

川芎嗪固体脂质纳米粒的制备与表征

川芎嗪(ligustrazine)是从伞形科植物川芎和大戟科植物通风麻风树茎中提取的有效成分。临床研究表明,川芎嗪具有抗血小板聚集、扩张小动脉、改善微循环和脑血流的作用。从上世纪70年代川芎嗪已经成为国内临床治疗缺血性脑血管病的常用药物。但由于川芎嗪存在首过效应,普通口服制剂生物利用度仅为10%~30%,很大程度上限制了川芎嗪在临床上的应用。而注射剂给药不方便,也存在急性毒性和过敏反应等安全方面的问题,难以满足广大患者的治疗需要。

固体脂质纳米粒是20世纪90年代初发展起来的新一代亚微粒给药系统,它是以毒性低、生物相容性好、生物可降解的固态天然或合成的类脂为载体,将药物包裹或夹嵌于类脂核中制成的固体胶粒给药系统,粒径通常在10~1000 nm内。目前研究表明,固体脂质纳米粒具有增加药物生物利用度、提高药物靶向性的作用。因此,本文作者针对川芎嗪存在首过效应、生物利用度低的问题,利用固体脂质纳米粒的优势,将川芎嗪制备成固体脂质纳米粒,以达到降低川芎嗪首过效应、提高生物利用度目的,为川芎嗪新型口服制剂的研究与开发提供理论依据。

实验仪器

岛津LC-30A 高效液相色谱系统(日本Shimadzu公司),马尔文激光粒度仪及电位分析仪(英国Malvern公司),ATY124 精密电子天平(万分之一,日本Shimadzu公司),JEM-2010HR 透射电子显微镜(日本NEC Electronics 株式会社),RCZ-6B智能溶出仪(天津天大天发科技有限公司),NanoDeBEE30-4(苏州微流纳米生物技术有限公司),DF-101S 磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂),3H24 RI 智能高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司),透析袋MD120(截留相对分子量12000~14000,上海新睿生物科技有限公司)。

实验材料

盐酸川芎嗪原料药(西安力邦制药有限公司,含量质量分数>99.5%),盐酸川芎嗪对照品(含量质量分数>99.5%,中国食品药品检定研究院),单硬脂酸甘油酯(glyceryl monostearate,巴斯夫中国有限公司),大豆磷脂(上海太伟药业),吐温80(Tween 80,南京威尔化工有限公司)。

实验方法与结果

称取10 mg 川芎嗪对照品置100 mL 量瓶中,加入少量甲醇振摇溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。精密量取对照品贮备液用流动相稀释成1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准溶液,摇匀,滤过,精密吸取20 μL ,按色谱条件测定。以川芎嗪质量浓度(ρ)对峰面积(A)作线性回归,得回归方程为: $A = 5.3927 \times 10^4 \rho - 1.089 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)。结果表明:川芎嗪在1.0~20.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内药物质量浓度与峰面积线性关系良好。

利用低温高速离心法分离川芎嗪固体脂质纳米粒中的游离药物并测定包封率。平行取3份川芎嗪固体脂质纳米粒溶液各2.0 mL,加入到超速离心管中,设定离心速度为50000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心时间为1 h,离心结束后仔细吸取上清液1 mL至10 mL量瓶中,加流动相稀释,定容;同时精密移取川芎嗪固体脂质纳米粒溶液1.0 mL于50 mL量瓶中,加入5 mL 甲醇破坏纳米粒,加流动相稀释,定容,分别取上述两种溶液续滤液采用HPLC法测定川芎嗪含量。按公式EE/%

$= [1 - (m_{\text{游离}}/m_{\text{总}})] \times 100\%$ 计算包封率, 式中 $m_{\text{游离}}$ 为川芎嗪固体脂质纳米粒溶液中未被包封的川芎嗪质量, $m_{\text{总}}$ 为川芎嗪固体脂质纳米粒溶液中川芎嗪的总量。

用热熔乳化-高压均质技术制备川芎嗪固体脂质纳米粒。制备工艺如下: 首先, 将处方量的川芎嗪、大豆磷脂、吐温80 加入50 mL 纯化水中, 在70 °C水浴条件下搅拌溶解均匀, 形成水相; 再将处方量的单硬脂酸甘油酯加入10 mL 乙醇中, 在70 °C水浴条件下搅拌溶解均匀, 形成油相; 开启高剪切分散乳化机, 速度设置为15 000 r·min⁻¹, 将油相缓慢加入到含药水相中, 持续剪切分散10 min, 得到乳白色溶液; 最后, 将溶液经高压匀质机均质3 次, 均质压力为160 MPa 后用纯化水稀释定容至全量, 过0.22 μm 滤膜, 冷水浴处理, 即制备得到川芎嗪固体脂质纳米粒。

取川芎嗪固体脂质纳米粒溶液少量, 加蒸馏水稀释, 吸取少量液体滴加到铜丝网表面, 再滴加质量分数为2.0% 的磷钨酸溶液负染15 min, 挥干水分, 在 JEM-2010HR 透射电子显微镜下观察川芎嗪固体脂质纳米粒的微观形态, 并拍摄电镜照片。电镜照片显示川芎嗪固体脂质纳米粒大小均匀, 表面光滑, 成圆整、呈规则球形或类球形分布。

取川芎嗪固体脂质纳米粒溶液少量, 加蒸馏水稀释, 采用马尔文激光粒度仪及电位分析仪测定粒径分布、PdI 和Zeta 电位。川芎嗪固体脂质纳米粒的粒径呈单峰成分布, 平均粒径为(127.4 ± 31.6) nm, PdI 为0.238, Zeta 电位为(-11.5 ± 0.9) mV。