

- [J]. 中国药师, 2008, 11(12): 1445-1447.
- [5] 郑春波, 韩 军. 苦碟子治疗冠心病心绞痛的临床观察[J]. 药物与临床, 2006, 9(2): 96.
- [6] 于兆安, 于首元, 胡文平, 等. 苦碟子注射液对急性心肌梗死患者心肌保护作用的临床观察[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2005, 7(1): 27-29.
- [7] 周志天, 祝红明. 碟脉灵注射液治疗短暂性脑缺血发作及血液流变学的影响[J]. 实用中西医结合临床, 2005, 5(4): 18-19.
- [8] 卢英泉, 邵宗军. 苦碟子注射液治疗偏头痛的临床观察[J]. 药物与临床, 2007, 4(21): 54.
- [9] 孔令钰, 于治国, 曲树明. RP-HPLC法测定注射用苦碟子中木犀草素[J]. 中草药, 2009, 40(7): 1076-1077.
- [10] 刘丽娟, 伍月红. 川芎嗪临床研究概况[J]. 检验医学与临床, 2011, (02): 204-206.
- [11] 张义平, 缙东亮, 韩跃刚, 等. 苦碟子注射液伍盐酸川芎嗪治疗脑梗死临床观察[J]. 河南职工医学院学报, 2007, 19(2): 106-107.
- [12] 陈富超, 李 鹏, 方宝霞. HPLC法测定苦碟子注射液中木犀草素的含量测定[J]. 中国药师, 2010, 13(2): 220-221.
- [13] 刘冰洁, 彭 纓, 周玲艳, 等. HPLC法同时测定苦碟子注射液中4种成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(1): 70-73.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 IXR.
- [15] 魏宇宁, 李久旭, 王洪刚等. 苦碟子注射液与5种大输液配伍的稳定性考察[J]. 中国药房, 2008, 19(36): 2834-2835.
- [16] 于淑俊, 汤新强. 静脉给药体外配伍稳定性的研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(5): 596-599.

## 正交试验法筛选川芎嗪纳米粒制备的最佳工艺

毛春芹<sup>1</sup>, 陆兔林<sup>1</sup>, 钱 丽<sup>2</sup>, 李争艳<sup>1</sup>, 苏 桃<sup>1</sup>, 曾 莉<sup>3\*</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046; 2. 南京中医药大学科技处, 江苏 南京 210046; 3. 南京中医药大学图书馆, 江苏 南京 210046)

**摘要:** 目的 优选川芎嗪纳米粒最佳制备工艺。方法 以包封率和粒径分散系数为检测指标, 采用正交试验法对川芎嗪纳米粒制备工艺进行优选。结果 最佳制备工艺为川芎嗪和聚乳酸的投料比为 1:4, 0.25% 泊洛沙姆溶液为水相, 油相和水相的体积比为 1:4, 聚乳酸在丙酮溶液中的质量浓度为 20 mg/mL。结论 该制备工艺合理, 生产实际操作简单, 适合于大生产。

**关键词:** 川芎嗪; 纳米粒; 包封率; 粒径分散系数; 正交试验

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2013)08-1792-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2013.08.051

腹部手术后腹腔黏连、尤其是黏连性肠梗阻的问题, 长期以来困扰着腹部外科医生。据资料显示, 腹部手术后发生腹腔黏连者达 90% 以上<sup>[1]</sup>。川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。具有活血行气, 祛风止痛之功效<sup>[2]</sup>。川芎嗪是中药川芎的有效成分之一, 临床多用于缺血性心、脑血管疾病<sup>[3-4]</sup>及其他缺血性疾病<sup>[5]</sup>的治疗。同时, 其新的适应症治疗黏连性肠梗阻已有大量文献报道及临床验证, 效果显著<sup>[6-8]</sup>。由于川芎嗪为脂溶性药物, 水中溶解度小, 口服吸收较差且生物利用度低, 影响了其临床疗效。纳米粒载药系统具有增加药物的吸收

和生物利用度, 控制药物的释放, 提高药物的稳定性等优点<sup>[9-10]</sup>。目前, 聚乳酸作为载体材料的纳米控释系统的研究越来越受到广泛关注<sup>[11-12]</sup>。本研究选用具有良好生物相容性的可降解材料聚乳酸作为载体, 以包封率和粒径分散系数为检测指标, 采用正交试验法对川芎嗪纳米粒制备工艺进行优选, 为开发临床可供选择的川芎嗪新型给药系统提供了参考与依据。

### 1 仪器与试剂

电子分析天平 (FA1104N) (上海精密科学仪器有限公司), Agilent1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有

收稿日期: 2012-08-12

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK2008459); 江苏省康康中医药科技创新基金 (HZ0810KY); 南京中医药大学重点培育基金 (09XPY05)

作者简介: 毛春芹 (1963—), 女, 高级实验师, 研究方向: 中药质量控制及新药研制。E-mail: mcq63@163.com

\* 通信作者: 曾 莉 (1962—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 南京中医药大学图书馆馆长。Tel: 13505187562, E-mail: ltl209@yahoo.cn

限公司), KQ-500E型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司), 85-2型恒温磁力搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司), 高速冷冻离心机(HITACHI-55P-7), Zeta sizer 纳米激光粒度分析仪(Nano-ZS90, 马尔文)。

川芎嗪对照品(经归一化法测得纯度为98.64%, 可用于定量测定, 南京泽郎医药科技有限公司), 泊洛沙姆188(美国Sigma公司), 聚乳酸(相对分子质量为20 000, 济南岱罡生物科技有限公司)。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水(自制), 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 川芎嗪聚乳酸纳米粒溶液制备工艺的确定 以聚乳酸(PLA)为载体材料, 采用自乳化法制备纳米粒。称取适量PLA, 溶于丙酮, 并超声5 min, 精密称取川芎嗪, 溶于PLA溶液, 作为油相。一定质量分数的泊洛沙姆溶液作为水相。将上述油相在磁力搅拌的条件下快速注入已恒温至35℃的水相中, 在恒温35℃的条件下继续磁力搅拌70 min, 即得川芎嗪聚乳酸纳米粒溶液。

2.2 包封率的测定 取适量川芎嗪聚乳酸纳米球混悬溶液, 低温超速离心(4℃, 25 000 r/min) 60 min, 精密量取上清液0.2 mL, 置于5 mL量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。将溶液在上述色谱条件下进行测定, 得游离药物量( $W_f$ ), 精密量取0.2 mL川芎嗪纳米粒溶液, 置于5 mL量瓶中, 加入0.5 mL *N,N*-二甲基甲酰胺, 振摇2 min, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 测得纳米粒溶液中药物的总量( $W_s$ )。

$$\text{则包封率}(\%) = [(W_s - W_f) / W_s] \times 100\%$$

2.3 粒径及粒径分散系数的测定 取少量川芎嗪纳米粒混

悬液用适量蒸馏水稀释后置于纳米激光粒度分析仪的样品管中, 测定纳米粒的粒径及分布。

### 2.4 正交试验

2.4.1 正交试验设计 据文献研究并综合单因素考察, 对可能的影响因素: 川芎嗪与聚乳酸投料比(TMP:PLA)、泊洛沙姆质量分数、油相与水相体积比、聚乳酸在丙酮溶液的质量浓度进行考察。结合预实验, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行设计, 对以上因素进行考察, 以包封率及粒径分散系数为指标, 进行川芎嗪纳米粒制备工艺最佳参数的确定。制备工艺因素水平设计见表1。按照正交因素水平表进行操作: 取适量聚乳酸和川芎嗪溶于一定体积的丙酮, 此溶液作为油相; 取适量的一定质量分数的泊洛沙姆溶液作为水相; 在高速搅拌的条件下, 将油相注入水相中, 继续搅拌70 min(此过程中恒温30℃), 直至挥尽丙酮, 即得纳米粒溶液。

表1 因素水平

水平因素	A TMP:PLA/ (mg:mg)	B 泊洛沙姆/ %	C 油相:水相/ (mL:mL)	D 聚乳酸/ (mg·mL <sup>-1</sup> )
1	1:5	0.30	1:3	15
2	1:4	0.25	1:4	20
3	1:3	0.20	1:5	25

2.4.2 正交试验结果 按照正交设计, 共制备了九份样品。包封率是反映纳米粒质量的重要指标, 粒径分布可以反映纳米粒粒径大小的均匀度。因此, 以包封率和粒径分散系数为考察指标对正交数据进行分析。结果见表2~4。

表2 正交试验设计结果

试验号	A	B	C	D	包封率/%	粒径分散系数
1	1	1	1	1	21.24	0.05
2	1	2	2	2	34.83	0.17
3	1	3	3	3	30.89	0.13
4	2	1	2	3	35.46	0.09
5	2	2	3	1	39.18	0.15
6	2	3	1	2	33.29	0.13
7	3	1	3	2	28.31	0.09
8	3	2	1	3	24.88	0.07
9	3	3	2	1	32.48	0.15
包封率/%						
Ij	86.96	85.01	79.41	92.91	G=280.55 CT=8745.44	
IIj	107.92	98.88	102.77	96.43		
IIIj	85.67	96.66	98.38	91.22		
SSj	103.99	36.98	102.78	4.70		
粒径分散系数						
Ij	0.34	0.23	0.26	0.35	G=1.03 CT=0.12	
IIj	0.38	0.41	0.41	0.39		
IIIj	0.31	0.41	0.37	0.29		
SSj	0.0007	0.0112	0.0040	0.0015		

结果表明: 因素A、C对包封率有显著性影响, 各因素对粒径分散系数无显著性影响。经直观比较分析, 综合包

封率和粒径分散系数, 以方便、节约、提高效率的前提下出发, 同时结合生产实际, 确定纳米粒制备工艺条件为

A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>。即川芎嗪和聚乳酸的投料比为1:4,以0.25%泊洛沙姆溶液为水相,油相和水相的体积比为1:4,聚乳酸在丙酮溶液中的质量浓度为20 mg/mL。

表3 包封率方差分析

误差来源	离均差平方和	自由度	均差	F 值	显著性
A	103.99	2	52.00	22.11	*
C	102.78	2	51.39	21.86	*
B	36.98	2	18.49	7.86	
D(误差)	4.70	2	2.35		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ ; \*  $P < 0.05$

表4 粒径分散系数方差分析

误差来源	离均差平方和	自由度	均差	F 值	显著性
B	0.0112	2	0.0056	16.38	
C	0.0040	2	0.0020	5.86	
D	0.0015	2	0.0008	2.22	
A(误差)	0.0007	2	0.0003		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

2.4.3 最佳制备工艺验证 按照最佳制备工艺制备三份样品,测定包封率。即以投料比1:4的比例取川芎嗪和聚乳酸溶于丙酮溶液,并且使得丙酮溶液中聚乳酸的质量浓度为20 mg/mL,此溶液作为油相;取体积为油相体积4倍量的0.25%泊洛沙姆溶液作为水相,将油相在高速磁力搅拌的条件下注入水相之中,在恒温30℃的条件下继续高速搅拌70 min,挥尽丙酮,即得。结果见表5。

表5 工艺验证结果 (n=3)

试验号	包封率/%	平均包封率/%	粒径分散系数	平均粒径分散系数
1	40.03		0.090	
2	41.03	40.74	0.088	0.090
3	41.17		0.093	

### 3 讨论

3.1 表面活性剂的选择 由于本品是应用于术中腹膜破损处,因此在选择表面活性剂时尽量选择安全性较高的,选择了Tween 20、Tween 80、Ploxamer188,这几种均是FDA批准的可用于注射剂中的种类,安全性高。

分别配制了1% Tween 20、1% Tween 80和1%泊洛沙姆(Ploxamer188)置于不同温度下过夜进行观察。结果,1% Tween 20在0℃时有大量纤维状沉淀析出,1% Tween 80和1%泊洛沙姆在0℃、20℃和40℃时均是澄清透明的,稳定性较好。分别将川芎嗪加入1% Tween 80和1%泊洛沙姆溶液,直至饱和,过滤,取滤液。将以上两种饱和溶液分别置于不同温度下过夜进行观察。结果,川芎嗪饱和溶液(1% Tween 80)在0℃时,有针状结晶析出,推测是川芎嗪析出,而由1%泊洛沙姆配制的川芎嗪饱和溶液在三个温度下均是稳定的。

因此,选择泊洛沙姆作为制备工艺中的表面活性剂。

3.2 搅拌时间 将油水两相混合之后,继续进行磁力搅拌的主要目的是将溶液中的丙酮挥尽。因此,磁力搅拌时间的长短决定了丙酮的残留量,而本品是用于腹腔黏膜的破损处,因此,从安全性角度,丙酮不得有残留。纳米粒的搅拌时间分别设定为50、70、90 min,利用气相检测丙酮残留量,结果表明70 min的搅拌时间即可挥尽丙酮。

3.3 温度 在制备过程中,选择适当的温度,也可以加速有机溶剂的挥发,但是考虑到川芎嗪的性质,温度不宜过高,故选择了20℃、30℃、40℃进行比较,以丙酮残留量为指标,结果30℃的温度下即可挥尽丙酮,最终定温度为30℃。

通过最佳工艺验证,结果显示该最佳工艺选择合理、符合大生产要求。

### 参考文献:

- [1] Scott-Coombers D, Whawell S A, Vipond M N, et al. Hunan intraperitoneal fibrinolytic response to surgery [J]. *Bri J Surg*, 1995, 82: 414.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 38.
- [3] Sarella AI, Scott N, Ramsdale J, et al. Immuno histo chemical detection of the anti-apoptosis protein, survivin, predicts survival after curative resection of stage II colorectal Carcinomas [J]. *Ann Surg Oncol*, 2001, 8 (4): 305-310.
- [4] Kwk C, Ku J H, Park J Y, et al. Initial tumor stage and grade as a predictive factor for recurrence in patients with stage T1 Grade 3 bladder cancer [J]. *J Urolo*, 2004, 171 (1): 149-152.
- [5] 蔡鑫君,程巧鸳,赵宁,等. 喷雾干燥法制备川芎嗪壳聚糖微球的研究[J]. *中草药*, 2008, 39(5): 679-682.
- [6] 王胜虎,毛少华. 川芎嗪注射液治疗黏连性肠梗阻疗效观察[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2002, 8(4): 275-276.
- [7] 祝永刚,翟喜超,司来杰. 川芎嗪腹腔灌注和静脉滴注治疗术后早期炎性肠梗阻的临床研究[J]. *临床合理用药*, 2005, 3(10): 10-17.
- [8] 魏振奇. 川芎嗪治疗术后早期炎性肠梗阻40例临床观察[J]. *河北医药*, 2009, 31(6): 717.
- [9] 桂卉,范学工. 控释纳米粒的研究进展[J]. *中成药*, 2004, 26(11): 938-940.
- [10] Peng Q, Zhang Z R, Sun X, et al. Mechanisms of phospholipid complex loaded nanoparticles enhancing the oral bioavailability[J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(2): 565-575.
- [11] 尚小广,李颖,徐陆忠,等. 大黄酸聚乳酸纳米粒的制备及大鼠体内药动学研究[J]. *中国药学杂志*, 2012, 47(7): 524-528.
- [12] 刘明星,董静,杨亚江,等. 雷公藤甲素聚乳酸纳米粒的制备及毒性[J]. *药理学学报*, 2004, 39(7): 556-560.