

富马酸喹硫平鼻用固体脂质纳米粒原位凝胶的制备及质量控制

李见春*, 张文静, 朱娜, 张红敏, 王秀, 张劲(蚌埠医学院药理学系, 安徽蚌埠 233030)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)19-2714-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.19.38

摘要 目的:制备富马酸喹硫平鼻用固体脂质纳米粒(QF-SLN)原位凝胶,并进行质量控制。方法:以加热融化的单硬脂酸甘油酯为油相,油酸山梨坦为乳化剂,正丁醇为助乳化剂,通过三元相图筛选乳化剂与助乳化剂比例(K_m),采用微乳法制备QF-SLN。以凝胶温度为指标,采用星点设计-效应面法优化原位凝胶处方中泊洛沙姆407(P407)、P188的质量分数。透射电镜观察所制原位凝胶的颗粒形态,马尔文粒度电位仪测定粒径大小和电位分布,超滤离心配合反相高效液相色谱法测定包封率和稳定性。结果: K_m 为1:9时微乳面积最大;最优处方中P407为21%,P188为5.6%,水为73.4%;所制原位凝胶为均匀的球体,平均粒径为(136.3±6.4) nm,包封率为(97.60±0.48)%,4℃放置1个月其粒径和包封率无明显变化。结论:成功制备符合鼻用药要求的QF-SLN原位凝胶。

关键词 富马酸喹硫平;固体脂质纳米粒;原位凝胶;包封率;质量控制

Preparation and Quality Control of Quetiapine Fumarate Solid Lipid Nanoparticles *in situ* Nasal Gel

LI Jian-chun, ZHANG Wen-jing, ZHU Na, ZHANG Hong-min, WANG Xiu, ZHANG Jin (Dept. of Pharmacy, Bengbu Medical College, Anhui Bengbu 233030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare and evaluate the quality of Quetiapine fumarate solid lipid nanoparticles (QF-SLN) *in situ* nasal gel. METHODS: With the oil phase of dissoned glycerin monostearate, emulsifier of sorbitan oleate, and co-emulsifier of *n*-butyl alcohol, the proportion of emulsifier and co-emulsifier (K_m) was screened by ternary phase diagrams. QF-SLN was prepared through the micro-emulsion technology, the gelling temperature was set as index, the mass fraction of poloxamerln 407 (P407) and P188 of *in situ* gel formulation was optimized by the central composite design-response surface methodology. *in situ* formation of QF-SLN was examined by transmission electron microscope, the particle size and potential distribution were determined by Malvern laser granularity equipment, and the encapsulation efficiency and stability were determined by the ultrafiltration centrifuge tube and HPLC. RESULTS: The formulation of solid lipid nanoparticlesl was biggest at $K_m=1:9$. The optimized formulation was with 21% P407, 5.6% P188 and 73.4% water. The prepared QF-SLN *in situ* nasal gel was uniform sphere, with an average particle size of (136.3±6.4) nm and encapsulation efficiency of (97.60±0.48)%. There were no obvious changes in the particle size and entrapment efficiency at 4℃ within one month. CONCLUSIONS: The QF-SLN *in situ* nasal gel is successfully prepared.

KEYWORDS Quetiapine fumarate; Solid lipid nanoparticles; *in situ* gel; Encapsulation efficiency; Quality control

富马酸喹硫平(Quetiapine fumarate, QF)是一种新的非经典抗精神疾病药,该药安全有效,作用于5-羟色胺2受体(5-HT₂)、D₁、D₂及D₃等多种受体^[1],不但对精神分裂症的阳性症状有效,对阴性症状也同样有效^[2]。目前QF已成为精神分裂症与双向情感障碍治疗的一线用药^[3-4]。由于QF市售产品多为片剂,口服后不仅会产生一系列不良反应,如头晕、嗜睡、直立性低血压、心悸、口干、食欲不振和便秘等,还可能由于首关消除的影响,降低药物的生物利用度。为避免口服后的相关不良反应,本研究选择了鼻腔给药。

固体脂质纳米粒(Solid lipid nanoparticle, SLN)原位凝胶作为鼻黏膜给药的载体^[5-7],可使药物绕过血脑屏障直接进入脑内,避免了口服给药产生的首关效应及减少外周的不良反应,并且增加其在鼻黏膜上的黏附,从而延长吸收时间以及减小用药剂量。本研究利用三元相图的绘制筛选SLN处方,继而采用星点设计-效应面法优化温度敏感型原位凝胶处方,拟为QF治疗精神疾病开发出一条新的治疗途径。

1 材料

* 副教授,博士。研究方向:药物新剂型。电话:0552-3150062。
E-mail:lijc66577@sohu.com

1.1 仪器

LC-15AC型二元高压梯度高效液相色谱仪(日本岛津公司);JN-02HC型高压均质机(广州聚能生物科技有限公司);Nano-ZS90型粒度电位仪[马尔文仪器(中国)有限公司];Allegro™ X-22R型低温离心机(美国贝克曼库尔特公司);JEM-2100型高分辨透射电子显微镜(日本电子公司)。

1.2 药品与试剂

QF原料药(武汉大华伟业医药化工有限公司,批号:131228FM,纯度:99.4%);单硬脂酸甘油酯(广东汕头市西陇化工厂);油酸山梨坦(司盘80,无锡市亚盛化工有限公司);正丁醇(天津市大茂化学试剂厂);泊洛沙姆407(P407)、P188(上海源叶生物科技有限公司);甲醇、乙腈为色谱纯,三乙胺、冰醋酸等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 SLN处方优化

参考微乳法^[8]通过三元相图优化SLN处方。以加热融解的单硬脂酸甘油酯为油相,司盘80为乳化剂,正丁醇为助乳化剂,纯化水为水相,按不同比例混合制备纳米乳。通过改变司盘80/正丁醇的配比(K_m)和油相/混合乳化剂的配比绘制不同

K_m 值下的三元相图,选择适宜的纳米乳处方。结果显示,不同 K_m 值下均有微乳形成,当 K_m 为1:9时,微乳形成的区域最大。故从 K_m 为1:9相图中,选取3个较好的处方制备后,使用均质机将初乳进行粉碎,在压力为1 200 bar条件下反复循环,低温冷却得SLN混悬液。分别通过粒度电位仪考察SLN的粒径分布,进一步优化SLN的处方。同时采用染色法^[9]将制备好的微乳平均分成两份,一份加入油溶性的苏丹红染料,一份加入水溶性的亚甲基蓝染料,观察形态,结果见表1。

表1 不同处方所制SLN的形态分析与验证结果

Tab 1 Morphological analysis and verification results of SLN with different formulations

项目	处方一	处方二	处方三
司盘80,%	7.32	6.64	6.16
正丁醇,%	65.9	59.82	55.47
单硬脂酸甘油酯,%	8.13	16.62	26.41
纯化水,%	18.6	16.92	11.96
粒径,nm	307.1±17.7	117.8±2.7	424.7±22.2
形态观察	透明澄清的液	透明澄清的液体,滴加Y后立即下沉并缓慢扩散,滴加X,轻轻振荡后快速扩散	透明澄清的液体,滴加体,有水滴存在 X,Y后均快速扩散
结果	×	√	×

注:X,苏丹红;Y,亚甲基蓝;√,合格;×,不合格

Note: X, tonyreal; Y, methylene blue; √, qualified; ×, unqualified

由表1可见,粒径分布情况表明处方二所制SLN粒径最小且分布均匀,染色后观察形态结果为W/O型。按处方二精密称取,按上述制备方法制得空白纳米粒的初乳,并将制得的初乳加入到均质机中,60℃条件下,调节调压阀,进行粉碎,最终得到符合条件的空白纳米乳,立即放入冰浴迅速冷却呈半固态即得空白SLN。

2.2 QF-SLN的制备

按“2.1”项下处方二精密称取单硬脂酸甘油酯,水浴融化后加入司盘80与正丁醇溶液,加入精密称取的QF 1g,再加入水,轻度搅拌30s,即可形成澄清透明的W/O型微乳。使用均质机将初乳进行粉碎,在温度为60℃、压力为1 200 bar的条件下反复循环,立即冰浴迅速冷却即得QF-SLN混悬液。

2.3 空白原位凝胶的制备

采用冷溶法^[9]制备原位凝胶。精密称取一定量的P407和P188至适量的纯化水中,放入4℃冰箱保存24h以上,直至得到澄清、无团块、分散均匀的溶液即得空白原位凝胶。

2.4 胶凝温度的测定

取4℃原位凝胶至玻璃试管,将温度计插入凝胶液面下,试管放入恒温水浴锅中平衡10min,以0.5℃/min的升温速率缓慢升高水浴锅温度,每5s倾斜试管45°,直到凝胶不再流动时即为胶凝温度^[10]。每个样品平行测定3次取平均值。

2.5 P188和P407对胶凝温度的影响

将不同量的P407和P188加入到适量水中,根据“2.3”项下方法制成不同浓度的总质量为10g的溶液,根据“2.4”项下方法测定其相变温度。结果显示,随着P188加入量的增加,相变温度逐渐上升;随着P407加入量的增加,相变温度逐渐降低,详见图1。

2.6 星点设计-效应面法的试验设计

根据预试验结果,确定对凝胶温度有显著影响的P407的质量分数(X_1 ,%) 和P188的质量(X_2 ,%)为因素,各因素的极

值范围为 X_1 20%~26%, X_2 0~10%。根据星点设计-效应面法^[11]制备10g原位凝胶。因素与水平见表2,结果见表3。

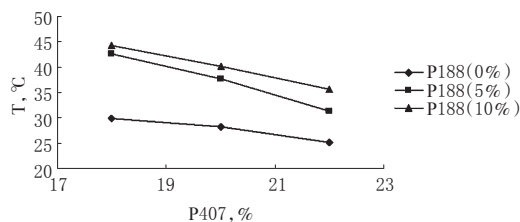


图1 不同量的P407与P188对胶凝温度的影响

Fig 1 Effects of P407 and P188 with different contents on the gelling temperature

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

因素	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1 (P407), %	20	20.88	23	25.12	26
X_2 (P188), %	0	1.47	5	8.54	10

表3 星点设计试验结果

Tab 3 Testing results of central composite test

编号	X_1	X_2	实取量(X_1),g	实取量(X_2),g	胶凝温度,℃
1	1	1	2.512	0.854	25.2±0.42
2	1	-1	2.512	0.147	20.4±0.21
3	-1	1	2.088	0.854	35.9±0.47
4	-1	-1	2.088	0.147	30.0±0.78
5	1.414	0	2.6	0.5	20.5±0.35
6	-1.414	0	2.0	0.5	36.3±0.06
7	0	1.414	2.3	1.0	33.6±0.11
8	0	-1.414	2.3	0	23.5±0.51
9~13	0	0	2.3	0.5	27.8±0.25

模型拟合采用Design expert软件进行统计分析。以胶凝温度(T)为指标对各因素进行二项式回归,方程如下: $T=95.09227-3.86601X_1+1.54719X_2-0.036695X_1X_2+0.033375X_1^2+0.018005X_2^2$ ($R^2=0.9908$, $P<0.0001$)。由二次多项式的拟合优度 R^2 及置信度 P 可知方程 T 的拟合效果良好。结合各因素的取值范围,经Design expert软件优化后处方为:P407 2.10g, P188 0.56g。预测 T 为33.39℃,对其进行验证试验。结果显示,实测 T 为(33.4±0.32)℃,表明此处方满足鼻腔用药要求(T 为33℃左右),且实测 T 与预测 T 偏差<5%。因此选择此处方为最优处方:P407 21%,P188 5.6%,纯化水73.4%。以最优处方按“2.2”项下方法制得适用于鼻腔给药的原位凝胶。

2.7 QF-SLN原位凝胶的制备

取空白原位凝胶加入QF-SLN,搅拌至完全溶解,即得QF-SLN原位凝胶。

2.8 QF-SLN原位凝胶的理化性质表征

2.8.1 QF-SLN原位凝胶的粒径分布 取适量优化后处方制备的QF-SLN原位凝胶,稀释20倍后放入粒度电位仪中测定。结果,其平均粒径为(136.3±6.4)nm。粒径分布见图2。

2.8.2 形态考察 取QF-SLN混悬液和QF-SLN原位凝胶加纯化水稀释,取适量滴加在覆盖碳膜的铜网上,染色,用透射电子显微镜观察其形态。结果显示,QF-SLN和QF-SLN原位凝胶均为类球形粒子,外观形态圆整。透射电镜图见图3。

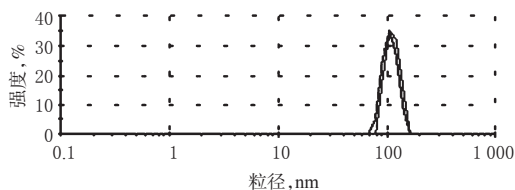


图2 QF-SLN原位凝胶的粒径分布情况

Fig 2 Particle size distribution of QF-SLN in situ gel

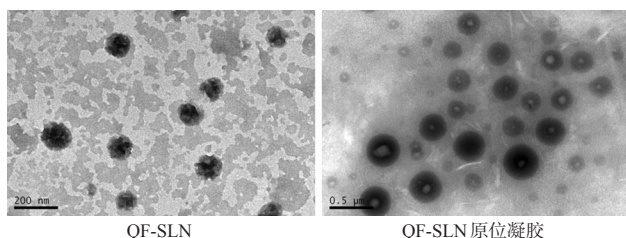


图3 透射电镜图

Fig 3 Diagram of TEM

2.8.3 包封率测定 取QF-SLN混悬液40 μl于超滤离心管中,下层加入4 ml甲醇,以离心半径6.3 cm、4 000 r/min离心30 min。摇匀后,精密吸取该上清液,按文献[12]色谱条件进行测定,记录峰面积,代入回归方程,计算游离药物浓度后,根据公式计算包封率^[13]。包封率 $=[(m_{总}-m_{测})/m_{总}] \times 100\%$,其中: $m_{测}$ 为上清液中测得的药物量, $m_{总}$ 为加入的药物量。按最优处方制备3批QF-SLN原位凝胶,测得其包封率分别为97.22%、97.44%、98.14%,平均包封率为 $(97.60 \pm 0.48)\%$ 。

2.8.4 稳定性初步考察 将制得的3批QF-SLN原位凝胶样品放置于4℃冰箱内,分别于0、5、10、30 d取出样品进行粒径及含量的考察。结果显示,QF-SLN原位凝胶在30 d内,粒径略有增加,含量略有降低,稳定性良好,结果见表4。

表4 稳定性初步考察结果(n=3)

Tab 4 Testing results of stability test (n=3)

贮存时间,d	粒径		含量	
	$\bar{x} \pm s, nm$	RSD, %	$\bar{x} \pm s, \%$	RSD, %
0	136.5 ± 3.233	2.37	97.34 ± 1.91	1.96
5	139.6 ± 1.293	0.93	97.17 ± 2.25	2.32
10	142.6 ± 5.369	3.77	96.86 ± 3.37	3.48
30	144.7 ± 2.132	1.47	95.71 ± 4.51	4.71

3 讨论

用于制备SLN的固体脂质材料一般包括甘油三酯、部分甘油酯、脂肪酸、类固醇以及某些酯类。余克富等^[6]通过对布洛芬SLN原位凝胶的研究,发现单硬脂酸甘油酯制得的体系更澄清,因此选择单硬脂酸甘油酯作为本试验的脂质材料制备SLN。所得纳米粒均一透明,能形成稳定的体系。使用单硬脂酸甘油酯作为油相时,由于自身难溶,需先将其加热融解后再加入乳化剂与助乳化剂,另外滴加水相时,需要先加热至与油相温度相同后再加入,以避免因温度差异所造成的乳化不完全现象。

本试验参考文献[14]选用P407与P188这种新型的高分子材料来制备温度敏感型原位凝胶,具有热敏可逆性凝胶转变特征,并且无毒无刺激性,可用于鼻用眼用制剂中,是现阶段

研究最成熟的温度敏感原位凝胶的高分子材料。处方筛选时采用了星点设计-效应面优化法,该方法试验次数少、精确度高、应用方便^[15]。通过应用这种方法进行原位凝胶处方的优化,结果也表明拟合的数学模型在因素优化过程中是可行的。

参考文献

- [1] 张俊青,刘美兰,周好田,等.富马酸喹硫平与氯丙嗪治疗精神分裂症的对照研究[J].中国药师,2013,16(1):99.
- [2] 完燕华,战春燕,王晓静,等.精神分裂症患者富马酸喹硫平血药浓度的相关性研究[J].当代医学,2010,16(20):101.
- [3] Altamura AC, Moliterno D, Paletta S, et al. Effect of quetiapine and norquetiapine on anxiety and depression in major psychoses using a pharmacokinetic approach: a prospective observational study[J]. *Clin Drug Investig*, 2012, 32(3):213.
- [4] Nikisch G, Baumann P, Liu T, et al. Quetiapine affects neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone in cerebrospinal fluid from schizophrenia patients: relationship to depression and anxiety symptoms and to treatment response[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2012, 15(8):1051.
- [5] 余克富.布洛芬固体脂质纳米粒原位凝胶的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2009.
- [6] 钱家健,石森林.鼻用原位凝胶给药系统中药物吸收的影响因素与改进措施[J].中国新药杂志,2012,21(8):884.
- [7] 钮萌萌.环孢素A固体脂质纳米粒原位凝胶制剂眼部给药系统的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2008.
- [8] 詹水明,侯冬枝,平其能,等.左旋多巴固体脂质纳米粒的制备及包封率测定[J].中国医院药学杂志,2010,30(14):1171.
- [9] 杜昌余.纳米粒制备方法的筛选及工艺处方优化[D].青岛:青岛科技大学,2013.
- [10] 郝吉福,赵雪梅,王建筑,等.温度敏感型盐酸小檗碱眼用原位凝胶的制备研究[J].中草药,2010,41(4):550.
- [11] 孙思雨.盐酸安妥沙星眼用温度敏感原位凝胶的制备研究[D].蚌埠:蚌埠医学院,2013.
- [12] 张文静,李见春,朱娜,等.富马酸喹硫平在大鼠体内的药动学研究[J].中国药房,2014,25(37):3478.
- [13] 陈林,刘妍,姜绍波,等.扎那米韦固体脂质纳米粒的制备及其包封率测定[J].苏州大学学报:医学版,2012,32(3):369.
- [14] 王玮,叶放,周建平.泊洛沙姆407原位凝胶作为药物载体的研究进展[J].中国新药杂志,2009,18(8):699.
- [15] 邱颖,朱玲,孙晓英.星点设计-效应面优化法与正交设计和均匀设计的比较及其在药剂研究中的应用[J].海峡药学,2011,23(2):18.

(收稿日期:2015-04-15 修回日期:2015-06-15)

(编辑:邹丽娟)