

## · 药剂与工艺 ·

## 新藤黄酸纳米脂质载体制备及其药剂学性质研究

黄霞<sup>1,2</sup>, 朱婷婷<sup>1,2</sup>, 罗晴<sup>1,2</sup>, 王强<sup>3</sup>, 龚菊梅<sup>1,2</sup>, 陈卫东<sup>1,2\*</sup>

1. 安徽中医学院 临床药学教研室, 安徽 合肥 230038
2. 安徽省高等学校省级现代中药重点实验室, 安徽 合肥 230038
3. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230038

**摘要:** 目的 制备新藤黄酸纳米结构脂质载体并表征其药剂学性质。方法 采用乳化蒸发-低温固化法制备新藤黄酸纳米脂质载体(GNA-NLC), 正交试验设计优化最佳工艺处方, 并对其包封率、平均粒径及 Zeta 电位等性质进行考察。结果 优化后处方制备的 GNA-NLC 多为圆整、实体的类球形, 平均粒径为  $(144.07 \pm 1.44)$  nm, 多分散系数为  $0.24 \pm 0.01$ , Zeta 电位为  $(-28.03 \pm 0.29)$  mV, 包封率为  $(84.65 \pm 0.98)\%$ , 载药量为  $(4.21 \pm 0.05)\%$ ; DSC 显示 GNA 纳米粒确已形成, 并且 GNA 以非晶态分布在基质中。结论 乳化蒸发-低温固化法能成功制备 GNA-NLC, 工艺简单, 易于控制。

**关键词:** 新藤黄酸; 纳米脂质载体; 微柱离心法; 乳化蒸发-低温固化法; 正交试验设计

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)11-1400-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.11.008

## Preparation of gambogic acid loaded nanostructured lipid carriers and its pharmaceutical properties

HUANG Xia<sup>1,2</sup>, ZHU Ting-ting<sup>1,2</sup>, LUO Qing<sup>1,2</sup>, WANG Qiang<sup>3</sup>, GONG Ju-mei<sup>1,2</sup>, CHEN Wei-dong<sup>1,2</sup>

1. Department of Clinical Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China
2. Anhui Key Laboratory of Modernized Chinese Materia Medica, Hefei 230038, China
3. College of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China

**Abstract: Objective** To prepare and characterize gambogic acid loaded nanostructured lipid carrier (GNA-NLC). **Methods** GNA-NLC was prepared by emulsion evaporation-low temperature solidification method, and its optimal prescription was selected by orthogonal test design. The characteristics, such as encapsulation efficiency (EE), average diameter, and Zeta potential, were studied. **Results** GNA-NLC had a spherical shape with smooth surface with the average diameter of  $(144.07 \pm 1.44)$  nm, polydispersity index (PI) of  $0.24 \pm 0.01$ , Zeta potential of  $(-28.03 \pm 0.29)$  mV. The EE and drug loading were  $(84.65 \pm 0.98)\%$  and  $(4.21 \pm 0.05)\%$ , respectively. DSC indicated that GNA was dispersed as non-crystalline in matrix. **Conclusion** Emulsion evaporation-low temperature solidification method is easy, simple, and feasible to prepare GNA-NLC.

**Key words:** gambogic acid; nanostructured lipid carriers; mini-column centrifugation method; emulsion evaporation-low temperature solidification method; orthogonal test design

藤黄为藤黄科植物藤黄树 *Garcinia hanburyi* Hook. f. 所分泌的胶状树脂, 为传统中药, 中医主要用于攻毒、消肿、祛腐敛疮、止血、杀虫等, 主治痈疽肿毒、溃疡、湿疮、肿瘤、顽癣、跌打损伤和创伤出血等<sup>[1]</sup>。随着现代研究的深入, 新藤黄酸 (gambogic acid, GNA) 单体从藤黄中提取分离

收稿日期: 2012-12-08

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09103-399); 安徽省高校省级自然科学研究重点项目 (KJ2011A190)

作者简介: 黄霞 (1981—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型及药物代谢动力学研究。

Tel: 15056920975 E-mail: huangxia1012@126.com

\*通信作者 陈卫东, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为新药研究与开发、药物代谢动力学。

Tel: 15156091053 (0551)5136810 E-mail: anzhongdong@126.com

网络出版时间: 2013-03-28 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130328.2012.014.html>

得到<sup>[2]</sup>。研究证实, GNA 是藤黄抗肿瘤作用的主要成分之一, 对多种肿瘤细胞(如鼻咽癌 CNE-1 细胞、肝癌 HepG2 细胞、肺癌 A549 细胞等)均有不同程度的抑制作用, 而对正常细胞(如 HUVEC 细胞株、人脐静脉血管内皮细胞)不敏感, 且不影响脾、肾等器官的功能<sup>[3-6]</sup>。然而, GNA 为强脂溶性成分, 不溶于水, 易溶于甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂。GNA 药物代谢动力学研究发现, GNA 经静脉给药后, 从大鼠体内快速消除, 半衰期非常短, 这些特征使 GNA 的开发和临床应用受到了制约。为了降低 GNA 经 L-精氨酸助溶后制成的静脉注射剂对给药部位的刺激性, 胡海霞等<sup>[7]</sup>采用注射用羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)作为包合材料制备了 GNA 包合物冻干粉针, 并对制备工艺进行了优化。

随着纳米技术的发展, 纳米载药系统的研究也日渐成熟, 尤其是在抗癌领域, 纳米载药系统发挥着不可或缺的独特作用, 尤其是脂质纳米粒(如固体脂质纳米粒、纳米脂质载体等)受到广泛的研究。纳米脂质载体(nanostructured lipid carrier, NLC)是将固体脂质和空间上不相容的液体脂质在一定温度下混合制备得到的具有特殊纳米结构的胶体给药系统, 其属于水分散体系, 可实现多种途径给药, 可解决诸多水难溶性药物的给药难题。同时作为第 2 代脂质纳米载体系统, 继承了传统的纳米载体(纳米乳、脂质体等)和固体脂质纳米粒各种优势的同时, 还具有载药量高、稳定性好、缓释、靶向等多种优势<sup>[8-10]</sup>。

本研究依据 NLC 的优势, 设计采用 NLC 包裹新藤黄酸, 研究制备了新藤黄酸纳米脂质载体(GNA-NLC)。对于纳米制剂, 包封率是评价其质量的重要指标, 本实验建立了 GNA-NLC 包封率的测定方法; 以包封率和载药量为考察指标, 对 GNA-NLC 的最佳工艺和处方进行优化, 并对优化条件下制备的 GNA-NLC 进行了性质表征。

## 1 仪器与材料

LC 高效液相色谱仪、UV-1750 紫外分光光度计(日本岛津公司); LC-4016 型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); AB135-S 型十万分之一电子天平(德国 Mettler Toledo 公司); 85-2 数显恒温磁力搅拌器(金坛市鑫鑫实验仪器厂); 透射电镜(JEM-2100, 日本 JEOL 公司); Zetasizer(3000HS, 英国 Malvern 公司); DSC(Q2000, TA Instrument, 美国); KQ-300B 型超声波清洗器(昆

山市超声仪器有限公司); 2.5 mL 注射器(上海凯乐医疗器械有限公司); 超滤离心管( $M_w$  100 000, 美国 Milipore 公司)。

新藤黄酸对照品、原料药(质量分数 $\geq 98\%$ , 安徽中医学院新藤黄酸课题组提供); 单硬脂酸甘油酯(GMS)、硬脂酸(SA)(湖南尔康制药股份有限公司); 中链脂肪酸(MCT, 广州市宏晟化工原料有限公司提供); 蛋黄卵磷脂(安徽丰原医药公司提供); 聚山梨酯-80(国药集团化学试剂有限公司); F68(德国 BASF); 葡聚糖凝胶 G-50(Sephadex G-50, 北京恒辉科技有限公司); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 NLC 的制备

本实验采用乳化蒸发-低温固化法制备 GNA-NLC<sup>[11]</sup>。将处方量的 GMS、SA、MCT(3 种脂质总质量为 200 mg)、卵磷脂和 GNA 溶于 5 mL 无水乙醇, 水浴加热到 68~70 °C 构成油相; 将处方比例的聚山梨酯-80、F68 溶于 20 mL 水, 水浴加热到与油相相同温度。用 1 mL 注射器将油相缓慢匀速注入到搅拌(1 000 r/min)的水相中, 继续搅拌 3 h。待有机溶剂挥发完全后, 在搅拌条件下将乳液迅速倒入 40 mL 冰水中(冰浴), 继续搅拌 2 h 即得 GNA-NLC。

### 2.2 GNA 分析方法的建立

**2.2.1 色谱条件** 岛津 LC-15C 高效液相色谱仪, LC-15C 高压输液泵、SPD-15C 紫外检测器; 色谱柱为 Cosmosil C<sub>18</sub> 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(83:17), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 检测波长为 360 nm, 进样量 20  $\mu$ L。

**2.2.2 专属性试验** GNA-NLC 和空白 NLC 供试品溶液的配制: 精密量取 GNA-NLC 溶液 0.5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加入甲醇破乳并定容至刻度, 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜滤过后即得 GNA-NLC 供试品溶液; 同法制得空白 NLC 供试品溶液。

对照品溶液的配制: 精密称取 GNA 5.00 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 精密量取 1 000  $\mu$ L 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 得质量浓度为 50.0  $\mu$ g/mL 的 GNA 对照品储备液, 置 4 °C 冰箱中保存备用。

分别取对照品溶液、供试品溶液, 在上述色谱条件下分别进样 20  $\mu$ L, 记录色谱图。结果见图 1,

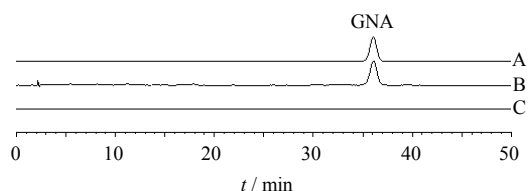


图1 GNA (A)、GNA-NLC (B) 和空白 NLC (C) 溶液的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of GNA (A), GNA-NLC (B), and blank NLC (C) solutions

表明所用辅料对 GNA 的测定无干扰。

**2.2.3 线性关系考察** 分别精密量取对照品溶液 (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 0.02、0.20、0.40、0.80、1.20、1.60、3.20、6.40 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度, 分别过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 进样, 记录峰面积。以峰面积积分为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程  $Y=60\,215X-2\,923$ ,  $r=0.999\,7$ , 结果表明 GNA 在 0.1~32.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与峰面积呈良好线性关系。

**2.2.4 精密度试验** 精密量取对照品溶液适量至 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 配制低、中、高 (1.0、4.0、16.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 质量浓度溶液各 3 份, 按色谱条件进样 20  $\mu\text{L}$ , 分别每隔 3 h 测定 1 次, 共测定 3 次, 连续测定 3 d, 记录峰面积, 并计算日内和日间精密度。低、中、高 3 种质量浓度对照品溶液的日内精密度 RSD 分别为 1.91%、1.34%、1.26%; 日间精密度 RSD 分别为 0.24%、1.41%、0.06%; 表明仪器的精密度符合要求。

**2.2.5 回收率试验** 分别精密量取 640、800、960  $\mu\text{L}$  对照品溶液至 10 mL 量瓶中, 分别加 0.5 mL 空白 NLC 溶液, 用甲醇溶解定容, 即得质量浓度为 3.2、4.0、4.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  供试品溶液。按“2.2.1”项色谱条件进样 20  $\mu\text{L}$ , 分别测定 3 次, 计算回收率。结果 3.2、4.0、4.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  3 种质量浓度供试品溶液的平均回收率分别为 98.02%、100.94%、103.9%, RSD 分别为 0.65%、0.25%、0.66%, 表明该方法回收率良好, 制剂辅料对 GNA 的测定无影响。

**2.2.6 重复性试验** 按照“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液各 6 份, 按“2.2.1”项下色谱条件进样, 记录峰面积, 计算其 RSD。结果 6 次检测的峰面积的 RSD 为 1.18%, 说明重复性良好。

**2.2.7 稳定性试验** 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 3 份, 按“2.2.1”项下色谱条件分别于 0、1、2、4、6、8 h 进样测定, 结果测定样品中 GNA

的 RSD 为 1.06%, 表明样品溶液在 8 h 内稳定。

## 2.3 包封率和载药量的测定

**2.3.1 方法学考察** 本实验采用微柱离心法<sup>[12-13]</sup>测定包封率。凝胶柱为 Sephadex G-50 装填于 2.5 mL 注射器针筒所制备的小柱, 洗脱液为蒸馏水。

取 GNA 溶液 100  $\mu\text{L}$  (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 加于微柱的顶端, 3 000 r/min 离心 3 min, 继续加入 100  $\mu\text{L}$  蒸馏水于凝胶柱的顶端, 连续洗脱 6 次后, 每次加蒸馏水 0.3 mL, 再连续洗脱 17 次, 每次收集的洗脱液用甲醇定容至 0.5 mL。分别按“2.2.1”项下色谱条件检测药物量, 计算回收率并绘制洗脱曲线, 结果见图 2。由图可知游离 GNA 在第 13 次离心后的洗脱液中被检出, 说明 Sephadex G-50 微型凝胶柱对 GNA 具有一定吸附能力, 平均回收率为 97.42%, RSD 为 0.73% ( $n=3$ )。

精密吸取 GNA-NLC 混悬液 100  $\mu\text{L}$ , 缓慢滴加到微柱顶部中心, 3 000 r/min 离心 3 min, 收集滤液。再于柱顶加相同体积的蒸馏水, 重复以上操作, 分别收集滤液。连续洗脱 6 次后, 每次加蒸馏水 0.3 mL。采用 HPLC 法测定每份滤液中 GNA 的量, 制备洗脱曲线, 并计算柱回收率。结果见图 2。由结果可知, 微柱能够将 GNA-NLC 与游离药物很好地分离, 平均回收率为 96.89%, RSD 为 0.95% ( $n=3$ )。综上, 微柱离心法用于 GNA-NLC 包封率的测定是可行的。

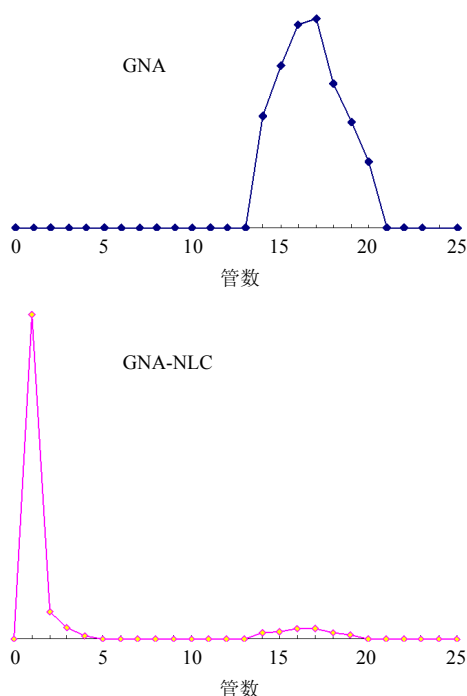


图2 微柱洗脱曲线

Fig. 2 Elution curves on micro-columns

**2.3.2 包封率和载药量的测定** 取 GNA-NLC 100  $\mu\text{L}$ , 上样于微柱顶部, 按“2.3.1”项下操作, 收集、合并 1~6 管含 GNA-NLC 部分滤液, 加甲醇溶解破乳并定容到 25 mL, 以 HPLC 法分析、计算纳米粒内被包封 GNA 的质量 ( $M_1$ )。另取未过柱的 GNA-NLC 100  $\mu\text{L}$ , 加甲醇溶解破乳并定容到 25 mL, 进样分析, 计算分散体系中总 GNA 的质量 ( $M_0$ ), 计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = M_1 / M_0$$

$$\text{载药量} = W_{\text{投药}} \times \text{包封率} / (W_{\text{投药}} \times \text{包封率} + W_{\text{脂}})$$

$W_{\text{投药}}$  为体系中总药物质量,  $W_{\text{脂}}$  为基质质量

## 2.4 处方的筛选

**2.4.1 单因素试验** 在预试验中发现, 采用复合乳化剂制得的 GNA-NLC 稳定性较好。所以, 本试验选用 F68-聚山梨酯-80 为乳化剂, 卵磷脂为助乳化剂。以稳定性为指标, 即于室温下开始出现絮凝的天数计算, 并结合包封率, 对 F68 与聚山梨酯-80 的比例 (2:1、1:1、1:2) 进行筛选, 结果稳定性分别为 4、8、5 d, 包封率分别为 70.67%、73.74%、72.54%。3 种比例的乳化剂对包封率无显著性影响, 而 F68-聚山梨酯-80 (1:1) 时稳定性最好, 所以选择 F68-聚山梨酯-80 的比例为 1:1 进一步研究。

预试验显示, 随 SA 用量增加, NLC 体系稳定性减小, 易出现絮凝现象, 这可能与 SA 分子的刚性有关。本实验同样以稳定性为指标, 并结合体系外观对 SA 用量进行筛选, 结果见表 1。可知, SA

表 1 SA 用量对 GNA-NLC 稳定性的影响 ( $n=3$ )

Table 1 Effect of SA dosage on stability of GNA-NLC ( $n=3$ )

SA 用量 / %	稳定性和外观
2.5	第 7 天体系澄清透明, 有较好的乳光
5.0	第 7 天体系澄清透明, 有较好的乳光
10.0	第 4 天出现丝状浑浊物, 摇晃可消失
20.0	第 2 天有丝状浑浊物

用量为 10% 时, 所制备的 GNA-NLC 体系较不稳定, 在 5% 以下时, 体系在 7 d 内较稳定。故本实验选择 SA 用量为 5% 进行进一步研究。

以包封率为指标, 到处方的其他各影响因素进行初步筛选。结果显示 MCT、卵磷脂、乳化剂、投药量等对包封率影响显著, 故其具体用量在正交试验中进一步考察。

**2.4.2 正交试验** 本实验筛选出 4 个主要影响因素: MCT 占总脂质的质量分数 (A)、药脂比 (B)、卵磷脂质量浓度 (C)、乳化剂质量浓度 (D), 因素水平见表 2。根据正交试验设计的原理, 选择  $L_9(3^4)$  正交表设计安排试验, 以 HPLC 为测定方法, 包封率和载药量的综合评分 (综合评分 = 包封率  $\times$  0.8 + 载药量  $\times$  0.2) 为指标进行考察。试验设计及结果见表 2, 方差分析见表 3。

从表可知, 各因素对综合评分影响程度为  $A > B > C > D$ , 从方差分析的结果可知, 相对于 D 因素, A、B 因素即 MCT 占总脂质的质量分数和药脂比都

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验设计与结果 ( $n=3$ )

Table 2 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test ( $n=3$ )

试验号	A / %	B	C / (mg·mL <sup>-1</sup> )	D / (mg·mL <sup>-1</sup> )	包封率 / %	载药量 / %	综合评分
1	10.0 (1)	5 : 200 (1)	5.0 (1)	20.0 (1)	75.60	1.85	60.85
2	10.0 (1)	10 : 200 (2)	10.0 (2)	30.0 (2)	76.90	3.70	62.26
3	10.0 (1)	15 : 200 (3)	15.0 (3)	40.0 (3)	73.76	5.24	60.06
4	20.0 (2)	5 : 200 (1)	10.0 (2)	40.0 (3)	80.27	1.97	64.61
5	20.0 (2)	10 : 200 (2)	15.0 (3)	20.0 (1)	83.50	4.01	67.60
6	20.0 (2)	15 : 200 (3)	5.0 (1)	30.0 (2)	79.42	5.62	64.66
7	30.0 (3)	5 : 200 (1)	15.0 (3)	30.0 (2)	75.71	1.86	60.94
8	30.0 (3)	10 : 200 (2)	5.0 (1)	40.0 (3)	80.98	3.89	65.56
9	30.0 (3)	15 : 200 (3)	10.0 (2)	20.0 (1)	75.10	5.33	61.15
$K_1$	183.17	186.40	191.07	189.6			
$K_2$	196.87	195.42	188.02	187.86			
$K_3$	187.65	185.87	188.6	190.23			
R	4.57	3.18	1.02	0.79			

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	32.53	2	32.381	$P < 0.05$
B	19.20	2	19.116	$P < 0.05$
C	1.75	2	1.741	
D(误差)	1.00	2	1.000	

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00 \quad F_{0.01}(2, 2) = 99.00$$

有显著性影响 ( $P < 0.05$ ); 而 C 因素即卵磷脂质量浓度无显著影响。由于 D 因素对指标综合评分无显著性影响, 从安全、经济节约角度考虑, 确定最佳处方为  $A_2B_2C_1D_1$ , 即 MCT 占总脂质的质量分数为 20%, 药脂比为 1:20, 卵磷脂质量浓度 5.0 mg/mL, F68-聚山梨酯-80 (1:1) 的总质量浓度为 20.0 mg/mL。

### 2.5 验证试验

将 GMS 150 mg、SA (5%) 10 mg、MCT (20%) 40 mg、5.0 mg/mL 卵磷脂 100 mg 和 GNA 10 mg 溶于 5 mL 无水乙醇, 水浴加热到 68~70 °C 构成油相; 将聚山梨酯-80、F68 各 200 mg 溶于 20 mL 水中, 水浴加热到与油相相同温度。用 1 mL 注射器将油相缓慢匀速注入到搅拌 (1 000 r/min) 的水相中, 继续搅拌 3 h。待有机溶剂挥发完全后, 在搅拌条件下将乳液迅速倒入 40 mL 冰水 (冰浴), 继续搅拌 2 h 得 GNA-NLC。同法制备 3 批。按“2.3”项下方法测定, 结果包封率分别为 83.99%、84.18%、85.77%, 载药量分别为 4.18%、4.19%、4.27%。结果显示, 该工艺重复性较好。

### 2.6 形态学考察

取 GNA-NLC 混悬液适量, 滴加于覆盖碳膜的铜网上, 在铜网上停留片刻后用 2.0% 磷钨酸钠溶液染色, 自然晾干后置于透射电镜下观察。从图 3 可见, GNA-NLC 纳米粒多为实体类球形, 有少许粒子呈不规则状, 粒子之间无粘黏。

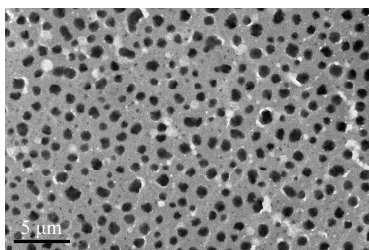
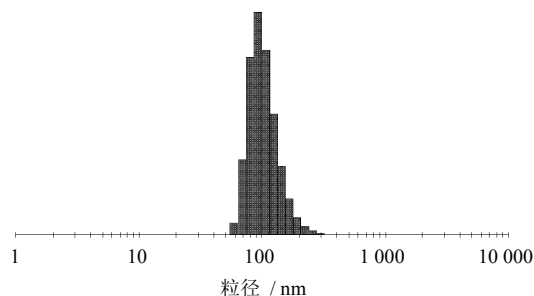
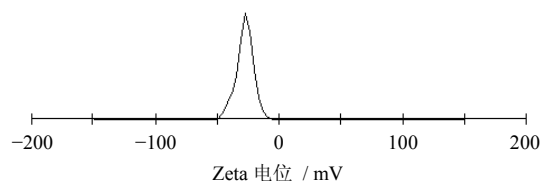


图 3 GNA-NLC 的透射电镜图

Fig. 3 Transmission electron micrograph of GNA-NLC

### 2.7 粒径分布及 Zeta 电位的测定

取 GNA-NLC 混悬液适量, 稀释 30 倍。在室温条件下, 采用 Zetasizer 纳米激光粒度仪测定粒径和 Zeta 电位, 结果见图 4、5。

图 4 GNA-NLC 的粒径分布 ( $n=3$ )Fig. 4 Particle size distribution of GNA-NLC ( $n=3$ )图 5 GNA-NLC 的 Zeta 电位 ( $n=3$ )Fig. 5 Zeta potential of GNA-NLC ( $n=3$ )

粒径是评价纳米粒子一项重要指标, 粒径大小及分布直接影响着分散体系的物理稳定性。同时, 粒径也影响着粒子在体内的分布趋向。本实验制得的 GNA-NLC 粒径为  $(144.07 \pm 1.44)$  nm ( $n=3$ ), 多分散系数 (PI) 为  $0.24 \pm 0.01$  ( $n=3$ ), 表明本实验制得的 GNA-NLC 粒径较小, 大小分布均匀。

对于胶体分散系统, 通常可通过 Zeta 电位来预测体系的长期物理稳定性, Zetasizer 仪所测的 GNA-NLC 的 Zeta 电位为  $(-28.03 \pm 0.29)$  mV ( $n=3$ ), 从静电排斥学角度分析, 所制得的纳米分散体系具有较好的物理稳定性。

### 2.8 DSC 分析

分别取 5~6 g 样品, 置于铝锅内, 以 10 °C/min 的速率在一定温度范围内扫描, 空白铝锅作为对照, 记录数据, 采用 Origin 7.5 软件拟合各样品的热解曲线图, 结果见图 6。

由热解曲线图可知, GNA 原料的熔点为 108.1 °C, GMS、SA 的熔峰分别为 61.4、57.3 °C; GNA-NLC 曲线图中, GNA 熔峰消失, 也未见 GMS、SA 熔峰, 在 42.9 °C 处出现一新熔峰。由此说明, GNA-NLC 构成一新的物相, GNA 不再以结晶状态存在, 可能以无定形态分布在基质中。同时, GMS、SA 脂



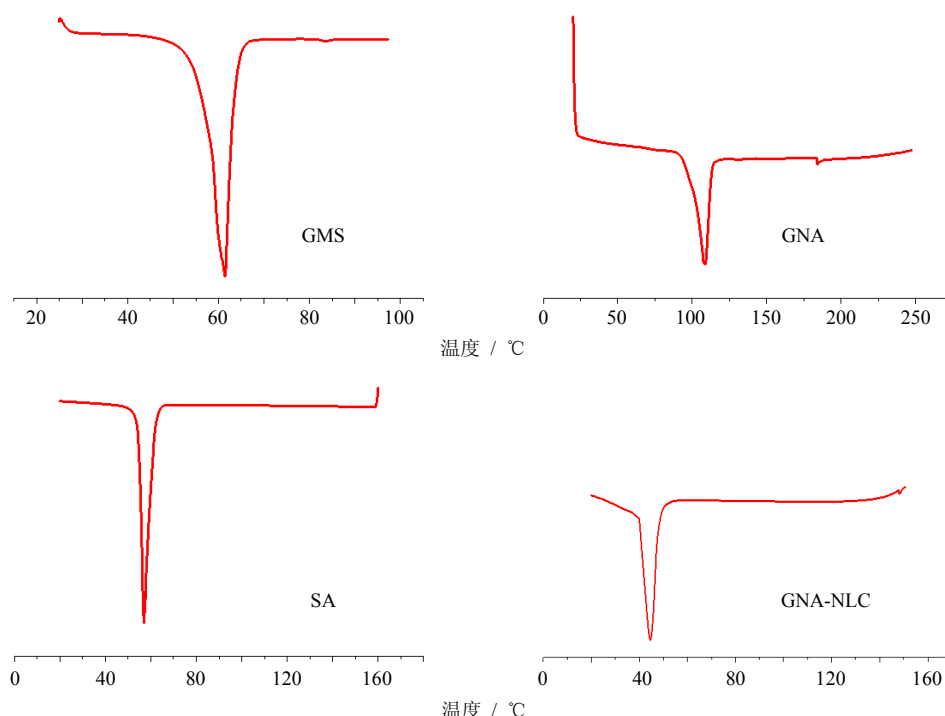


图6 热解曲线

Fig. 6 Thermolysis curves

质的结晶晶格有序性减小。

### 3 讨论

NLC 是第 2 代脂质纳米载药系统, 由于液态脂质的载入, 包封率和载药量较固体脂质纳米粒有了很大的改善。本实验成功制备了 GNA-NLC, 包封率比新藤黄酸固体脂质纳米粒有了显著地提高<sup>[14]</sup>。

卵磷脂在处方中主要起助乳化的作用, 实验中发现, 随着卵磷脂质量的增加, 包封率和载药量也得到提高, 同时, 所制备的纳米粒粒径也明显增大。主要原因可能为: 一方面, 卵磷脂作为助乳化剂的同时也起着基质的作用, 随卵磷脂的增加, 即基质增加, 其所包载和负载的药物也随之增加, 包封率和载药量得到提高。另一方面, 基质浓度增大时, 分散体系的粘稠度随之增大, 表面张力相应增大, 在同样的乳化条件下形成的纳米粒粒径也就偏大。

NLC 属于热力学不稳定均相分散体系, 因分子运动相互碰撞易出现粒径增大、絮凝、沉淀、分层等不稳定现象<sup>[15]</sup>。Zeta 电位是 NLC 性质表征之一, 也是预测其长期稳定性的一项指标。从静电排斥理论分析, Zeta 电位绝对值大于临界值 30 时, 此胶体系统即处于稳定状态<sup>[16]</sup>。但是, NLC 中许多亲水性乳化剂因其特殊结构而发挥着空间稳定作用, 能够使电位较低的胶体体系处于稳定状态<sup>[17]</sup>。

本实验也考察了超滤离心法, 结果发现滤过液中 GNA 都不能被检测到。这是因为纳米粒在离心力的作用下, 容易粘附在滤膜上, 游离药物不能透过; 同时, 少量新藤黄酸水中呈蛋花样漂浮状态, 即使在离心力作用下也不易透过滤膜。微柱离心法是 Papkinson 首创<sup>[18]</sup>, 主要用于分离纯化生物大分子。此方法是利用凝胶的分子筛和离心力的双重作用, 实现快速分离, 当前多数是用于脂质体的纯化。从实验结果可知, 此方法简便、快捷、重现性好, 可用于 NLC 纳米粒的纯化。在实验过程中发现, 搅拌速度为 1 200 r/min 时, 容易产生较多的泡沫, 这有可能会影响表面活性剂与油相充分接触, 影响其乳化效果, 故本实验采用 1 000 r/min 的搅拌速度。

本实验采用 F68、聚山梨酯-80、卵磷脂复合乳化剂, 主要是发现采用复合乳化剂所制备的 NLC 的稳定性和包封率都较好, 与文献报道一致<sup>[19]</sup>。新藤黄酸经 NLC 包裹, 其体内的药物代谢动力学行为即体内循环时间、峰浓度和生物利用度等较新藤黄酸是否有很好的改善, 同时包载后的新藤黄酸纳是否能够减小或避免其毒副作用, 这都有待进一步深入的研究。

### 参考文献

[1] 王 鸣, 冯 煦, 赵友谊, 等. 中药藤黄的研究和应用

- [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(1): 1-3.
- [2] Lee S B. Fractionated products obtained from gamboge resin and medical uses of the same: United States, US 20110305784 A1 [P]. 2011-12-15.
- [3] Yan F G, Wang M, Chen H, *et al.* Gambogenic acid mediated apoptosis through the mitochondrial oxidative stress and inactivation of Akt signaling pathway in human nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 652(1/3): 23-32.
- [4] Yan F G, Wang M, Li J M, *et al.* Gambogenic acid induced mitochondrial-dependent apoptosis and referred to Phospho-Erk1/2 and Phospho-p38 MAPK in human hepatoma HepG2 cells [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2012, 33(2): 181-190.
- [5] Cheng H, Su J J, Peng J Y, *et al.* Gambogenic acid inhibits proliferation of A549 cells through apoptosis inducing through up-regulation of the p38 MAPK cascade [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(11): 993-1002.
- [6] Li Q L, Cheng H, Zhu G Q, *et al.* Gambogenic acid inhibits proliferation of A549 cells through apoptosis-inducing and cell cycle arresting [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(3): 415-420.
- [7] 胡海霞, 王效山, 彭代银, 等. 新藤黄酸包合物冻干粉针制备及工艺优化 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 65-69.
- [8] Müller R H, Shegokar R, Keck C M. 20 Years of lipid nanoparticles (SLN & NLC): Present state of development & industrial applications [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2011, 8(3): 207-227.
- [9] Attama A A. SLN, NLC, LDC: State of the art in drug and active delivery [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2011, 5(3): 178-187.
- [10] 蒲宝婵, 赵骏, 邱超, 等. 复乳法制备龙胆苦苷脂质体 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 428-431.
- [11] Jia L J, Zhang D R, Li Z Y, *et al.* Nanostructured lipid carriers for parenteral delivery of silybin: Biodistribution and pharmacokinetic studies [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 80(2): 213-218.
- [12] Di Venosa G, Hermida L, Battle A, *et al.* Characterisation of liposomes containing aminolevulinic acid and derived esters [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2008, 92(1): 1-9.
- [13] 于燕燕, 赵继会, 冯年平, 等. 微柱离心-HPLC法测定鬼臼毒素醇质体的包封率研究 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1634-1637.
- [14] 陈延杰, 陈卫东. 新藤黄酸固体脂质纳米粒的制备与质量评价 [J]. 中国药业, 2011, 21(21): 36-38.
- [15] del Pozo-Rodríguez A, Solinís M A, Gascón A R, *et al.* Short- and long-term stability study of lyophilized solid lipid nanoparticles for gene therapy [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71(2): 181-189.
- [16] Attama A A, Schicke B C, Paepenmüller T, *et al.* Solid lipid nanodispersions containing mixed lipid core and a polar heterolipid: Characterization [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007, 67(1): 48-57.
- [17] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(2/3): 165-196.
- [18] Parkinson A J, Scott E N, Muchmore H G. Rapid preparation and purification of alkaline phosphatase and <sup>125</sup>I-labeled antibody by minicolumn gel centrifugation chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1983, 254: 219-222.
- [19] Han F, Li S M, Yin R, *et al.* Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructured lipid carriers [J]. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects*, 2008, 315(1/3): 210-216.