

· 药剂与工艺 ·

盐酸青藤碱关节腔注射用纳米粒温敏凝胶的制备及其性质考察

危红华¹, 李莎莎¹, 韩腾飞¹, 宋艳丽¹, 程亮¹, 鞠大宏², 赵宏艳², 刘梅洁², 郝保华^{1*}

1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069

2. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700

摘要:目的 制备关节腔注射用盐酸青藤碱固体脂质纳米粒(盐酸青藤碱-SLN)温敏凝胶并考察其体外释放特征。方法 以泊洛沙姆 407 (P-407) 和泊洛沙姆 188 (P-188) 为凝胶基质, 以凝胶胶凝温度为考察对象对方进行优化; 微乳液法制备盐酸青藤碱-SLN, 冷溶法制备盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶; 用 HPLC 法测定盐酸青藤碱的量, 透析法研究盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶的体外释放特性。结果 最佳处方为 18% P-407、5% P-188 和 0.6% 羟丙基甲基纤维素 (HPMC), 所制盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶胶凝温度为 $(34.5 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$ 。体外释放结果显示盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶 24 h 内累积释放率为 $(57.79 \pm 0.36) \%$, 48 h 内累积释放率为 $(75.16 \pm 0.12) \%$, 具有明显的缓释作用。结论 所制盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶具有温敏特性和明显的缓释作用, 纳米载体和温度敏感凝胶的组合有望成为新的关节腔给药传递系统。

关键词: 盐酸青藤碱; 关节腔注射; 固体脂质纳米粒; 温敏凝胶; 体外释放度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2013)14 - 1899 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.14.007

Preparation of sinomenine hydrochloride nanoparticle thermosensitive gel for intra-articular injection and its characteristic investigation

WEI Hong-hua¹, LI Sha-sha¹, HAN Teng-fei¹, SONG Yan-li¹, CHENG Liang¹, JU Da-hong², ZHAO Hong-yan², LIU Mei-jie², HAO Bao-hua¹

1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China

2. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To prepare the solid lipid nanoparticle (SLN) thermosensitive gel of sinomenine hydrochloride (SH) for intra-articular injection and to investigate its *in vitro* drug release behavior. **Methods** Poloxamer 407 (P-407) and Poloxamer 188 (P-188) were used as gel matrix to prepare the gel, and the gelatinization temperature was applied as a target to optimize the prescription. The SH-SLN was prepared based on the microemulsion technique, and the gel system containing SH-SLN was obtained by cold-dissolving methods. The content of SH was determined by HPLC, *in vitro* release characteristics of SH-SLN thermosensitive gel were investigated by dialysis method. **Results** The optimal gel prescription was finally confirmed as 18% P-407, 5% P-188, and 0.6% HPMC. The gelatinization temperature for SH-SLN thermosensitive gel was $(34.5 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$, and the *in vitro* accumulated release rates of SH in the SLN thermosensitive gel system were $(57.79 \pm 0.36) \%$ after 24 h and $(75.16 \pm 0.12) \%$ after 48 h. **Conclusion** The SH-SLN thermosensitive gel has the temperature sensitivity and obvious sustained-release effect. The combination of nanoparticle thermosensitive gel will be used as a new drug delivery for intra-articular injection.

Key words: sinomenine hydrochloride; intra-articular injection; solid lipid nanoparticle; thermosensitive gel; *in vitro* release rate

风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis) 是一种常见的以慢性、对称性、侵蚀性关节炎为主要表现的全身自身免疫性疾病, 主要侵犯关节滑膜。目前, 关节炎疾病的治疗给药方式主要有口服、肌肉注射

收稿日期: 2013-01-28

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2009ZX09502-019); 陕西省教育厅产业培育项目 (2010JC20)

作者简介: 危红华 (1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新型给药系统及新制剂研究。Tel: 18792807298 E-mail: weihonghua1985@126.com

*通信作者 郝保华, 教授。Tel: (029)81970519 E-mail: haobaohua@126.com

网络出版时间: 2013-06-04 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130604.1802.004.html>

及关节腔内注射等。其中, 在患病的关节腔内直接注射给药不仅可以在患处局部形成较高的药物浓度, 还可以降低全身性的副作用^[1]。温度敏感型凝胶(thermosensitive gel)是一种新型的现代给药系统, 在低温、低浓度条件下以液体形态存在, 当环境温度达到临界胶束温度(critical micelle temperature, CMT)且温度敏感型原位凝胶基质浓度达到临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)时, 迅速发生相突变, 在给药部位形成半固体凝胶态, 可填充于组织间隙, 使给药部位药物滞留时间延长, 可以延缓药物释放, 利于维持局部药物浓度, 适于局部治疗^[2-3]。

青藤碱(sinomenine)具有镇痛、抗炎、免疫抑制等多种药理作用^[4], 临床多用其盐酸盐, 已有正清风痛宁普通片及其肠溶片、正清风痛宁注射液、风痛宁软胶囊等制剂临床应用治疗风湿性关节炎疾病^[5]。但由于盐酸青藤碱注射剂在体内消除较快^[6], 需频繁给药。因此, 本实验先将盐酸青藤碱制备成固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN), 再进一步将其制备成温度敏感型凝胶用于关节腔注射给药, 从而提高病患部位的药物浓度, 减少给药次数, 降低不良反应, 延长药物在病患部位的滞留时间, 达到增加药物临床疗效的目的。

1 仪器与材料

78—1 型磁力加热搅拌器(江苏省金坛市正基仪器有限公司); 岛津 LC—20AT 高效液相色谱仪; YP—5001 电子精密天平(上海良平仪器仪表有限公司); 1TGL—16B 离心机(上海安亭科学仪器有限公司); FY200—高速分散匀质机(上海标本模型仪器厂); HH—S 恒温水浴锅(江苏省金坛市恒丰仪器厂); M—2000EX 透射电子显微镜(日本日立公司); 激光动态散射仪 ZEN3600(英国 Malvern 公司); MD34 透析袋(截留相对分子质量 14 000, 美国联合碳化物公司); NDJ—7 旋转式黏度计(上海精密科学仪器有限公司)。

盐酸青藤碱(西安小草植物科技有限责任公司, 质量分数 99.7%, 批号 20010501); 盐酸青藤碱对照品(中国药品生物制品检定所, 质量分数 99.9%, 批号 20010201); 大豆卵磷脂(生物试剂, 天津市博迪化工有限公司); 聚山梨酯-80(药用级, 成都市科隆化工试剂厂); 单硬脂酸甘油酯(分析纯, 上海山普化工有限公司); 硬脂酸(分析纯, 天津市天达净化材料精细化工厂); 泊洛沙姆 407(P-407)、

泊洛沙姆 188(P-188)购于德国 BASF 公司; 羟丙基甲基纤维素(HPMC, HG4000, 西安惠安化工厂); 甲醇、乙二胺(色谱纯), 磷酸二氢钾购于西安化学试剂厂。

2 方法与结果

2.1 盐酸青藤碱测定方法的建立

2.1.1 色谱条件^[7] 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-乙二胺(55:45:0.5), 体积流量 0.5 mL/min, 检测波长 262 nm, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。

2.1.2 对照品溶液的配制及线性关系考察 精密称取 60 °C 下减压干燥至恒定质量的盐酸青藤碱对照品 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 制得 200 μg/mL 的对照品溶液。然后精密量取一定量盐酸青藤碱对照品溶液, 用流动相配制成质量浓度分别为 2、10、20、40、80、100、120、160、200 μg/mL 的盐酸青藤碱对照品溶液, 高效液相色谱仪测定。以峰面积积分值为纵坐标(Y), 盐酸青藤碱质量浓度为横坐标(X), 进行线性回归, 得回归方程 $Y=33\ 205 X-42\ 639$, $r=0.999\ 6$, 表明盐酸青藤碱在 2~200 μg/mL 线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密吸取盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶 1.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加入甲醇超声溶解并定容至刻度, 即得供试品溶液。

2.1.4 空白对照溶液的制备 精密吸取空白 SLN 温敏凝胶 1.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加入甲醇超声溶解并定容至刻度, 即得空白对照溶液。

2.1.5 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各 20 μL, 注入高效液相色谱仪进行测定。结果显示, 在该色谱条件下盐酸青藤碱能达到基线分离且峰形稳定, SLN 和温敏凝胶辅料对盐酸青藤碱的测定无干扰, 其色谱图见图 1。

2.1.6 精密度试验 将不同量的盐酸青藤碱对照品溶液加 20% 甲醇溶液配制成低、中、高 3 种质量浓度(2、100、200 μg/mL)的盐酸青藤碱溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 每个质量浓度同日内连续进样 5 次, 记录盐酸青藤碱的峰面积, 利用回归曲线方程计算盐酸青藤碱质量浓度, 得低、中、高 3 种质量浓度的 RSD 分别为 1.88%、1.34%、1.62%, 表明仪器精密度良好。

2.1.7 回收率试验 制备空白 SLN 温敏凝胶, 分别加入不同量的盐酸青藤碱对照品溶液于量瓶中, 用甲醇溶解并分别配制成盐酸青藤碱质量浓度分别为

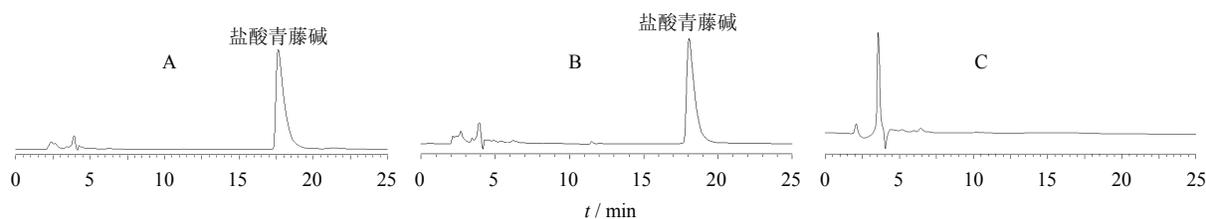


图1 盐酸青藤碱对照品 (A)、盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶 (B) 和空白 SLN 温敏凝胶 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of SH reference substance (A), SH-SLN thermosensitive gel (B), and blank SLN thermosensitive gel (C)

2、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 的样品溶液各 3 份。按上述色谱条件测定, 结果各质量浓度 (2、100、200 $\mu\text{g/mL}$) 的平均回收率均在 96%~100%, RSD 均小于 2%, 表明使用该方法测定盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶中药物的量准确可靠。

2.1.8 重复性试验 按供试品溶液制备方法, 平行制备 5 份供试品溶液, 分别进样测定盐酸青藤碱的量, 其 RSD 为 1.47%, 结果表明本方法重复性良好。

2.1.9 稳定性试验 取低、中、高 3 种质量浓度 (2、100、200 $\mu\text{g/mL}$) 供试品溶液, 分别在 0、4、6、8、12 h 进样测定, 得低、中、高 3 种质量浓度的 RSD 分别为 1.84%、1.53%、1.38%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2 盐酸青藤碱-SLN 的制备及分析

2.2.1 盐酸青藤碱-SLN 的制备^[8] 采用微乳液法制备盐酸青藤碱-SLN。分别称取单硬脂酸甘油酯 2.5 g、硬脂酸 1.0 g 和大豆卵磷脂 1.0 g, 加热至 75 $^{\circ}\text{C}$, 直至完全熔化呈透明状, 形成油相; 将 0.1 g 盐酸青藤碱溶于 45 mL 注射用水中, 然后加入 0.2 mg 聚山梨酯-80 和 0.4 mg P-188 超声分散至完全溶解, 置于 75 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中, 得到水相。将油相在 1 000 r/min 搅拌下用注射器缓慢细流注入水相中, 温度保持在 (75 \pm 3) $^{\circ}\text{C}$, 待油相注入完毕后继续搅拌 30 min, 形成初乳。将形成的初乳置于高速匀质机下, 高速匀质 (10 000 r/min) 10 min, 然后置于冷水中使其冷却, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得含药 0.2% 的乳白色盐酸青藤碱-SLN 胶体分散液 50 mL。同法制得不含盐酸青藤碱的空白 SLN。

2.2.2 包封率的测定^[9] 采用 HPLC 法。量取盐酸青藤碱-SLN 1.0 mL 置超速离心管中, 30 000 r/min 离心 30 min, 取上清液 0.5 mL 甲醇稀释定容至 10 mL, 移取 20 μL 注入液相色谱仪测定, 其峰面积代入回归曲线, 测定游离盐酸青藤碱的量 ($m_{\text{游}}$); 同时, 另取盐酸青藤碱-SLN 溶液 0.5 mL, 加入甲醇

溶解后定容至 10 mL, 使混悬液澄清, 移取 20 μL 注入液相色谱仪, 测定 SLN 中盐酸青藤碱的总量 ($m_{\text{总}}$); 带入公式, 包封率 = $(m_{\text{总}} - m_{\text{游}}) / m_{\text{总}}$ 计算得 3 批盐酸青藤碱-SLN 的包封率分别为 (80.12 \pm 1.14) %、(79.24 \pm 1.09) %、(75.99 \pm 1.22) % ($n=3$), 平均包封率为 (78.45 \pm 1.15) %。

2.2.3 盐酸青藤碱-SLN 形态和粒径分析 取盐酸青藤碱-SLN 适量, 加水稀释 20 倍, 滴加至覆盖铜网的碳膜上, 用磷钨酸复染色法复染, 置于激光透射电子显微镜下观察其外观形态, 结果见图 2, 盐酸青藤碱-SLN 呈球形, 外观圆整规则, 分散性好。另取盐酸青藤碱-SLN 适量, 加水稀释 20 倍, 用激光动态散射仪测定粒径, 结果见图 3, 盐酸青藤碱-SLN 的粒径分布均匀, 平均粒径为 (104.96 \pm 4.6) nm ($n=3$), 多分散指数为 0.078 \pm 0.012 ($n=3$)。

2.3 盐酸青藤碱-SLN 冻干粉^[10]的制备

将 15% 的海藻糖与盐酸青藤碱-SLN 胶体分散液以体积比 1:1 的比例分装入西林瓶中, 放入冷冻干燥机, 按照 0.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 降温至 -34 $^{\circ}\text{C}$ 并维持 24 h, 然后在冷凝器低温干燥箱 (-34 $^{\circ}\text{C}$) 保持真空条件下, 按照 0.07、0.04、0.07 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 3 阶段升温至 25 $^{\circ}\text{C}$, 保温 10 h, 取出样品, 氮气封口, 即得盐酸青

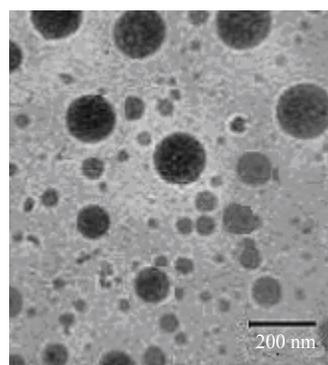


图2 盐酸青藤碱-SLN 在透射电镜下的形态

Fig. 2 Morphology of SH-SLN under transmission electron microscope

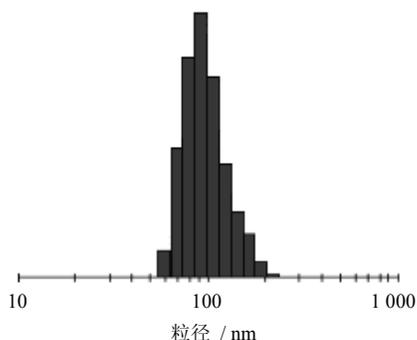


图 3 盐酸青藤碱-SLN 粒径分布图
Fig. 3 Particle size distribution of SH-SLN

藤碱-SLN 冻干粉。同法制得空白 SLN 冻干粉。

2.4 温敏凝胶的制备

2.4.1 盐酸青藤碱温敏型凝胶的制备 采用冷溶法制备^[11], 称取一定量 P-407、P-188 和 HPMC 分别用注射用水溶胀, 于 4 °C 静置至充分溶胀分散均匀。将 0.2 g 盐酸青藤碱溶于注射用水中, 边搅拌边加入溶胀好的 P-407、P-188 溶液中, 混合均匀; 再加入 HPMC 溶液, 混匀后于 4 °C 静置至可自由流动的半透明溶液, 即得含药 0.2% 的温敏型凝胶。

2.4.2 盐酸青藤碱-SLN 温敏型凝胶的制备 将溶胀好的 P-407、P-188 溶液混合均匀后加入 HPMC 溶液, 充分混合均匀; 再将“2.3”项制备的盐酸青藤碱-SLN 冻干粉 0.3 g 分散在上述溶液中, 分散均匀后于 4 °C 静置至可自由流动的半透明溶液, 即得盐酸青藤碱-SLN 温敏型凝胶。同法将“2.3”项制备的空白 SLN 冻干粉制备成空白 SLN 温敏凝胶。

2.4.3 胶凝温度的测定 采用搅拌子法^[12]。在烧杯中装入所制备的温敏凝胶溶液 20 mL 和搅拌子, 将温度计插入凝胶溶液中。置于可加热的磁力搅拌器上, 缓慢升温, 升温速率为 1 °C/min, 磁力搅拌子完全停止转动的温度即为胶凝温度, 平行测定 3 次, 取均值。

2.4.4 正交设计优化温敏凝胶的处方工艺 根据预试验结果, 以 P-407 用量 (A)、P-188 用量 (B) 和 HPMC 用量 (C) 为考察因素, 每个因素各取 3 个水平进行 L₉(3⁴) 正交设计。因素及水平见表 1。

以胶凝温度作为评价指标, 对不同处方的胶凝温度进行测量, 采用直观分析的方法, 对正交试验结果进行分析。由于合适的注射用温敏凝胶的胶凝温度应该在高于室温而不高于体温之间^[13], 因此, 本实验希望制备的凝胶胶凝温度在 34~36 °C, 故选择 35 °C 为标准对正交试验的结果进行分析, 所

测定样品中各因素的水平极值偏离 35 °C 越小的水平越佳。试验结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 L₉(3⁴) 正交试验设计与结果
Table 1 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A / %	B / %	C / %	D (空白)	胶凝温度 / °C
1	16 (1)	4 (1)	0.2 (1)	(1)	41.0
2	16 (1)	5 (2)	0.4 (2)	(2)	38.3
3	16 (1)	6 (3)	0.6 (3)	(3)	36.5
4	18 (2)	4 (1)	0.4 (2)	(3)	37.0
5	18 (2)	5 (2)	0.6 (3)	(1)	34.8
6	18 (2)	6 (3)	0.2 (1)	(2)	34.0
7	20 (3)	4 (1)	0.6 (3)	(2)	33.0
8	20 (3)	5 (2)	0.2 (1)	(3)	31.0
9	20 (3)	6 (3)	0.4 (2)	(1)	28.0
K ₁	115.8	111.0	106.0	103.8	
K ₂	105.8	104.1	103.3	105.3	
K ₃	92.0	98.5	104.3	104.5	
R	23.8	12.5	2.7	1.5	

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	95.209	2	253.215	P<0.01
B	26.136	2	69.511	P<0.05
C	1.242	2	3.303	
D (误差)	0.376	2		

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

由正交试验结果和方差分析结果可知, 因素 A 对凝胶的胶凝温度影响最大, 影响具有极显著性差异 (P<0.01), 因素 B 的影响次之, 具有显著性差异 (P<0.05), 因素 C 的影响不具有显著性差异; 其影响因素大小次序为 A>B>C, 各因素最佳组合为 A₂B₂C₃, 即温敏凝胶的最佳处方为 18% P-407、5% P-188 和 0.6% HPMC。处方验证, 按最佳处方工艺制备 3 批空白温敏凝胶, 结果平均胶凝温度为 (35±0.1)、(34.8±0.1)、(34.9±0.1) °C, 与正交试验结果一致。

2.4.5 SLN 冻干粉对胶凝温度的影响 按正交试验优化后的处方制备 3 批空白温敏型凝胶, 加入盐酸青藤碱-SLN 冻干粉 300 mg, 按“2.4.3”项方法测胶凝温度, 考察冻干粉对胶凝温度的影响。由其结果可知, 加入 300 mg 冻干粉后, 体系的胶凝温度为 (34.5±0.2) °C (n=3), 较空白凝胶[胶凝温

度 (35.0 ± 0.1) °C ($n=3$)]有所降低,但仍可作为最优处方。

2.4.6 温敏凝胶黏度的测定 用NDJ—1型旋转黏度计测定其黏度,取适量的盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶于烧杯中,分别测定凝胶在室温(25 °C)条件下以及恒温水浴锅缓慢加热胶凝后的黏度。结果盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶在室温条件下的黏度为(198.3 ± 15.4) mPa·s ($n=3$),胶凝后的黏度为(1502.6 ± 16.3) mPa·s ($n=3$)。说明所制备的盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶在室温条件下(25 °C),其黏度较小、流动性较好,便于关节腔注射;而在生理条件下(34~36 °C)能发生胶凝形成黏度较大的凝胶,进而可以延长凝胶在关节腔内的滞留时间。

2.5 体外释放性质考察^[14]

2.5.1 盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶在不同介质中的释放性质 取盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶(含盐酸青藤碱2 mg/mL)5 mL置透析袋(截留相对分子质量14 000)中,用塑料夹封口,于37 °C水浴中放置20 min后,使体系充分胶凝后,分别以生理盐水、蒸馏水、pH 5.8和pH 7.4的PBS溶液各500 mL为溶出介质,于37 °C、100 r/min进行体外释放实验,分别于1、2、4、6、8、12、24、36、48、60、72、96、120 h取出2 mL的释放介质,同时补加2 mL 37 °C新鲜介质,0.45 μm微孔滤膜滤过,在“2.1.1”项色谱条件下测定样品中药物的量,结果见图4。可知,盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶在生理盐水、蒸馏水、pH 5.8和pH 7.4的PBS溶液中的释放曲线形状基本一致,释放性质总体上相差不大。

2.5.2 盐酸青藤碱不同制剂的体外释放性质 分别取盐酸青藤碱水溶液(含盐酸青藤碱2 mg/mL)、盐酸青藤碱-SLN(含盐酸青藤碱2 mg/mL)、盐酸青藤碱温敏凝胶(含盐酸青藤碱2 mg/mL)和盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶(含盐酸青藤碱为2 mg/mL)各

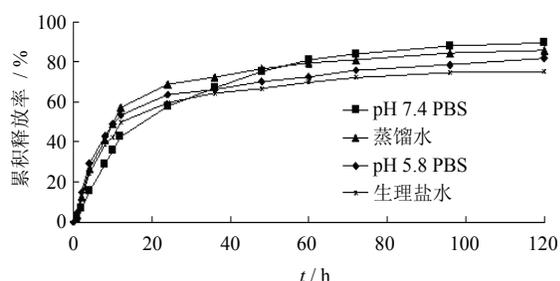


图4 不同稀释介质的释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 4 Release curves of different release media ($\bar{x} \pm s, n=3$)

5 mL,各3份,以pH 7.4的PBS溶液500 mL为溶出介质,进行体外释放实验(方法同上),结果见图5。可知,盐酸青藤碱水溶液在2 h内释药已接近100%,说明透析袋对药物基本无吸附作用。在同样的释放介质中,盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶的药物释放分别与盐酸青藤碱-SLN、盐酸青藤碱温敏凝胶相比都有了较为显著的延长,24 h内累积释放率为(57.79 ± 0.36)%,48 h内累积释放率为(75.16 ± 0.12)%。而盐酸青藤碱-SLN和盐酸青藤碱温敏凝胶体外释放24 h累积释放率分别为(70.62 ± 0.63)%、(85.79 ± 0.54)%,48 h内累积释放率分别为(82.64 ± 0.15)%、(92.76 ± 0.18)%。结果表明,盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶与盐酸青藤碱-SLN、盐酸青藤碱温敏凝胶比较,有更好的缓释作用。其原因可能为SLN和温敏凝胶载体结合时,药物需先透过固体脂质体膜才能进入到凝胶载体中,最后再从凝胶中扩散到释放介质。

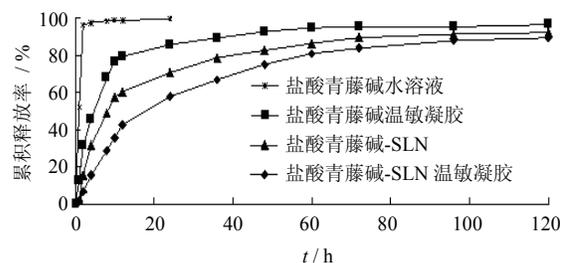


图5 盐酸青藤碱不同制剂的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 5 *In vitro* release curves from different preparations of SH ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.6 稳定性试验

将自制的3批盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶密封于西林瓶中,在40 °C、75%相对湿度条件进行稳定性加速试验。分别于第0、1、2、3个月取出样品,肉眼观察外观变化,测定胶凝温度及盐酸青藤碱的量,以pH 7.4 PBS溶液为溶出介质测定释放率;将样品溶液分别于25、37 °C条件下放置20 min,以3 000 r/min,离心30 min,观察是否分层等不稳定现象。结果发现,与放置前相比,外观均无明显改变,胶凝温度均维持在34~36 °C;盐酸青藤碱-SLN温敏凝胶在25 °C(相对湿度75%)条件下,盐酸青藤碱在第1~3个月的相对质量分数分别为(94.75 ± 0.64)%、(92.48 ± 0.81)%、(91.32 ± 0.29)%;释放曲线无明显变化(图6);在25、37 °C条件下经离心未发生分层现象,说明该制剂在此条件初步稳定。

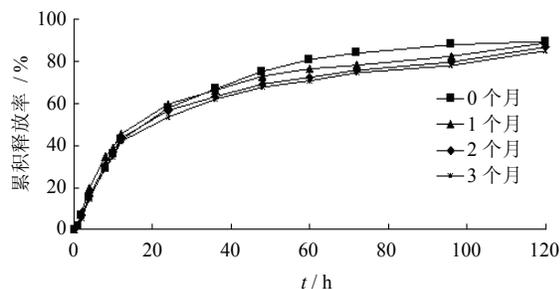


图6 盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶的体外释放曲线
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 *In vitro* release curves of SH-SLN gel
($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 讨论

温度敏感型凝胶作为智能化载体材料,用于局部注射给药时,应确保温敏凝胶在体外是可以注射使用的液体,在给药部位能形成半固体凝胶态,因此选择合适的胶凝温度至关重要,本实验选择胶凝温度作为考察对象对方剂进行优化。实验发现适量的 HPMC 既可以降低温敏凝胶的胶凝温度又可以增加药物在关节腔的黏附性,从而延长药物在关节腔的滞留时间,提高药物吸收量。但温敏凝胶的黏度将决定其能否被顺利注射^[15],所以温敏凝胶在室温条件下的黏度不宜过大,否则难以注射使用。鉴于以上情况,本实验通过处方优化,加入 0.6% HPMC 作为黏度调整剂,所制得盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶胶凝温度为 $(34.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$,室温条件下 (25°C) 黏度小,便于注射,而在生理条件下可以快速形成半固体凝胶。

在制备盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶时,曾将盐酸青藤碱-SLN 胶体分散液直接制备成温敏凝胶,结果发现制备的温敏凝胶不稳定,出现分层、絮凝等情况,原因可能是 SLN 中的药物及膜材出现水解和氧化。据相关研究发现 SLN 制备成冻干粉后可以提高 SLN 的稳定性^[10],故将盐酸青藤碱-SLN 制备成冻干粉,所制得温敏凝胶在 40°C 、75%相对湿度条件下,3 个月内稳定性较好。

本实验所制备的盐酸青藤碱-SLN 温敏凝胶具有明显的缓释作用,有利于延长药物在关节腔的作用时间,提高药物的疗效,降低不良反应,但其注

入关节腔后的体内降解时间和关节腔的生物相容性还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 马桂蕾,苗博龙,宋存先. 关节腔注射用甲氨蝶呤温敏性缓释凝胶的制备及性能考察 [J]. 生物医学工程与临床, 2010, 14(3): 193-197.
- [2] 李欣宇,肖磊,朱照静. 地塞米松磷酸钠温度敏感原位凝胶释药与溶蚀行为的影响因素考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(2): 142-146.
- [3] 陈美婉,余思琴,杨志文,等. 纳米银温敏喷雾凝胶的毒性试验研究 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 174-178.
- [4] 刘强,周莉玲,李锐. 青藤碱的研究概况 [J]. 中草药, 1997, 28(4): 247-249.
- [5] 王华洋,李岩,魏海,等. 青藤碱的制剂与药代动力学研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(10): 84-89.
- [6] 刘启德,梁美蓉,欧卫平,等. 青藤碱时辰药代动力学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 1995, 6(1): 23-26.
- [7] 韩腾飞,程亮,危红华,等. 盐酸青藤碱醇质体的制备及其性质考察 [J]. 中草药, 2012, 42(7): 1300-1305.
- [8] 宋艳丽,徐坤,韩腾飞,等. 甘草次酸固体脂质纳米凝胶的制备及体外透皮效应 [J]. 西北药学杂志, 2013, 28(2): 196-200.
- [9] 苑娟,万焱,王宪龄. 马钱子碱固体脂质纳米粒的制备研究 [J]. 中医学报, 2012, 27(3): 336-337.
- [10] 谷东风,曾抗,李国锋,等. 鬼臼毒素固体脂质纳米粒冻干粉的制备及理化性质考察 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(10): 1835-1838.
- [11] El-Kamel A H. *In vitro* and *in vivo* evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery system for timolol maleate [J]. *Int J Pharm*, 2002, 241(1): 47-55.
- [12] 宋成君,王莹,王春艳,等. 黄芩温度敏感凝胶剂的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(6): 628-631.
- [13] 车富强,胡容峰,彭代银,等. 注射用温敏原位凝胶研究进展 [J]. 安徽中医学院学报, 2010, 29(6): 77-80.
- [14] 朱铁梁,胡霞,张莉,等. 黄芩温敏凝胶的处方筛选及体外释放研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2163-2167.
- [15] A-sasutjarit R, Sirivat A, Vayumhasuwan P. Viscoelastic properties of carbopol 940 gels and their relationships to piroxicam diffusion coefficients in gel bases [J]. *Pharm Res*, 2005, 22(12): 2134-2140.