

盐酸青藤碱多囊脂质体的制备及其释放特性研究

姜素芳¹, 姚 瑶², 陶昱斐², 丁燕飞², 向璧好¹

(1. 湖南师范大学医学院, 湖南 长沙 410006; 2. 中南大学药学院, 湖南 长沙 410006)

摘 要:目的 制备包封率较高且具有较好缓释性能的盐酸青藤碱多囊脂质体。方法 用复乳法制备盐酸青藤碱多囊脂质体, 以包封率和囊形为考察指标, 采用均匀设计优选最佳处方和工艺, 并考察其形状、粒径及体外释放性能。结果 制得的盐酸青藤碱多囊脂质体包封率在 80% 以上, 形状圆整, 粒径较均匀, 多数分布在 20~30 μm , 体外释放符合 Higuchi 方程, 释药 $t_{1/2}$ 为 52.7 h。结论 盐酸青藤碱多囊脂质体处方工艺稳定可行, 包封率高且具有良好的缓释特性。

关键词: 盐酸青藤碱; 多囊脂质体; 缓释; 释放特性

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1158-04

Preparation and release character of sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes

JIANG Su-fang¹, YAO Yao², TAO Yu-fei², DING Yan-fei², XIANG Bi-yu¹

(1. Medical College, Hunan Normal University, Changsha 410006, China; 2. School of Pharmaceutical Science, Central South University, Changsha 410006, China)

Abstract: **Objective** To prepare the sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes with high entrapment efficiency and sustained release character. **Methods** Multiple emulsion method was used to prepare the sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes. Uniform design was applied to optimize the formulation and pharmaceutical process. The shape, the particle size, and the release character of the liposome were evaluated. **Results** The sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes prepared were spherical and the size of majority particles was in the range of 20—30 μm and well distributed. The encapsulation efficiency was more than 80% and its *in-vitro* release profile accorded well with the Higuchi model with $t_{1/2}$ up to 52.7 h. **Conclusion** The formulation and pharmaceutical process of the sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes are stable and feasible with the high encapsulation efficiency and good sustained-release character.

Key words: sinomenine hydrochloride; multivesicular liposomes; sustained release; release character

盐酸青藤碱是从青风藤中提取的青藤碱的盐酸盐, 具有抗炎、镇痛、免疫抑制、降压、抗心律失常等药理作用, 临床用于治疗风湿、类风湿关节炎及心律失常等^[1]。盐酸青藤碱注射剂生物半衰期较短, 需频繁给药, 且常见皮肤瘙痒等过敏反应。多囊脂质体是采用贮库泡沫技术于 1983 年研制成功的一种新型脂质体, 由多个非同心的类脂双分子囊泡组成, 比传统脂质体具有更多的包封容积和较大粒径, 主要用于运载亲水性药物^[2]。而当其中某个囊泡破裂时, 活性物质从破裂囊泡释出, 完整的囊泡仍然可以保持原状, 因而有很好的缓释效应^[3]。多囊脂质体注射途径广泛, 有膜内、硬脑膜内、皮下、肌内、关节内及眼内等多种给药途径。因为有相对较大的粒径, 经体间

隙、体腔和组织注射后, 被淋巴和全身循环吸收的药物量很小。因此, 多囊脂质体大部分停留在靶部位, 为药物的缓释提供一个真正的贮库^[4]。本实验研究了盐酸青藤碱多囊脂质体的制备方法及其释药性能, 以使其注射后能在局部缓慢释药, 减少给药次数, 提高疗效并降低不良反应。

1 仪器与试药

XSZ—G 生物显微镜(SUNNY), FJ—200 高速分散均质机(上海标本模型厂), 紫外可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司), TG16G 台式高速离心机(湖南凯达科学仪器有限公司), SHA—C 水浴恒温振荡器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

盐酸青藤碱(湖南正清制药有限公司, 质量分数

收稿日期: 2007-10-28

作者简介: 姜素芳(1972—), 女, 湖南邵阳人, 湖南师范大学医学院药剂教研室讲师, 硕士, 1994 年获得中国药科大学药物制剂专业本科学位, 2005 年获得中南大学药学院药剂专业硕士学位, 主要从事药剂学的教学与药物传递系统的研究。
Tel: 13975858164 E-mail: sufang_jiang@sina.com

为 98.7%),卵磷脂(EPC,德国 Lipoid 公司),三油酸甘油酯(TO,化学纯,上海试剂二厂),胆固醇(CH,生物试剂,天津市博迪化工有限公司),L-赖氨酸(LY,生物试剂,上海源聚生物科技有限公司),膜稳定剂(OA,分析纯,天津市大茂化学试剂厂),其余试剂均为分析纯或化学纯。

2 方法与结果

2.1 青藤碱的 HPLC 法测定

2.1.1 色谱条件:Hypersil GOLD C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.01 mol/L NaH₂PO₄(15:85);柱温为 30℃;体积流量为 1 mL/min;检测波长为 266.0 nm;进样量为 20 μL。此条件下盐酸青藤碱对照品、盐酸青藤碱多囊脂质体样品及阴性对照品的色谱行为见图 1。结果表明,阴性对照无干扰,方法可行。

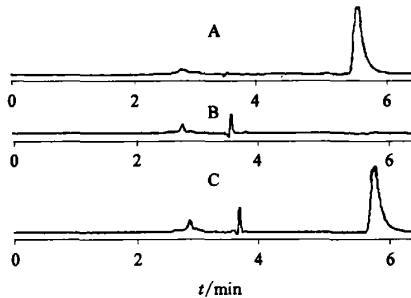


图 1 盐酸青藤碱(A)、空白(B)和盐酸青藤碱多囊脂质体(C)的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of sinomenine hydrochloride (A), black group (B), and sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes (C)

2.1.2 标准曲线的制备:精密称取盐酸青藤碱适量,用蒸馏水精密配成质量浓度分别为 5.0、10、20、30、40、60、80 μg/mL 溶液,进样测定峰面积。以峰面积为横坐标,质量浓度为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $C=0.064\ 02\ A-0.324\ 6$, $r^2=0.999\ 6$ 。

2.2 包封率的测定:取多囊脂质体混悬液,加等体积 0.9%NaCl 溶液混匀,2 500 r/min 离心 5 min,分离上清液和沉淀。取上清液 20 μL 注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算未包封盐酸青藤碱的质量。另取等量脂质体混悬液,加入异丙醇使溶解澄清,适当稀释后取 20 μL 注入色谱仪,测定峰面积,计算盐酸青藤碱的总质量,计算包封率[包封率=(盐酸青藤碱的总质量-未包封盐酸青藤碱的质量)/盐酸青藤碱的总质量×100%]。

2.3 盐酸青藤碱多囊脂质体的制备

2.3.1 制备工艺:按处方称取 EPC、CH、TO 以及稳定剂 OA,加入氯仿使完全溶解(油相),另取蔗糖溶于 PBS 中,配成质量浓度为 4%的蔗糖溶液,加入盐酸青藤碱使溶解(内水相)。将油相和内水相等体积^[2,5]混合后,于 30℃水浴条件下高速剪切 10 min,转速 9 000 r/min,至形成 W/O 型初乳,将此初乳快速注入含 30 mmol/L L-赖氨酸的 4%葡萄糖溶液(外水相)中,用乳匀机剪切 10 s,使形成 W/O/W 型复乳,迅速将此复乳倒至 3 倍体积的外水相中稀释后,用氮气吹除氯仿至溶液呈半透明状,即得盐酸青藤碱多囊脂质体混悬液。

2.3.2 均匀设计试验优化处方:根据单因素考察以及文献报道^[4],选择内水相中药物浓度(X_1)、膜稳定剂用量(X_2)、内水相的 pH 值(X_3)、TO 用量(X_4)以及内水相中 PBS 质量浓度(X_5)为考察因素,每个因素选取 5 个水平,其他采用固定条件,平行操作,应用 $U_{10}(10^5)$ 表进行均匀试验设计。以包封率(满分 100 分,占 60%)和多囊形态(满分 100 分,共占 40%)。其中囊圆整度 30 分:圆整光滑 30 分,少数不规则 20 分,大多不规则 10 分;均匀度 30 分:大小均匀 30 分,比较均匀 20 分,不均匀 10 分;成型性 40 分:全部成型无碎片 40 分,大部分成型尚有少量碎片 30 分,部分成型但碎片较多 20 分,极少成型大量碎片 10 分)为指标,按综合评分 $Y=\text{包封率} \times 60\% + \text{多囊形态} \times 40\%$ 评价,试验安排及结果见表 1。

表 1 $U_{10}(10^5)$ 均匀设计及结果

Table 1 Design and results of $U_{10}(10^5)$ uniform

试验号	$X_1/$ (mg·mL ⁻¹)	$X_2/$ (mmol·L ⁻¹)	X_3	$X_4/$ (mmol·L ⁻¹)	$X_5/$ (mmol·L ⁻¹)	Y 综合评分
1	1 (10)	3 (30)	4 (6)	5 (15)	9 (60)	65.3
2	2 (10)	6 (35)	8 (7)	10 (30)	7 (50)	64.3
3	3 (15)	9 (50)	1 (5.5)	4 (10)	5 (40)	70.4
4	4 (15)	1 (20)	5 (6.5)	9 (30)	3 (30)	72.4
5	5 (20)	4 (30)	9 (7.5)	3 (10)	1 (20)	81.6
6	6 (20)	7 (40)	2 (5.5)	8 (20)	10 (60)	78.5
7	7 (25)	10 (50)	6 (6.5)	2 (5)	8 (50)	73.4
8	8 (25)	2 (20)	10 (7.5)	7 (20)	6 (40)	68.3
9	9 (30)	5 (35)	3 (6)	1 (5)	4 (30)	66.3
10	10 (30)	8 (40)	7 (6.5)	6 (15)	2 (20)	68.9

将数据输入计算机,用 DPS 数据处理软件分析结果,用二次多项式逐步回归,得回归方程: $Y=17.516\ 3+19.152\ 2\ X_3-0.016\ 7\ X_4-0.677\ 7\ X_5+0.009\ 6\ X_5^2-0.000\ 9\ X_1X_4-0.252\ 2\ X_2X_3+0.042\ 5\ X_2X_5-0.255\ 1\ X_3X_5$, $R=0.968$, $s=0.000\ 45$, $P<0.01$, F 检验通过,各因素优化值为 $X_1=23.02$, $X_2=21.76$, $X_3=7.98$, $X_4=10.19$, $X_5=21.50$ 。

根据优化条件结合实验具体情况,最终选择处方为药物质量浓度 23 mg/mL,稳定剂用量为 22 mmol/L, pH 值为 7.5, TO 用量为 10 mmol/L, PBS 浓度为 20 mmol/L, 代入方程, 得优化预测值 $Y=89.9$ 。

2.4 多囊脂质体的粒径和形态: 通过光学显微镜观察, 可见多囊脂质体呈现光滑圆整的球体状, 内由很多小囊泡组成, 见图 2。计数 500 个多囊脂质体, 测定粒径, 其中最大粒径为 $38.5\ \mu\text{m}$, 最小粒径为 $3\ \mu\text{m}$, 80% 以上分布在 $20\sim30\ \mu\text{m}$, 呈近似正态分布, 见图 3。

2.5 验证试验: 按优选处方, 制备 3 批盐酸青藤碱多囊脂质体, 观察其形态并测定包封率, 结果见表 2, 与预测值基本接近, 且重现性较好。

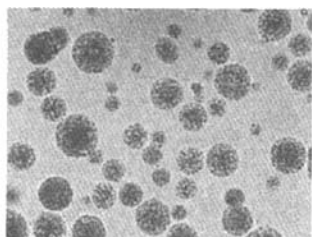


图 2 盐酸青藤碱多囊脂质体的光学显微镜图

Fig. 2 Light micrograph of sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes

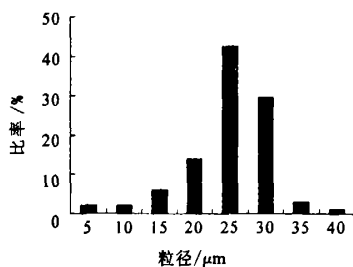


图 3 盐酸青藤碱多囊脂质体的粒径分布图

Fig. 3 Size distribution of sinomenine hydrochloride multivesicular liposomes

表 2 3 批样品的形态和包封率测定结果

Table 2 Appearance and encapsulation efficiency of three batches of samples

批号	形态	包封率/%	综合评分
20060916	圆整、大小均匀	86.3	87.8
20060917	圆整、大小均匀	84.6	86.8
20060918	圆整、大小均匀	88.4	89.0

2.6 体外释放行为考察: 取制备所得盐酸青藤碱多囊脂质体悬液, 经离心洗涤去除外水相中药物, 沉降的盐酸青藤碱多囊脂质体颗粒以 0.9% 氯化钠溶液稀释至 20 mL, 密封, 置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温水浴中, 50 r/min 振荡, 分别于 0、0.5、4、8、12、24、48、72、96、120、168 h 取

样, 微孔滤膜滤过后测滤液中药物质量浓度, 计算各时间点累积释药率, 结果见图 4。可见释药曲线符合 Higuchi 方程 $Q=7.18\ t^{1/2}-2.14$, $r=0.992$, 释药 $t_{1/2}$ 为 52.7 h, 具有良好的缓释性能。

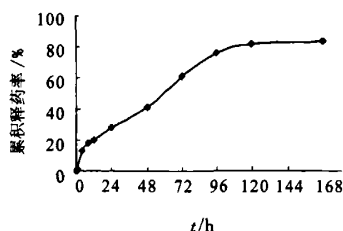


图 4 盐酸青藤碱多囊脂质体的体外释放曲线
($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

Fig. 4 Release profile of sinomenine hydrochloride from multivesicular liposomes ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

3 讨论

相对传统脂质体, 多囊脂质体的脂质成分中除了磷脂等两性磷脂外, 尚需加入至少 1 种中性磷脂如三油酸甘油酯, 它们无成膜能力但能填充于脂质双分子层交汇处的疏水空间, 稳定交叉处的连接, 还能以小油滴形式分散在水相隔室中, 使脂质体包封药物后具有不连续的药物溶液囊泡, 因而具有更多的包封容积和更大的粒径^[7,8]。

目前国内外用于制备多囊脂质体的方法主要为复乳法, 因而形成稳定的复乳至关重要。处方的筛选过程中发现, 除了需在油相中加入膜稳定剂外, 在水相中也应加入辅助乳化剂稳定复乳, 否则形成的复乳不稳定, 除去有机溶剂后易破裂而无法形成多囊脂质体。制备初乳时油水两相比亦有一定影响, 以二者比例为 1 时更稳定。其次, 内水相的 pH 值对膜的稳定性和包封率也有一定影响, pH 值较高时所得多囊脂质体更稳定, 包封率更高, 这可能与 pH 值影响药物的跨膜转运及膜的荷电性有关^[9]。另外, 在内水相中加入一定质量浓度的蔗糖, 既可作为渗透压调节剂, 避免膜内外渗透压差过大而导致破裂^[10], 又能增加内水相的黏度, 提高稳定性。

多囊脂质体的膜是随着有机溶剂的挥发在原油相部位形成的, 制备温度及溶剂挥发速率直接影响多囊脂质体的形成。制备时温度太高或太低, 除有机溶剂速度过快或过慢, 都容易造成复乳在转化成多囊脂质体之前即已破裂, 最终无法形成多囊脂质体。在制备过程中, 最好始终保持相同的温度, 避免介质的表面张力以及表面活性剂的 HLB 值随着温度的变化而发生变化, 影响复乳的稳定性^[11]。本研究过程中考察了不同温度条件下的成囊情况, 最终选择

始终控制温度为 30 ℃, 所得复乳较稳定, 囊形较好。

多囊脂质体粒径较大, 对机械损伤、挤压较为敏感, 采用低速离心即能方便有效地达到分离的目的。本实验考察了不同离心转速对包封率的影响, 最终确定的条件为 2 500 r/min 离心 5 min。

参考文献:

- [1] 刘强, 周莉玲, 李锐. 青藤碱的研究概况[J]. 中草药, 1997, (4): 247-249.
- [2] Zhong H J, Deng Y J, Wang X M, *et al.* Multivesicular liposome formulation for the sustained delivery of breviscapine [J]. *Int J Pharm*, 2005, 301(1-2): 15-24.
- [3] Katre N V, Asherman J, Schaefer H, *et al.* Multivesicular liposome (DepoFoam) technology for the sustained delivery of insulin-like growth factor-I (IGF-I) [J]. *J Pharm Sci*, 1998, 87(11): 1341-1346.
- [4] Stephen B. H. Clinical applications of a novel sustained-release injectable drug delivery system: DepoFoam™ technology [J]. *Cancer J*, 2001, 3(7): 219-227.
- [5] Qiang Y, John A, Mark S, *et al.* DepoFoam™ technology: a vehicle for controlled delivery of protein and peptide drugs [J]. *J Controlled Release*, 2000, 64: 155-166.
- [6] 肖超菊, 齐宪荣, 艾尼瓦尔, 等. 顺铂缓释多囊脂质体的制备和体外释放性能研究[J]. 药学报, 2003, 38(2): 133-137.
- [7] Sankaram M. A lipid based depot (DepoFoam 1 technology) for sustained release drug delivery [J]. *Prog Lipid Res*, 2002, 41: 392-406.
- [8] Ain S K, Jain R K. Design and development of multivesicular liposomal Depot delivery system for controlled systemic delivery of acyclovir sodium [J]. *Pharm Sci Tech*, 2005, 6(1): 35-41.
- [9] Jia-ai A Z, John P. Effect of pH, ionic strength and oxygen burden on the chemical stability of EPC/cholesterol liposomes under accelerated conditions [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50: 357-364.
- [10] Laugel C, Chaminade P, Baillet A, *et al.* Moisturizing substance entrapped in w/o/w emulsions analytical methodology for formulation, stability and release studies [J]. *J Controlled Release*, 1996, 38(1): 59-67.
- [11] 王晓梅, 唐星, 何海冰. 多囊脂质体的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(15): 1242-1246.

复合酶法提取丹参中丹参素的研究

杨皓明, 齐 巍, 何志敏*, 王红蕾

(天津大学化工学院化学工程研究所, 天津 300072)

摘要:目的 研究酶在丹参提取过程中的作用, 确定不同因素对酶解提取效果的影响。方法 采用单因素实验方法与紫外检测分析方法, 以丹参素提取率为评价指标, 对原药粒度、酶用量、固液比、第一步酶解时间及第二步水提时间 5 个工艺参数分别进行实验, 以确定酶法提取的最佳工艺条件。结果 酶法提取丹参素的最佳工艺条件为: 酶解温度 50 ℃; pH=4.6; 粒度为 20~35 目; 酶底物质量比 1:200; 第一步酶解时间为 80 min, 固液比为 1:15; 第二步水提时间为 40 min, 固液比为 1:9。结论 通过本工艺得到的丹参素提取率为 84.61%, 且工艺条件温和, 对设备要求低, 不仅可以降低能耗, 还可以避免多糖类物质的糊化, 并减小丹参素在提取过程中被氧化的可能。

关键词:丹参素; 酶提取; 工艺条件

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1161-04

Process of multi-enzyme assisted extraction of Danshensu from *Salvia miltiorrhiza*

YANG Hao-ming, QI Wei, HE Zhi-min, WANG Hong-lei

(Chemical Engineering Research Center, School of Chemical Engineering and Technology,

Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of enzyme in the extraction of *Salvia miltiorrhiza* and the influence of different factors on enzymatic extraction. **Methods** Monofactorial experiments were employed to examine the effects of the substrate size, enzyme consumption, ratio of solid to liquid, 1st enzymatic extraction time, and 2nd water extraction time on the extraction of *S. miltiorrhiza*. Ultraviolet-visible spectrophotometry was used to analyze the results and Danshensu extraction rate was regarded as standard. **Results** The data showed that the highest Danshensu extraction rate (84.61%) could be achieved at: $t=50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=4.6$, granularity = 20–35 meshes, E-S = 1:200, 1st enzymatic extraction time = 80 min, S-L = 1:15, 2nd water extraction time = 40 min, S-L = 1:9. **Conclusion** This process could be conducted

收稿日期: 2007-10-30

基金项目: 天津市应用基础研究计划面上项目(05YFJMJC09500)

作者简介: 杨皓明(1981—), 男, 天津市人, 天津大学化工学院 2003 级硕士研究生。

* 通讯作者 何志敏 Tel: (022)27407799 E-mail: zhe@tju.edu.cn

盐酸青藤碱多囊脂质体的制备及其释放特性研究

作者：[姜素芳](#), [姚瑶](#), [陶昱斐](#), [丁燕飞](#), [向璧好](#)
作者单位：[姜素芳, 向璧好 \(湖南师范大学医学院, 湖南长沙, 410006\)](#), [姚瑶, 陶昱斐, 丁燕飞 \(中南大学药学院, 湖南长沙, 410006\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (8)
被引用次数: 4次

参考文献(11条)

1. 刘强;周莉玲;李锐 [青藤碱的研究概况](#) 1997 (04)
2. Zhong H J;Deng Y J;Wang X M [Muhivesicular liposome formulation for the sustained delivery of breviscapine](#) 2005 (1-2)
3. Katre N V;Asherman J;Schaefer H [Multivesicular liposome \(DepoFoam\) technology for the sustained delivery of insulin-like growth factor.I \(IGF.I\)](#) [外文期刊] 1998 (11)
4. Stephen B.H [Clinical applications of a novel sustained-release injectable drug delivery system:DepoFoamTM technology](#) 2001 (07)
5. Qiang Y;John A;Mark S [DepoFoamTM technology:a vehicle for controlled delivery of protein and peptide drugs](#) 2000
6. 肖超菊;齐宪荣;艾尼瓦尔 [顺铂缓释多囊脂质体的制备和体外释放性能研究](#) [期刊论文]-[药学报](#) 2003 (02)
7. Sankaram M [A lipid based depot \(DepoFoam I technology\) for sustained release drug delivery](#) [外文期刊] 2002 (5)
8. Ain S K;Jain R K [Design and development of muhivesicular liposomal Depot delivery system for controlled systemic delivery of acyclovir sodium](#) 2005 (01)
9. Jia-ai A Z;John P [Effect of pH, ionic strength and oxygen burden on the chemical stability of EPC/cholesterol liposomes under accelerated conditions](#) 2000
10. Laugel C;Chaminade P;Baillet A [Moisturizing substance entrapped in w/o/w emulsions analytical methodology for formulation, stability and release studies](#) 1996 (01)
11. 王晓梅;唐星;何海冰 [多囊脂质体的研究进展](#) [期刊论文]-[中国新药杂志](#) 2006 (15)

本文读者也读过(2条)

1. [林俏慧](#). [缪珑](#). [潘力](#). [罗立新](#). [郑穗平](#). [钟伟](#) [抗体交联脂质体的制备](#) [期刊论文]-[华南理工大学学报\(自然科学版\)](#) 2003, 31 (9)
2. [陈健](#). [张灵芝](#). [谢彦瑰](#). [CHEN Jian](#). [ZHANG Ling-zhi](#). [XIE Yan-gui](#) [杨梅苷脂质体的薄膜超声法制备工艺研究](#) [期刊论文]-[中国食品添加剂](#) 2010 (4)

引证文献(4条)

1. [韩腾飞](#). [程亮](#). [危红华](#). [宋艳丽](#). [李莎莎](#). [鞠大宏](#). [赵宏艳](#). [刘梅洁](#). [郝保华](#) [盐酸青藤碱醇质体的制备及其性质考察](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2012 (7)
2. [文震](#). [刘波](#). [李琼](#). [郑宗坤](#). [游新奎](#). [蒲一涛](#) [超临界CO2快速膨胀制备鱼腥草挥发油脂质体](#) [期刊论文]-[过程工程学报](#) 2009 (2)

3. [程亮](#), [韩腾飞](#), [李莎莎](#), [宋艳丽](#), [鞠大宏](#), [赵宏艳](#), [刘梅洁](#), [郝保华](#) [盐酸青藤碱微囊的制备及其质量评价](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2012(5)
4. [苏璇](#), [吴素香](#) [青藤碱新剂型研究进展](#)[期刊论文]-[海峡药学](#) 2009(9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808015.aspx