0.026	
B	1	2.766	$P < 0.01$
C	1	0.849	
回归	$m = 3$	1.214	$P < 0.01$
残差	$n - m - 1 = 3$		
总和	$n - 1 = 6$		

$F_{0.05}(1, 3) = 0.999$   $F_{0.05}(3, 3) = 0.950$   $F_{0.01}(1, 3) = 1.000$

$F_{0.01}(3, 3) = 0.0983$

对于给定的显著水平  $\alpha = 0.05$ , 自变量个数  $m = 3$ , 试验次数  $n = 7$  时, 查阅文献资料<sup>[23]</sup>得对应的临界值  $R_{\min} = 0.950 < 0.973$ , 所建立的线性回归方程与试验数据拟合得较好, 试验设计的 3 个因素对 TP-NLS 均有不同程度的影响。其中第 2 个因素对试验结果的影响十分显著 ( $P < 0.01$ ), 第 3 个因素对试验结果影响也较大, 第 1 个因素对试验结果影响最小, 3 个因素的影响大小顺序为  $B > C > A$ , 即 P188 的用量 > 均质压力 > 磷脂类基质的配比。

**2.5.4 最佳制备工艺的判定** 根据均匀设计的实验结果及其计算得出的回归方程, P188 的用量对 TP-NLS 影响最大, P188 的用量与实验结果呈现负向关系, 用量越大综合得分越小, 故用量不宜过多, 但查阅文献资料<sup>[24]</sup>可知, P188 是一种可静脉注射的聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物非离子表面活性剂, 作为一种膜表面修饰剂, 其聚氧乙烯亲水长链镶嵌于磷脂双分子层中, 降低了血浆蛋白的调理作用, 减弱吞噬作用, 延长药物在血中的滞留时间, 达到减毒增效的目的, 由此可见, P188 在 TP-NLS 减毒中占有重要位置, 综合考虑, 制备 600 mL TP-NLS 溶液 P188 的用量为 1.3 g。均质压力对于 TP-NLS 的影响也较大, 且综合评分也随着均质压力的增大而减小, 查阅相关文献得知, 均质压力过高, 会引起药物渗漏, 包封率反而会降低<sup>[25]</sup>, 均质压力过小均质不均匀, NLS 粒径达不到预期的效果, 故均质压力选取 70 MPa。脂类基质的配比影响最小, 随着配比的增大综合得分减小, 考虑材料节约问题, 所以脂类基质 a 1.2 g, 脂类基质 b 0.2 g。

另查阅文献资料<sup>[26]</sup>可知循环 5 次均质效果较好, 通过预试验, 计算 600 mL 溶液经实验所用高压均质机乳匀 5 次的时间为 15 min。

### 2.6 优化处方的验证

分别精密称取大豆卵磷脂(脂类基质 a) 1.2 g, 脂类基质 b 0.2 g, 置于同一烧杯中, 加入适量的三氯甲烷使之溶解, 再加入 48 mL 的 TP 甲醇溶液(质量浓度 1 mg/mL), 混匀, 于旋转蒸发仪中旋转减压蒸发除尽有机溶剂, 并使在圆底烧瓶的内壁上形成均匀的薄膜, 备用。

将 P188 溶解在 80 °C、600 mL 等温等渗的 1.25% 甘油溶液中, 待水溶液温度降至 40 °C 左右时, 倒入已形成薄膜的圆底烧瓶, 置于旋转蒸发仪中缓慢旋转, 使薄膜脱落, 直至溶胀充分后, 于磁力搅拌器上充分搅拌溶胀后(约 20 min), 倾入高压均质机中均质, 设置均质压力为 70 MPa, 乳匀 15 min, 均质后经 0.45 μm 微孔滤膜抽滤, 即得 TP-NLS 溶液。按上述方法, 重复制备 3 份 TP-NLS 溶液, 检测, 数据见表 3。

由表 3 可以看出, 处方验证制备的包封率平均 83.52 分、粒径平均 87.87 分、Zeta 电位 79.92 分, 平均综合评分 251.31 分, 综合得分高于均匀设计实

表 3 3 批样品测定数据

Table 3 Data of three batches of samples

样品号	包封率评分	粒径评分	Zeta 电位评分	综合得分
1	84.39	88.31	79.56	252.26
2	85.05	87.52	80.39	252.96
3	81.12	87.77	79.82	248.71
平均分	83.52	87.87	79.92	251.31

验所得的 TP-NLS 溶液, 由此可见, 确定上述处方为制备 TP-NLS 溶液的最佳处方。

### 2.7 TP-NLS 溶液稳定性考察

取 5 份“2.6”项制备的 TP-NLS 25 mL 于容量瓶中, 在室温条件下(无遮光)放置 30 d, 同时另取 5 份放置于冰箱 4 °C, 避光条件下保存 30 d, 观测 30 d 内不同保存环境下 TP-NLS 外观及粒径变化。结果在室温下放置 15 d 后脂质体粒径接近 1 μm, 40 °C 微热可恢复至透明状态, 30 d 后粒径大于 1 μm, 脂质体絮凝; 在 4 °C 条件下放置 15 d 溶液呈乳白色, 轻摇微绢丝样, 室温恢复透明, 30 d 后可见溶液微乳白色半透明状态, 在 40 °C 水浴条件下微热 5 min 可恢复透明状态, 结果(表 4)表明 TP-NLS 在 4 °C 避光环境下保存 30 d 稳定性良好。

表 4 TP-NLS 稳定性考察

Table 4 Stability of TP-NLS

放置条件	放置时间/d	外观	平均粒径
室温	0	透明, 淡黄色	117 nm
	15	乳白色, 绢丝样不透明	1 μm 左右
	30	白色不透明	1 μm 以上
4 °C	0	透明, 淡黄色	117 nm
	15	乳白色, 微绢丝样, 室温恢复透明	235 nm
	30	乳白色, 半透明 40 °C 微热恢复透明	450 nm

## 3 讨论

### 3.1 2 种磷脂类基质的配比

预试验曾采用其他试剂作为稳定剂, 如卵磷脂、油酸、胆固醇以及油酸与硬脂酸的混合物, 最后发现, 当应用 2 种磷脂类基质作为稳定剂时, NLS 的稳定性相对于其他试剂时的效果好。前期预试验脂类基质 a 与 b 的配比从 1:1 开始, 直至 5:1, 所得的脂质体薄膜成片粘附在圆底烧瓶上, 加入 P188 甘油溶液溶胀不均匀。配比调为 6:1~12:1 获得的脂质体薄膜, 加入 P188 甘油溶液, 易溶胀成均匀的乳白色溶液。但增大至 13:1 以上, 薄膜又呈

现不易溶胀现象, 故实验设计脂类基质 a 与 b 配比范围为 6:1~12:1, 最终确定为 6:1。

### 3.2 P188 的用量

实验中 P188 的用量和其他 2 个因素比较, 对实验结果影响最大, 也是 TP-NLS 减毒的重要因素, 因为 P188 无毒, 所以更适合于制剂用辅料。预试验中 P188 用量 1.2 g 效果较好, 于是在 1.2 g 左右调节 7 个水平进行均匀实验, 最终确定 P188 的最佳用量为 1.3 g。

### 3.3 均质压力

均质压力对实验结果影响较大, 均质压力太小

均质程度不够, NLS 粒径偏大, 易于沉降, 影响 TP-SLN 的稳定性, 且过大的药物粒子不利于穿透肿瘤细胞, 发挥药效; 均质压力过大, TP-SLN 易破裂, 导致药物外漏, 降低包封率, 影响减毒作用。

### 3.4 包封率

目前 TP-NLS 包封率仍不是十分理想, 应继续考察包封率是否与 P188 的用量有关, 非离子表面活性剂会促进 TP 在溶液中的溶解, 导致被包封的药量减少; 或是压力过大, 致使 NLS 破裂药物渗漏; 又或是均质时间过长, NLS 破裂导致, 还需进一步深入研究。

### 3.5 稳定性

TP-NLS 溶液具有潜在的不稳定性, 放置时间、温度及光照均可影响其状态。因此, 制备好的 TP-NLS 须置于冷藏室避光保存。

### 参考文献

- [1] 高学敏. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010.
- [2] 李兴旺, 尚游, 张冰, 等. 雷公藤内酯醇对大鼠重症急性胰腺炎肺损伤的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16(5): 296-298.
- [3] 陈海生, 张海峰, 陈海琴, 等. 雷公藤内酯醇抑制 CXCL11 表达对大鼠重症急性胰腺炎急性肺损伤的影响 [J]. 交通医学, 2012, 26(3): 209-212.
- [4] 王会玲, 周晓春, 龚理, 等. 雷公藤内酯醇对 AD 细胞模型核因子  $\kappa$ B 表达及炎症因子释放的影响 [J]. 时珍国医国药, 2013, 34(5): 1100-1102.
- [5] 文璐, 陈燕, 曾令兰, 等. 雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 U266 细胞组蛋白去甲基化酶的调节作用 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1975-1980.
- [6] 王恒邦, 许建华, 温彩霞, 等. 雷公藤内酯醇体内外抗肿瘤作用 [J]. 福建医科大学学报, 2007, 41(4): 304-307.
- [7] 邹党华, 谭布珍, 黄艳琴, 等. 小剂量雷公藤内酯醇对荷卵巢大鼠体内抑瘤作用的观察 [J]. 江西医学院学报, 2009, 49(2): 110-111.
- [8] 俞萍丽, 陈元仲, 许建华. 雷公藤内酯醇对人结肠癌细胞株 SW-480、HT-29 体内外作用的研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(1): 28-31.
- [9] 马薇, 魏柏, 熊枝繁. 雷公藤内酯醇联合热疗对 MKN28 细胞增殖抑制作用的研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(1): 38-40.
- [10] 刘媛, 陈燕, 赵菲, 等. 雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞周期及 P21wip1/cip1 和 P27kip1 表达的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1819-1823.
- [11] 包自阳, 朱彩凤, 李苞芳, 等. 雷公藤内酯醇对肾缺血再灌注大鼠凋亡诱导因子及细胞间粘附分子-1 表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(4): 306-309.
- [12] 钱丽萍, 阙慧卿, 林绥, 等. 正交试验优选雷公藤涂膜剂的基质组成 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 442-444.
- [13] 阙慧卿, 钱丽萍, 林绥. 均匀设计优化雷公藤内酯醇透皮贴剂的处方研究 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2468-2470.
- [14] 钱丽萍, 阙慧卿, 林绥, 等. 雷公藤内酯醇生物贴的稳定性研究 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(3): 182-184.
- [15] Bangham A D, Horne R W J. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope [J]. *J Mol Biol*, 1964, 8(5): 660-668.
- [16] Gregoriadis G, Ryman B E. Liposomes as carriers of enzymes or drugs: A new approach to the treatment of storage diseases [J]. *Biochem J*, 1971, 124(5): doi: 10.1042/bj124058P.
- [17] 陈桐楷, 李园, 林华庆, 等. 高压液匀制备氢溴酸高乌甲素固体直至纳米粒工艺研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(6): 440-443.
- [18] 陈颖, 叶娟, 陈艳婷, 等.  $\alpha$ -细辛脑脂质体的制备与体外释放药物的考察 [J]. 今日药学, 2013, 23(1): 11-22.
- [19] 张峰, 张阳德, 赵劲风, 等. 苯磺酸氨氯地平柔性纳米脂质体的制备 [J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(5): 541-548.
- [20] 张生杰, 焦文温, 张瑜, 等. 异穿心莲内酯固体脂质体纳米粒的制备及体外释放研究 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2390-2395.
- [21] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [22] 曾昭钧. 均匀设计及其应用 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [23] 李云雁, 胡传荣. 试验设计与数据处理 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [24] 陈琼玲, 刘红芝, 刘丽, 等. 白藜芦醇纳米脂质体研究进展 [J]. 核农学报, 2013, 27(7): 962-967.
- [25] 柯学, 王长江, 胡一桥. 泊洛沙姆 188 修饰的蜂毒素脂质体在大鼠体内的药动学 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(3): 198-201.
- [26] 龚连生, 曾雅娟, 张阳德, 等. 阿霉素纳米脂质体制备工艺研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(24): 3756-3759.