

甘草次酸类脂囊泡的制备及处方工艺优化

李喜香¹, 张亚会², 刘效栓¹, 包强¹, 钱梦茹²

1. 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050

2. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 以非离子表面活性剂为载体材料进行甘草次酸(GA)类脂囊泡(GA-NI)的制备, 并对其进行质量评价研究。**方法** 采用薄膜分散-超声法建立 GA-NI 的制备方法; 采用反透析法和紫外分光光度法测定包封率; 通过单因素、星点设计-响应面法优化制备工艺及处方; 并对最佳处方类脂囊泡的形态学、平均粒径、Zeta 电位及包封率等性质进行考察。**结果** 最佳处方工艺为司盘 80-胆固醇 2:1, 水合温度为 70 °C、水合时间为 51 min、超声时间为 60 min, 其预测包封率为 80.66%, 预测值与理论值的偏差 4.95%, 二项式拟合复相关系数 0.989 9。**结论** 采用星点设计-效应面法优选的 GA-NI 制备工艺稳定可行、精密度高、可预测性好。

关键词: 甘草次酸; 薄膜分散-超声法; 类脂囊泡; 星点设计-响应面法; 非离子表面活性剂

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)02-0240-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.02.011

Preparation of glycyrrhetic acid niosomes and optimization of its prescription process

LI Xi-xiang¹, ZHANG Ya-hui², LIU Xiao-shuan¹, BAO Qiang¹, QIAN Meng-ru²

1. Gansu Province Hospital of Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

2. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective With nonionic surfactants as the carrier material to prepare glycyrrhetic acid (GC) niosomes (NI) and to evaluate the quality. **Methods** The thin film dispersion-ultrasound method was used for establishing the preparation process of GC-NI, reverse dialysis method and ultraviolet spectrophotometer method were used to determine the encapsulation efficiency (EE), the prescription and preparation process were optimized through single factor and central composite design-response surface methodology (CCD-RSM), and the properties of morphology, particle size, Zeta potential, and EE in optimized NI were investigated. **Results** The optimum prescription process as Span 80-cholesterol was 2:1, hydration temperature was 70 °C, hydration time was 51 min, ultrasonic time was 60 min, its forecast EE was 80.66%, bias between the observed and predicted values was 4.95%, and regression coefficient of binomial fitting complex model was as high as 0.989 9. **Conclusion** CCD-RSM is used to optimize the preparation, which has the stable, feasible, high precision, and good predictability advantage.

Key words: glycyrrhetic acid; thin film dispersion-ultrasonic method; niosomes; central composite design-response surface methodology; nonionic surfactants

甘草为豆科 (Fabaceae) 甘草属 *Glycyrrhiza* L. 植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎^[1], 别名甜草根、红甘草、国老等, 有调节机体免疫功能^[2]、抗菌、抗炎、抗病毒、抗氧化之功效。其主要化学成分有甘草酸、

甘草甜素、甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA)、甘草皂苷、甘草苷元、异甘草苷、异甘草苷元及甘草利酮、刺芒柄黄花素、甘草素等。其中, GA 对致癌性的病毒如肝炎病毒及艾滋病病毒均有抑制作用^[3], 临床上常用来治疗慢性肝炎及肝癌。GA 在水中溶解度小, 平衡溶解度仅为 6.32 mg/mL, 油水分

收稿日期: 2015-08-22

基金项目: 甘肃省科技支撑计划——甘草次酸口服囊泡包裹的纳米载体构建及肝靶向特性研究 (1204FKCA183)

作者简介: 李喜香 (1968—), 女, 主任中药师, 硕士生导师, 主要从事药物传统剂型的改进及新剂型的研究。

Tel: 15002550389 E-mail: LixiXiang929@163.com

配系数 $P=48\ 978$ ($\lg P\ 4.69$), 口服基本不吸收, 普通注射剂的生物利用度低, 严重影响其临床疗效的充分发挥^[4-5]。

囊泡主要有脂质囊泡与类脂囊泡 (niosomes, NI), 类脂囊泡由非离子型表面活性剂自组装形成, 具有闭合的双分子膜结构, 又称为非离子表面活性剂囊泡 (non-ionic surfactant-based elastic vesicle), 是第2代柔性囊泡。与脂质囊泡一样具有组织相容性和细胞透过性, 但不像脂质囊泡易受氧化或水解, 也不易泄漏药物。药物被聚合物囊泡包封后, 可以起到增效、减毒、缓释、增加药物稳定性和靶向性等作用^[6]。类脂囊泡还具有稳定性高、成本低、表面活性剂类型多且易得^[7]等优点。通过类脂囊泡制备技术, GA 在包封的状态下, 可以增加药物的溶解性, 改变其体内分布以提高靶向性。本实验以单因素实验联合星点设计响应面法对 GA 类脂囊泡 (GA-NI) 的制备方法 & 处方进行了初步筛选。

1 仪器与材料

Zetasizer Nano 3600 激光动态散射仪, 英国 Malvern 公司; TECNAI² G2 F30 透射电子显微镜, 荷兰 Philips-FEI 公司; RE-3000 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; UV-1800 紫外分光光度仪, Shimadzu 公司; HJ-6 多头磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; SB-3200D 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; CP225D 电子天平, 德国赛多利斯公司。

GA 样品 (批号 BW20121209Q), 质量分数 98%, 西安富捷药业有限责任公司; GA 对照品, 质量分数为 98.5%, 批号 110723-201413, 中国食品药品检定研究院; 司盘 60 (批号 201304291)、司盘 80 (批号 201305151)、聚山梨酯 80 (批号 201302151), 成都艾科达化学试剂有限公司; 胆固醇, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 20120329; 透析袋, 截留相对分子质量 8 000~14 000, 北京博奥拓达科技有限公司; 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 GA-NI 的制备

以非离子表面活性剂和胆固醇为囊材, 采用薄膜分散-超声法制备 GA-NI, 即先称取适量的 GA, 非离子表面活性剂与胆固醇分别溶于氯仿-乙醇 (4:1) 混合液中, 加入圆底烧瓶中, 减压蒸发至瓶内壁上形成均匀透明一层薄膜, 加入一定量的超纯水, 使薄膜溶胀水合后超声 40 min, 即得乳白色的

GA-NI 混悬液。

2.2 分析方法的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 GA 对照品 2.0 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度。

2.2.2 供试品溶液的制备 按“2.1”项下方法制备质量浓度为 1 mg/mL 的 GA-NI 混悬液, 精密吸取 1 mL 的 GA-NI 混悬液, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 15% 乙醇定容至刻度, 即得供试品溶液。

2.2.3 波长的确定 取“2.2.1”项下对照品溶液与“2.1”项下制备工艺制备的不含药物的空白囊泡溶液, 经破乳处理, 采用紫外分光光度法, 在 200~400 nm 波长扫描。结果显示, 对照品最大吸收波长为 250 nm, 空白囊泡的辅料及溶剂在 250 nm 处无吸收, 表明该波长处对药物的检测无干扰, 故可以选择 250 nm 为 GA-NI 的测定吸收波长。

2.2.4 线性关系的考察 精密称取 GA 对照品 16.0 mg, 用甲醇定容至 1 000 mL, 配成 16 $\mu\text{g/mL}$ 的母液, 用甲醇稀释成质量浓度分别为 0.4、0.8、2.0、4.0、8.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液。在波长 250 nm 下, 测吸光度 (A) 值, 并以 A 值对质量浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程: $A=0.0192C+0.0661$, $r=0.996$, 表明 GA 在 0.4~16 $\mu\text{g/mL}$ 与 A 值呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 分别取“2.2.4”项下低、中、高 (0.4、8.0、16.0 $\mu\text{g/mL}$) 3 个质量浓度的 GA 对照品溶液 3 mL, 平行取样 6 份, 在波长 250 nm 处测定, 每天测 6 次, 连续测定 6 d, 计算日内与日间精密度。结果显示, 低、中、高 3 个质量浓度的日内、日间精密度的 RSD 分别为 0.31%、0.54%、0.81% 和 0.92%、1.34%、1.58%, 表明紫外分光光度法测定 GA, 其精密度符合方法学要求。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下质量浓度为 1 mg/mL 的供试品溶液 1 份, 在 250 nm 波长处, 分别于 0、4、8、12、18、24 h 进行测定, 其 RSD 为 1.41%, 结果表明, 供试品溶液在常温条件下 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取“2.2.2”项下同一批次供试品溶液 6 份, 按“2.2.4”项下方法测定, 记录 A 值, GA-NI 的 RSD 为 1.36%, 说明该方法重复性良好。

2.2.8 回收率试验 分别吸取 20 mL 的空白囊泡溶液 6 份, 置于 20 mL 量瓶中, 分别加入 GA 对照品 20 mg, 超声即得样品溶液, 计算其回收率, 结果

平均回收率为 97.43%，RSD 为 1.12%。

2.3 包封率的测定

采用反透析法测定包封率，精密量取 3 mL 的 GA-NI 溶液，置于 100 mL 量瓶中，用 95%乙醇定容至 100 mL，转移至锥形瓶中。再量取 95%乙醇 6 mL，置于已处理的透析袋中，两端扎紧，室温下磁力搅拌。在 8 h 时吸取透析袋内的透析液，测定其质量浓度，计算游离药物的质量 (m_1)，按公式计算包封率 (包封率 = $1 - m_1/m$ ，其中 m 为药物的总量)。

2.4 预实验

2.4.1 反透析时间的确定 精密量取 3 mL 的 GA-NI 溶液，置于 100 mL 量瓶中，用 95%乙醇定容至 100 mL，转移至锥形瓶中。再量取 95%乙醇 6 mL，置于已处理的透析袋中，两端扎紧，室温下磁力搅拌。在透析过程中，分别于 1、2、4、6、8、10 h 吸取透析袋内的透析液 3 mL，测定其游离的药物质量浓度，同时在透析袋内补充 3 mL 95%乙醇，结果包封率分别为 7.61%、19.83%、35.57%、55.60%、80.90%、80.90%。采用反透析法在 8 h 时达到平衡，且在 10 h 内不发生渗漏现象。故本实验采用反透析法^[8]测 GA-Ni 的包封率，选择 8 h 作为透析时间。

2.4.2 表面活性剂的确定 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL，司盘 60 质量浓度 0.1 mg/mL，司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL，聚山梨酯 80 质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL，表面活性剂-胆固醇 1:1，GA-胆固醇 1:1，水-胆固醇 2:1，考察不同表面活性剂 (司盘 60，司盘 80，聚山梨酯 80，司盘 60-聚山梨酯 80 1:2、2:3、1:1、3:2、2:1，司盘 80-聚山梨酯 80 1:2、2:3、1:1、3:2、2:1) 对 GA-NI 包封率的影响。结果包封率分别为 49.17%、75.62%、66.80%、36.80%、21.81%、40.33%、22.69%、15.64%、4.17%、57.97%、30.63%、40.33%、12.10%。由此可知，司盘 60 作为表活制备的 GA-NI 包封率低，司盘 80 与聚山梨酯 80 制备的 GA-NI 的包封率接近，但司盘 80 制备的 GA-Ni 混悬液均匀且无白色沉淀。司盘 60 与聚山梨酯 80 的不同比例以及司盘 80 与聚山梨酯 80 的不同比例制备得到的 GA-NI 的包封率均比较低且形成的混悬液不均匀。故选择司盘 80 作为表面活性剂。

2.5 单因素考察

2.5.1 GA 质量浓度 固定司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇溶液-

水 1:2，GA 溶液-水 1:2，水合温度 55 °C，水合时间 40 min，超声时间 40 min，考察 GA 质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 对 GA-NI 包封率的影响。结果平均包封率分别为 32.04%、75.67%、63.45%、39.89%、37.28% ($n=3$)，结果表明 GA 质量浓度在 0.2~1.0 mg/mL 均能形成类脂囊泡，随着 GA 质量浓度的增大，包封率先增大后减小。静置 24 h 后，GA-NI 的乳浊液无变化，稳定性好。本实验选择 GA 质量浓度为 0.6 mg/mL。

2.5.2 司盘 80 溶液与胆固醇溶液的体积比 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL，司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇溶液-水 1:2，GA 溶液-水 1:2，考察司盘 80 溶液与胆固醇溶液的体积比分别为 1:3、1:2、1:1、2:1、3:1 对 GA-NI 包封率的影响。结果 GA 平均包封率分别为 50.36%、59.88%、69.41%、72.34%、62.08% ($n=3$)。结果表明司盘 80 溶液与胆固醇溶液的体积比在 1:3~3:1 均能形成类脂囊泡，随着二者体积比增大，包封率先增大后减小。静置 24 h 后，GA-NI 的乳浊液无变化，稳定性好。司盘 80 溶液与胆固醇溶液的体积比以 3:2 为中心点作为星点设计试验因素水平。

2.5.3 胆固醇溶液与水溶液的体积比 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL，司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇溶液-水 1:2，GA 溶液-水 1:2，水合温度 55 °C，水合时间 40 min，超声时间 40 min，考察胆固醇与水的体积比分别为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 对 GA-NI 包封率的影响。结果平均包封率分别为 34.16%、64.28%、80.40%、65.74%、40.10% ($n=3$)。结果表明胆固醇溶液与水的体积比在 1:2~1:5 均能形成类脂囊泡，随着二者体积比增大，包封率先增大后减小；胆固醇溶液与水的体积比为 1:1 时，在旋转蒸发过程中，圆底烧瓶瓶壁上的薄膜分散不均匀，水合后出现片状漂浮物，静置 24 h 后产生沉淀。本实验选择胆固醇溶液与水的体积比为 1:3。

2.5.4 水合温度 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL，司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL，胆固醇溶液-水 1:2，GA 溶液-水 1:2，水合时间 40 min，超声时间 40 min，考察水合温度分别为 25、40、55、70 °C 对 GA-NI 包封率的影响。结果平均包封率分别为 34.97%、48.89%、64.28%、73.07% ($n=3$)。结果表明水合温度在 25~70 °C 均

能形成类脂囊泡,随着水合温度升高,包封率呈增大趋势,静置 24 h 无变化。本实验选择水合温度以 62.5 °C 为中心点作为星点设计因素水平。

2.5.5 水合时间 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL, 司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL, 胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL, 胆固醇溶液-水 1:2, GA 溶液-水 1:2, 水合温度 55 °C, 超声时间 40 min, 考察水合时间分别为 10、40、70、100、130 min 对 GA-NI 包封率的影响。结果平均包封率分别为 58.20%、84.06%、79.66%、60.87%、62.34% ($n=3$)。结果表明水合时间 10 min 形成的乳浊液不均匀、稳定。40~70 min 均能形成类脂囊泡,随着水合时间增大,包封率呈减小趋势,静置 24 h 无变化。本实验选择水合时间以 55 min 为中心点作为星点设计因素水平。

2.5.6 超声时间 固定 GA 质量浓度 0.6 mg/mL, 司盘 80 质量浓度 0.1 mg/mL, 胆固醇质量浓度 0.1 mg/mL, 胆固醇溶液-水 1:2, GA 溶液-水 1:2, 水合温度 55 °C, 水合时间 40 min, 考察超声时间分别为 20、40、60、80、100 min 对 GA-NI 包封率的影响。结果平均包封率分别为 58.20%、78.41%、91.39%、63.86%、79.80% ($n=3$)。结果表明超声时间 40~60 min 均能形成类脂囊泡,随着超声时间增大,包封率先增大后减小再增大趋势,静置 24 h 无变化。因 100 min 耗时间且包封率不是最优,故本实验选择超声时间以 50 min 为中心点作为星点设计因素水平。

2.6 处方工艺优化

综合单因素考察的结果,选取司盘 80 溶液与胆固醇溶液体积比(A)、水合温度(B)、水合时间(C)、

超声时间(D)作为考察因素,根据单因素实验结果选取水平,以包封率为评价指标,采用星点设计-效应面法^[9]优化实验,实验设计及结果见表 1。

2.7 实验结果分析

2.7.1 方差分析结果 对实验结果进行方差分析,模型显著性检验 $P<0.01$, 其中,1 次项自变量 A、C、D, 2 次项 AD、BC、BD、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 显著 ($P<0.05$), 表明该模型具有统计学意义。失拟项 $P=0.252 2>0.05$, 说明无失拟因素存在,该模型可以用来代替真实的实验点结果进行分析;校正系数 $R^2=0.989 9$, 变异系数为 4.95%, 表明该模型变异小,模型拟合优度好。

2.7.2 响应面回归分析结果 以 A、B、C、D 为自变量,以包封率为因变量进行多元二次响应面回归分析,回归模型数据的分布见图 1。

由图 1 可知,实验实测值和预测值分布线性明显,参数的正态分布基本在一条直线上,没有出现异常的数据点,说明可用来对此制备工艺研究进行分析和预测。回归方程为包封率=82.89+6.86 A-1.74 B-3.20 C+4.95 D+3.35 AB-0.48 AC-4.89 AD+2.93 BC+15.23 BD-1.98 CD-14.22 A^2 -8.89 B^2 -5.97 C^2 -2.48 D^2 , 通过等高线和三维响应曲面分析 A、B、C、D 对包封率的影响情况,如图 2 所示。

从图 2 可以直观地看出 2 种因素相互作用,均能出现最优值,表明采用薄膜分散超声法在制备 GA-NI 时,4 种因素对其包封率均影响较大。以包封率达到最高为选择条件,得到的最佳拟合方案只有 1 种:司盘 80 溶液-胆固醇溶液 2:1,水合温度

表 1 实验设计及结果

Table 1 Design and results of experiment

| 试验号 | A | B/°C | C/min | D/min | 包封率/% | 试验号 | A | B/°C | C/min | D/min | 包封率/% |
|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 50 | 80.52 | 12 | 2:1 | 55.00 | 40.00 | 60 | 50.81 |
| 2 | 3:2 | 62.50 | 80.23 | 50 | 63.85 | 13 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 33.18 | 68.03 |
| 3 | 3:2 | 62.50 | 29.77 | 50 | 69.15 | 14 | 1:1 | 70.00 | 70.00 | 60 | 61.21 |
| 4 | 1:1 | 70.00 | 40.00 | 60 | 67.04 | 15 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 50 | 81.38 |
| 5 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 66.82 | 84.68 | 16 | 2:1 | 70.00 | 40.00 | 40 | 44.09 |
| 6 | 3:2 | 49.89 | 55.00 | 50 | 61.16 | 17 | 1:1 | 55.00 | 40.00 | 40 | 59.44 |
| 7 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 50 | 82.21 | 18 | 2:1 | 70.00 | 70.00 | 40 | 44.26 |
| 8 | 1:1 | 55.00 | 70.00 | 40 | 49.81 | 19 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 50 | 87.32 |
| 9 | 7:3 | 62.50 | 55.00 | 50 | 54.67 | 20 | 3:2 | 62.50 | 55.00 | 50 | 81.92 |
| 10 | 2:1 | 55.00 | 70.00 | 60 | 31.33 | 21 | 3:5 | 62.50 | 55.00 | 50 | 31.61 |
| 11 | 3:2 | 75.11 | 55.00 | 50 | 55.32 | | | | | | |

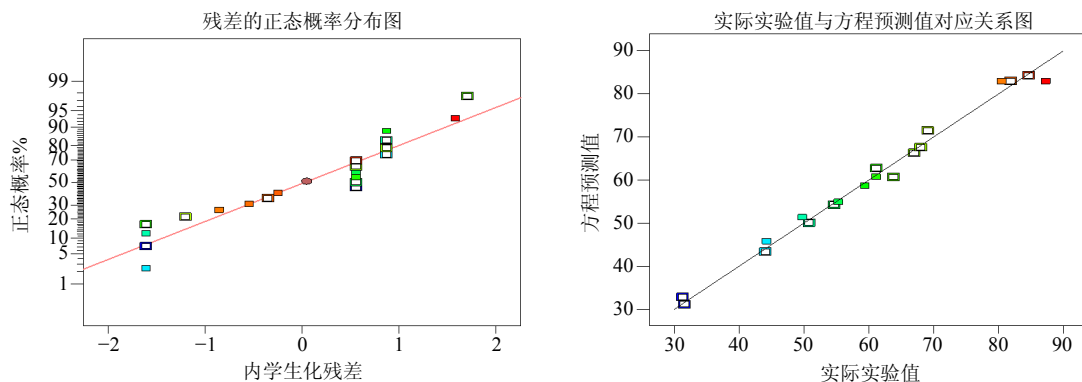


图 1 薄膜分散超声法回归模型数据点的分布图

Fig. 1 Distribution of data points of regression model of thin film dispersion ultrasonic method

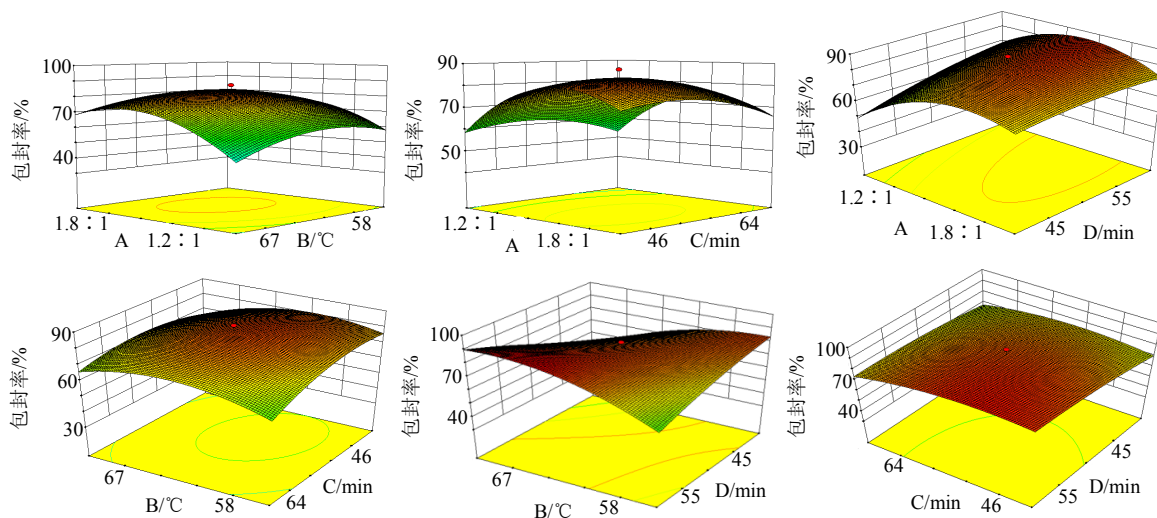


图 2 薄膜分散超声法中因素对包封率影响的响应面

Fig. 2 Response surface of factors affecting EE of thin film dispersion ultrasonic method

69.35 °C, 水合时间 51.19 min, 超声时间 60 min, 包封率 80.66%。

通过实验分析及结果, 最终选择薄膜分散法制备 GA-NI 的最佳制备工艺为司盘 80 溶液-胆固醇溶液 2 : 1, 水合温度为 69.35 °C, 水合时间为 51.19 min、超声时间为 60 min, 其预测包封率为 80.66%。结合实际生产考虑, 对各因素条件取整, 确定最佳提取工艺为司盘 80 溶液-胆固醇溶液 2 : 1, 水合温度为 70 °C、水合时间为 51 min、超声时间为 60 min。

2.8 形态观察

取少量 GA-NI 混悬液, 用 15%乙醇稀释 10 倍, 滴至有碳膜的铜网上, 稍干后用滤纸吸干边缘混悬液于透射电子显微镜下观察 GA-NI 的形态。透射电镜照片见图 3。可见 GA-NI 呈圆形或类圆形、分布较均匀。

2.9 平均粒径及 Zeta 电位图

取适量 GA-NI 溶液, 用激光粒度分析仪测定囊

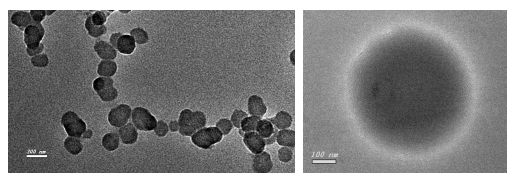


图 3 囊泡的透射电镜图 (A) 和单个囊泡透射电镜图 (B)
Fig. 3 Transmission electron microscopy of vesicles (A) and a single vesicle (B)

泡平均粒径为粒径 200 nm, Zeta 电位为 (-25.1 ± 3.4) mV, 其粒径及 Zeta 电位图如图 4 所示。

2.10 GA-NI 稳定性考察

将制备得到的 GA-NI 置于 4 °C 与室温 (温度范围为 18~25 °C) 下保存, 在 0、24 h 及 15、30 d 取样, 观察 GA-NI 的外观形态。结果表明, 低温 4 °C 条件下, 在 24 h 无变化, 15 d 出现分层的现象; 室温条件下, 0~30 d 其外观无变化, 仍为乳白色的均匀混悬液。因此, GA-NI 可保存于室温条件下, 以便于后期实验制备各类脂囊泡包裹的壳聚糖纳米粒。

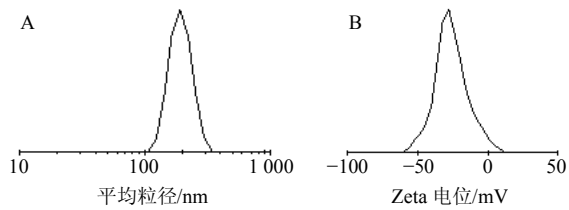


图4 优化工艺制备的GA-NI粒径图 (A) 和Zeta电位图 (B)
Fig. 4 Diagram of size (A) and Zeta potential (B) in GA-NI prepared by optimization process

3 结论

非离子表面活性剂囊泡的制备方法有注入法、薄膜法、超声振荡法、逆向蒸发法、高压乳化法、反向蒸发法^[10]等,其中薄膜分散超声法具有包封率最高,且制得的囊泡粒径小且均匀^[11]的优点,因此,本实验采用薄膜分散超声法制备。其制备原理是将表面活性剂及脂溶性药物分别溶于有机溶剂中,然后再减压旋转下除去溶剂,使表面活性剂在器壁形成薄膜,水合一定时间后,超声减小粒径从而得到类脂囊泡。

类脂囊泡的包封率是评价药物传递系统的重要参数之一,类脂囊泡包封率的测定方法有葡聚糖凝胶柱色谱法、超速离心法、透析法等。凝胶柱分离样品时对样品的稀释性大、用时长,凝胶色谱不易使粒径较小的类脂囊泡与游离药物分离,且难溶于水的药物在介质中多以晶体形式存在,不适用于该方法^[12]。超速离心法则是利用游离药物与类脂囊泡的重力差异进行分离,适用于亚微米级粒子,可用于样品浓缩。但该方法成本高,常需离心 1 h 以上,且各批样品间重现性差,药物的包封率低,原因可能是由于离心过程中速度过大一部分类脂囊泡或药物渗漏丢失^[13]。而透析法需要较大量的透析液和较长的时间,并且不断需要更换透析液,还需要考虑透析膜对药物的吸附性^[12]。而采用反渗透法,透析袋内放入透析介质,囊泡周围的游离药物稀释倍数较小避免了动态平衡的破坏且透析袋价廉、节省成本^[14]。本实验采用反渗透法测定 GA-NI 的包封率,结果满意。且实验发现,表面活性剂与胆固醇的比例、水合温度、水合时间、超声时间对包封率也均有一定影响,这与相关研究结论基本一致^[15]。本实验制得的类脂囊泡通过电镜观察,其形状规则近似球形,粒径 200 nm,较理想。Zeta 电位为 (-25.1 ± 3.4) mV,表明类脂囊泡表面带负电荷,这在一定

程度上阻止了类脂囊泡的聚集^[16],保证了混悬液的稳定性,显示优化工艺可行。

总之,本实验制备的 GA-NS 形态圆整、包封率稳定,为进一步制备类脂囊泡包裹的壳聚糖纳米粒及其他内容提供方法学和相关实验依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 周荣汉. 中药资源学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993.
- [3] 包金凤, 吴勇杰. 甘草次酸药理作用的研究进展 [J]. 兰州医学院学报, 1994, 20(1): 50-52.
- [4] 郭波红, 程 怡, 林绿萍, 等. 甘草次酸平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(3): 221-223.
- [5] 程 怡, 郭波红, 林绿萍. 甘草次酸脂质体的包封率测定和体外释放度考察 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(4): 384-388.
- [6] 张琳华, 何颖娜, 马桂蕾, 等. 叶酸靶向紫杉醇聚合物纳米囊泡的制备及其抗肿瘤活性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(22): 1742-1748.
- [7] 魏颖慧, 陈苹苹, 李范珠, 等. 囊泡及微粒经皮给药系统的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(3): 224-228.
- [8] 钟 萌, 杨 林, 黄开顺. 阿奇霉素囊泡的制备及处方考察 [J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(8): 614-617.
- [9] 靳士晓, 韩 晋, 靳世英, 等. 星点设计-效应面法优化甘草酸磷脂/胆盐混合胶束处方 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 48-51.
- [10] 张群利, 崔琳琳, 陈春晟. 表面活性剂囊泡的应用研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(27): 9267-9268.
- [11] 陈洪轩, 徐志杰, 肖衍宇. 蛇床子素非离子囊泡的制备和质量评价 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(1): 33-36.
- [12] 李红茹, 李淑芬. 脂质体中药物包封率的测定方法 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(11): 1844-1848.
- [13] 叶兆伟, 承 伟. 脂质体包封率测定方法及影响因素 [J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(10): 789-792.
- [14] 钟 萌, 尹华峰, 滕永真, 等. 反渗透法测定阿奇霉素囊泡的包封率 [J]. 光谱实验室, 2012, 29(5): 2941-2943.
- [15] Wang Y Y, Liu T Q, Xu W W. Preparation of hollow polypyrrole nanospheres in niosome system [J]. Chem Res Chin Univ, 2013, 29(3): 607-610.
- [16] 吴艳丽, 赫宝华. 青光眼用葛根素柔性脂质体温敏凝胶的研究 [D]. 西安: 西北大学, 2015.