

苯扎贝特纳米结构脂质载体的制备及质量评价

金银秀, 王玉新, 石雷, 潘万贵, 游锦晨, 李姿生(台州职业技术学院化学制药研究所, 浙江 台州, 318000)

摘要: 目的 制备苯扎贝特纳米结构脂质载体(bezafibrate nanostructured lipid carriers, BZF-NLC), 并对其质量评价。方法 采用熔融-乳化法制备 BZF-NLC, 正交试验筛选最优处方。使用扫描电镜观察 BZF-NLC 形态, 激光粒径测定仪测定 Zeta 电位、粒径及分布, 葡聚糖柱层析法测定包封率。结果 按优化条件制备的 BZF-NLC 为类球形粒子, 平均粒径为(127.6±3.16)nm, 多分散系数为 0.191±0.02, 粒度分布均匀, Zeta 电位为(-28.4±0.7)mV, 包封率为(94.28±1.09)%, 体外释药具有缓释特征。结论 熔融-乳化法制备的 BZF-NLC 具有较好的理化性质, 有一定的缓释作用。

关键词: 苯扎贝特; 纳米结构脂质载体; 制备; 质量评价

中图分类号: R944.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)12-1526-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.12.009

Preparation and Quality Evaluation of Bezafibrate Nanostructured Lipid Carriers

JIN Yinxiu, WANG Yuxin, SHI Lei, PAN Wangui, YOU Jinchen, LI Zisheng(Chemical Pharmaceutical Research Institute, Taizhou Vocational Technical College, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare bezafibrate nanostructured lipid carriers(BZF-NLC) and evaluate the quality. **METHODS** BZF-NLC was prepared by melt-emulsification method, and the optimal prescription was screened by orthogonal experiment. The morphology of BZF-NLC was observed by scanning electron microscope. Zeta potential, particle size and distribution were determined by granulometer. The entrapment efficiency was determined by Sephadex gel column chromatography. **RESULTS** BZF-NLC prepared under optimum conditions was approximately spherical with average particle size of (127.6±3.16) nm, PDI of 0.191±0.02, which were distributed evenly, and zeta potential of (-28.4±0.7)mV, encapsulation efficiency of (94.28±1.09)%, respectively. The profiles of BZF-NLC *in vitro* release had the features of sustained release. **CONCLUSION** It shows that there are good physicochemical properties of BZF-NLC prepared by melt-emulsification method, and had a certain degree of sustained-release effect.

KEY WORDS: bezafibrate; nanostructured lipid carriers; preparation; quality evaluation

苯扎贝特(bezafibrate, BZF)是一种血脂调节药, 能降低甘油三酯、升高高密度脂蛋白胆固醇浓度^[1]。但由于 BZF 水溶性差, 而目前国内上市的 BZF 制剂只有普通片剂、缓释片和胶囊等固体制剂, 口服生物利用度低。

纳米脂质载体(nanostructured lipid carriers, NLC)是近年来出现的新型药物传递系统^[2-5], 采用生物相容性好的固体脂质, 加入一定比例的液体脂质, 可以提高载药量, 难溶性药物在 NLC 中溶解度良好, 而且 NLC 对药物具有明显的缓释作用^[2]。本实验以生物相容性较好的单硬脂酸甘油酯作为固体脂质材料, 大豆油作为液体脂质材料, 采用熔融-乳化法制备 BZF-NLC, 并对其理化性质进行考察, 为 BZF 新剂型的开发提供试验基础。

1 材料

Agilent 1220 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); DF-101S 型集热式磁力加热搅拌仪(金坛市精达仪器制造厂); Scientz-IIID 型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司); S-4800 型场发射扫描电镜(FE-EM)(日本 Hitachi 公司); S90 型激光粒径测定仪(英国马尔文仪器有限公司)。

苯扎贝特(批号: 14081701, 含量: 100.2%, 浙江九洲药业股份有限公司); 卵磷脂[批号: J1422068, 纯度>70%, 阿拉丁试剂(上海)有限公司]; 单硬脂酸甘油酯(上海晶纯实业有限公司); 大豆油(上海嘉里食品工业有限公司); 聚山梨酯 20(吐温 20, 上海强顺化学试剂有限公司); 甲醇为色谱纯; 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY14E050001); 浙江省教育厅一般科研项目(Y201432771); 台州职业技术学院博士后科研启动基金项目(2016BSH01); 台州职业技术学院一般课题(2016YB04)

作者简介: 金银秀, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0576)88663356 E-mail: yinxiujin@163.com

2 方法与结果

2.1 BZF-NLC 的制备

精密称取处方量的单硬脂酸甘油酯和大豆油, 加热到 65 °C 熔融, 将苯扎贝特加入到搅拌熔融的单硬脂酸甘油酯和大豆油的油相中; 另精密称取处方量的乳化剂卵磷脂和吐温 20, 超声分散于纯化水 20 mL 中, 形成水相, 将水相加热到与油相相同的温度, 在磁力搅拌下将水相滴加到油相中形成初乳。趁热将初乳超声 3 min(3 s 间隔), 然后用流水冷却至室温, 防止纳米粒子遇热粘连, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得到 BZF-NLC。同法制备不含 BZF 的 NLC, 作为空白对照。

2.2 含量测定

采用高效液相色谱法测定 BZF 含量^[6]。色谱条件如下: 色谱柱为 Agilent ZORBAX C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH 3.0)-甲醇(30:70); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 230 nm; 进样量为 20 μL。

2.3 包封率和载药量的测定

采用葡聚糖凝胶柱层析法^[6]。取溶胀好的葡聚糖凝胶装柱平衡, 精密吸取 BZF-NLC 溶液 1 mL 上样, 用纯化水洗脱, 流速为 1.5 mL·min⁻¹, 收集洗脱液前 40 mL, 旋转蒸发浓缩至干, 流动相清洗旋蒸瓶并定容至 10 mL, 超声, 进样测定, 得到 BZF-NLC 包封药物的质量。取 BZF-NLC 1 mL, 流动相定容至 10 mL, 超声, 进样测定, 得到 BZF 纳米脂质载体溶液中药物总量。计算药物包封率和载药量。

2.4 BZF-NLC 处方优选

通过前期单因素试验考察, 选取对药物包封率影响较大的因素, 吐温 20(A)、卵磷脂(B)、单硬脂酸甘油酯(C)、大豆油(D), 因素水平见表 1, 以包封率为筛选指标, 正交设计表进行处方筛选, 正交试验结果见表 2。

表 1 BZF-NLC 处方正交设计因素和水平

水平	因素			
	A	B	C	D
	吐温 20 用量	卵磷脂用量	单硬脂酸甘油酯用量	大豆油用量
1	100	50	5	50
2	200	100	8	100
3	300	200	12	200

表 2 BZF-NLC 处方优选正交试验结果

Tab. 2 Orthogonal test result of BZF-NLC prescription selection

No.	A	B	C	D	包封率/%
1	1	1	1	1	71.7
2	1	2	2	2	72.3
3	1	3	3	3	65.0
4	2	1	2	3	71.4
5	2	2	3	1	88.7
6	2	3	1	2	94.1
7	3	1	3	2	65.4
8	3	2	1	3	47.4
9	3	3	2	1	74.3
K ₁	69.67	69.50	71.07	78.23	
K ₂	84.73	69.47	72.67	77.27	
K ₃	62.37	77.80	73.03	61.27	
R	22.37	8.33	1.97	16.97	

由直观分析可知, 各因素对制备工艺的影响顺序为 A>D>B>C, 最优化处方为 A₂B₃C₃D₁, 即吐温 20 为 200 mg, 卵磷脂为 200 mg, 单硬脂酸甘油酯为 12 mg, 大豆油为 50 mg。该处方制得的 BZF-NLC 包封率较高。

2.5 验证试验

按正交试验筛选出的最优处方, 制备 3 批 BZF-NLC, 并对其包封率、载药量进行测定。采用优选的处方制备的 BZF-NLC 包封率为 (94.28±1.09)%, 载药量为 (5.52±0.73)%。结果表明, 该制备方法重复性良好。以下性质测试用样品均为最优处方的制备产物。

2.6 BZF-NLC 形态的测定

取 BZF-NLC 混悬液适量加水稀释, 滴至铝箔纸上, 用 2% 磷钨酸负染, 空气中自然晾干, 在扫描电镜下观测纳米粒的形态, 结果见图 1, 结果表明, BZF-NLC 在扫描电镜下均为类球形粒子。

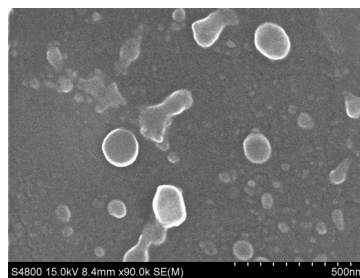


图 1 BZF-NLC 扫描电镜照片

Fig. 1 SEM of BZF-NLC

2.7 粒径分布及 Zeta 电位的测定

精密移取 BZF-NLC 混悬液适量加水稀释, 测定 BZF-NLC 粒径、粒径分布、Zeta 电位。结果表明, BZF-NLC 平均粒径为 (127.6±3.16)nm, 多分

散系数为 (0.191 ± 0.02) ，粒径分布见图 2，Zeta 电位为 $(-28.4 \pm 0.7)\text{mV}$ ，属热力学稳定体系。

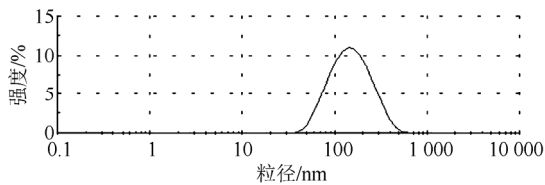


图 2 BZF-NLC 粒径分布图

Fig. 2 Particle size distribution of BZF-NLC

2.8 体外释放试验

精密量取 BZF-NLC 溶液 5 mL，置于预先处理好的透析袋中，密封后置于盛有 150 mL 磷酸盐缓冲液(pH 7.4，含 20%乙醇)^[7]的溶出杯中，于 37 °C 恒温水浴搅拌($100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)。按不同时间点(0, 0.083, 0.17, 0.25, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h)取样 2 mL，并立即补加等量同温的新鲜释放介质。相同条件下考察原料药的体外释放。以累积释放百分率对时间作图，绘制释放曲线，结果见图 3。由图可知，BZF 原料药在 6 h 左右基本完全释放，而 BZF-NLC 在 6 h 内仅释放 38.67%，24 h 累积释放 68.00%。与 BZF 原料药相比，BZF-NLC 具有明显的缓释特征。

对 BZF-NLC 累积释药数据进行拟合，拟合方程见表 3。由表可见，Weibull 模型拟合度最高($r=0.9952$)，表明 BZF-NLC 的释药符合 weibull 方程。

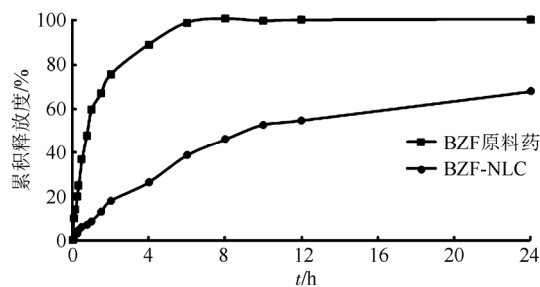


图 3 BZF-NLC 累积释放曲线

Fig. 3 The release profile of BZF-NLC *in vitro*

表 3 BZF-NLC 累积释药曲线拟合方程

Tab. 3 Fitting equation of the accumulative release percentage of BZF-NLC

模型	方程	r
零级模型	$Q=0.064t$	0.9262
一级模型	$\ln(1-Q\%)=-0.001t$	0.9888
Higuchi 模型	$Q=1.890t^{1/2}$	0.9894
Weibull 模型	$\log[-\ln(1-Q)/100]=0.769\log t-2.307$	0.9952

3 讨论

熔融-乳化法整个操作过程要在恒温加热磁力搅拌器中进行，注意温度要控制在固体脂质的熔点以上，以防止乳化过程中固体脂质凝固。固体脂质的熔点是影响药物包封率的主要因素之一^[4]，本实验选用的固体脂质为单硬脂酸甘油酯，其熔点为 60 °C，因此选用的温度为 65 °C。

本实验制备的 BZF-NLC 粒径小且分布均匀，包封率高，且实验过程中未使用有机溶剂，安全性较高，可作为 BZF 的载体来改善其难溶性。脂质纳米粒子由于粒径小，对胃肠道壁有较强的黏附作用，延长药物在药效部位或吸收部位的作用时间并增加接触面积，增加了药物的吸收机会^[8-9]。BZF-NLC 的生物利用度有待进一步实验研究。本实验为 BZF 新型给药系统的研究和开发提供实验基础。

REFERENCES

- [1] LUO L M, ZHU Q W, ZHU B, et al. The effects of homemade bezafibrate on abnormal metabolism of glucose and lipid in patients with high serum triglycerides level [J]. Chin J Pract Intern Med(中国实用内科杂志), 2009, 29(4): 350-353.
- [2] LI Y Z, QI R, KE X. Research progress of nanostructured lipid carriers for oral administration [J]. Pharm Clin Res(药学与临床研究), 2013, 21(4): 355-359.
- [3] XU Y Y, YANG J Y, HU J R, et al. Study on preparation of flexible nano liposome and drug delivery efficiency of brain [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1082-1086.
- [4] YU L, YANG J R, LIU Y, et al. Study on preparation of quercetin nanostructured lipid carriers and their physicochemical properties [J]. China J Chin Mat Med(中国中药杂志), 2013, 38(8): 1151-1155.
- [5] CHEN X, XIAO Y Y, CHEN Y N, et al. Preparation and pharmacokinetics of curcumin nanostructured lipid carriers in rats [J]. J Chin Pharm Univ(中国药科大学学报), 2012, 43(5): 412-417.
- [6] ZHANG J H, JIN Y X, WANG Y X, et al. Determination of bezafibrate tablets by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(4): 433-436.
- [7] YANG H, LIU L, ZHU X R, et al. Preparation and *in vitro* release of chitosan-calcitonin/puterrin-dual-loaded PLGA nanoparticles [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2016, 51(7): 561-566.
- [8] YANG L, SHI Z H, QIU L P, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of ozagrel-loaded nanostructured lipid carriers [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2012, 21(11): 1301-1305.
- [9] SONG C X, HE S L, CAO C F, et al. Research progress on drug delivery of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers [J]. J Pharmaceutic Res(药学研究), 2016, 35(4): 234-236, 245.

收稿日期: 2016-03-30