

盐霉素纳米结构脂质载体的制备及处方优化^Δ

韩翠艳^{1*}, 金珊珊^{1,2}, 王晓丽¹, 简白羽¹, 隋小宇¹, 曹立新³(1.齐齐哈尔医学院药学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2.北京万全德众医药科技股份有限公司制剂部, 北京 100000; 3.齐齐哈尔医学院第一附属医院骨科, 黑龙江 齐齐哈尔 161041)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0317-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.07

摘要 目的:制备盐霉素纳米结构脂质载体(Sal-NLCs)并优化处方。方法:采用熔融乳化-低温固化法制备Sal-NLCs。采用星点设计-响应面法,以粒径、Zeta电位、包封率、载药量为评价指标,优化处方中Sal用量、油相中固态脂质双硬脂酸甘油酯与液态脂质辛酸甘油酯的质量比、表面活性剂聚氧乙烯35蓖麻油(EL)与聚乙二醇-15-羟基硬脂酸酯(HS15)的质量比及聚氧乙烯(40)硬脂酸酯(P40)的用量。考察所制Sal-NLCs的外观形态、粒径、多分散指数(PDI)、Zeta电位、包封率、载药量和体外释药机制。结果:最优处方为Sal 0.86 mg、双硬脂酸甘油酯40.70 mg、辛酸甘油酯11.30 mg、EL 44.05 mg、HS15 7.95 mg、P40 3.8 mg;所制Sal-NLCs呈类圆形、分布均匀,粒径为(81.81±2.60)nm、PDI为0.183±0.042、Zeta电位为(-24.9±3.4) mV、包封率为(94.35±1.50)%、载药量为(1.47±0.04)%(n=5),24 h内累积释放度达到(99.81±3.90)%(n=3),释放行为符合Higuchi模型,其中粒径、Zeta电位、包封率、载药量与模型预测值的相对误差均小于4%。结论:按优化处方成功制得具有缓释效果的Sal-NLCs,且质量达到预期标准。

关键词 盐霉素;纳米结构脂质载体;熔融乳化-低温固化法;星点设计-响应面法;处方优化

Preparation of Salinomycin Nanostructured Lipid Carriers and Formulation Optimization

HAN Cuiyan¹, JIN Shanshan^{1,2}, WANG Xiaoli¹, JIAN Baiyu¹, SUI Xiaoyu¹, CAO Lixin³(1.School of Pharmacy, Qiqihar Medical College, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 2.Dept. of Preparation, Beijing Wanguan Dezhong Biological Technology Co., Ltd., Beijing 100000, China; 3.Dept. of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Heilongjiang Qiqihar 161041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Salinomycin nanostructured lipid carriers (Sal-NLCs) and optimize its formulation. METHODS: Sal-NLCs were prepared by emulsion evaporation-low temperature solidification method. Using particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency and drug loading as evaluation indexes, central composite design-response surface methodology was used to optimize the amount of Sal, the ratio of solid lipid glyceryl bisstearate to liquid lipid glyceryl octanoate in oil phase, ratio of surface active agent polyoxyethylene 35 castor oil (EL) to polyethylene glycol-15-hydroxy stearate (HS 15), the amount of polyoxyethylene (40) stearate (P40). The morphology, particle size, polydispersity index (PDI), Zeta potential, encapsulation efficiency, drug loading and in vitro release mechanism of Sal-NLCs were investigated. RESULTS: The optimal prescription was as follows as Sal 0.86 mg, glyceryl bisstearate 40.70 mg, glyceryl octanoate 11.30 mg, EL 44.05 mg, HS15 7.95 mg, P40 3.8 mg.

- lates of vancomycin-resistan tentarococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Naturwissenschaften*, 2007, 94(6): 465-468.
- [7] 郝凯华, 韩涛, 胡鹏斌. 松萝酸抗肿瘤作用的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(23): 3535-3537.
- [8] 赵颖, 陶建生, 张彤. 松萝酸的研究进展[J]. *中成药*, 2010, 32(2): 270-272.
- [9] KYATANWAR A, JADHAV K, KADAM VJ. Self micro-emulsifying drug delivery system (SMEDDS): review[J]. *J Pharm Res*, 2010, 3(1): 75-83.
- [10] 杨文莲, 牛涛, 傅春升, 等. 葛根素自微乳制剂的制备工艺研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(15): 1375-1377.
- [11] 何琳, 廖巍, 卢秀霞, 等. 叫咪美辛自微乳肠溶胶囊的处方设计及体外溶出度评价[J]. *广东药学院学报*, 2013, 29(4): 351-356.
- [12] 刘彩云, 王卓娅, 罗欣茹, 等. 防脱复合中药单体自微乳及微乳凝胶剂的研究[J]. *中国美容医学*, 2016, 25(12): 49-53.
- [13] 冯艾灵, 王英姿, 张胜海, 等. 苦参总碱纳米乳的理化性质及其体外透皮实验研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(16): 2628-2632.
- [14] 陈笑, 富志军. 星点设计-效应面法优化莲心总碱自微乳处方[J]. *中成药*, 2016, 38(7): 1490-1495.
- [15] 郑晓清, 王晶翼, 杨清敏, 等. 星点设计-效应面法优化依西美坦自微乳给药系统[J]. *中国药学杂志*, 2011, 46(7): 532-536.

Δ 基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(No.H2015070)

* 教授, 博士。研究方向:药物新剂型新技术研究。电话:0452-2663382。E-mail: hycjy2013@163.com

(收稿日期:2017-05-17 修回日期:2017-08-28)

(编辑:邹丽娟)

Prepared Sal-NLCs was round-like and dispersed evenly. The particle size, PDI, Zeta potential, encapsulation efficiency and drug loading of prepared Sal-NLCs were (81.81 ± 2.60) nm, 0.183 ± 0.042 , (-24.9 ± 3.4) mV, $(94.35 \pm 1.50)\%$ and $(1.47 \pm 0.04)\%$ ($n=5$), respectively. 24 h accumulative release rate was $(99.81 \pm 3.90)\%$ ($n=3$). Drug release behavior was in line with Higuchi model, and relative error of particle size, Zeta-potential, encapsulation efficiency and drug loading to predicted value of model were all lower than 4%. CONCLUSIONS: Sal-NLCs with sustained-release effect is prepared successfully according to optimized formulation, and its quality meets the expected standard.

KEYWORDS Salinomycin; Nanostructured lipid carriers; Emulsion evaporation-low temperature solidification method; Central composite design-response surface methodology; Formulation optimization

盐霉素 (Salinomycin, Sal) 是一种可以有效杀伤肿瘤干细胞的聚醚酯类跨膜离子载体抗生素, 几乎不溶于水^[1], 且组织选择性差, 因此, 如何改善 Sal 的溶解性、提高其靶向性、减小其毒副作用是一个亟待解决的问题。固体脂质体纳米粒是以固态的天然或合成的类脂为载体的脂质纳米粒, 在类脂纳米粒中引入液态的脂质材料后, 可形成纳米结构脂质载体 (Nanostructured lipid carriers, NLCs)。NLCs 可以改善药物的溶解度, 具有生物相容性好、存储稳定、不易发生药物泄漏、适宜工业化大批量生产等优点, 在药物缓控释、靶向、透皮、黏膜给药等领域具有广泛的应用^[2-3]。为了改善 Sal 的溶解性, 本研究将 Sal 制成 Sal-NLCs, 并采用星点设计-响应面法 (CCD-RSM) 进行处方优化, 还考察了所制 Sal-NLCs 的粒径、Zeta 电位、包封率、载药量等各项指标。

1 材料

1.1 仪器

Malvern Zetasizer Nano-ZS90 纳米粒径电位分析仪 (英国 Malvern 公司); Eppendorf 5804R 台式高速大容量离心机 (北京博仪恒业科技发展有限公司); HT 7700 透射电子显微镜 (日本日立公司); Waters 2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司)。

1.2 药品与试剂

Sal 原料药 (美国 Cayman Chemical 公司, 批号: 0443366-37, 纯度: $\geq 90\%$); 双硬脂酸甘油酯 (法国 Gattefosse 公司); 辛癸酸甘油酯 (马来西亚 KLK 油脂化工集团); 聚乙二醇-15-羟基硬脂酸酯 (HS15)、聚氧乙烯 35 蓖麻油 (EL, 德国 Basf 公司); 聚氧乙烯 (40) 硬脂酸酯 (P40, 美国 Sigma 公司); 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 Sal 含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱: ODS C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-四氢呋喃-磷酸 (85:10:5:0.1, V/V/V/V); 流速: 1.5 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。

2.1.2 专属性试验 精密称取 Sal 原料药适量, 以甲醇为溶剂, 制备成质量浓度为 1 mg/mL 的 Sal 溶液, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱。另取不含 Sal 的空白 NLCs, 经乙腈破乳后, 以 3 000 r/min (离心半径 11.4 cm) 离心 20 min, 取上

清液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱。色谱图显示, Sal 的出峰时间为 15.5 min, NLCs 所用辅料对 Sal 的测定无干扰。

2.1.3 线性范围考察 精密量取 Sal 溶液, 按一定比例制备成 10、50、70、150、300、500 μg/mL 系列质量浓度的标准供试液, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以质量浓度为横坐标 (x)、峰面积为纵坐标 (y) 进行线性回归, 得回归方程 $y=1\ 004.7x-11\ 554$ ($R^2=0.999\ 0$), 结果表明, Sal 检测质量浓度的线性范围为 10.08~504.00 μg/mL。

2.1.4 精密度与方法回收率试验 取质量浓度为 50、250、450 μg/mL 的 Sal 溶液, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 每天进样 5 次考察日内精密度; 每日进样 1 次, 连续进样 5 d 考察日间精密度; 以实测值与真实值的比值考察方法回收率。结果显示, 50、250、450 μg/mL Sal 溶液中 Sal 峰面积的日内 RSD 分别为 2.36%、0.32%、0.18% ($n=5$), 日间 RSD 分别为 1.63%、0.29%、0.14% ($n=3$), 方法回收率分别为 99.89%、100.13%、101.13% (RSD=0.21%、1.00%、0.99%, $n=3$), 均符合相关规定。

2.2 Sal-NLCs 的制备

采用熔融乳化-低温固化法制备 Sal-NLCs。称取处方量的 Sal、双硬脂酸甘油酯及辛癸酸甘油酯, 80 °C 水浴熔融, 作为油相; 另称取处方量表面活性剂 HS15、EL 和 P40, 溶于适量纯化水中, 作为水相, 并加热至相同温度。在恒温水浴磁力搅拌下, 将油相缓慢加入水相中, 继续搅拌 15 min 后, 迅速转移至冰水浴中固化, 经 0.8、0.45、0.22 μm 微孔滤膜依次过滤后, 即得 Sal-NLCs。

2.3 评价指标的测定

2.3.1 包封率和载药量 采用超滤离心法测定包封率和载药量^[4]。取 Sal-NLCs 溶液置于超滤离心管 (截留分子量为 10 kDa) 中, 10 000 r/min (离心半径 11.4 cm) 离心 40 min, 收集下清液, 经甲醇稀释后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 代入回归方程计算 Sal 含量, 即游离药物含量 $W_{\text{游离}}$ 。取 Sal-NLCs 溶液, 置于离心管中, 经乙腈破乳后, 3 000 r/min (离心半径 11.4 cm) 离心 20 min, 取上清液, 进样测定, 计算 Sal 含量, 即总药物含量 $W_{\text{总}}$ 。按照下述公式计算 Sal-NLCs 的包封率 (%) 和载药量 (%), 包封率 = $(W_{\text{总}} - W_{\text{游离}}) / W_{\text{总}} \times 100\%$, 载药量 = $(W_{\text{总}} - W_{\text{游离}}) / W_{\text{脂质}} \times 100\%$, 式中 $W_{\text{脂质}}$ 为处方中液态脂质和固态脂质的

总量^[5]。

2.3.2 粒径与Zeta电位 将Sal-NLCs用纯化水稀释50倍后,置于纳米粒径电位分析仪中测定粒径、Zeta电位。

2.4 优化处方

2.4.1 星点试验 前期单因素试验结果表明,对Sal-NLCs质量有显著影响的是油相双硬脂酸甘油酯-辛癸酸甘油酯的比例、表面活性剂EL-HS15的比例和P40用量,其中脂质最佳总量为52.00 mg,EL和HS15最佳总量为52.00 mg。因此,选择以粒径(Y_1)、Zeta电位(Y_2)、包封率(Y_3)、载药量(Y_4)为因变量,Sal用量(X_1)、双硬脂酸甘油酯-辛癸酸甘油酯用量比(X_2)、EL-HS15用量比(X_3)、P40用量(X_4)为自变量,在粒径 <200 nm、Zeta电位绝对值 >20 mV、包封率 $>70\%$ 、载药量 $>1\%$ 的前提下,采用Design-Expert 8.0软件,设计星点试验方案^[5-8],自变量与水平见表1,星点试验设计与结果见表2。

表1 自变量与水平

Tab 1 Independent variables and levels

自变量	水平				
	-2	-1	0	1	2
X_1 ,mg	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
X_2	1.00	1.90	2.75	3.60	4.50
X_3	0.05	5.54	11.00	16.50	22.00
X_4 ,mg	0	3.80	7.50	11.30	15.00

表2 星点试验设计与结果($n=3$)

Tab 2 Central composite design and results($n=3$)

序号	自变量				因变量			
	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1 ,nm	Y_2 ,mV	Y_3 ,%	Y_4 ,%
1	-1	-1	-1	1	103.70	-25.7	32.02	1.04
2	1	-1	-1	-1	136.85	-17.7	78.57	1.28
3	-1	1	-1	1	81.05	-12.4	82.12	1.04
4	1	1	-1	-1	94.20	-14.6	87.02	1.45
5	-1	-1	1	-1	112.65	-23.4	61.67	0.78
6	1	-1	1	-1	120.45	-25.0	60.13	0.76
7	-1	1	1	-1	87.40	-23.4	59.48	0.75
8	1	1	1	-1	90.45	-24.2	59.02	0.96
9	-1	-1	1	1	103.85	-24.7	39.08	0.50
10	-1	-1	-1	1	106.10	-25.3	38.47	0.63
11	-1	1	-1	1	91.35	-22.1	75.96	0.96
12	1	1	-1	1	94.50	-22.4	75.11	1.22
13	-1	-1	1	1	112.65	-24.4	83.57	1.06
14	1	-1	1	1	114.55	-24.7	82.01	1.33
15	-1	1	1	1	87.40	-23.4	76.36	0.97
16	1	1	1	1	90.10	-24.2	76.05	1.24
17	-2	0	0	0	88.25	-23.6	80.27	0.87
18	2	0	0	0	97.30	-23.0	75.85	1.37
19	0	-2	0	0	158.00	-31.4	67.48	0.98
20	0	2	0	0	90.55	-23.4	90.34	1.31
21	0	0	-2	0	108.85	-28.8	89.51	1.30
22	0	0	2	0	104.25	-26.0	89.35	1.29
23	0	0	0	-2	91.05	-24.1	85.29	1.23
24	0	0	0	2	188.95	-26.1	20.88	0.30
25	0	0	0	0	111.25	-27.1	44.65	0.65
26	0	0	0	0	110.25	-27.0	45.11	0.65
27	0	0	0	0	111.00	-26.8	44.90	0.65
28	0	0	0	0	110.65	-27.7	45.06	0.65
29	0	0	0	0	110.95	-27.4	45.47	0.66
30	0	0	0	0	110.40	-27.0	45.14	0.65

2.4.2 模型拟合 采用Design-Expert 8.0软件,根据拟合优度(R)和置信度(P)对表2的数据结果进行数学模型预测,多元线性拟合,评价指标与各因素的函数关系如下:

$$Y_1 = 110.75 + 2.26X_1 - 16.86X_2 - 1.15X_3 + 24.47X_4 - 1.44X_1X_2 - 2.27X_1X_3 - 2.95X_1X_4 - 0.97X_2X_3 + 2.92X_2X_4 + 0.86X_3X_4 - 6.86X_1^2 + 1.02X_2^2 - 3.42X_3^2 + 4.95X_4^2 + 0.95X_1X_2X_3 + 1.65X_1X_2X_4 + 2.17X_1X_3X_4 - 2.23X_2X_3X_4 + 4.72X_1^2X_2 + 1.40X_1^2X_3 - 26.12X_1^2X_4 + 1.93X_1X_2^2 - 0.96X_1X_2X_3X_4 - 14.20X_1^2X_2^2 (R^2=0.9999, P<0.0001);$$

$$Y_2 = -27.17 + 0.15X_1 + 2.00X_2 + 0.70X_3 - 0.50X_4 - 0.036X_1X_2 + 0.16X_1X_3 + 0.23X_1X_4 - 0.54X_2X_3 - 0.076X_2X_4 - 0.35X_3X_4 + 0.97X_1^2 - 0.058X_2^2 - 0.058X_3^2 + 0.52X_4^2 - 0.049X_1X_2X_3 + 0.011X_1X_2X_4 - 0.19X_1X_3X_4 + 0.036X_2X_3X_4 - 1.05X_1^2X_2 - 3.13X_1^2X_3 - 1.61X_1^2X_4 - 0.63X_1X_2^2 - 0.051X_1X_2X_3X_4 + 4.01X_1^2X_2^2 (R^2=0.9989, P<0.0001);$$

$$Y_3 = 35.05 - 3.60X_1 + 8.21X_2 - 2.54X_3 - 16.10X_4 + 0.78X_1X_2 + 0.88X_1X_3 + 0.95X_1X_4 - 6.28X_2X_3 + 3.32X_2X_4 + 12.55X_3X_4 + 8.26X_1^2 + 8.47X_2^2 + 11.10X_3X_4 - 3.99X_1^2X_2 + 1.16X_1^2X_3 + 13.26X_1^2X_4 + 2.24X_1X_2^2 + 0.67X_1X_2X_3X_4 - 7.46X_1^2X_2^2 (R^2=1.0000, P<0.0001);$$

$$Y_4 = 0.65 + 0.13X_1 + 0.082X_2 - 0.0025X_3 - 0.23X_4 + 0.033X_1X_2 - 0.019X_1X_3 - 0.005625X_1X_4 - 0.077X_2X_3 + 0.033X_2X_4 + 0.18X_3X_4 + 0.12X_1^2 + 0.12X_2^2 + 0.16X_3^2 + 0.028X_4^2 - 0.004375X_1X_2X_3 - 0.017X_1X_2X_4 + 0.038X_1X_3X_4 - 0.077X_2^2 - 0.006875X_1^2X_3 - 0.014X_1^2X_4 + 0.22X_1^2X_2 - 0.014X_1X_2^2 - 0.012X_1X_2X_3X_4 - 0.083X_1^2X_2^2 (R^2=1.0000, P<0.0001)。$$

上述多元线性拟合结果显示, R^2 均大于0.9, P 均小于0.01,数学模型拟合良好,预测数据可取^[9-10]。

2.4.3 响应面优化 自变量与因变量的响应面图见图1(仅列出有显著相关关系的图,余图略)。

由响应面图可知, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 对 Y_1 、 Y_2 、 Y_4 均影响显著,而只有 X_1 和 X_2 对 Y_3 影响显著。综合考虑,Sal-NLCs最优处方中 X_1 为0.86 mg, X_2 为3.6, X_3 为5.54, X_4 为3.8 mg,即Sal 0.86 mg,双硬脂酸甘油酯40.70 mg,辛癸酸甘油酯11.30 mg,HS15 7.95 mg,EL 44.05 mg,P40 3.8 mg。

2.4.4 处方验证 按照最优处方平行制备Sal-NLCs溶液5份,检测其粒径、Zeta电位、包封率和载药量,结果见表3。

由表3结果可知,各指标测定结果与预测值的相对误差均小于4.0%,说明预测得到的最优处方可靠。

2.5 Sal-NLCs制剂学性质考察

2.5.1 外观形态 所制Sal-NLCs外观澄清,呈淡蓝色乳光。取所制Sal-NLCs,经纯化水稀释10倍后,滴加至铜网上,2%磷钨酸染液染色,静置数分钟,干燥后转移至透射电镜下观察其形态。结果表明,Sal-NLCs呈类圆形,均匀分布,无可见颗粒,Sal-NLCs透射电镜图见图2。

2.5.2 粒径与Zeta电位 检测所制5批次的Sal-NLCs的粒径、多分散指数(PDI)、Zeta电位,结果分别为

(81.81 ± 2.60) nm、(0.183 ± 0.042)、(-24.9 ± 3.4) mV (n=5)。粒径与Zeta电位分布图见图3。

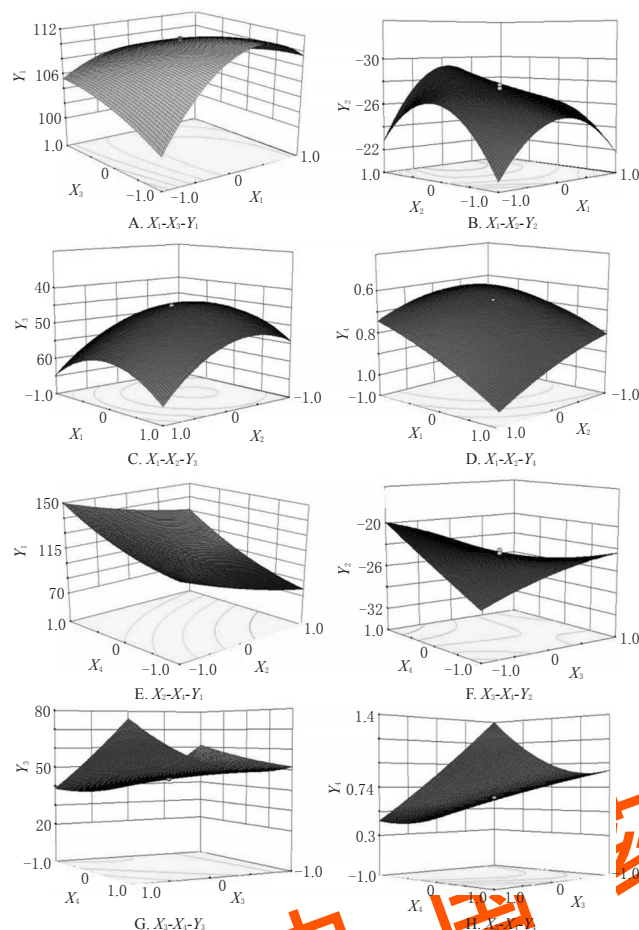


图1 自变量与因变量的响应面图

Fig 1 Response surface of independent variables and indexes

表3 验证试验结果

Tab 3 Results of verification test

试验号	粒径, nm	Zeta电位, mV	包封率, %	载药量, %
1	83.56	-24.1	96.02	1.42
2	78.13	-25.1	93.67	1.51
3	82.74	-26.0	94.54	1.52
4	82.11	-25.2	92.34	1.45
5	82.50	-24.0	95.18	1.47
平均值	81.81	-24.9	94.35	1.47
预测值	81.56	-24.1	92.02	1.42
相对误差, %	0.31	3.32	2.53	3.52

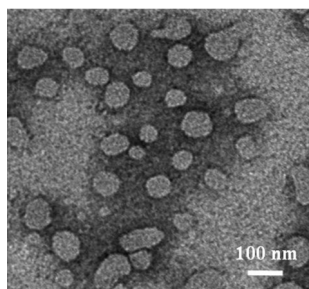


图2 Sal-NLCs透射电镜图(×700 000)

Fig 2 TEM of Sal-NLCs(×700 000)

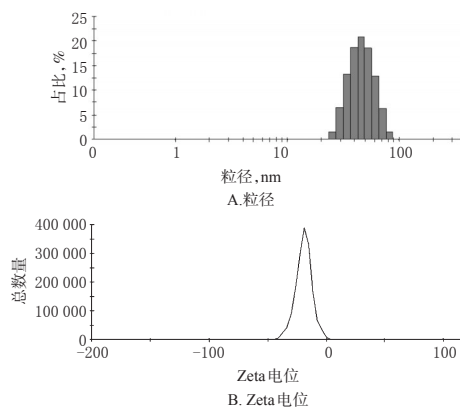


图3 Sal-NLCs的粒径与Zeta电位分布图

Fig 3 Particle size and Zeta potential distribution of Sal-NLCs

2.5.3 包封率与载药量 检测所制5批次的Sal-NLCs的包封率和载药量,结果分别为(94.35 ± 1.50)%和(1.47 ± 0.04)% (n=5)。

2.5.4 体外释药行为 采用透析袋法对Sal-NLCs的体外释药行为进行考察。为满足漏槽条件,使体系中药物终浓度小于其饱和浓度的10%,在释放介质磷酸盐缓冲液(PBS)中加入了20%乙醇和6%十二烷基硫酸钠(SDS)。具体操作为:取Sal-NLCs溶液1.0 mL于预先活化好的透析袋中,并置于50 mL释放介质(pH 7.4)中。在(37 ± 2) °C、200 r/min条件下恒速搅拌,分别于0、1、2、3、4、7、11、13、23、24 h取2.5 mL,同时补加相同体积的释放介质。将2.5 mL样品置于旋转蒸发器中进行浓缩,1.0 mL 50%甲醇水溶液复溶,经0.45 μm的微孔滤膜处理后,测定药物含量,绘制释放曲线,以时间为横坐标(x, h)累积释放度为纵坐标(y, %)拟合体外释放模型。Sal-NLCs体外释药曲线见图4,体外释药模型拟合结果见表4。

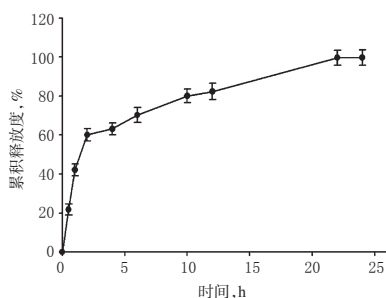


图4 Sal-NLCs体外释药曲线(n=3)

Fig 4 Release curve of Sal-NLCs in vitro(n=3)

表4 Sal-NLCs体外释药模型拟合结果

Tab 4 Release model fitting results of Sal-NLCs in vitro

模型	拟合方程	R ²
零级模型	y=36.475 71+3.122 86x	0.678 7
一级模型	ln(1-y)=-75.424 35x+0.571 97	0.890 6
Higuchi模型	y=17.583 0√x+18.573 2	0.918 3

由图4和表4结果可知,Sal-NLCs的释放初期存在

突释现象,可能是因为溶液中部分游离以及少量吸附在NLCs表面的药物存在所致。24 h内,Sal-NLCs累积释药(99.81±3.90)%,体外释药行为符合Higuchi模型,具有缓释效果。

3 讨论

采用超滤离心法测定药物包封率时,发现下清液中的药物浓度远远高于其在纯化水中的溶解度,考虑可能是处方中的乳化剂对Sal具有增溶作用所致。因此,在考察超滤膜对盐霉素是否有吸附作用时,在游离药物溶液中加入50%甲醇,用以改善盐霉素的溶解性,且超滤膜对该溶剂耐受。

在制备Sal-NLCs时,为实现最大药物包载量,分别考察了盐霉素在不同脂质材料中的溶解度。结果在固态脂质材料中双硬脂酸甘油酯>单硬脂酸甘油酯,在液态脂质材料中辛癸酸甘油酯>大豆油,因此本研究处方分别选用双硬脂酸甘油酯和辛癸酸甘油酯。本试验也考察了不同表面活性剂HS15、EL、P40、蓖麻油聚羟氧酯35、聚山梨酯80对粒径和Zeta电位的影响,结果合用两种表面活性剂使用效果强于单一的表面活性剂,其中HS15与EL合用效果最佳,同时考虑到NLCs的“隐形”效果^[11-13],加入含有聚乙二醇(PEG)结构的P40,因此最终选用3种表面活性剂。

纳米载体质量评价的主要指标是粒径、电位、包封率和载药量。有文献报道,当Zeta电位的绝对值>20 mV时,纳米粒溶液处于稳定状态^[13-15]。当粒径<200 nm时,可以渗透并滞留在肿瘤部位^[16]。因此,在筛选Sal-NLCs时,设定纳米粒粒径<200 nm、Zeta电位绝对值>20 mV。同时,将包封率和载药量分别设定为80%和1%以上,以期达到有效治疗浓度,避免游离Sal过多,杀伤正常细胞。

此外,笔者还研究了Sal-NLCs体外细胞试验,结果表明Sal-NLCs对CD133(一种跨膜蛋白,肿瘤干细胞标志物)阳性的肿瘤干细胞的增殖抑制率明显高于Sal,显示了更强的细胞毒性,还进一步对Sal-NLCs进行了靶向修饰,相关研究将另文发表。

参考文献

[1] ARAFAT K, IRATNI R, TAKAHASHI T, et al. Inhibitory effects of salinomycin on cell survival, colony growth, migration, and invasion of human non-small cell lung cancer A549 and LNM35: involvement of NAG-1[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): 669-677.

[2] 张磊, 严子平, 张莉. 蟾皮提取物固体脂质纳米粒的质量评价[J]. *中国药房*, 2016, 27(10): 1400-1403.

[3] SOUTO EB, WISSING SA, BARBOSA CM, et al. Development of a controlled release formulation based on SLN

and NLC for topical clotrimazole delivery[J]. *Inter J Pharm*, 2004, 278(1): 71-77.

[4] 张迪, 姜梅, 郭宏伟, 等. 复方氟尿嘧啶注射液包封率的测定方法研究[J]. *中国药房*, 2013, 24(29): 2758-2760.

[5] 郑少华, 姜奉华. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004, 35(2): 113-125.

[6] 郭涛, 刘丛丛, 张琦, 等. 星点设计-效应面法优化淫羊藿苷固体脂质纳米粒制备工艺[J]. *解放军药学学报*, 2012, 28(4): 300-314.

[7] 程晓波, 王春玲, 余振南, 等. 星点设计-效应面法优化葫芦素口服脂质纳米剂的处方[J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(7): 497-503.

[8] 孙艺丹, 赵青, 王锐利, 等. 正交设计联用星点设计-效应面法优化蒿甲醚长循环纳米结构脂质载体处方[J]. *沈阳药科大学学报*, 2015, 32(1): 7-13.

[9] 韩飞, 尹然, 詹晓亮, 等. 星点设计效应面法优化氟比洛芬纳米结构脂质载体处方[J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(12): 938-942.

[10] 李瑶, 韩翠艳, 李津明, 等. 星点设计-效应面法优化葫芦素B纳米脂质载体处方[J]. *中国医药工业杂志*, 2014, 45(11): 1042-1045.

[11] RODRIGUEZ PL, HARADA T, CHRISTIAN DA, et al. Minimal “Self” peptides that inhibit phagocytic clearance and enhance delivery of nanoparticles[J]. *Science*, 2013, 339(6122): 971-975.

[12] TRIANTAFYLLOS S, MING ZP, NUMPON I, et al. Diffusion of particles in the extracellular matrix: the effect of repulsive electrostatic interactions[J]. *Biophys J*, 2010, 99(5): 1342-1349.

[13] FERNANDES RS, SILVA JO, MONTEIRO LOF, et al. Doxorubicin-loaded nanocarriers: a comparative study of liposome and nanostructured lipid carrier as alternatives for cancer therapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.032.

[14] BHISE K, KASHAW SK, SAU S, et al. Nanostructured lipid carriers employing polyphenols as promising anticancer agents: quality by design (qbd) approach[J]. *Inter J Pharm*, 2017, 526(1/2): 506-515.

[15] ZHANG W, LI X, YE T, et al. Design, characterization, and in vitro cellular inhibition and uptake of optimized genistein-loaded NLC for the prevention of posterior capsular opacification using response surface methodology[J]. *Inter J Pharm*, 2013, 454(1): 354-366.

[16] WANGA M, THANOUA M. Targeting nanoparticles to cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2010, 62(2): 90-99.

(收稿日期:2017-08-30 修回日期:2017-11-02)

(编辑:邹丽娟)