

和厚朴酚固体脂质纳米粒的制备及性质研究

张 卿^{1,2}, 张良珂^{1,2*}, 袁 佩², 汪程远³

1. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016

2. 重庆医科大学生命科学院, 重庆 400016

3. 重庆工商大学 药物化学与化学生物学研究中心, 重庆 400067

摘要: 目的 制备具有缓释作用的和厚朴酚固体脂质纳米粒。方法 采用乳化蒸发-低温固化法制备和厚朴酚固体脂质纳米粒, 通过正交试验对方剂进行优化, 并对其包封率、粒径、体外释放等进行考察。结果 制备的固体脂质纳米粒的平均粒径为 159 nm, 包封率为 77.1%。结论 乳化蒸发-低温固化法可用于制备和厚朴酚固体脂质纳米粒。

关键词: 和厚朴酚; 固体脂质纳米粒; 乳化蒸发-低温固化法; 缓释作用; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)04-0691-03

Preparation of honokiol solid lipid nanoparticles and their characteristic

ZHANG Qing^{1,2}, ZHANG Liang-ke^{1,2}, YUAN Pei², WANG Cheng-yuan³

1. School of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

2. Institute of Life Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

3. Research Center of Medical Chemistry and Chemical Biology, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China

Abstract: Objective To prepare sustained-release honokiol solid lipid nanoparticles (H-SLN). **Methods** The solid lipid nanoparticles were prepared by emulsion-evaporation-solidified at low temperature method. The optimum condition was performed based on the orthogonal design to examine the entrapment efficiency, the mean diameter of the particles and the release *in vitro*. **Results** The entrapment efficiency of honokiol in the nanoparticles was 77.1% and the mean diameter of the particles was 159 nm. **Conclusion** The emulsion-evaporation-solidified at low temperature method can be used to prepare honokiol solid lipid nanoparticles.

Key words: honokiol; solid lipid nanoparticles; emulsion-evaporation-solidified at low temperature method; sustained-release; orthogonal test

和厚朴酚(honokiol, H)是从厚朴中分离的带有烯丙基的连苯二酚类化合物, 具有诱导肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞分化、抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤转移、抗肿瘤血管形成、逆转肿瘤多药耐药等作用^[1-2]。但是和厚朴酚水溶性差, 在机体内难于吸收, 阻碍了其在临床上的广泛应用。

固体脂质纳米粒(SLN)是近年迅速发展的一种新型纳米粒给药系统, 是由可生物降解的高熔点脂质构成的药物载体骨架材料, 有控释、靶向的功能^[3-4]。其骨架材料硬脂酸作为一种长链饱和脂肪酸, 在室温下呈固态, 理化性质稳定, 是一种理想的载体材料^[5-6]。本实验采用乳化蒸发-低温固化法制备和厚朴酚固体脂质纳米粒(H-SLN), 能显著增

加细胞和组织的靶向性, 通过增加溶解性改善药物的生物利用度^[7-8], 增加其在体内的吸收。

1 仪器与材料

分析天平(Sartorius A200s, 德国); UV—3150型紫外分光光度计(日本岛津); 恒温加热磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司); 激光粒径分析仪(Zetasizer Nano ZS90, 英国马尔文公司); SHZ—88台式水浴恒温振荡器(江苏太仓市试验设备厂)。

和厚朴酚(质量分数 98.48%, 西安小草植物科技有限公司); 卵磷脂(北京双旋微生物培养基制品厂); 硬脂酸(重庆博艺化学试剂有限公司); Brij78(SIGMA); 葡聚糖凝胶 G50(上海如吉生物科技发展有限公司); 二氯甲烷、乙醇均为分析纯, 水为蒸

收稿日期: 2010-07-04

基金项目: 重庆市科委自然科学基金资助项目(CSTC, 2008BB5397); 重庆市渝中区科技计划项目资助(20100203); 重庆市卫生局课题资助(2010-2-202)

作者简介: 张 卿(1986—), 女, 重庆人, 硕士研究生, 主要从事靶向给药系统研究。E-mail: happyvicpower@sina.com

*通讯作者 张良珂 Tel: (023)68485078 E-mail: zlkdyx@126.com

馏水。

2 方法与结果

2.1 H-SLN 的制备

采用乳化蒸发-低温固化法^[9-10]制备和厚朴酚固体脂质纳米粒。取处方量的卵磷脂和硬脂酸溶于适量乙醇中，超声使其充分溶解；取处方量和厚朴酚溶于适量二氯甲烷中，合并构成有机相。另取处方量 Brij78 溶于适量注射用水中，构成水相。将有机相在 1 000 r/min 搅拌下注入水相中，温度保持在 (75±2) °C，继续搅拌 1.5 h，使有机溶剂完全挥发并使体系浓缩至约 5 mL。将所得的半透明体系快速混于另一 0~2 °C 的 1 000 r/min 搅拌的 5 mL 的水相中，继续搅拌 1 h，即得 H-SLN。

2.2 包封率的测定

2.2.1 标准曲线的制备 精密称取和厚朴酚适量，用乙醇溶解并定容至刻度，以乙醇为空白，用紫外分光光度计在 200~400 nm 内扫描，结果在 293.6 nm 处有最大吸收，相关辅料在该波长处无明显吸收。

精密称取和厚朴酚适量置 10 mL 量瓶中，乙醇溶解并定容，得和厚朴酚储备液。精密吸取不同体积的储备液，稀释成质量浓度分别为 20、18、16、14、12、10、8、6 μg/mL 的系列溶液，采用紫外分光光度法，以吸光度为纵坐标，药物质量浓度为横坐标进行线性回归，得回归方程 $Y=0.0423X-0.1015$ ， $r=0.9999$ ，表明和厚朴酚在 6~20 μg/mL 线性关系良好。

2.2.2 包封率测定方法 精密吸取适量和厚朴酚混悬体系上葡聚糖凝胶 G-50 (Sephadex G-50) 柱，用蒸馏水洗脱，接取带乳光流份，加乙醇溶解并定容；另取等量样品直接加乙醇溶解并定容。将两种样品分别用紫外分光光度法测定出吸光度并带入回归方程计算药物质量浓度，计算包封率。

$$\text{包封率} = W_1 / W_2$$

W_1 为纳米粒混悬液通过 Sephadex G-50 后测得的和厚朴酚的量， W_2 为纳米粒混悬液中总和厚朴酚的量

2.3 处方优化

在预试验基础上，选取 3 个主要影响因素：投药量与卵磷脂和硬脂酸的总量的药脂比 (A)，卵磷脂与硬脂酸比例 (B)，Brij78 用量 (C) 进行考察^[11]。以包封率为考察指标，按 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排试验，筛选最佳处方组成和制备工艺。因素水平见表 1，正交试验设计与结果见表 2。

由极差值 R 可知各因素影响的主次顺序是 $C >$

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A	B	C/ mg
1	1 : 4	1 : 1	35
2	1 : 5	2 : 1	40
3	1 : 6	3 : 1	45

表 2 正交试验的结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	因素			包封率/%
	A	B	C	
1	1	1	1	73.3
2	1	2	2	78.8
3	1	3	3	84.9
4	2	1	2	66.4
5	2	2	3	83.0
6	2	3	1	66.9
7	3	1	3	80.6
8	3	2	1	76.6
9	3	3	2	80.8
K_1	237.0	220.3	216.8	
K_2	216.3	238.4	226.0	
K_3	238.0	232.6	248.5	
R	21.7	18.1	31.7	

$A > B$ ，说明 Brij78 用量、药脂比、卵磷脂与硬脂酸比的影响依次减弱。综合直观分析与试验结果，初步确定最佳处方为 $A_3B_2C_3$ ，即药脂比 1 : 6，Brij78 用量 45 mg，卵磷脂与硬脂酸比例为 2 : 1。按照最佳处方制备纳米粒，包封率 77.1%。

2.4 H-SLN 的粒径分析

取新鲜制备的样品，加水稀释至适当浓度，测定其粒径。粒径分布见图 1。H-SLN 平均粒径 159 nm，分布较窄，基本呈正态分布。

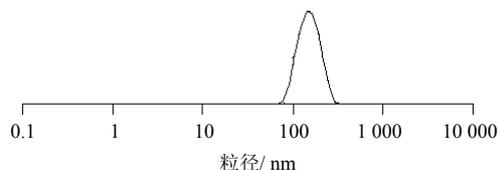


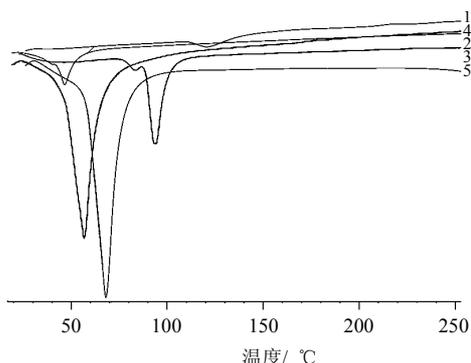
图 1 和厚朴酚固体脂质纳米粒粒径分布图

Fig. 1 Particle size distribution of H-SLN

2.5 H-SLN 的热分析

将和厚朴酚、硬脂酸、卵磷脂、Brij78、H-SLN 冻干粉用 DSC 分析仪进行差示扫描热 (differential

scanning calorimetry, DSC) 分析。测定气氛为 N₂, 扫描范围 0~300 °C, 结果见图 2。H-SLN 在和厚朴酚的熔点峰处无峰, 说明药物以无定形态包封于纳米粒中。



1-卵磷脂 2-和厚朴酚固体脂质纳米粒
3-和厚朴酚原料药 4-Brij78 5-硬脂酸
1-lecithin 2-honokiol SLN 3-honokiol 4-Brij78 5-stearic acid

图 2 和厚朴酚及其制剂和辅料的差示扫描量热图谱
Fig. 2 DSC Curves of honokiol, its preparations and accessories

2.6 体外释放度

取适量 H-SLN, 置于透析袋中, 放置于 25 mL 释放介质为含 0.5% 十二烷基硫酸钠的磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 中, 温度为 (37±0.5) °C, 置于水浴恒温振荡器中, 分别于不同时间点取样 5.0 mL, 然后补加相同体积的释放介质。紫外分光光度法测定释放介质中药物质量浓度, 计算累积释放率。结果见图 3。可见 H-SLN 释放初期药物有突释现象, 这可能是部分药物吸附于纳米粒表面或包藏于纳米粒表层。包藏于纳米粒骨架中的药物释放较为缓慢, 96 h 释放率达到 80% 以上。

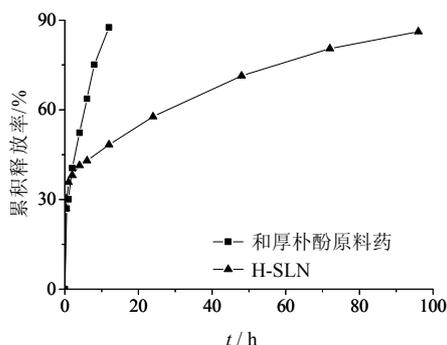


图 3 和厚朴酚体外释放曲线
Fig. 3 In vitro release curves of honokiol and H-SLN

3 讨论

Brij78 是一种亲脂端为硬脂基, 亲水端为聚乙二醇类 (PEG) 的非离子性表面活性剂。由于其亲

脂端与载体材料硬脂酸完全一致, 在形成硬脂酸微乳时, Brij78 可以牢固地与硬脂酸结合, 而使 PEG 化学键合在纳米粒的表面。相对于结合力较弱, 吸附和解吸速度也都较快的物理吸附, 化学键合不容易在体内过早地从纳米粒表面脱吸附, 有望实现固体脂质纳米粒在体内的长循环^[12]。

固体脂质纳米粒混悬液是热力学不稳定体系, 制备工艺会影响其稳定性, 如油相注入水相的速度过快容易引起粒子的聚集; 搅拌时间过短不利于纳米粒的分散; 微乳降温速度太慢或者冰水浴时间太短, 都不能使纳米粒得到足够硬化。

和厚朴酚是难溶性中药成分, 通过制备成固体脂质纳米粒而改善其溶解性, 有望增加其在体内的吸收, 并具备缓释的作用。

参考文献

- [1] 王冬娥. 和厚朴酚的药理作用及其抗肿瘤的机制研究进展 [J]. 医学综述, 2009, 15(11): 1725-1727.
- [2] 王立青, 江荣高, 陈蕙芳. 厚朴酚与和厚朴酚药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(10): 1591-1594.
- [3] 韩 静, 李 智, 岑 琴, 等. 紫杉醇固体脂质纳米粒的制备和质量评价 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 996-1000.
- [4] 许海玉, 张铁军, 赵 平, 等. 中药缓控释制剂的研究现状及研发思路 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(1): 30-35.
- [5] 应晓英, 胡富强, 袁 弘. 卡马西平硬脂酸固体脂质纳米粒的制备与理化性质研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(11): 543-546.
- [6] 琚 辉, 郝存江, 尹 飞, 等. 姜黄素固体脂质纳米粒的制备及表征 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 420-426.
- [7] Weiss J, Decker E A, McClements D J, et al. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components [J]. Food Biophysics, 2008, 3(2): 146-154.
- [8] Esposito E, Fantin M, Marti M, et al. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bromocriptine [J]. Pharm Res, 2008, 25(7): 1521-1530.
- [9] 张 洪. 大黄素固体脂质纳米粒的制备及理化性质研究 [J]. 中国药师, 2010, 13(3): 326-328.
- [10] 张亚兰, 尹 佳, 朱文涛, 等. CA4 固体脂质纳米粒的制备及体外释药特性的考察 [J]. 华西药理学杂志, 2010, 25(3): 257-259.
- [11] 侯 君, 周世文. 正交试验优选盐酸小檗碱固体脂质纳米粒制备工艺 [J]. 中国药房, 2008, 19(15): 1150-1152.
- [12] 陈大兵, 王 杰, 张 强. Brij78 表面修饰对硬脂酸固态脂质纳米粒体内组织分布的影响 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2001, 33(3): 233-237.