



基于pH梯度法的盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒的制备

曾令军, 陈旭, 张灵娜, 张佳良, 宋洪涛, 周欣

Preparation of propranolol hydrochloride cubosomes by pH gradient method

ZENG Lingjun, CHEN Xu, ZHANG Lingna, ZHANG Jialiang, SONG Hongtao, ZHOU Xin

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.1006-0111.202103034>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

用星点设计-效应面法优化聚乙烯醇-盐酸普萘洛尔多孔水凝胶处方

Optimization of the formulation of polyvinyl alcohol-propranolol hydrochloride porous hydrogel by central composite design-response surface method

药学实践杂志. 2019, 37(3): 222-225 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.006

HPLC法测定冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量

Berberine hydrochloride assay in Dongbai Tonglin Heji by HPLC method

药学实践杂志. 2017, 35(4): 353-354,378 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.016

柱前衍生化法同时测定人凝血因子VIII中甘氨酸和盐酸赖氨酸的含量

Glycine and lysis hydrochloride assay in human coagulation factor VIII by pre-column derivation

药学实践杂志. 2018, 36(4): 362-364,384 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.017

HPLC法同时测定多效防护霜中盐酸苯海拉明、甲氧基肉桂酸辛酯和水杨酸辛酯的含量

Simultaneous determination of diphenhydramine hydrochloride, octyl methoxycinnamate and octyl salicylate in multi-effect protective cream by HPLC

药学实践杂志. 2019, 37(6): 508-511 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.06.007

共载阿霉素和依克立达的PLGA纳米粒的制备及表征

Preparation and characterization of co-delivery of doxorubicin and elacridar in nanoparticles

药学实践杂志. 2017, 35(3): 219-223,251 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.007

小分子p53-MDM2抑制剂先导化合物苜普地尔的研究

Discovery of bepridil as a valuable lead compound with potent p53-MDM2 inhibitory activity

药学实践杂志. 2021, 39(2): 126-129 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202009031



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

基于 pH 梯度法的盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒的制备

曾令军, 陈旭, 张灵娜, 张佳良, 宋洪涛, 周欣 (中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院药剂科, 福建福州 350025)

[摘要] 目的 制备具有较高包封率的盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒(PPL-Cubs)。方法 采用 pH 梯度法制备 PPL-Cubs; 以粒径、多分散指数为评价指标, 优化空白立方液晶纳米粒(B-Cubs)制备的高压均质压力、高压均质次数、单油酸甘油酯用量及泊洛沙姆 407 用量; 以包封率等为评价指标, 优化外水相 pH 值、内水相 pH 值、载体/药物比、载药温度、载药时间、B-Cubs 粒径和多分散指数、药物浓度等。结果 高压均质压力为 900 bar、均质次数为 7 次、单油酸甘油酯用量为 25%、泊洛沙姆 407 用量为 5% 时, 制得的 B-Cubs 具有较小的粒径和多分散指数。外水相 pH 值为 8.5、内水相 pH 值为 3.0、载体/药物比为 6:1、载药温度为 20 ℃、载药时间为 15 min、药物浓度为 1% 时, 制得的 PPL-Cubs 包封率较高; B-Cubs 粒径和多分散指数对制得的 PPL-Cubs 包封率无明显影响。结论 pH 梯度法能制得较高包封率的盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒。

[关键词] 盐酸普萘洛尔; 立方液晶; pH 梯度法

[中图分类号] R94

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2021)06-0538-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202103034

Preparation of propranolol hydrochloride cubosomes by pH gradient method

ZENG Lingjun, CHEN Xu, ZHANG Lingna, ZHANG Jialiang, SONG Hongtao, ZHOU Xin (Department of Pharmacy, No. 900 Hospital of Joint Logistics Support Force of the PLA, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To prepare propranolol hydrochloride loaded cubosomes (PPL-Cubs) with high entrapment efficiency. **Methods** PPL-Cubs was prepared by pH gradient method. Pressure and cycles of high pressure homogenization, dosage of glyceryl monooleate and poloxamer 407 were optimized to prepare blank cubosomes with particle size and polydispersity index as the indexes. The influences of various factors, including exterior pH values, internal pH values, the ratio of carrier to drug, particle size and polydispersity index of blank cubosomes, incubation temperature and time, and drug concentration on the entrapment efficiency were investigated. **Results** The blank cubosomes with small particle size and polydispersity index was prepared under homogenization conditions of 900 bar for 7 cycles, glyceryl monooleate dosage of 25%, and poloxamer 407 dosage of 5%. PPL-Cubs showed high entrapment efficiency with exterior pH value of 8.5, internal pH value of 3.0, ratio of carrier to drug of 6:1, incubation temperature of 20 ℃, and incubation time of 15 min, and drug concentration of 1%. The particle size and polydispersity index of blank cubosomes showed no influence on entrapment efficiency. **Conclusion** PPL-Cubs with high entrapment efficiency could be prepared under the pH gradient method.

[Key words] propranolol hydrochloride; cubosomes; pH gradient method

盐酸普萘洛尔(propranolol hydrochloride, PPL)是治疗婴幼儿血管瘤的一线 and 首选药物^[1]。口服盐酸普萘洛尔疗效确切,但其存在首过效应强、生物利用度低、半衰期短等问题,且不良反应发生率高^[2]。普通盐酸普萘洛尔外用制剂只对浅表型血管瘤有效,对深部型和复合型血管瘤的治疗仍需结合口服给药。诸多研究表明,立方液晶(cubosomes,

Cubs)可显著提高经皮给药制剂的皮肤渗透性,且能提高其在皮肤尤其是皮肤真皮层的药物滞留量,有望能提高盐酸普萘洛尔外用制剂对深部型和复合型血管瘤的疗效^[3-5]。因此,课题组拟基于立方液晶载药技术将盐酸普萘洛尔制备成一种纳米经皮给药制剂,以期能降低或避免口服给药带来的高不良反应发生率,提高盐酸普萘洛尔的治疗效果和患者依从性。前期实验中,课题组筛选了盐酸普萘洛尔立方液晶纳米粒(PPL-Cubs)的制备方法,并通过单因素考察结合星点设计效应面法优化了其最佳处方和制备工艺,结果制得的 PPL-Cubs 包封率低(约 50%),远低于药典规定的 80%。立方液晶为

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2019J01523)

[作者简介] 曾令军, 硕士, 主管药师。研究方向: 药物新剂型与制剂新技术, Email: 875276534@qq.com

[通信作者] 周欣, 硕士, 副主任药师。Email: fzyygy@163.com

多层囊泡结构,类似于多囊脂质体,其可能与脂质体同样存在对水溶性化合物包封率较低的问题。鉴于前期研究表明,盐酸普萘洛尔在不同pH磷酸盐缓冲液下的溶解度存在极大差异,因此,本研究拟在立方液晶常规制备的基础上,引入“pH梯度法”的载药思路,制备PPL-Cubs,以期提高其包封率。

1 仪器与试药

1.1 仪器

岛津 LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); DV215CD 型分析天平(美国奥豪斯公司); AL204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; DF-101B 集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司); 高压均质机(意大利 NIRO-SAVI S.P.A.公司); NICOMP 380 ZLS 激光粒度测定仪(美国 PSS 粒度仪公司); 超滤离心管(100KD, Millipore)。

1.2 试药

盐酸普萘洛尔(含量 99.9%, 常州亚邦制药有限公司); 单油酸甘油酯(法国 GATTEFOSSÉ 公司); 泊洛沙姆 407(德国 BASF 公司); 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 包封率的测定

取 PPL-Cubs 适量, 装入超滤离心管中, 于 4000 r/min 离心 10 min, 收集离心液, 采用课题组前期建立的盐酸普萘洛尔含量测定方法测定离心液中游离药物浓度 $C_{\text{游离}}$; 取未透析的 PPL-Cubs, 测定药物浓度 $C_{\text{总}}$; 根据公式 $EE(\%) = [(C_{\text{总}} - C_{\text{游离}}) / C_{\text{总}}] \times 100\%$ 计算 PPL-Cubs 的包封率。

2.2 PPL-Cubs 的制备

2.2.1 注入法

精密称取单油酸甘油酯 9 g 和泊洛沙姆 407 1.5 g, 加入 10 ml 无水乙醇, 20 °C 水浴下搅拌溶解, 为 A 相; 精密称取盐酸普萘洛尔 3.5 g, 加入 86 g 纯化水, 20 °C 水浴下搅拌溶解, 为 B 相。于 20 °C 水浴及 600 r/min 搅拌速度下, 将 A 相缓慢地滴加至 B 相中, 待磁力搅拌 1 h 后加入适量纯化水使总质量为 100 g, 再在 800 bar 压力下高压均质 7 次, 得 PPL-Cubs。

2.2.2 pH 梯度法

精密称取单油酸甘油酯适量, 40 °C 水浴加热使融化, 为 A 相; 精密称取泊洛沙姆 407 适量, 加入适量纯化水, 40 °C 水浴加热使溶解, 并用 1% 磷酸溶

液调节 pH 至酸性, 为 B 相; 于 40 °C 水浴及 600 r/min 搅拌速度下, 将 A 相缓慢滴加到 B 相中, 待磁力搅拌 30 min 后, 得空白立方液晶纳米粒粗品; 取空白立方液晶纳米粒粗品, 高压均质数次, 得空白立方液晶纳米粒(B-Cubs)。取盐酸普萘洛尔溶解于适量纯化水中, 得盐酸普萘洛尔水溶液; 将盐酸普萘洛尔水溶液加入一定比例的 B-Cubs 中, 搅拌均匀, 并用氢氧化钠溶液调节 pH 至一定值, 于一定温度下持续搅拌一定时间, 再放置至室温, 即得 PPL-Cubs。

2.3 B-Cubs 的制备工艺优化

前期试验结果表明, 磁力搅拌速度、时间、温度、内水相 pH 值对 B-Cubs 的粒径基本无影响, 高压均质压力及均质次数是影响其粒径的主要因素, 故拟进一步优化高压均质压力和均质次数。

2.3.1 高压均质压力的考察

按照“2.2.2”项下方法, 取空白立方液晶纳米粒粗品, 分别在 400、600、800、900、1000 bar 下高压均质 7 次, 测定制得 B-Cubs 的粒径及多分散指数(见表 1)。结果表明, 随高压均质压力的提高, 制得 B-Cubs 的粒径和多分散指数均逐渐减小, 当均质压力 ≥ 900 bar 时, B-Cubs 的粒径和多分散指数变化较小, 故确定高压均质压力为 900 bar。

表 1 高压均质压力的考察 ($n=3$)

压力(bar)	粒径(nm)	多分散指数
400	169.1 \pm 3.5	0.189 \pm 0.056
600	129.9 \pm 3.2	0.172 \pm 0.062
800	110.9 \pm 2.7	0.126 \pm 0.041
900	97.9 \pm 2.1	0.073 \pm 0.016
1000	96.4 \pm 1.9	0.057 \pm 0.009

2.3.2 高压均质次数的考察

按照“2.2.2”项下方法, 取空白立方液晶纳米粒粗品, 分别在 900 bar 下高压均质 3、5、7、9 次, 测定制得 B-Cubs 的粒径及多分散指数(见表 2)。结果表明, 随高压均质次数的增加, 制得 B-Cubs 的粒径和多分散指数均逐渐减小, 当均质次数 ≥ 7 次时, B-Cubs 的粒径和多分散指数变化较小, 故确定高压均质次数为 7 次。

2.4 B-Cubs 的处方优化

2.4.1 单油酸甘油酯用量的考察

基于优化的 B-Cubs 最佳制备工艺, 按照“2.2.2”项下方法, 固定泊洛沙姆 407 用量为 5%, 内水相 pH 为 3.0, 考察单油酸甘油酯用量(15%、20%、25%、30%、35%)对制得 B-Cubs 粒径及多分散指

表 2 高压均质次数的考察 ($n=3$)

次数(次)	粒径(nm)	多分散指数
3	160.4±4.6	0.173±0.052
5	129.2±3.8	0.140±0.037
7	97.9±2.1	0.073±0.016
9	93.3±1.7	0.067±0.011

数的影响(见表 3)。结果表明,随单油酸甘油酯用量的增加,制得的 B-Cubs 粒径呈先减小后增大趋势,多分散指数则不断降低,当单油酸甘油酯用量为 25% 时,制得的 B-Cubs 具有最小的粒径和较适宜的多分散指数,故确定单油酸甘油酯用量为 25%。

表 3 单油酸甘油酯用量的考察 ($n=3$)

用量(%)	粒径(nm)	多分散指数
15	137.8±3.4	0.160±0.033
20	119.2±2.9	0.147±0.032
25	97.9±2.1	0.073±0.016
30	118.3±3.5	0.024±0.015
35	150.8±5.4	0.026±0.011

2.4.2 泊洛沙姆 407 用量的考察

基于优化的 B-Cubs 最佳制备工艺,按照“2.2.2”项下方法,固定单油酸甘油酯用量为 25%,内水相 pH 为 3.0,考察泊洛沙姆 407 用量(3%、4%、5%、6%、7%)对制得 B-Cubs 粒径及多分散指数的影响(见表 4)。结果表明,制得的 B-Cubs 粒径随泊洛沙姆 407 用量的增加逐渐降低,多分散指数变化无明显规律,但均较小(<0.1);当泊洛沙姆 407 用量 $\geq 5\%$ 时,粒径变化幅度降低,故确定泊洛沙姆 407 用量为 5%。

表 4 泊洛沙姆 407 用量的考察 ($n=3$)

用量(%)	粒径(nm)	多分散指数
3	143.6±3.5	0.064±0.019
4	116.7±3.2	0.055±0.015
5	97.9±2.1	0.073±0.016
6	91.3±1.9	0.052±0.015
7	83.2±1.8	0.062±0.021

2.5 PPL-Cubs 的包封率影响因素考察

2.5.1 外水相 pH 值的考察

根据前期盐酸普萘洛尔在不同 pH 的 PBS 中溶解度测定结果可知(见表 5),盐酸普萘洛尔在 pH ≥ 8.5 时溶解度显著下降。按照“2.2.2”项下方法,制备内水相 pH 为 3.0 的 B-Cubs,并按载体/药

物比(以单油酸甘油酯/盐酸普萘洛尔计)为 6:1 的比例与 B-Cubs 和盐酸普萘洛尔水溶液进行混合,以 10% 氢氧化钠溶液分别调节外水相 pH 至 7.5、8.0、8.5、9.0,于 20 °C 水浴(载药温度)下 600 r/min 磁力搅拌 15 min(载药时间),制得 PPL-Cubs 中药物浓度为 1%,测定对包封率等参数影响(见表 6)。结果表明,PPL-Cubs 的包封率随外水相 pH 值的提高逐渐增加,当外水相 pH 值 ≥ 8.5 时,包封率增加趋势渐小;外水相 pH 值对 PPL-Cubs 的粒径和多分散指数无明显影响。

表 5 盐酸普萘洛尔在不同 pH PBS 中的溶解度 ($n=3$)

pH	溶解度(mg/ml)
4.5	53.50±4.22
5.5	51.70±2.34
6.5	52.60±1.53
7.5	49.80±2.14
8.5	8.50±1.15
9.5	1.41±0.33
10.5	0.87±0.08

表 6 外水相 pH 值的考察 ($n=3$)

pH	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
7.5	71.29±2.58	96.8±2.6	0.063±0.012
8.0	86.24±1.05	97.5±2.3	0.054±0.006
8.5	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
9.0	94.58±1.57	97.6±1.7	0.051±0.006

2.5.2 内水相 pH 值的考察

按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5 时,分别考察内水相 pH(3.0、4.0、5.0、6.0)对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 7)。结果表明,不同内水相 pH 的 B-Cubs 对制得的 PPL-Cubs 包封率无明显差异,对 PPL-Cubs 的粒径和多分散指数亦无明显影响。

表 7 内水相 pH 值的考察 ($n=3$)

pH	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
3.0	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
4.0	91.85±1.05	97.5±2.3	0.054±0.006
5.0	91.62±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
6.0	89.33±1.57	97.6±1.7	0.051±0.006

2.5.3 载体/药物的考察

按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5 时,

分别考察载体/药物(5:1、6:1、7:1、8:1)对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 8)。结果表明,当载体/药物 ≥ 6 时,PPL-Cubs 的包封率不再增加;载体/药物比值对 PPL-Cubs 的粒径和分散指数无明显影响。

表 8 载体/药物的考察 (n=3)

载体/药物	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
5:1	90.93±1.52	98.5±2.7	0.076±0.015
6:1	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
7:1	92.06±2.37	97.5±2.1	0.077±0.015
8:1	92.41±2.58	98.1±2.4	0.102±0.025

2.5.4 载药温度的考察

按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5 时,分别考察载药温度(20、30、40、50 °C)对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 9)。结果表明,载药温度对 PPL-Cubs 的包封率、粒径和分散指数无明显影响。

表 9 载药温度的考察 (n=3)

载药温度(°C)	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
20	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
30	91.05±1.95	96.9±2.3	0.068±0.021
40	91.38±2.08	97.1±2.6	0.066±0.012
50	90.55±1.75	97.2±2.1	0.053±0.018

2.5.5 载药时间的考察

按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5 时,分别考察载药时间(15、30、45、60 min)对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 10)。结果表明,载药时间对 PPL-Cubs 的粒径和分散指数无明显影响。

表 10 载药时间的考察 (n=3)

载药时间(min)	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
15	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
30	92.09±1.54	97.2±2.4	0.071±0.013
45	92.01±2.01	97.5±1.6	0.065±0.024
60	91.86±1.86	98.1±1.9	0.075±0.026

2.5.6 B-Cubs 粒径和分散指数的考察

通过调整高压均质压力,制备不同粒径 B-Cubs。按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5,分别考察 B-Cubs 粒径和分散指数对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 11)。结果表明,B-

Cubs 的粒径和分散指数不影响所制得 PPL-Cubs 的包封率,但 B-Cubs 的粒径和分散指数基本决定了制得 PPL-Cubs 的粒径和分散指数。

表 11 B-Cubs 粒径和分散指数的考察 (n=3)

载体		EE(%)	PPL-Cubs	
粒径(nm)	多分散指数		粒径(nm)	多分散指数
97.9±2.1	0.073±0.016	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
129.2±3.8	0.140±0.037	91.87±1.96	128.5±2.1	0.123±0.021
160.4±4.6	0.173±0.052	91.85±2.13	158.2±2.8	0.152±0.037
210.5±5.9	0.182±0.057	91.25±2.53	209.2±2.9	0.174±0.045

2.5.7 PPL-Cubs 药物浓度的考察

按照“2.5.1”项下方法,固定外水相 pH 为 8.5,分别考察药物浓度(0.1%、0.5%、1.0%、2.0%、3.0%)对制得 PPL-Cubs 包封率等参数的影响(见表 12)。结果表明,随着 PPL-Cubs 中药物浓度的提高,包封率呈逐渐增加趋势,当药物浓度 $\geq 1\%$ 时,包封率增加趋势变慢。

表 12 PPL-Cubs 中药物浓度的考察 (n=3)

浓度	EE(%)	粒径(nm)	多分散指数
0.1	51.83±3.17	97.2±2.4	0.057±0.013
0.5	81.87±2.12	96.3±2.1	0.062±0.012
1.0	92.55±1.27	96.3±1.9	0.045±0.005
2.0	94.42±1.37	96.3±1.9	0.045±0.005
3.0	95.87±1.28	97.8±2.5	0.042±0.007

2.6 pH 梯度法制备 PPL-Cubs 的最优处方及制备工艺

精密称取单油酸甘油酯 25.0 g, 40 °C 水浴加热使融化,为 A 相;精密称取泊洛沙姆 407 5.0 g,加入 70 g 纯化水,40 °C 水浴加热使溶解,并用 1% 磷酸溶液调节 pH 至 3.0,为 B 相;于 40 °C 水浴及 600 r/min 搅拌速度下,将 A 相缓慢滴加到 B 相中,待磁力搅拌 30 min 后,再在 900 bar 下高压均质 7 次,得 B-Cubs。取盐酸普萘洛尔 1 g,溶解于适量纯化水中,得盐酸普萘洛尔水溶液;将盐酸普萘洛尔水溶液加入 24 g B-Cubs 中,搅拌均匀,用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至 8.5,于 20 °C 水浴持续搅拌 15 min,再放置至室温,即得 PPL-Cubs

3 讨论

立方液晶纳米粒常用的制备方法包括注入法、熔融-分散法、热处理法、喷雾干燥法等^[6]。试验前

(下转第 565 页)