

丙基硫氧嘧啶固体脂质纳米粒的制备与质量评价^Δ

徐雄波^{1*}, 崔叶妹¹, 宋红娟², 卜振军³, 张青松¹, 唐靖¹, 马宁^{1#}(1.长沙医学院药学院, 长沙 410219; 2.徐州市妇幼保健院, 江苏徐州 221003; 3.湖南九典制药有限公司, 长沙 410331)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0946-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.25

摘要 目的:优化丙基硫氧嘧啶(PTU)固体脂质纳米粒(PTU-SLN)的处方和制备工艺,并对PTU-SLN质量进行评价。方法:采用乳化超声分散法制备PTU-SLN,以粒径和包封率为评价指标,以脂质材料、大豆磷脂、泊洛沙姆188用量以及超声时间为考察因素,通过正交试验对处方及工艺进行优化;同时以粒径、Zeta电位、包封率、稳定性及体外累积释放度为指标评价其质量。结果:最优制备处方和工艺为脂质材料0.6 g、大豆磷脂1.0 g、泊洛沙姆188 0.8 g、超声时间10 min。所制得的PTU-SLN外观形态圆整,粒径分布均匀,平均粒径为93.5 nm,平均Zeta电位为-30.8 mV,平均包封率为74.9%;4℃条件下放置15 d粒径和外观无明显变化;体外4 h累积释放度达56.1%,24 h累积释放度达98.4%。结论:成功制得PTU-SLN,且处方工艺合理,可达到使药物缓慢释放的效果。

关键词 丙基硫氧嘧啶;固体脂质纳米粒;包封率;体外释放;正交试验

Preparation and Quality Evaluation of Propylthiouracil Solid Lipid Nanoparticles

XU Xiongbo¹, CUI Yemei¹, SONG Hongjuan², PU Zhenjun³, ZHANG Qingsong¹, TANG Jing¹, MA Ning¹(1.College of Pharmacy, Changsha Medical University, Changsha 410219, China; 2.Xuzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Jiangsu Xuzhou 221003, China; 3.Hunan Jiudian Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410331, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the formulation and preparation technology of Propylthiouracil (PTU) solid lipid nanoparticles(PTU-SLN)and to evaluate the quality of PLN-SLN. METHODS: PTU-SLN was prepared by emulsion ultrasound dispersing method. The formulation of PTU-SLN was optimized by orthogonal design with the entrapment efficacy and particle size as index, using the amount of lipid material, soybean lecithin and poloxamer 188 and ultrasonic time as factors. The quality of prepared nanoparticles was evaluated with particle size, Zeta potential, entrapment efficiency, stability and *in vitro* drug release rate as index. RESULTS: The optimal formulation and technology was as follows as lipid material 0.6 g, soybean lecithin 1.0 g, poloxamer 188 0.8 g, ultrasonic time 10 min. The obtained PTU-SLN was round and smooth in appearance and distributed evenly in particle size with average particle size of 93.5 nm, Zeta potential of -30.8 mV and average entrapment efficiency of 74.9%. Prepared nanoparticles had no significant change after placing for 15 d at 4℃. Accumulative release rate of PTU-SLN was 56.1% at 4 hour *in vitro* and reached 98.4% at 24 hour. CONCLUSIONS: PTU-SLN is prepared successfully and reasonable in technology, and can reach sustained-release effects.

KEYWORDS Propylthiouracil; Solid lipid nanoparticles; Encapsulation efficiency; *in vitro* release; Orthogonal test

丙基硫氧嘧啶(PTU)是治疗成人甲状腺功能亢进药物。全球现有3亿人患有甲状腺疾病,其中女性患者是男性患者的4倍,主要集中在20~40岁育龄妇女。未控制的甲状腺功能亢进对妊娠妇女和胎儿的危害极大,可导致流产、早产、先兆子痫、充血性心力衰竭、甲状腺危象、胎盘早剥、新生儿甲亢、宫内生长迟缓、早产儿、足月小样儿(SGA)和死胎等^[1]。PTU已上市的剂型有胶囊剂和片剂,但妊娠期甲亢患者通常伴有强烈的妊娠反应(恶心、呕吐等)而导致其服药困难。笔者选用毒性低、生物相容性好的载体材料制备PTU固体脂质纳米粒(PTU-SLN),以延长其在体内的作用时间,提高PTU的疗效,减少患者服药次数,改善患者依从性。

1 材料

Δ 基金项目:湖南省医药卫生科研计划课题项目(No.B2014-069)
* 讲师。研究方向:药物新剂型与新技术。E-mail:80696120@qq.com

通信作者:教授。研究方向:药物新剂型及药动学。E-mail:761472615@qq.com

1.1 仪器

P230型高效液相色谱仪(大连伊利特分析仪器有限公司);Nano-ZS90型激光散射粒径仪(英国Malvan公司);JEM-3010型透射电镜(日本Jeol公司);Fuhe85-2型恒温磁力搅拌器(金坛市富华仪器有限公司);SCIENTZ-II D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);SHY-A型水浴恒温振荡器(金坛市成辉仪器厂)。

1.2 药品与试剂

PTU原料药(武汉顶辉化工有限公司,批号:20131104,纯度:99.0%);PTU对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111530-200706,纯度:99.5%);乙酸丁酯(江苏强盛功能化学股份有限公司,批号:20120910,分析纯);单硬脂酸甘油酯(上海恒信化学试剂有限公司,批号:20130107);泊洛沙姆188(深圳市优普惠股份有限公司,批号:WPWI625C);大豆磷脂(上海太伟股份有限公司,批号:20130901);硬脂酸钠(批号:20131209,分析纯)和甲醇(批号:20131224,色谱纯)购自国药集团化学试剂有限公司;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 PTU-SLN与空白SLN的制备^[2]

采用乳化超声分散法制备,称取处方量的单硬脂酸甘油酯、乙酸丁酯与50 mg PTU原料药混合均匀,在(70±5)℃下加热熔融作为油相;另称取处方量大豆磷脂、泊洛沙姆188、硬脂酸钠及20 ml水在(70±5)℃下加热溶解作为水相。将水相迅速加入油相并以5 000 r/min磁力搅拌5 min制得初乳,趁热将初乳置于超声波细胞粉碎机中超声10 min,冰水浴中冷却至室温,即得PTU-SLN分散液。另取除PTU原料药以外的处方辅料各适量,按上述方法制备成空白SLN分散液。

2.2 含量的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamondsil® C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(40:60, V/V),流速:1 ml/min;检测波长:254 nm;进样量:20 μl;柱温:25℃。该色谱条件下,理论板数以PTU计不低于2 000。

2.2.2 溶液的制备 (1)对照品溶液:精密称定PTU对照品10 mg,用流动相制备成1 mg/ml的溶液,即得PTU贮备液;精密吸取PTU贮备液1 ml,用流动相定容至25 ml,即得。(2)供试品溶液:精密吸取PTU-SLN 1 ml,用甲醇破乳并定容至25 ml,即得。(3)阴性对照溶液:精密吸取空白SLN 1 ml,用甲醇破乳并定容至25 ml,即得。

2.2.3 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各20 μl,按“2.2.1”项下色谱条件注入色谱仪,记录色谱。色谱图见图1。

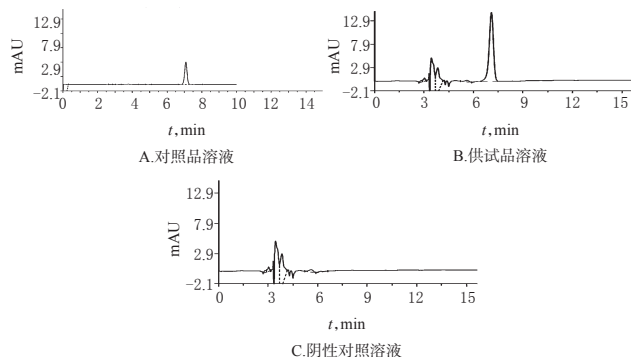


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

根据图1可知,图谱清晰,组分分离良好,阴性对照对测定无干扰,PTU理论板数为3 000以上,表明本方法专属性强。

2.2.4 线性关系考察 取PTU贮备液用流动相制备成10、20、40、60、70、80、100 μg/ml的对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积。以质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得线性回归方程: $y=94.122x-105.75$ ($r=0.9999, n=7$)。结果表明,PTU检测质量浓度在10~100 μg/ml范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取60 μg/ml对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,同日内进样6次,计算日内RSD;每日进样1次,连续6 d,计算日间RSD。结果,日内RSD为0.44% ($n=6$),日间RSD为0.58% ($n=6$),符合样品检测要求。

2.2.6 回收率试验 按照处方量取9份空白辅料,分别加入处方原料量80%、100%、120% 3个水平的PTU原料药,混匀,每个含量水平制备3份样品液。每个样品精密吸取1 ml用流动相定容至25 ml,用微孔滤膜滤过,取续滤液20 μl按“2.2.1”项

下色谱条件进样测定峰面积,以外标法计算回收率。结果显示,平均回收率为98.01%,RSD为0.38% ($n=3$)。

2.3 包封率测定

按文献[3]中方法测定PTU-SLN包封率。精密量取1 ml PTU-SLN上葡聚糖凝胶G-50柱,用蒸馏水洗脱,接取带白色乳光流分,用甲醇破乳并定容至25 ml,取20 μl按“2.2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,按外标法计算PTU含量($c_{\text{柱}}$)。另取1 ml PTU-SLN样品加甲醇破乳并定容至25 ml,取20 μl按“2.2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,计算PTU含量($c_{\text{总}}$)。按下式计算包封率:包封率(%)= $c_{\text{柱}}/c_{\text{总}}\times 100\%$ 。

2.4 PTU-SLN处方及工艺优化

通过预试验选取单硬脂酸甘油酯和乙酸丁酯(1:1)为复合脂质材料,选择大豆磷脂、泊洛沙姆188为乳化剂。采用正交设计方法,以复合脂质材料用量(A, g)、大豆磷脂用量(B, g)、泊洛沙姆188用量(C, g)及超声时间(D, min)为考察因素,按L₉(3⁴)正交表设计试验制备PTU-SLN,以包封率和粒径(激光散射粒径仪测定)为指标,得出各因素影响的主次顺序,并筛选出最优组合。因素与水平见表1,正交试验设计与结果见表2(表中I、II、III和R_i下数值分别为“包封率/粒径”),方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, g	B, g	C, g	D, min
1	0.4	0.6	0.4	6
2	0.6	0.8	0.6	8
3	0.8	1.0	0.8	10

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	包封率, %	粒径, nm
1	1	1	1	1	40.56	123.70
2	1	2	2	2	64.38	107.50
3	1	3	3	3	81.24	88.27
4	2	1	2	3	64.16	103.40
5	2	2	3	1	52.72	92.01
6	2	3	1	2	82.13	103.70
7	3	1	3	2	55.27	104.60
8	3	2	1	3	71.14	99.08
9	3	3	2	1	78.30	148.03
I	62.06/6.49	53.31/110.60	64.61/108.82	57.15/121.24		
II	66.33/99.70	62.74/99.53	68.91/119.64	67.24/105.30		
III	68.18/117.27	80.52/113.33	63.04/94.99	72.18/96.91		
R _i	6.12/17.56	27.22/13.80	5.87/24.33	15.03/24.65		

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

变异来源	偏均差平方和		自由度	均方		F		P	
	包封率, %	粒径		包封率, %	粒径	包封率, %	粒径	包封率, %	粒径
A	59.11	470.85	2	29.55	235.42	0.147	0.718	>0.05	>0.05
B	1 145.98	320.54	2	572.99	160.27	2.843	0.489	>0.05	>0.05
C	55.38	916.52	2	27.69	457.99	0.137	1.396	>0.05	>0.05
D	351.91	915.98	2	175.95	458.26	0.873	1.397	>0.05	>0.05
误差	1 612.38	2 623.91	8	806.19	1 311.95				

注: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

Note: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

根据表2和表3可知,各因素对包封率影响的大小顺序

为: B>D>A>C, 均无显著影响, B因素对包封率影响最大, 因此选B₃; 对粒径影响的大小顺序为: D>C>A>B, 均无显著影响, D因素对粒径影响最大, 但粒径以小为佳, 故选D₃。结合包封率及粒径的两个考察指标, 最终选择最优处方为A₂B₃C₃D₃, 即复合脂质材料用量为0.6 g, 大豆磷脂用量为1.0 g, 泊洛沙姆188用量为0.8 g, 超声时间为10 min。

2.5 验证试验

按“2.4”项下最优处方制备3批PTU-SLN, 照“2.3”项下方法测定PTU-SLN的包封率, 激光散射粒径仪测定粒径, 结果见表4。

表4 验证试验结果
Tab 4 Results of validation tests

批号	包封率, %	粒径, nm
20140421	75.8	91.6
20140422	74.5	92.7
20140423	74.3	96.1

根据表4结果可知, 平均包封率为74.9%, 平均粒径为93.46 nm, 表明所选处方合理、可行、重现性好。

2.6 PTU-SLN的外观形态^[4]

取PTU-SLN混悬液, 用蒸馏水稀释20倍, 用2%的磷钨酸复染色, 滴至附有支持膜的铜网上, 用滤纸吸走多余液体, 自然干燥后, 置于透射电镜下观察。PTU-SLN的透射电镜图见图2。

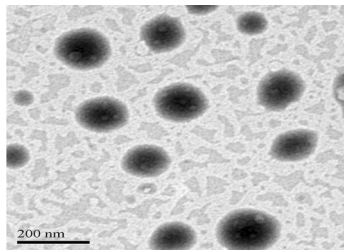


图2 PTU-SLN的透射电镜图
Fig 2 TEM of PTU-SLN

根据图2可知, PTU-SLN的形态为类球形实体粒子, 外观形态较圆整, 粒径分布较均匀。

2.7 Zeta电位的测定

取3批PTU-SLN适量, 加蒸馏水稀释10倍, 采用激光散射粒径仪测定Zeta电位。结果显示, PTU-SLN的平均Zeta电位为-30.8 mV。

2.8 稳定性考察^[4]

各取3批PTU-SLN混悬液适量, 将样品分装于不同EP管中, 于25、4℃环境中放置15 d考察其粒径变化, 结果见表5。

表5 稳定性考察结果(粒径, nm)

条件	批号		
	20140421	20140422	20140423
放置前	91.6	92.7	96.1
4℃放置15 d	92.3	96.2	101.5
25℃放置15 d	125.5	123.7	128.7

根据表5可知, PTU-SLN混悬液25℃放置15 d, 粒径普遍增大, 且3批样品均出现白色絮状物; 4℃放置15 d, 粒径变化不大, 且样品外观无明显变化。

2.9 体外累积释放率的测定^[4]

采用透析法进行纳米粒体外药物释放研究, 精密量取1.0

ml的PTU-SLN溶液, 放入预先处理好的透析袋中(截留分子量: 12 000), 在透析袋中加入5 ml、pH 7.4磷酸盐缓冲液, 两端用细线系紧, 放入装有44 ml、pH 7.4磷酸盐缓冲液作为释放介质的广口瓶中, 于(37±1)℃恒温振荡器(50次/min)中进行释放试验。分别于0.5、1、2、4、8、12、24 h取样1.0 ml, 同时补液1 ml, 取出的释放介质经0.22 μm微孔滤膜过滤后按“2.2.1”项下色谱条件测定。另采用相同方法考察PTU原料药的体外释放率。PTU原料药和PTU-SLN的释放曲线见图4。

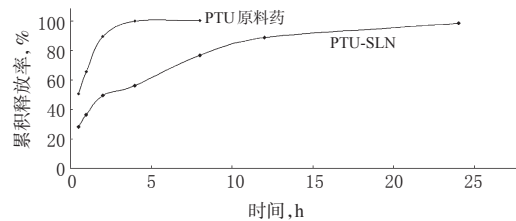


图4 PTU原料药和PTU-SLN的释放曲线

Fig 4 Release curves of PTU crude drug and PTU-SLN

根据图4可知, PTU原料药在4 h内的累积释放率基本已达100%; PTU-SLN在4 h的累积释放率为56.1%, 24 h时可达98.4%, 可见PTU-SLN与PTU原料药相比, 具有一定的缓释作用。

3 讨论

3.1 PTU-SLN材料及包封率

查阅文献, 发现脂质材料及表面活性剂通常选用复合型有助于形成性质稳定的SLN^[7]。本课题选用单硬脂酸甘油酯和乙酸丁酯为复合脂质材料, 所制得的PTU-SLN粒径小、稳定性高。乳化剂选用大豆磷脂和泊洛沙姆188, 大豆磷脂为天然乳化剂, 其降低界面张力的能力有限, 但易形成高分子膜而使乳滴稳定; 泊洛沙姆188为非离子表面活性剂, 是常用的供注射用的合成乳化剂, 与大豆磷脂联合使用, 临界胶束浓度更低、乳化效果增强。复配乳化剂可有效降低粒径, 提高稳定性。

SLN对药物的有效包载量, 是其发挥临床治疗作用的关键。本课题处方所制得的PTU-SLN包封率达74.9%, 包封率较高, 可见乳化剂的性质对SLN的包封率有较大影响。

3.2 粒径、Zeta电位

粒径和Zeta是衡量SLN性质的重要指标, 粒径小于100 nm有利于减少体内巨噬细胞的吞噬作用^[6]; 而Zeta电位与SLN体系的稳定性密切相关, Zeta电位可预测SLN的稳定性。本课题制得的PTU-SLN的平均粒径为93.46 nm, 平均Zeta电位为-30.8 mV, 在4℃下可保存15 d, 体系相对较稳定。

3.3 体外释放率

体外释放表明, PTU-SLN在前4 h累积释放率达50%, 主要原因可能来自于吸附于SLN表面及PTU-SLN混悬液中的PTU; 随后PTU缓慢释放, 在12 h累积释放率达88%左右, 24 h累积释放率为98%。这表明该处方工艺制备的PTU-SLN能有效延长PTU的释放。

参考文献

- [1] Earl R, Crowther CA, Middleton P. Interventions for hyperthyroidism pre-pregnancy and during pregnancy[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, doi: 10.1002/14651858.
- [2] 邹永华. 吡嗪酮长循环纳米粒的制备及其在家兔体内的药动学研究[D]. 长沙: 中南大学, 2011.

汉防己甲素固体分散片的制备及处方优化^Δ

陆仕华^{1*}, 黄兴振^{2#} (1.广西壮族自治区食品药品审评查验中心, 南宁 530029; 2.广西医科大学药学院, 南宁 530021)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0949-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.26

摘要 目的: 优选汉防己甲素固体分散片的制备处方。方法: 采用直接压片法制备汉防己甲素固体分散片。采用单因素试验筛选常用辅料, 以崩解时间为指标, 以交联聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)用量、乳糖-微晶纤维素比例、微粉硅胶用量为因素, 采用正交试验对处方进行优化, 并进行验证。比较所制片剂与汉防己甲素普通片的溶出度, 测定最优处方所制片剂的含量。结果: 最优处方为以9.5% PVPP为崩解剂、乳糖-微晶纤维素(1:2)为填充剂, 混匀, 加入1%的微粉硅胶为润滑剂, 粉末直接压片。所制3批片剂的崩解时间分别为79、81、78 s, 占标示量百分含量分别为98.66%、99.24%、99.85%, RSD分别为0.72%、1.16%、1.33%。与汉防己甲素普通片比较, 所制片剂的溶出度明显提高。结论: 成功制得汉防己甲素固体分散片, 且处方合理、重复性好。

关键词 汉防己甲素固体分散体; 分散片; 正交设计; 制备工艺

Preparation of Tetrandrine Solid Dispersion Tablets and Formulation Optimization

LU Shihua¹, HUANG Xingzhen² (1. Guangxi Food and Drug Evaluation & Inspection Center, Nanning 530029, China; 2. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize preparation formulation of Tetrandrine solid dispersion tablets. METHODS: Tetrandrine solid dispersion tablets were prepared by direct compression method. Excipients were screened with single factor test. Taking disintegration time as index, the formulation of Tetrandrine solid dispersion tablets was optimized by orthogonal design using the amount of PVPP, lactose-microcrystalline cellulose proportion and the amount of gum acacia as factors. The optimized formulation was validated. Prepared tablets were compared with Tetrandrine common tablet in dissolution rate, and the contents of the tablets prepared by optimized formulation were also determined. RESULTS: Optimal formulation was as follows as 9.5% PVPP as disintegrating agent, lactose-microcrystalline cellulose (1:2) as filler, mixing, 1% aerosil as lubricant, direct compression. For 3 batches of tablets, disintegration time were 79, 81 and 78 s; contents were 98.66%, 99.24%, 99.85%; RSDs were 0.72%, 1.16%, 1.33%, respectively. Combined with Tetrandrine common tablets, the dissolution rate of prepared tablets had been improved significantly. CONCLUSIONS: Tetrandrine solid dispersion tablets are prepared successfully with rational reproducible formulation.

KEYWORDS Tetrandrine solid dispersion; Dispersion tablets; Orthogonal design; Preparation process

汉防己甲素(又名粉防己碱, Tetrandrine), 分子式 $C_{38}H_{42}N_2O_6$, 是从中药防己中提取出的一种双苄基异喹啉类生物碱, 在防己中的含量约为1%^[1-3]。汉防己甲素是一种钙离子拮抗药, 主要作用于钙离子通道, 影响钙离子的跨膜转运以及在细胞内的分布利用。早期的药理研究证明, 汉防己甲素具有消炎、镇痛、降压、扩张冠脉、抗矽肺、抗凝血、抗炎、抗免疫、抗过敏、降血糖等作用, 临床上用于治疗高血压、心绞痛、矽肺等疾病, 已取得了较好的疗效^[4-7]。有研究表明, 汉防己甲素还具有抗心律失常、直接抑制肿瘤细胞生长、放疗增敏、减轻放疗毒性反应、逆转肿瘤细胞的多药耐药性等多种作用, 在肿瘤治疗中特别对肺部癌症的治疗有显著的增效作用, 具有广泛的应用

前景^[8-9]。

目前市面上的汉防己甲素制剂只有汉防己甲素片, 其水溶性差, 口服时因溶出缓慢而影响药物的吸收及生物利用度, 而单纯的改变剂型不能达到增加溶出的目的。因此, 本研究先将汉防己甲素制备成固体分散体, 以增加其溶出度, 再将其制成使用方便、分散度高、吸收快的分散片, 为汉防己甲素新剂型的研发提供新的思路。

1 材料

1.1 仪器

ZP-9 旋转式压片机(长沙中南制药机械厂); YPD-C200C 片剂硬度仪(上海黄海药检仪器有限公司); ZB-1E 片剂智能崩

[3] 曹露晔, 闫晶超, 王玉生, 等. 蓝萼甲素固体脂质纳米粒的制备及理化性质研究[J]. 中国药房, 2008, 19(9): 666.

[4] 张洪, 成蓓. 大黄素固体脂质纳米粒的制备及理化性质的研究[J]. 中国药师, 2010, 13(3): 326.

Δ 基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(No. 桂科合1346011-22); 南宁市科学研究与技术开发计划项目(No. 20123117)

* 主管药师, 硕士研究生。研究方向: 药剂学。电话: 0771-5886193。

E-mail: lushihua2318@163.com

通信作者: 讲师, 硕士。研究方向: 药剂学。电话: 0771-5358272。

E-mail: huangxingzhen@163.com

[5] 丁立新, 杨珊珊, 张楠楠, 等. 毛蕊花苷固体脂质纳米粒的处方优选及其质量评价[J]. 中国药房, 2014, 25(3): 231.

[6] 丁艳, 武夏明. 伊曲康唑固体脂质纳米粒的体外释放研究[J]. 中国药房, 2012, 23(45): 4 292.

[7] Yang L, Geng YH, Li H, *et al.* Enhancement the oral bio-availability of praziquantel by incorporation into solid lipid nanoparticles[J]. *Pharmazie*, 2009, 64(2): 86.

(收稿日期: 2015-04-15 修回日期: 2015-11-11)

(编辑: 邹丽娟)