

口服葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉的制备及其4种成分释放度考察

孟祥平¹, 周 群², 王治平^{3*}, 樊 化⁴, 王一飞⁴

1. 河南科技大学医学技术与工程学院, 河南 洛阳 471003

2. 华中科技大学同济药学院, 湖北 武汉 430030

3. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006

4. 暨南大学生物医药研究院, 广东 广州 510632

摘要:目的 制备口服葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉并考察其主要有效成分 3'-羟基葛根素、葛根素、大豆苷和大豆苷元的释放度。方法 采用高压均质法制备葛根总黄酮固体脂质纳米粒混悬液,以甘露醇为冻干保护剂制备冻干粉,以人工胃液(pH 1.2)为溶出介质,考察葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉中4种有效成分的释放度。结果 正交试验优选制备工艺:脂质-表面活性剂比例及用量为2:1及2.0%、葛根总黄酮用量2.5%、150 MPa均质15次,并制备葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉,其粒径、多分散指数及Zeta电位分别为 (517.1 ± 10.3) nm、 0.484 ± 0.210 及 (-21.91 ± 2.03) mV。葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉中4种有效成分的释放速率显著低于其物理混合物,具有明显的缓释特征。结论 葛根总黄酮固体脂质纳米粒冻干粉制备方法简便,能显著延缓主要有效成分的释放速率,有望成为葛根总黄酮的新型纳米给药系统。

关键词: 葛根总黄酮; 固体脂质纳米粒; 有效成分; 释放度; 冻干粉; 3'-羟基葛根素; 葛根素; 大豆苷; 大豆苷元

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)17-2467-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.17.009

Preparation of lyophilized powder in oral *Pueraria* flavonoids loaded solid lipid nanoparticles and determination of release rate of its four effective components

MENG Xiang-ping¹, ZHOU Qun², WANG Zhi-ping³, FAN Hua⁴, WANG Yi-fei⁴

1. Medical Technology and Engineering College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

2. Tongji School of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

3. School of Pharmacology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

4. Institute of Biological Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: Objective To prepare the lyophilized powder of *Pueraria* flavonoids loaded solid lipid nanoparticles (PF-SLN) and determine the dissolution rate of its four effective components: 3'-hydroxypuerarin, puerarin, daidzin, and daidzein. **Methods** PF-SLN was prepared by the high pressure homogenization (HPH) technology. The lyophilized formula contained mannitol as cryoprotectant. The release rates of the four effective components from the PF-SLN lyophilized powder as well as the physical mixture were determined, with artificial gastric juice (pH 1.2) as dissolvent. **Results** The technical parameters of PF-SLN preparation optimized by orthogonal test were as follows: The ratio and the dosage of lipid-surfactant were 2:1 and 2.0%, PF dosage was 2.5%, and 150 MPa homogeneity was 15 cycles. The optimal PF-SLN lyophilized powder was loosen with the particle size of (517.1 ± 10.3) nm, polydisperse index of 0.484 ± 0.210 , and Zeta potential of (-21.91 ± 2.03) mV, respectively. The *in vitro* accumulated dissolution rates of PF-SLN lyophilized powder were slower than those of the physical mixture. **Conclusion** The method employed to prepare PF-SLN lyophilized powder is feasible. PF-SLN lyophilized powder could delay the *in vitro* dissolution rate notably. It might be a novel vehicle potentially for nano-drug delivery system of *Pueraria* flavonoids.

Key words: *Pueraria* flavonoids; solid lipid nanoparticles; effective components; release rate; lyophilized powder; 3'-hydroxypuerarin; puerarin; daidzin; daidzein

收稿日期: 2014-03-11

基金项目: 国家重大新药创制项目(2011ZX09401-307)

作者简介: 孟祥平, 讲师, 主要从事中药及蛋白质药物的研究。E-mail: mxiangping@163.com

*通信作者 王治平, 男, 博士, 专业方向为中药药效物质、新剂型及质量控制研究。Tel: 13570314011 E-mail: wzping_jshb@126.com

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根^[1],其化学成分主要有异黄酮类、三萜类、皂苷类、香豆素类及葛酚苷类等化合物^[2]。葛根总黄酮 (*Pueraria flavonoids*, PF) 是葛根的有效部位,具有活血化瘀之功,用于缺血性中风中经络恢复期瘀血痹阻脉络证^[3]。有关 PF 的化学成分、药理作用及提高生物利用度措施等已在先前报道^[4]中提及,在此不再赘述。

固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticles, SLN) 由生理性脂质、表面活性剂和水组成,既具备聚合物纳米粒物理稳定性高、药物泄漏少等优点,又兼备脂质体、微乳等低毒性、规模化生产等优点,是一种极具发展前景的新型给药载体系统,而受到各发达国家的广泛重视^[5]。SLN 可增强与生物膜的黏附性,延长药物在胃肠道的黏附时间和滞留时间,有效地提高药物生物利用度^[6]。

为提高 PF 溶解性、稳定性和生物利用度,本实验采用高压均质技术制备 PF 固体脂质纳米粒 (PF-SLN) 加入甘露醇冷冻干燥得 PF-SLN 冻干粉。采用转篮法考察其中 4 种有效成分的溶出度,为其临床前研究奠定基础。

1 仪器与材料

NanoGenizer 型高压均质机 (苏州微流纳米代理);聚山梨酯 80 (P80,上海国药集团化学试剂有限公司,批号 F20091214);其他试剂及仪器信息见文献报道^[4]。

2 方法与结果

2.1 PF 定量测定^[3]

标准曲线的制备及 PF 定量测定方法见文献报道^[4]。测得以葛根素计的 PF 的量为 62.19%。

2.2 PF 包封率及载药量测定方法^[7-8]

游离 PF (W_F) 测定:精密吸取 PF-SLN 1.0 mL,置离心管中,离心 (14 000 r/min) 30 min,取上清液适当稀释,按“2.1”项下方法测定总黄酮,即得。

PF-SLN 总药量 (W_T) 测定:精密吸取 PF-SLN 0.5 mL,置 5 mL 量瓶中,加入乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取滤液适当稀释,同法测定总黄酮,即得。按公式:包封率 = $(W_T - W_F) / W_T$,载药量 = $(W_T - W_F) / W_S$ (W_S 为载体材料及药物的总量),计算包封率及载药量。

2.3 PF-SLN 制备

采用高压均质法^[9-12]制备 PF-SLN。经过预试验确定了以表面活性剂 P80、固体脂质 GB 为主的 PF-SLN 处方。称取处方量的 GB 及 PF,在 (85 ± 2) 水浴加热融化,混匀,为脂质相;另取处方量的 P80,加适量超纯水分散,置同温水浴中,为水相。在保温状态下,将水相倒入脂质相中,搅匀,先高速分散机 4 000 r/min 分散 10 min (预试验发现,低于 10 min,则需增大高压均质次数,才能制得合适粒径的 SLN;而超过 10 min,分散形成的泡沫过多,严重影响后续操作),得微乳,趁热用高压均质机均质 10 次 (150 MPa),即得 PF-SLN。以粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI)、Zeta 电位、包封率及载药量等指标,优化 GB-P80 比例及其用量、PF 原料用量、均质压力和次数。

2.3.1 GB-P80 比例 固定 GB-P80 及 PF 原料用量分别为 1.0% 及 2.5%,考察 GB-P80 不同比例对 PF-SLN 粒径、Zeta 电位等参数的影响,结果见表 1。由考察结果可知,当 GB-P80 比例为 2 : 1 时,所得 PF-SLN 的包封率及 Zeta 电位较高,当 GB-P80 比例为 1 : 3 时,所得 PF-SLN 的包封率及 Zeta 电位较低。综合考虑,选择固体脂质、表面活性剂 GB-P80 的比例为 2 : 1。

2.3.2 GB-P80 用量 固定 GB-P80 比例 2 : 1、PF 原料用量 2.5%,考察 GB-P80 不同用量对 PF-SLN 包封率、粒径、Zeta 电位等参数的影响,结果见表 2。由考察结果可知,当 GB-P80 用量为 2.0% 时,所得 PF-SLN 的包封率高、PDI 和粒径最小而

表 1 GB-P80 不同比例对 PF-SLN 参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of GB and P80 ratios on parameters of PF-SLN ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

GB-P80 比例	包封率 / %	PDI	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV
3 : 1	85.27	0.577 ± 0.391	548.7 ± 16.9	-19.29 ± 3.04
2 : 1	90.13	0.463 ± 0.234	517.8 ± 18.3	-20.33 ± 2.37
1 : 1	79.66	0.539 ± 0.272	537.3 ± 17.7	-19.37 ± 2.82
1 : 2	63.49	0.448 ± 0.193	508.3 ± 13.1	-18.59 ± 2.72
1 : 3	51.91	0.419 ± 0.261	489.9 ± 16.2	-17.81 ± 2.41

表 2 GB-P80 不同用量对 PF-SLN 参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Effect of GB and P80 dosages on parameters of PF-SLN ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

GB-P80 用量 / %	包封率 / %	PDI	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV
0.5	85.19	0.464 ± 0.183	522.6 ± 17.1	-18.31 ± 2.03
1.0	90.13	0.463 ± 0.232	517.8 ± 18.3	-20.33 ± 2.37
1.5	91.69	0.464 ± 0.214	519.1 ± 18.1	-21.31 ± 2.97
2.0	93.45	0.451 ± 0.171	509.1 ± 12.8	-21.59 ± 2.79
2.5	93.91	0.509 ± 0.294	529.3 ± 18.6	-19.88 ± 2.49

Zeta 电位最高, 稳定性较高, 故选择 GB-P80 的用量为 2.0%。

2.3.3 PF 原料用量 固定 GB-P80 比例 2 : 1、用量 2.0%, 考察 PF 原料不同用量对 PF-SLN 粒径、电位等参数的影响, 结果见表 3。由考察结果可知, 当 PF 用量为 1.0%~2.5% 时, 所得 PF-SLN 的 PDI、粒径均较小而 Zeta 电位均较高, 稳定性较好。为减少临床口服剂量, 故选择 PF 原料用量为 2.5%。

表 3 PF 原料不同用量对 PF-SLN 参数的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Effect of PF dosages on parameters of PF-SLN
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

PF / %	包封率 / %	PDI	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV
1.0	93.39	0.419 ± 0.231	505.3 ± 16.8	-19.97 ± 2.11
1.5	93.41	0.439 ± 0.274	513.9 ± 16.9	-20.37 ± 2.31
2.0	93.46	0.454 ± 0.282	516.3 ± 17.7	-21.38 ± 2.91
2.5	93.45	0.457 ± 0.174	509.1 ± 12.8	-21.59 ± 2.79
3.0	83.93	0.513 ± 0.372	538.6 ± 19.9	-18.89 ± 2.67

2.3.4 均质压力及均质时间 固定 GB-P80 比例 2 : 1、用量 2.0% 及 PF 原料用量 2.5%, 考察均质压力和时间对 PF-SLN 粒径、电位等参数的影响, 结果见表 4。由考察结果可知, 当均质压力 150 MPa 时, 均质 15 及 20 次所得 PF-SLN 的 PDI、粒径均较小而 Zeta 电位均较高, 但无显著性差异。为节能降耗, 故选择均质压力和时间分别为 150 MPa、15 次。

表 4 均质压力和时间对 PF-SLN 参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Effects of HPH pressure and time on parameters of PF-SLN ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

均质压力 / MPa (均质时间 / 次)	包封率 / %	PDI	粒径 / nm	Zeta 电位 / mV
100 (15)	87.63	0.471 ± 0.313	533.1 ± 18.2	-19.93 ± 2.18
100 (20)	90.46	0.469 ± 0.291	527.8 ± 17.7	-20.31 ± 2.72
150 (15)	93.45	0.457 ± 0.174	509.1 ± 12.8	-22.59 ± 2.79
150 (20)	93.51	0.451 ± 0.193	508.8 ± 11.9	-22.76 ± 2.28

2.3.5 正交试验优选 PF-SLN 处方工艺 在以上单因素试验基础上, 以 GB-P80 比例 (A)、GB-P80 用量 (B)、PF 原料用量 (C) 为考察因素, 每个因素选取 3 个水平, 固定均质压力和时间为 150 MPa、15 次, 按 $L_9(3^4)$ 因素水平表进行试验 (表 5), 以包封率、粒径、PDI、Zeta 电位为指标筛选最佳处方组成, 试验结果见表 5。

采用直观分析法, 由表 5 极差值可知, 各因素对包封率、粒径及 PDI 的影响程度及最佳处方分别为 $B > A > C$ 、 $A > C > B$ 、 $B > C > A$ 及 $A_1B_2C_1$ 、 $A_2B_2C_2$ 、 $A_2B_2C_2$; 而各因素对电位的极差值与误差项极差值接近, 表明各因素对电位影响小。采用方差分析法, 由表 6 中 F 值及 P 值可知, GB-P80 比例 (因素 A) 对粒径有显著影响 (F 值 31.365、 $P < 0.05$), GB-P80 用量 (因素 B) 对包封率影响非常显著 (F 值 91.613、 $P < 0.01$)。因素 B 对 PDI 有显著影响 (F 值 39.333、 $P < 0.05$), PF 用量 (因素 C) 对电位有显著影响 (F 值 22.817、 $P < 0.05$)。

2.3.6 PF-SLN 制备工艺验证 上述单因素试验和正交试验优选所得 PF-SLN 制备工艺参数略有不同, GB-P80 比例及用量均为 2 : 1 及 2.0%, PF 用量分别为 2.0% 及 2.5%。根据“2.3.3”项下结果可知, 当 PF 用量为 1.0%~2.5% 时, 其 PDI、粒径均较小而电位均较高, 为减少服用量, 选择 2.5% PF。因此, 最佳工艺条件为 GB-P80 比例及用量为 2 : 1 及 2.0%、PF 用量 2.5%、150 MPa 均质 15 次。据此工艺条件连续生产 3 批, 所得 PF-SLN 的包封率为

表 5 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果
Table 5 Design and result of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B / %	C / %	D (空白)	包封率 / %	粒径 / nm	PDI	Zeta 电位 / mV
1	3 1 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	(1)	87.02	533.5	0.578	-19.29
2	3 1 (1)	2.0 (2)	2.0 (2)	(2)	93.46	508.4	0.461	-18.37
3	3 1 (1)	3.0 (3)	3.0 (3)	(3)	81.86	554.9	0.526	-20.33
4	2 1 (2)	1.0 (1)	2.0 (2)	(3)	83.92	504.3	0.509	-18.26
5	2 1 (2)	2.0 (2)	3.0 (3)	(1)	88.65	509.6	0.476	-20.56
6	2 1 (2)	3.0 (3)	1.0 (1)	(2)	82.49	518.1	0.512	-18.67
7	1 1 (3)	1.0 (1)	3.0 (3)	(2)	84.76	568.4	0.556	-19.81
8	1 1 (3)	2.0 (2)	1.0 (1)	(3)	92.11	543.1	0.468	-17.65
9	1 1 (3)	3.0 (3)	2.0 (2)	(1)	83.61	538.4	0.486	-21.10
包封率	K_1	262.34	255.70	261.62	259.28			
	K_2	255.06	274.22	260.99	260.71			
	K_3	260.48	247.96	255.27	257.89			
	R	7.28	26.26	6.35	2.82			
粒径	K_1	1 596.8	1 606.2	1 594.7	1 581.5			
	K_2	1 532.0	1 561.1	1 551.1	1 594.9			
	K_3	1 649.9	1 611.4	1 632.9	1 602.3			
	R	117.9	50.3	81.8	20.8			
PDI	K_1	1.566	1.644	1.557	1.539			
	K_2	1.497	1.404	1.455	1.530			
	K_3	1.509	1.524	1.557	1.503			
	R	0.069	0.240	0.102	0.036			
电位	K_1	-57.99	-57.36	-55.61	-60.95			
	K_2	-57.49	-56.58	-57.73	-56.85			
	K_3	-58.56	-60.10	-60.70	-56.24			
	R	1.07	3.52	5.09	4.71			

表 6 方差分析
Table 6 Analysis of variance

因素	自由度	包封率			粒径			PDI			电位		
		偏差平方和	F 值	显著性	偏差平方和	F 值	显著性	偏差平方和	F 值	显著性	偏差平方和	F 值	显著性
A	2	9.537	7.198		2 324.340	31.365	$P < 0.05$	8.69×10^{-4}	3.625		0.191	1.000	
B	2	121.387	91.613	$P < 0.01$	510.127	6.884		9.44×10^{-3}	39.333	$P < 0.05$	2.278	11.927	
C	2	8.160	6.158		1 116.827	15.070		2.31×10^{-3}	9.625		4.358	22.817	$P < 0.05$
D	2	1.325	1.000		74.107	1.000		2.41×10^{-4}	1.000		4.374	22.901	$P < 0.05$

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

(93.77 ± 3.91) %、PDI 为 0.421 ± 0.16 、Zeta 电位为 (-31.07 ± 1.97) mV, 粒径为 (497.3 ± 12.9) nm。

2.4 PF-SLN 冻干粉制备及验证

为保持 PF-SLN 的稳定, 将“2.3.6”项下验证生产的 3 批 PF-SLN 分别添加 0.5% 甘露醇于 -80

冰箱中预冻 8 h, 冷冻干燥 (-40 , -0.01 MPa) 20 h, 得浅灰色疏松冻干粉。

2.5 PF 物理混合物冻干粉制备

称取处方量的 GB、P80、PF 原料及甘露醇, 加适量超纯水分散均匀, 同法冷冻干燥, 得 PF 物

理混合物冻干粉。

2.6 PF-SLN 冻干粉表征

2.6.1 PF-SLN 冻干粉的粒径、PDI 及 Zeta 电位测定 采用激光粒度仪测定 PF-SLN 冻干粉的粒径、PDI 及 Zeta 电位。PF-SLN 用超纯水稀释 25 倍测定粒径，原液直接测定 Zeta 电位。PF-SLN 冻干粉用超纯水制成适宜质量浓度的溶液，测定粒径及 Zeta 电位。测定粒径分布见图 1。PF-SLN 冻干粉的平均粒径、PDI 及 Zeta 电位分别为 (517.1 ± 10.3) nm、 0.484 ± 0.210 及 (-21.91 ± 2.03) mV；而冻干前 PF-SLN 分别为 (371.2 ± 6.4) nm、 0.466 ± 0.190 及 (-23.13 ± 2.24) mV。

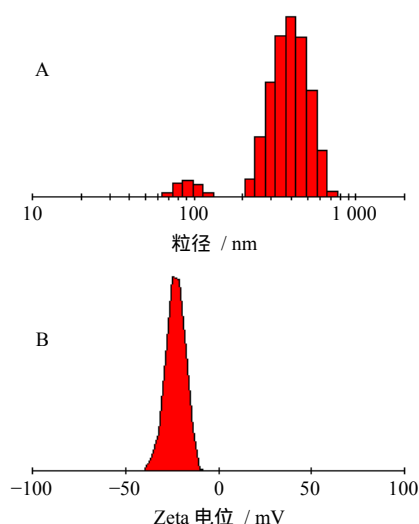


图 1 PF-SLN 冻干粉粒径 (A) 及 Zeta 电位 (B) 分布图

Fig. 1 Particle size (A) and Zeta potential (B) of PF-SLN lyophilized powder

2.6.2 PF-SLN 冻干粉差示扫描量热法 (DSC) 分析 将 GB、PF、PF 物理混合物冻干粉及 PF-SLN 冻干粉进行 DSC 分析。以氧化铝为参比物，在氮气流中，从 30 到 100，以 5 /min 的速率升温扫描，结果见图 2。由分析结果可知，PF 在 66.9 有吸热峰，PF 物理混合物在 73.4 有吸热峰，与辅料 GB 的吸热峰接近 (74.6)，而 PF-SLN 冻干粉在 70.6 有吸热峰，说明 PF 以无定形态融合于纳米粒子中。

2.6.3 PF-SLN 冻干粉 X 射线衍射 (XRD) 分析 采用 XRD 分析测试样品 (P188、HPMC、PF 原料、PF-NS 冻干粉)。测试条件为 CuK α 作为辐射源，衍射 ($r = 0.154$ nm)，40 kV，154 mA，连续扫描，扫描速度 5°/min，间隔 0.1°。通过不同晶面发生的衍射现象的强度来绘制衍射图，以得到样品晶体结构

和粒度方面的信息。分析结果见图 3。由分析结果可知，PF-SLN 冻干粉与 PF 原料药的 XRD 谱图相似，可能是多成分相互影响掩盖了葛根素等主要成分的晶体衍射信息。

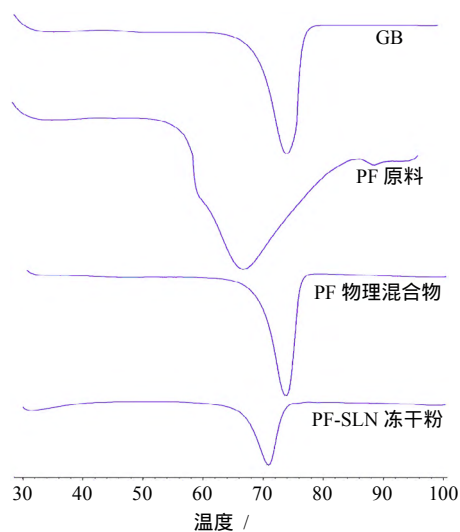


图 2 PF-SLN 冻干粉差示扫描量热分析图谱

Fig. 2 DSC curves of PF-SLN lyophilized powder

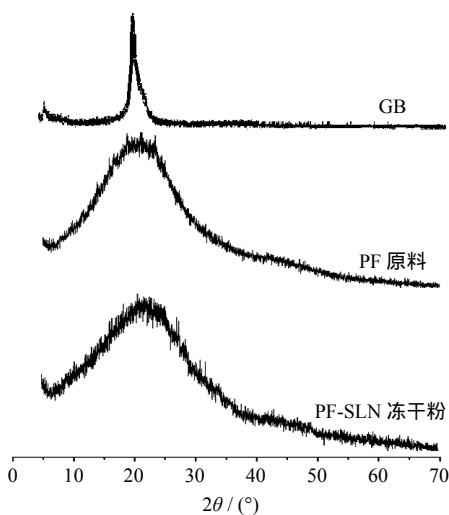


图 3 PF-SLN 冻干粉 XRD 图谱

Fig. 3 XRD spectra of PF-SLN lyophilized powder

2.7 HPLC 测定 PF-SLN 冻干粉中 4 种有效成分方法建立

建立 PF-SLN 冻干粉中 4 种有效成分 HPLC 测定方法过程中，对照品溶液的制备、色谱条件、检测限及定量限、线性关系考察及精密度试验参见文献报道^[4]。

2.7.1 供试品溶液的制备 精密称取 PF-SLN 冻干粉胶囊内容物 0.20 g，置 25 mL 量瓶中，加入 30% 乙醇溶液稀释至刻度，微孔滤膜滤过，即得。

2.7.2 空白供试品溶液的制备 按处方比例称取缺 PF 原料的辅料,制得空白 SLN 冻干粉,称取 0.40 g,同法制备即得。

2.7.3 系统适应性试验 精密吸取空白供试品溶液、供试品溶液及混合对照品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,分析,结果见图 4。由分析结果可知,3'-羟基葛根素、葛根素、大豆苷和大豆苷元吸收峰分离良好,辅料对测定无干扰。

2.7.4 重复性试验 精密称取 PF-SLN 冻干粉 0.20 g,6 份,按“2.7.2”项下供试品溶液的制备方法制备。进样分析,所得各成分质量分数分别为 0.576、5.776、0.812、0.291 mg/g,其 RSD 分别为 1.33%、1.09%、1.04%、1.29%。表明本法重复性良好。

2.7.5 稳定性试验 于 0、1、2、4、8 h,分别精密吸取供试品溶液,注入色谱仪分析,测得各成分峰面积的 RSD 分别为 1.37%、1.91%、1.44%、0.97%。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7.6 加样回收率试验 精密称取已测定的 PF-SLN 冻干粉 0.10 g,6 份,分别精密加入相当量的

对照品溶液,挥干溶剂,同“2.7.1”供试品溶液的制备方法处理,测定,计算加样回收率,结果见表 7。试验结果表明,回收率符合规定。

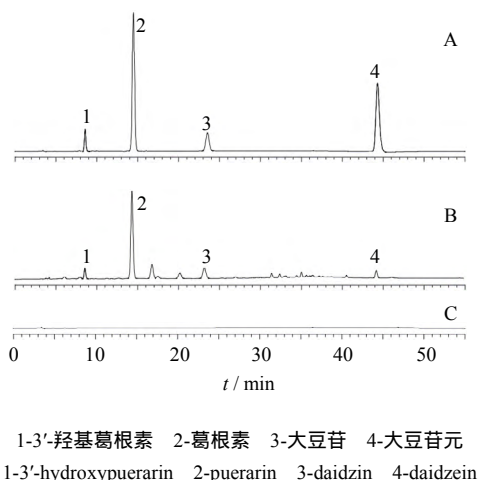


图 4 混合对照品 (A)、PF-SLN 冻干粉 (B) 及空白供试品(C) 的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC of mixed reference substances (A), PF-SLN lyophilized powder (B), and blank sample (C)

表 7 PF-SLN 冻干粉胶囊中 4 种成分的回收率测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 7 Recoveries of four components in PF-SLN lyophilized powder capsules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	样品中质量 / mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	RSD / %
3'-羟基葛根素	0.057 6	0.058 8	0.116 8 $\pm$ 0.001 6	100.62 $\pm$ 2.74	2.72
葛根素	0.577 6	0.555 2	1.125 8 $\pm$ 0.011 8	98.74 $\pm$ 2.12	2.15
大豆苷	0.081 2	0.083 3	0.164 1 $\pm$ 0.003 1	99.56 $\pm$ 3.69	3.71
大豆苷元	0.029 1	0.026 3	0.054 9 $\pm$ 0.000 9	98.42 $\pm$ 3.46	3.52

2.8 释放度测定

取 PF-SLN 冻干粉及其物理混合物各 4.8 g,各 6 份,采用《中国药典》2010 年版一部附录 XC 规定的溶出度测定项下第一法转篮法,以人工胃液 (pH 1.2) 300 mL 为溶出介质,温度为 (37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C,转速 100 r/min。分别于 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0 h 取样 1 mL,同时补充同温度超纯水 1 mL,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,精密量取滤液 10 μ L,HPLC 分析,计算 4 种有效成分的累积溶出量,以时间对溶出量作图得溶出曲线,结果见图 5。

由 DDSolver 软件 Univariate ANOVA 分析数据,可知 PF-SLN 冻干粉胶囊中 4 种有效成分的溶出具有明显的突释现象,1 h 的累计释放已超过 70%以上,1 h 之后释放明显放缓,6 h 时的累计释放 95%左右,而其物理混合物 2 h 累计溶出已达 95%,PF-SLN 冻干粉各成分释放速率均明显低于其物理混

合物 ($P < 0.001$),其中 4 种有效成分的释放速率无明显差异 ($P > 0.5$)。

由 DDSolver 软件 Weibull Model 分析 (表 8) 结果说明,PF-SLN 冻干粉可显著延缓葛根素等难溶性成分的释放速度,4 种成分基本为同步释放。

3 讨论

释放速率是指药物于一定条件下从制剂中溶出释放的速度和程度,是一种控制药物制剂质量的体外检测方法。释放度试验可部分反映固体制剂中主药的某些理化性质、处方组成、辅料品种及性质、生产工艺等差异。目前,体外释放试验已作为固体制剂的质控手段之一。中药制剂有效成分的释放是体内吸收的必要前提,也必将影响其药效的发挥。为改善 PF 的生物利用度问题,本实验采用高压均质法制备 PF-SLN,并测定 PF-SLN 冻干粉中 4 种有效成分的体外释放度。PF-SLN 冻干粉中 4 种有效

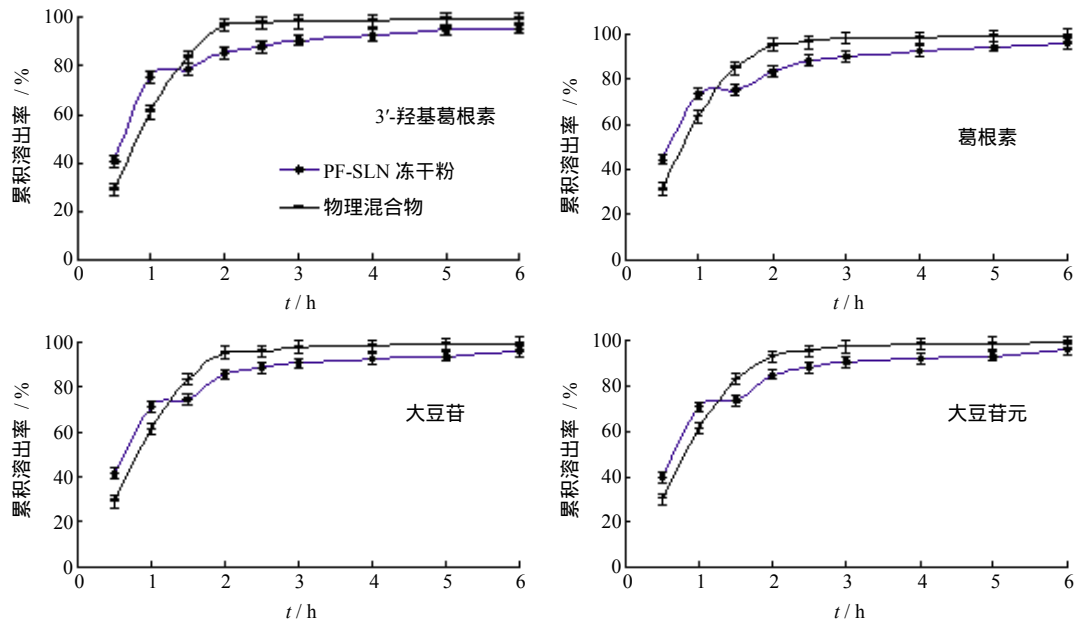


图 5 PF-SLN 冻干粉 4 种有效成分的释放曲线

Fig. 5 Release curves of four effective components in PF-SLN lyophilized powder

表 8 4 种黄酮类成分 DDSolver 测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 8 DDSolver results of four flavonoid components ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Weibull	3'-羟基葛根素		葛根素		大豆苷		大豆苷元	
参数	PF-SLN 冻干粉	物理混合物	PF-SLN 冻干粉	物理混合物	PF-SLN 冻干粉	物理混合物	PF-SLN 冻干粉	物理混合物
T_{50} / h	0.55 ± 0.01	0.82 ± 0.01	0.55 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.80 ± 0.03	0.59 ± 0.02	0.79 ± 0.01
T_d / h	0.69 ± 0.02	1.04 ± 0.02	0.77 ± 0.03	0.98 ± 0.02	0.81 ± 0.05	1.02 ± 0.03	0.83 ± 0.02	1.02 ± 0.02
β	0.36 ± 0.01	2.26 ± 0.35	0.42 ± 0.02	1.51 ± 0.28	0.44 ± 0.03	1.56 ± 0.30	0.45 ± 0.02	1.33 ± 0.13

T_{50} 及 T_d 分别指药物溶出 50% 及 63.2% 所需的时间, β 是特征曲线的形状参数

T_{50} and T_d are time required for 50% and 63.2% drug dissolution, respectively; β is the shape parameter which characterizes the curve

成分存在突释现象, 1 h 之后释放明显放缓, 6 h 累积释放 95% 左右, 而其物理混合物 2 h 累积溶出释放已达 95%, 其释放速率显著慢于其物理混合物。作者曾考察 PF 纳米混悬液冻干粉中 4 种有效成分的溶出度, 发现 15 min 基本全部释放, 释放速率明显快于其物理混合物冻干粉^[4]。朱昆^[13]以硬脂酸、卵磷脂、泊洛沙姆 188 组方, 采用乳化蒸发-低温固化法制备 PF-SLN, 其粒径 200 ~ 300 nm, 5 h 体外释放近 35%。

SLN 作为 20 世纪 90 年代初发展起来的新型毫微粒类给药系统已经受到越来越多的关注, 尤其是针对一些水难溶性药物。SLN 是经过不同种方法制成粒径在 50 ~ 1 000 nm 的固态胶态给药系统, 与其他微粒相比, SLN 有更多的优点, 如控制药物的释放、提高药物的生物利用度、增加药物的靶向作用, 并且具有多种给药途径(如皮肤、口服、静脉注射),

使大规模生产成为了可能。当药物粒子 $< 1 \mu m$ 时, 其内在溶出速率会发生突然增大的现象, 这是本实验观察到的突释现象的原因之一^[5]。

本实验对 PF-SLN 冻干粉的研究结果表明, SLN 可以显著延缓难溶性药物的体外释放速度, 适合作为难溶性药物 PF 的给药系统。条件许可时可进一步考察 PF-SLN 冻干粉在模拟肠液中的释放特性以及生物利用度及其体内分布。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 付爱珍, 吴学芹, 董娟, 等. 葛根正丁醇部位的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 484-486.
- [3] 国家食品药品监督管理局国家药品标准颁布件 [S]. YBZ013422006-2009Z, 2009.
- [4] 王治平, 周群, 樊化, 等. 口服葛根总黄酮纳米混悬液冻干粉的制备及其 4 种有效成分溶出度考察 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 635-641.

- [5] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles production, characterization and applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64: 83-101.
- [6] Burra M, Jukanti R, Janga K Y, *et al.* Enhanced intestinal absorption and bioavailability of raloxifene hydrochloride via lyophilized solid lipid nanoparticles [J]. *Adv Powder Technol*, 2013, 24: 393-402.
- [7] Kumar S, Randhawa J K. Preparation and characterization of Paliperidone loaded solid lipid nanoparticles [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2013, 102: 562-568.
- [8] 张生杰, 焦文温, 张瑜, 等. 异穿心莲内酯固体脂质纳米粒的制备及体外释放研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(12): 2390-2395.
- [9] Silva AC, González-Mira E, García M L, *et al.* Preparation, characterization and biocompatibility studies on risperidone-loaded solid lipid nanoparticles (SLN): high pressure homogenization versus ultrasound [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2011, 86: 158-165.
- [10] Durán-Lobato M, Enguix-González A, Fernández-Arévalo M, *et al.* Statistical analysis of solid lipid nanoparticles produced by high-pressure homogenization: a practical prediction approach [J]. *J Nanopart Res*, 2013, 15: 1443.
- [11] 郝吉福, 房信胜, 王建筑, 等. 应用 Box-Behnken 实验设计优化水飞蓟素固体脂质纳米粒处方研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(11): 2221-2225.
- [12] 王婧雯, 张三奇, 文爱东, 等. 正交试验法优选齐墩果酸固体脂质纳米粒的制备工艺 [J]. *中草药*, 2007, 38(5): 683-685.
- [13] 朱昆. 葛根总黄酮固体脂质纳米粒的研制 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.