

## 苦参总生物碱固体脂质纳米粒的制备工艺研究

杨志欣, 王闻文, 卞士嘉, 刘 慧, 汲丽丽, 王艳宏\*

黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

**摘要:** 目的 探索苦参总生物碱(TA)磷脂复合物固体脂质纳米粒(TA-PC-SLN)的制备工艺及处方优化, 并对其进行体外评价。方法 建立高效液相色谱(HPLC)法同时测定TA中4个指标成分苦参碱(MT)、氧化苦参碱(OMT)、槐果碱(SC)、氧化槐果碱(OSC), 并进行方法学验证。称取TA、卵磷脂共同溶于乙醇制备磷脂复合物; 采用微乳法制备TA-PC-SLN。采用超速离心结合HPLC法考察包封率和载药量; 比色法检测粒径分布及Zeta电位。以包封率和载药量作为TA-PC-SLN考察指标, 用星点-效应面法优化处方, 同时评价TA-PC-SLN的体外释放。结果 HPLC色谱条件为: DIKMA C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol/L的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(含2 mL/L三乙胺)溶液, 梯度洗脱, 洗脱条件为0 min(6%乙腈)→35 min(13%乙腈)→40 min(6%乙腈), 检测波长为220 nm。TA-PC-SLN的平均粒径为(126.1±3.89) nm, 粒径分布(PDI)为(0.409±0.022), Zeta电位为(-30.9±7.37) mV; TA-PC-SLN最佳的制备工艺处方为: 药物磷脂复合物与水相(泊洛沙姆, 大豆卵磷脂和聚乙二醇2 000组成)比例为1:1.75, 大豆卵磷脂和聚乙二醇2 000比例为1:1.25, 冰水分散相与微乳体积比例为9:1。TA-PC-SLN体外释放速率低于TA。结论 制备出的TA-PC-SLN包封率可达到74%以上, 载药量可达到9%以上, 并且实现了缓释的目的。

**关键词:** 苦参总生物碱; 磷脂复合物; 固体脂质纳米粒; 苦参碱; 氧化苦参碱; 槐果碱; 氧化槐果碱; 星点-效应面法; 处方优化

中图分类号: R945 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)03-0517-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.03.009

## Study on preparation technology of solid lipid nanoparticles of total alkaloids of *Sophora flavescens*

YANG Zhixin, WANG Wenwen, BIAN Shijia, LIU Hui, JI Lili, WANG Yanhong

College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

**Abstract:** **Objective** The preparation and formulation optimization of solid lipid nanoparticles of total alkaloids of *Sophora flavescens* (TA-PC-SLN) were explored and completed, and the *in vitro* evaluation of the solid lipid nanoparticles was conducted. **Methods** HPLC was used to establish a method for simultaneous determination of four index components —matrine (MT), oxymatrine (OMT), sophocarpine (SC), oxysophocarpine (OSC) in TA. The methodology was validated. TA and lecithin were dissolved in ethanol to prepare phospholipid complex, and TA-PC-SLN was prepared by microemulsion method. The entrapment efficiency and drug loading were determined by ultracentrifugation combined with HPLC, and the particle size distribution and zeta potential were determined by colorimetry. The inclusion rate and drug loading were used as the indexes. The formulation was optimized by the star-point effect-surface method, and the dissolution rate of TA-PC-SLN was evaluated *in vitro*. **Results** HPLC conditions: DIKMA C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); mobile phase: acetonitrile-0.05 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (containing 2 mL/L triethylamine) solution, gradient elution, elution conditions: 0 min (6% acetonitrile) → 35 min (13% acetonitrile) → 40 min (6% acetonitrile); detection wavelength: 220 nm. The average particle size of ta-pc-sln was (126.1 ± 3.89) nm, PDI was (0.409 ± 0.022), and zeta potential was (-30.9 ± 7.37) mV; The optimal formulation was: the ratio of the pharmaceutical phospholipid complex to the aqueous phase (polloxam, soybean lecithin and polyethylene glycol 2000) was 1:1.75, the ratio of soybean lecithin to polyethylene glycol 2000 was 1:1.25, and the ratio of the ice-water dispersed phase to the volume of microemulsion was 9:1. The release rate of

收稿日期: 2020-05-13

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(H2016057、H2017066)

第一作者: 杨志欣(1974—), 女, 博士, 教授, 从事药物新剂型与新药研究。E-mail: zhixin.y@163.com

\*通信作者: 王艳宏(1972—), 女, 教授, 从事中药性味及新剂型研究。Tel: (0451)87266893 E-mail: wang.yanhong@163.com

solid lipid nanoparticles was much lower than that of total alkaloids of *sophora flavescens*. **Conclusion** TA-PC-SLN can achieve the encapsulation rate of over 74% and the drug load of over 9%, the aim of slow release of total alkaloids of *sophora flavescens* was realized.

**Key words:** total alkaloids of *Sophora flavescens*; liposome nanoparticles; matrine; oxymatrine; sophocarpine; oxysophocarpine; star-point effect-surface method; prescription optimization

中药发挥药理作用依赖于其有效成分,单一有效成分的药理作用低于多组分<sup>[1]</sup>,因其不能发挥多组分综合协调的作用,研究中药多组分<sup>[2]</sup>对中药临床应用有很大意义。现代药理研究发现,苦参生物碱类成分主要包括苦参碱(matrine, MT)、氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)、槐果碱(sophocarpine, SC)、氧化槐果碱(oxysophocarpine, OSC)等<sup>[3]</sup>,具有抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗心律失常等多种作用<sup>[4-7]</sup>,尤其在抗肝炎病毒的临床应用方面具有丰硕成果<sup>[8-9]</sup>。但是有研究表明,苦参总生物碱(total alkaloid, TA)对冷血和温血动物均有引起痉挛和麻痹呼吸中枢的作用,而且苦参生物碱在体内具有吸收分布较广泛、半衰期较短、血浆快速清除的特性,使其难以在疾病部位达到有效治疗浓度,生物利用度较低,需要多次多剂量给药,进而引起不良反应<sup>[10-12]</sup>。

固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)作为一种新型的纳米载药体系,在近十几年来发展迅速<sup>[9]</sup>。SLN具有生物相容性好、对药物的缓释和控释效果好、能够避免或减少药物的降解、适用于大工业生产等优点。同时,SLN粒径小( $<1\ \mu\text{m}$ ),有利于药物粒子增加在药效部位的吸收或使药物粒子在药用部位的接触面积增加、停留时间延长,从而增加药物的吸收<sup>[13]</sup>。将SLN的粒径控制在100~150 nm可实现良好的肝区富集,从而实现药物的肝靶向作用,减少药物在全身的分布,减少病人的给药剂量及给药次数。病人的顺应性被提高,药物的肾毒性降低。由于TA为水溶性化合物,因此在制备纳米粒之前先将TA制备成磷脂复合物以提高其脂溶性。本实验制备TA磷脂复合物固体脂质纳米粒(total sophora alkaloid phospholipid complex solid lipid nanoparticles, TA-PC-SLN)并检测其体外溶出度,为TA的临床应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

FA2004分析电子天平(上海-恒科技有限公司);TGL-16C台式离心机(上海安亭科学仪器厂);SB-5200D超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);

2KBTES-55真空冷冻干燥机(美国VirTis公司);SHZ(III)循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);R-220 SE大型旋转蒸发仪(瑞士Buchi公司);Waters e2695 HPLC(美国Waters公司);DIKMA C<sub>18</sub>色谱柱(Dikma公司);Zetasizer Nano-ZS90激光粒度分析仪(马尔文仪器有限公司);DF-101Z集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司)。

### 1.2 药物及主要试剂

苦参饮片,购自安贞中药饮片有限责任公司,经黑龙江中医药大学药学院王振月教授鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根,批号160515;TA(实验室自制,批号20160610;苦参饮片经70%乙醇提取后,在阳离子树脂上二氯甲烷回流提取,合并提取液,浓缩后低温真空干燥即得;质量分数 $>90\%$ ,其组成为53.4%的OMT、17.3%的MT、15.2%的OSC、4.2%的SC);对照品MT(批号PRF15041106)、OMT(批号15022805)、OSC(批号PRF7050923)、OSC(批号PRF7050923)、SC(批号PRF7050923),均购自成都普瑞法科技开发有限公司,质量分数 $>99\%$ 。

色谱乙腈(批号R141442, Dikma公司);无水乙醇(批号20170708)、乙醇(分析纯,批号20181008)、二氯甲烷(批号20170318),均购自天津市富宇精细化工有限公司;三乙胺(批号20170108,天津市东丽区新中村);磷酸二氢钾(批号20170108,天津基准化学试剂有限公司);大豆卵磷脂(PC,批号SY-SI-160101,北京奥博星生物技术有限公司);硬脂酸(分析纯,批号20151030,天津市凯通化学试剂有限公司);泊洛沙姆188(批号WP5E587E,德国BASF公司);娃哈哈纯净水(批号20180708,黑龙江娃哈哈有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 TA磷脂复合物的制备

分别精密称定TA、卵磷脂16.8、8.4 mg,共同溶于5.6 mL乙醇中,于40℃水浴磁力搅拌2 h,过滤除去沉淀,干燥至恒定质量,称质量得到复合率约为97%的TA磷脂复合物。

## 2.2 TA-PC-SLN的制备

采用微乳法制备TA-PC-SLN。称取TA磷脂复合物作为油相,处方量的卵磷脂和聚乙二醇2000于60℃下加热熔融与泊洛沙姆188(24 g/L)混合均匀,作为水相。将油相缓慢逐滴加入水相中,并置于60℃下磁力搅拌器中搅拌至均匀,形成微乳。在1000 r/min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,即可得到TA-PC-SLN的混悬液。将混悬液置于-24℃冰箱中预冻24 h,取出干燥24 h,即得TA-PC-SLN冻干粉。

## 2.3 TA高效液相色谱(HPLC)检测方法的建立

**2.3.1 色谱条件** DIKMA C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol/L的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(含2 mL/L三乙胺)溶液,梯度洗脱,洗脱条件为0 min(6%乙腈)~35 min(13%乙腈)~40 min(6%乙腈),检测波长为220 nm; 体积流量1 mL/min; 柱温35℃; 过0.45 μm有机系滤膜,进样量为10 μL。

**2.3.2 TA对照品溶液配制** 精密称定OMT、OSC、MT、SC对照品37.06、9.99、19.03、10.12 mg,将SC加甲醇溶解定容至10 mL量瓶中。精密移取SC对照品溶液5 mL溶解OMT、OSC、MT对照品,加甲醇溶解定容至100 mL量瓶中,摇匀,制成同时含OMT 370.60 μg/mL、OSC 99.90 μg/mL、MT 190.30 μg/mL和SC 50.60 μg/mL的混合对照品溶液,密封后4℃保存。

**2.3.3 供试品溶液配制** 量取10 mL TA-PC-SLN混悬液,探头超声10 min,取2 mL加水稀释至5 mL,得到供试品溶液。

**2.3.4 专属性考察** 空白溶剂、对照品溶液、供试品溶液在“2.3.1”项色谱条件下进样,色谱图见图1。TA中OMT、OSC、MT、SC均峰形良好,杂质无干扰。

**2.3.5 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0 mL置于10 mL量瓶,稀释定容,得到8个浓度的混合对照品溶液。按“2.3.1”项下色谱条件,进样20 μL,对照品的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制得TA的4个成分标准曲线方程,OMT:  $Y = 65\,795\,000 X + 34\,699$  ( $R^2 = 0.999\,5$ , 18.53~370.60 μg/mL); OSC:  $Y = 68\,825\,000 X + 366\,275$  ( $R^2 = 0.9996$ , 5.00~99.90 μg/mL); MT:  $Y = 75\,062\,900 X - 225\,762$  ( $R^2 = 0.999\,5$ , 9.52~190.30 μg/mL); SC:  $Y = 106\,193\,000 X + 460\,422$  ( $R^2 = 0.999\,4$ , 2.53~50.60 μg/mL)。

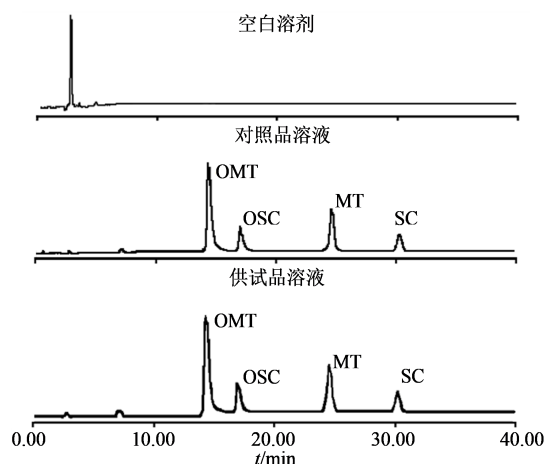


图1 TA的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of TA

**2.3.6 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液1.0、5.0、8.0 mL置于10 mL量瓶中,稀释定容,按“2.3.1”项下色谱条件,每天连续进样6次,考察日内精密度,连续测定3 d,考察日间精密度。计算得到OMT、OSC、MT、SC的日内精密度的RSD值分别为0.71%、1.76%、1.64%、1.22%; 日间精密度的RSD值分别为0.98%、1.05%、0.99%、1.34%,表明该方法精密度较良好。

**2.3.7 稳定性试验** 吸取供试品溶液1 mL过0.22 μm滤头后,按“2.3.1”项下色谱条件,分别在0、1、2、4、6、12、24 h进样10 μL,记录峰面积。计算得到OMT、OSC、MT、SC的RSD值分别为0.14%、0.37%、0.15%、0.15%,结果表明,供试品溶液24 h内稳定性良好。

**2.3.8 重复性试验** 制备TA-PC-SLN( $n=6$ )供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件,进样10 μL,记录峰面积。计算含量,OMT、OSC、MT、SC质量分数的RSD值分别为0.13%、0.32%、0.24%、1.08%,结果表明该方法重复性良好。

**2.3.9 加样回收率试验** 取同一批TA-PC-SLN( $n=6$ ),精密称定502.48 mg,每组3份,共3组。按照比例分别取OMT、OSC、MT、SC对照品适量,精密称定为500.41、134.62、256.63、66.40 mg,置于25 mL量瓶中定容。取混合对照品溶液2.5、5.0、7.5 mL定容于10 mL量瓶中,制备成3种浓度的混合对照品溶液,每份供试品加1 mL混合对照品溶液,按“2.3.3”项下方法分别制备成供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样10 μL,记录峰面积,计算含量。结果表明,OMT回收率范围99.22%,RSD为0.64%; OSC回收率范围99.19%,RSD为0.96%, MT回收率范围99.33%,RSD为1.26%, SC回收率

范围99.09%,RSD为1.39%。表明本方法具有良好的回收率。

**2.3.10 回收率试验** 精密量取同时含 OMT 370.60  $\mu\text{g/mL}$ 、OSC 99.90  $\mu\text{g/mL}$ 、MT 190.30  $\mu\text{g/mL}$  和 SC 101.20  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品溶液。分别取 1.35、2.70、4.05 mL,加入 1 mL 空白纳米粒溶液,用流动相定容于 10 mL 容量瓶中,制备成 3 种浓度的混合对照品溶液,按“2.3.3”项下方法分别制备成供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样 10  $\mu\text{L}$ ,记录峰面积,计算含量。结果表明,OMT 回收率范围 99.75%,RSD 为 0.82%,OSC 回收率范围 99.54%,RSD 为 1.40%,MT 回收率范围 99.85%,RSD 为 1.04%,SC 回收率范围 99.58%,RSD 为 1.74%。表明本方法具有良好的回收率。

## 2.4 包封率和载药量的测定

采用超速离心考察包封率,精密吸取 TA-PC-SLN 混悬液适量,置于 5 mL 的离心管内,10 000 r/min 离心 30 min,取上清液,按“2.3.3”项配制供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进行测定,计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (W_{\text{总}} - W_{\text{游}}) / W_{\text{总}}$$

$$\text{载药量} = (W_{\text{总}} - W_{\text{游}}) / (W_{\text{总}} + W_{\text{辅}})$$

$W_{\text{游}}$  为 TA-PC-SLN 混悬液中游离 TA 的质量, $W_{\text{总}}$  为 TA 投药量, $W_{\text{辅}}$  为加入辅料的总质量

## 2.5 粒径分布及 Zeta 电位测定

取制备的冻干前 TA-PC-SLN 适量,加蒸馏水适当稀释后置于样品杯中,将样品杯放入比色池中,测定其粒径、粒径的分散指数(PDI)及 Zeta 电位,结果见图 2。TA-PC-SLN 的平均粒径为  $(126.1 \pm 3.89) \text{ nm}$ ,PDI 为  $(0.409 \pm 0.022)$ ,Zeta 电位为  $(-30.9 \pm 7.37) \text{ mV}$ 。

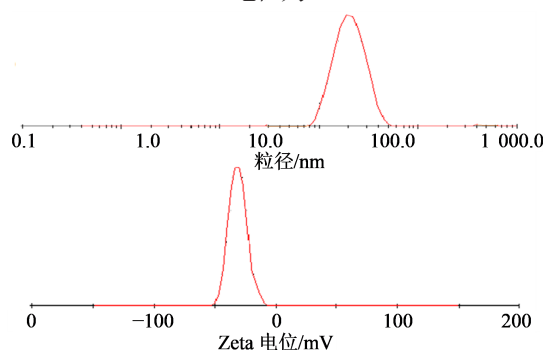


图 2 TA-PC-SLN 粒径分布和 Zeta 电位

Fig. 2 Particle size distribution and Zeta potential of TA-PC-SLN

## 2.6 处方优化

**2.6.1 试验设计** 在单因素试验的基础上,选择药物磷脂复合物与水相(泊洛沙姆、大豆卵磷脂和

聚乙二醇 2 000 组成)比例(A)、大豆卵磷脂和聚乙二醇 2 000 比例(B)、微乳与冰水分散相体积比例(C)作为影响因素,包封率( $Y_1$ )和载药量( $Y_2$ )作为评价指标,采用星点设计实验法对其处方进一步优化,每组试验进行 3 次重复,取平均值作为最后结果。因素水平见表 1。

**2.6.2 数据处理及模型拟合**  $Y_1$  和  $Y_2$  结果见表 2,方差分析见表 3 及 4。

表 1 星点设计因素及水平

Table 1 Factor level of CCD

| 因素 | 水平    |        |       |       |        |
|----|-------|--------|-------|-------|--------|
|    | -1.68 | -1     | 0     | 1     | 1.68   |
| A  | 1:3   | 1:1.75 | 1:1.1 | 1:0.8 | 1:0.67 |
| B  | 1:2   | 1:1.25 | 1:0.8 | 1:0.6 | 1:0.5  |
| C  | 1:16  | 1:13   | 1:11  | 1:9   | 1:8    |

表 2 星点设计及各响应值

Table 2 Central composite design and response values

| 编号 | 因素                       |                          |                          | 结果       |          |
|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|----------|
|    | A/(mg·mg <sup>-1</sup> ) | B/(mg·mg <sup>-1</sup> ) | C/(mL·mL <sup>-1</sup> ) | $Y_1/\%$ | $Y_2/\%$ |
| 1  | 0                        | 0                        | 0                        | 65.06    | 8.21     |
| 2  | 0                        | -1.68                    | 0                        | 68.84    | 8.54     |
| 3  | 0                        | 1.68                     | 0                        | 42.21    | 6.19     |
| 4  | 0                        | 0                        | 0                        | 64.43    | 8.01     |
| 5  | 0                        | 0                        | 0                        | 65.78    | 8.24     |
| 6  | -1                       | -1                       | -1                       | 68.83    | 9.14     |
| 7  | -1                       | -1                       | 1                        | 76.51    | 9.12     |
| 8  | 1                        | -1                       | 1                        | 59.62    | 7.86     |
| 9  | 1                        | -1                       | -1                       | 54.62    | 7.58     |
| 10 | 1.68                     | 0                        | 0                        | 51.63    | 7.29     |
| 11 | -1                       | 1                        | 1                        | 60.64    | 8.13     |
| 12 | 0                        | 0                        | 0                        | 65.66    | 8.35     |
| 13 | 0                        | 0                        | 1.68                     | 60.78    | 7.21     |
| 14 | -1                       | 1                        | -1                       | 58.64    | 7.39     |
| 15 | 1                        | 1                        | -1                       | 40.73    | 6.21     |
| 16 | 0                        | 0                        | -1.68                    | 49.66    | 7.32     |
| 17 | 0                        | 0                        | 0                        | 66.29    | 8.04     |
| 18 | 0                        | 0                        | 0                        | 65.87    | 8.43     |
| 19 | 1                        | 1                        | 1                        | 37.87    | 6.04     |
| 20 | -1.68                    | 0                        | 0                        | 62.39    | 8.28     |

通过采用 Design-Expert V8.0.6 软件对数据进行分析处理以及多元线性和二次多项式回归拟合。其方程为:  $Y_1 = 65.46 - 6.58 A - 7.80 B + 2.23 C - 1.20 AB - 0.94 AC - 1.69 BC - 2.62 A^2 - 3.14 B^2 -$



表3  $Y_1$ 响应面二次模型的方差分析Table 3 ANOVA for response surface quadratic model of  $Y_1$ 

| 方差来源  | 偏差平方和    | 自由度 | 均方值    | F值    | P值       |
|-------|----------|-----|--------|-------|----------|
| 模型    | 1 860.51 | 9   | 206.73 | 15.27 | 0.000 1  |
| $A$   | 519.48   | 1   | 519.48 | 43.70 | <0.000 1 |
| $B$   | 830.30   | 1   | 830.30 | 61.34 | <0.000 1 |
| $C$   | 68.21    | 1   | 68.21  | 5.04  | 0.048 6  |
| $AB$  | 11.47    | 1   | 11.47  | 0.85  | 0.378 9  |
| $AC$  | 7.11     | 1   | 7.11   | 0.53  | 0.485 3  |
| $BC$  | 22.92    | 1   | 22.92  | 1.69  | 0.222 4  |
| $A^2$ | 98.73    | 1   | 98.73  | 7.29  | 0.022 3  |
| $B^2$ | 142.31   | 1   | 142.31 | 10.51 | 0.008 8  |
| $C^2$ | 152.24   | 1   | 152.24 | 11.25 | 0.007 3  |
| 残差    | 135.36   | 10  | 13.54  |       |          |

表4  $Y_2$ 响应面二次模型的方差分析Table 4 ANOVA for response surface quadratic model of  $Y_2$ 

| 方差来源  | 偏差平方和 | 自由度 | 均方值   | F值    | P值       |
|-------|-------|-----|-------|-------|----------|
| 模型    | 12.72 | 9   | 1.41  | 15.89 | <0.000 1 |
| $A$   | 3.49  | 1   | 3.49  | 39.26 | <0.000 1 |
| $B$   | 5.98  | 1   | 5.97  | 67.17 | <0.000 1 |
| $C$   | 0.25  | 1   | 0.25  | 2.77  | 0.126 9  |
| $AB$  | 0.34  | 1   | 0.34  | 3.78  | 0.080 5  |
| $AC$  | 0.27  | 1   | 0.27  | 3.00  | 0.114 1  |
| $BC$  | 0.04  | 1   | 0.036 | 0.41  | 0.536 4  |
| $A^2$ | 0.24  | 1   | 0.24  | 2.68  | 0.132 77 |
| $B^2$ | 1.11  | 1   | 1.11  | 12.44 | 0.005 5  |
| $C^2$ | 1.41  | 1   | 1.41  | 15.82 | 0.002 6  |
| 残差    | 0.89  | 10  | 6.61  |       |          |

3.25  $C^2$ ,  $R^2=0.915\ 9$ ,  $P=0.000\ 1$ ;  $Y_2=8.21-0.51A-0.66B+0.13C-0.20AB-0.18AC-0.067BC-0.13A^2-0.28B^2-0.31C^2$ ,  $R^2=0.934\ 7$ ,  $P=0.000\ 1$ 。

表明模型拟合度理想,可用于分析和预测,方

差分析结果表明, $Y_1$ 模型中 $A$ 、 $B$ 、 $C$ 、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 是模型的显著项, $Y_2$ 模型中 $A$ 、 $B$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 是模型的显著项。

**2.6.3 效应面分析** 采用 Design Expert 软件绘制三维效应面图,结果见图3和4。

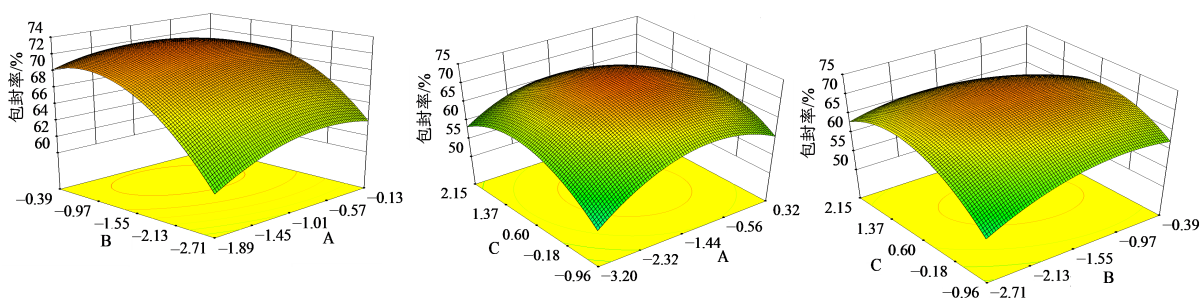


图3 响应面包封率的三维图

Fig. 3 Response surface encapsulation rate 3D curved

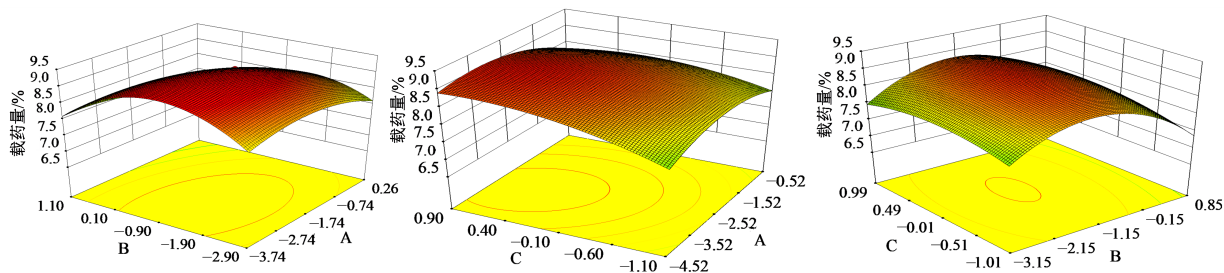


图4 响应面载药量的三维图

Fig. 4 Response surface the drug load 3D curved

**2.6.4 处方验证** 根据 Design Expert 软件综合评价得出最佳处方, $A$ 为1:1.75, $B$ 为1:1.25, $C$ 为1:9,按“2.2”项下方法制备3批样品,按“2.4”项下方法分别测定包封率与载药量,结果见表5。由表可知,包封率与载药量的实测值与预测值偏差较小,均在±5%以内,表明模型预测良好。

表5 预测和观察响应的比较( $n=3$ )Table 5 Compare of predicted and observed responses ( $n=3$ )

| 指数    | 预测响应/% | 观察响应/%     | 预测误差/%    |
|-------|--------|------------|-----------|
| $Y_1$ | 74.50  | 74.16±1.41 | 1.46±0.33 |
| $Y_2$ | 9.02   | 8.73±0.37  | 2.22±0.92 |

## 2.7 体外溶出度测定

采用透析袋法对TA-PC-SLN体外溶出度进行考察。将制备好的TA-PC-SLN混悬液及TA对照品溶液各20 mL分别加至处理好的透析袋内,透析袋两端扎紧,浸没在盛有200 mL pH值为7.2的PBS的烧杯中,并将烧杯放入37℃恒温水浴振荡器中以恒速振摇(100 r/min)。分别于0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h取透析外液2 mL,同时补充等体积空白溶出介质,样品经0.45 μm微孔滤膜滤过后,经HPLC法测定TA浓度,每个时间点做3份平行操作。计算各个时间点累计释放率,并对时间作图,释放曲线见图5。结果表明,TA-PC-SLN具有缓释效果。

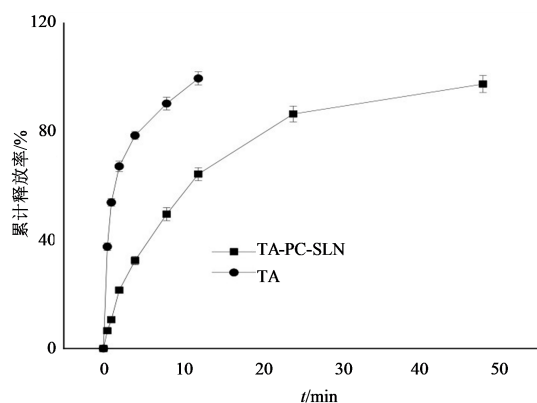


图5 TA及TA-PC-SLN的体外释放

Fig. 5 *In vitro* release of TA and TA-PC-SLN

## 3 讨论

TA为水溶性成分,直接进行SLN的制备时包封率极低,本研究将TA先制备为磷脂复合物的目的在于,先提高药物的脂溶性,再用合适的脂质载体材料进行SLN的制备,将磷脂复合物包裹于其中,使其包封率大大提高。

正交设计是药物制剂研究、提取等工艺中广泛使用的实验设计方法。但正交设计优化法受到所选线性模型的限制,只能指出某一因素的取值方向,无法求得极值,且在所选择的最优条件下测得的效应值与数学模型预测值偏差较大。星点设计-效应面优化法集数学和统计学于一体,比正交设计更简化,比均匀设计更全面,试验次数较少,试验精度更高,并适用于多因素、多水平试验<sup>[14]</sup>。

本研究通过单因素考察筛选出影响实验包封率的显著因素,进行响应面设计实验法对其处方进行再一次细致优化。得出当药物磷脂复合物与水相(泊洛沙姆,大豆卵磷脂和聚乙二醇2 000组成)

比例为1:1.75,大豆卵磷脂和聚乙二醇2 000比例为1:1.25,冰水分散相与微乳体积比例为9:1时,所制备的TA-PC-SLN具有最佳包封率和最大载药量,通过预测和观察响应的比较,确认其预测效果良好可靠。并且利用透析袋法考察了其体外释放,证明了TA-PC-SLN具有缓释的效果。本研究将TA-PC-SLN的粒径控制在100~150 nm,其有望实现TA的肝靶向作用<sup>[15]</sup>,为TA-PC-SLN的临床应用提供了有效数据。在纳米中药的研究中多为单一成分的研究,TA-PC-SLN的研究对中药多组分纳米中药的研究具有一定的参考意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 刘美霞,刘剑刚,李浩.以γ分泌酶为靶点治疗阿尔茨海默病的中药单体及组分研究进展[J].中国中西医结合杂志,2014,34(3):376-379.  
Liu M X, Liu J G, Li H. Research progress of monomers and components of Chinese herbal medicine targeting γ secretase in the treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Integr Med, 2014, 34(3): 376-379.
- [2] 刘葭,刘鑫,赵颖,等.当归有效组分多元释药系统的构建与初步评价[J].药学学报,2018,53(12):1976-1985.  
Liu J, Liu X, Zhao Y, et al. Construction and preliminary evaluation of multi-component drug release system of Angelica sinensis [J]. Acta Pharm Sin, 2018, 53(12): 1976-1985.
- [3] 李晓娜,董馨,包保全.基于Q-Exactive高分辨质谱的蒙中药材苦参化学成分的快速分析鉴定[J].中药材,2019,42(1):103-109.  
Li X N, Dong X, et al. Rapid analysis and identification of chemical constituents of Radix Sophorae flavescens based on Q-Exactive high resolution mass spectrometry [J]. J Chin Med Mater, 2019, 42(01): 103-109.
- [4] 季晓雯,张国伟.苦参生物碱的药理作用及临床应用[J].医学研究与教育,2014,31(6):85-88,99.  
Ji X W, Zhang G W. Pharmacological action and clinical application of Sophora flavescens alkaloids [J]. J Med Postgraduates, 2014, 31(6): 85-88, 99.
- [5] 张明发,沈雅琴.苦参碱抗肝癌药理作用及临床应用的研究进展[J].药物评价研究,2020,43(1):157-165.  
Zhang M F, Shen Y Q. Research advances in pharmacological effects and clinical application of matrine against hepatoma [J]. Drug Eval Res, 2020, 43 (1): 157-165.
- [6] 李修炜,王记南,张健.基于PAK6和Wnt/β-catenin信

- 号通路的苦参碱对肺癌放疗敏感性的影响研究 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 447-453.
- Li X W, Wang J N, Zhang J, et al. Sensitivity of matrine to radiotherapy for lung cancer based on PAK6 and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(2): 447-453.
- [7] 刘平, 陈晓杰. 苦参碱上调 LncRNA BDNF-AS 抑制宫颈鳞癌细胞增殖的机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1593-1599
- Liu P, Chen X J. Mechanism of matrine inhibiting proliferation of cervical squamous carcinoma cells by up-regulating LncRNA BDNF-AS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(2): 447-453.
- [8] 潘迪, 张雯, 张荣, 等. 氧化苦参碱抑制胰岛素诱导人结肠癌 HT-29 细胞的增殖及迁移作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 36-42.
- Pan D, Zhang W, Zhang R, et al. Oxymatrine inhibits insulin-induced proliferation and migration of human colon cancer HT-29 cells [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(24): 36-42.
- [9] 曹建, 魏润杰, 邓茹芸, 等. 苦参碱及氧化苦参碱抑制肿瘤作用机制研究进展及展望 [J]. 中草药, 2019, 50(03): 753-760.
- Cao J, Wei R J, Deng R Y, et al. Research progress and prospect of the mechanism of matrine and oxymatrine in inhibiting tumor [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(3): 753-760.
- [10] 靳雯臻, 檀华进, 汪凯康, 等. 苦参碱固体脂质纳米粒的构建及包封率测定方法研究 [J]. 中国药学杂志, 2020, 55(12): 1015-1020.
- Jin W Z, Tan H J, Wang K K, et al. Construction and determination of encapsulation efficiency of matrin solid lipid nanoparticles [J]. Chin Pharm J, 2020, 55(12): 1015-1020.
- [11] 张梦, 柯玲玲, 唐直婕, 等. 乳糖脂修饰氧化苦参碱脂质体在家兔体内的药代动力学研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1777-1781.
- Zhang M, Ke L L, Tang Z J, et al. Pharmacokinetics of lactose lipid-modified oxymatrine liposomes in rabbits [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(10): 1777-1781.
- [12] 董海娟, 盛龙生, 王广基, 等. HPLC-MS 法测定 Beagle 犬血浆中槐果碱的浓度及其药代动力学研究 [J]. 药学与临床研究, 2013, 21(5): 513-515.
- Dong H J, Sheng L S, Wang G J, et al. Determination of sophorine concentration in plasma of Beagle dogs by HPLC-MS and its pharmacokinetics [J]. Pharm Clin Res, 2013, 21(5): 513-515.
- [13] 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.
- Song C X, He S L, Cao C F, et al. Research progress of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for drug delivery [J]. Pharm Res, 2016, 35(4): 234-236, 245.
- [14] Ma H D, Guo D Y, Fan Y, et al. Paeonol-loaded ethosomes as transdermal delivery carriers: design, preparation and evaluation [J]. Molecules, 2018, 23(7): E1756.
- [15] Zhang Y N, Poon W, Tavares A J, et al. Nanoparticle-liver interactions: Cellular uptake and hepatobiliary elimination [J]. J Control Release, 2016, 240: 332-348.

[责任编辑 兰新新]