

## 非洛地平-硬脂酸固体脂质纳米粒的制备及其体外透皮吸收研究

任浩洋,常红霞,张明华,王文刚(中国人民解放军总医院西院药局,北京 100853)

**摘要** 目的:以固体脂质纳米粒为载体,通过透皮给药达到提高非洛地平透皮吸收及缓释长效的目的。方法:采用溶剂挥发-超声法制备非洛地平固体脂质纳米粒水分散体,以大鼠皮肤为渗透屏障对非洛地平固体脂质纳米粒的经皮渗透进行研究。结果:非洛地平-硬脂酸固体脂质纳米粒为类球形实体粒子,平均粒径范围在 50~150 nm,包封率大于 85%,载药量大于 7%,药物体外释放符合一级动力学过程,体外经皮渗透速率显著高于空白对照组。结论:非洛地平固体脂质纳米粒处方设计合理,制备工艺可靠,以纳米粒作为透皮给药载体具有广阔的发展前景。

**关键词** 非洛地平;固体脂质纳米粒;透皮吸收

中图分类号:R94 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)05-0346-04

## Study on preparation and skin permeation of solid lipid nanoparticles containing felodipine

REN Hao-yang, CHANG Hong-xia, ZHANG Ming-hua, WANG Wen-gang (General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

**ABSTRACT Objective:** To develop a new transdermal drug delivery system (solid lipid nanoparticles) for felodipine to improve its effect. **Methods:** Solid lipid nanoparticles were prepared by solvent-dispersion technique and were treated further by sonication. The release rate and permeation rate of felodipine were studied through excised rat skin *in vitro*. **Results:** Solid lipid nanoparticles containing felodipine were spherelike. The particle size was 50~150 nm; the drug entrapped efficiency was higher than 85%; the drug loading was not less than 7%. The release of felodipine from solid lipid nanoparticles followed the first grade model kinetics and the permeation rate of felodipine was remarkably higher *in vitro* than placebo. **Conclusion:** The formulation of solid lipid nanoparticles containing felodipine is reasonable. Solid lipid nanoparticles might be a suitable system for transdermal drug delivery.

**KEY WORDS** felodipine; solid lipid nanoparticles; transdermal absorption

近年来口服和注射药物纳米制剂的研究表明以高分子纳米材料和纳米化技术为基础的药物纳米粒子在药物控释、提高生物利用度、延长药物在血液中的循环时间、解决疏水性药物在体内运转困难的问题及靶向给药等方面呈现出独特的功效性,表现出其他制剂无法达到的效果,高分子载药纳米粒在体内运转的功效性已得到证实。目前对纳米药物经皮及黏膜吸收的研究刚刚开始,并且现有研究工作仅限于少数纳米粒体系,但这些体系的研究结果已表明其纳米功效在经皮及黏膜给药制剂中可望发挥出更加显著的作用<sup>[1]</sup>。

非洛地平(felodipine, FEL)为 Astra 公司开发的第 2 代二氢吡啶类钙拮抗剂,具有较高的血管选择性,系高效、安全且具很好耐受性的抗高血压药物。但 FEL 口服具有较大的肝脏首过效应,其生物利用度仅为 15%。本研究以固体脂质纳米粒(solid lipid

nanoparticles, SLN)为载体,制备 FEL 的透皮给药系统,研究 SLN 对药物经皮渗透的独特作用和功效性,以期拓展纳米给药系统的应用范围并进一步发挥其在经皮给药治疗中的潜力。

### 1 材料

TP-4 型智能透皮扩散仪(改良的 Franz 扩散池, S=0.724 cm<sup>2</sup>, V=9.5 mL,天津富兰斯电子科贸有限公司);Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 HP 公司);Inertsil ODS 色谱柱(5 μm, 150 mm × 4.6 mm,日本 GL Sciences 公司);Milli-Q 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司);JY 92-2D 型超声波细胞粉碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);HERAEUS BIOFUGE 22R 型台式高速冷冻离心机(德国 Heraeus 公司);NANOPHOX 型纳米激光粒度分析仪(德国 Sympatec 公司);Zetasizer Nano ZS90 型高性能纳米粒度和 Zeta 电位分析仪(英国 MALVERN INSTRUMENTS 公司);Tecnai 20 型透射电子显微镜

作者简介:任浩洋(1975-),男,硕士,主管药师。Tel: (010)66876027, E-mail: renhy301@126.com.

(美国 FEI 公司)。

非洛地平对照品(纯度 99.99%, Astra 无锡制药有限公司);非洛地平(纯度 99.0% ~ 101.0%, 中国台湾 Everlight Chemical Industrial Corporation);硬脂酸(北京化学试剂公司);磷脂(Lecithin, 北京双旋微生物培养基制品厂);泊洛沙姆 188 (Poloxamer 188, 德国 BASF 公司);吐温 80(Tween 80, 北京化学试剂公司);去氧胆酸钠(Sodium deoxycholate, 北京双旋微生物培养基制品厂);甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司);醋酸乙酯(Acetoacetate, 北京化学试剂公司)等其他试剂均为分析纯。

Wister 大鼠, 雄性(250 ± 10) g, 解放军总医院实验动物中心提供。

## 2 方法与结果

**2.1 非洛地平固体脂质纳米粒的制备<sup>[2-4]</sup>** 取处方量的 FEL、硬脂酸和磷脂(matrix, M), 在(60 ± 5) °C 水浴下, 使其完全溶解于适量的醋酸乙酯中, 构成有机相;按处方量称取泊洛沙姆 188、吐温 80 和去氧胆酸钠溶解于相同温度的注射用水中, 构成水相。在 1 500 r/min 搅拌条件下, 将有机相以 7 号腰椎穿刺针缓慢注入水相中, 形成初乳。持续搅拌 4 h 挥发有机溶剂殆尽后, 经超声波细胞粉碎仪处理 3 min (400 W, 50% 脉冲), 迅速置于冰浴中, 1 500 r/min 条件下持续搅拌 3 h, 即得具淡蓝色乳光半透明的 FEL 固体脂质纳米粒水分散体。

**2.2 非洛地平固体脂质纳米粒的表征<sup>[5]</sup>** 室温条件下, 分别取上述 FEL 固体脂质纳米粒水分散体适量, 加超纯水稀释后于 NANOPHOX 型纳米激光粒度分析仪上测定其平均粒径及粒度分布于 Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度和 Zeta 电位分析仪上测定纳米粒的 Zeta 电位。结果表明, 所得到的 FEL 固体脂质纳米粒平均粒径为 108.13 nm, 跨距为 0.65, 粒度分布窄且均匀(见图 1), Zeta 电位为 -32.47 mV, 纳米粒荷负电。

室温条件下, 分别取上述 FEL 固体脂质纳米粒水分散体适量, 加超纯水稀释后滴加至透射电镜载样铜网上, 10 ~ 20 min 后以滤纸吸干水分, 滴加醋酸双氧铀复染样品, 室温自然干燥, 置于 Tecnai 20 型透射电子显微镜下观察纳米粒形态并拍摄照片(见图 2)。FEL 固体脂质纳米粒为实体颗粒, 圆整度好, 分布较均匀。

图 2 FEL 固体脂质纳米粒的透射电镜照片(×25 000)

**2.3 非洛地平的 HPLC 测定** 色谱柱: Inertsil ODS 柱(5 μm, 150 mm × 4.6 mm, 日本 GL Sciences 公司), 流动相: 甲醇-水(78 : 22), 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 25 °C, 紫外检测波长: 238 nm, 进样量: 20 μL, 灵敏度: 0.01 AUFS。FEL 的保留时间为 8.06 min, 有效理论塔板数按 FEL 计算大于 4 000, 药物峰与处方主要辅料、皮肤渗出物及溶剂峰等分离良好, 说明处方辅料及皮肤内源性杂质对 FEL 的 HPLC 测定无干扰。FEL 在 50 μg/mL 范围内峰面积与浓度线性关系良好, 回归方程为  $A = 57.001C + 24.425$ ,  $r = 0.9999$ 。该法可用于固体脂质纳米粒的药物包封率、体外释放度及经皮渗透试验中药物含量的测定。

**2.4 体外释放度研究**, 采用改良的单室 Franz 扩散池, 由上下两个杯状磨口玻璃容器组件对合而成, 将半透膜固定于 Franz 扩散池中间。于供给室中加入 1 mL 不同药脂比的 FEL 固体脂质纳米粒水分散体, 于接受室中加入新鲜配制的 30% 乙醇水溶液至满(9.5 mL), 并使半透膜与接受介质完全接触, 除去气泡, 于(32 ± 0.5) °C、200 r/min 条件下恒温恒速搅拌。分别于 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72 h 吸取接受液 2 mL(同时立即补充 2 mL 等温新鲜接受介质, 并排除接受室中气泡), 以 HPLC 法测定不同时间点释放液中的药物含量, 计算 FEL 累积释放百分率并拟合药物释放曲线(见表 1 和图 3)。

表1 FEL 固体脂质纳米粒的体外释放曲线拟合方程

释放模式	不同药-脂比和体外释放曲线拟合方程			
	1 : 1	1 : 3	1 : 5	1 : 10
零级	$Q = 0.009 t + 0.024 1$	$Q = 0.009 1 t + 0.023 6$	$Q = 0.010 2 t + 0.025 6$	$Q = 0.011 1 t + 0.017 2$
( <i>r</i> )	0.982 0 <sup>1)</sup>	0.981 7 <sup>1)</sup>	0.984 7 <sup>1)</sup>	0.988 2 <sup>1)</sup>
一级	$Y = -0.013 6 t + 0.001 0$	$Y = -0.013 9 t + 0.000 2$	$Y = -0.016 4 t - 0.004 4$	$Y = -0.019 t - 0.013 9$
( <i>r</i> )	0.995 9 <sup>2)</sup>	0.996 2 <sup>2)</sup>	0.998 4 <sup>2)</sup>	0.999 3 <sup>2)</sup>

DF =  $n - 2 = 10$ ;  $\alpha = 0.05 \rightarrow r = 0.576$ ,  $\alpha = 0.01 \rightarrow r = 0.708$ ; <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;  $Y = \log( = Q_{\infty} - Q)$ ,  $t = t/2.303$ .

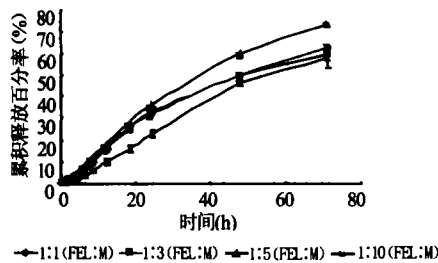


图3 FEL 固体脂质纳米粒的体外释放曲线

不同药物/载体比例的 FEL 固体脂质纳米粒体外药物释放均无突释,且均可用一级动力学方程和零级动力学方程进行拟合,对相关系数进行检验,以一级动力学方程拟合更佳。药物/载体比例为 1 : 5 时释放速率和释放量均较快,而 1 : 10 最慢,4 种比例的 FEL 固体脂质纳米粒均可用于经皮给药。

## 2.5 离体大鼠透皮实验

**2.5.1 离体大鼠皮肤的制备**,取健康雄性 Wister 大鼠(250 ± 10) g,乙醚麻醉,用电动剃毛刀除去背部鼠毛,以 8% 硫化钠溶液涂布背部皮肤,1 min 后以生理盐水洗净,饲养 24 h 后活体剥取背部皮肤。注意在剃毛和剪除皮肤过程中,不要用力撕扯皮肤,以免造成皮肤损坏,影响透皮试验的结果。取下已去毛的鼠皮,平铺于干净的玻璃板上,角质层朝下,小

心地用蘸有生理盐水的脱脂棉除去皮下脂肪组织和粘连物,用生理盐水反复冲洗干净,最后置于培养皿中,加入少量生理盐水,于 -40 ℃ 低温冰箱中保存。每次实验前自然恢复至室温,并检查鼠皮的完整性,不能有任何破损。

**2.5.2 体外透皮实验**,皮肤夹在 Franz 扩散池中间,以不锈钢夹固定。释药孔直径 0.96 cm,释药面积为 0.724 cm<sup>2</sup>,接受室体积为 9.5 mL。接收介质为 30% 乙醇/水溶液。磁力搅拌速度为(200 ± 1) r/min,恒温水浴温度维持在(32 ± 0.5) ℃。实验前,自冰箱中取出鼠皮,恢复至室温,以 30% 乙醇水溶液洗净后,用吸水纸吸干皮肤表面的液体,立即将其固定在 Franz 扩散装置的供给室与接受室之间;于供给室中分别加入 1 mL 不同药脂比的 FEL 固体脂质纳米粒水分散体。于接收池中加入接收介质至满,使真皮一侧与接受液接触,恒温恒速搅拌,除去气泡,分别于预定的时间点取样 2.0 mL,同时立即补充 2.0 mL 等温新鲜接收介质,并排除接受室中气泡。样品以微孔滤膜过滤,弃去初滤液,续滤液以 RP-HPLC 法进行测定。以外标法定量,根据每次实验随行的 FEL 对照溶液浓度求出相应的药物浓度。计算 FEL 的累积渗透量(*Q*)、经皮渗透速率(*J<sub>s</sub>*)、经皮渗透系数(*P<sub>s</sub>*)、迟滞时间(*T<sub>lag</sub>*)和增渗倍数(*ER*),结果见表 2,透皮释放曲线见图 4。

表2 FEL 固体脂质纳米粒的透皮吸收药物释放曲线

药脂比	累计渗透量方程	<i>r</i> <sup>2</sup>	<i>J<sub>s</sub></i> (K) ± S(mg/cm <sup>2</sup> · h)	迟滞时间(h)	增渗倍数
空白	$Q = 0.83t - 8.69$	0.992 4	0.83 ± 0.42	10.47	1.00
1 : 1	$Q = 2.27t - 31.39$	0.971 0	2.27 ± 0.19 <sup>1)</sup>	13.83	2.73
1 : 3	$Q = 2.20t - 25.48$	0.994 8	2.20 ± 0.39 <sup>1)</sup>	11.58	2.65
1 : 5	$Q = 2.45t - 37.92$	0.970 2	2.45 ± 0.28 <sup>1)</sup>	15.48	2.95
1 : 10	$Q = 2.36t - 22.85$	0.986 0	2.36 ± 0.60 <sup>1)</sup>	9.68	2.84

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,与空白比较

不同药脂比条件下制备的硬脂酸固体脂质纳米粒对 FEL 均有显著的促透作用,且随着载体材料用量的增加,其体外经皮渗透性均有增大的趋势。但当药脂比小于 1 : 10,药物的经皮渗透性有所下降,

而迟滞时间缩短,可能与载体材料用量增大有关,可见,在固体脂质纳米粒的经皮渗透过程中,载体材料所起的作用不可忽视,作为与皮肤有着较好相容性并作为可参与体内代谢过程的固体脂质材料而言,

其自身所起到的促透作用亦不可小视。

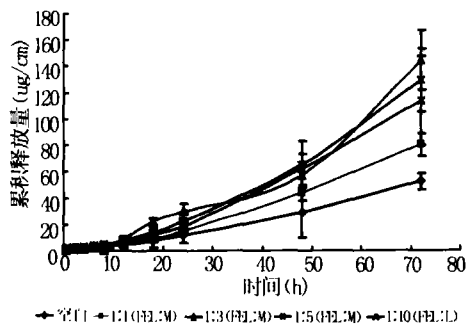


图 4 FEL 固体脂质纳米粒的透皮释药曲线

### 3 讨论

**3.1 固体脂质纳米粒**是近年正在发展的一种新型纳米粒给药系统。它由可生物降解的类脂性化合物组成,具有聚合物纳米粒与 O/W 型静脉注射脂肪乳的共同优点可与亲脂性药物相结合,作为它们的给药载体。硬脂酸系一种内源性的生理物质,体内可降解,生物相容性好,对人体无毒性;作为一种长链饱和脂肪酸,它在室温下呈固态,理化性质稳定,是一种理想的载体材料。本研究选用硬脂酸为载体材料,以难溶性药物 FEL 为模型药物,制备了其固体脂质纳米粒,获得了理想的粒径分布和较高的药物包封率,并探讨了实现透皮给药的可能性,为进一步的固体脂质纳米粒透皮给药研究奠定了基础<sup>[6,7]</sup>。

**3.2 脂质纳米粒中药物的释放模式与制备方法密切相关。**高压乳匀法由于制备过程不使用有机溶剂,适合工业化生产而引人关注。但文献报道采用高压乳匀法制备的系列纳米粒,其体外释药过程多数存在突释现象,而只有个别药物在低温和无表面活性剂存在

时,才能避免此现象,对实验条件的控制和药物理化性质的要求比较高。本研究尝试采用溶剂挥发-超声波法制备固体脂质纳米粒,得到的纳米粒体外释放未见明显的突释现象,达到了预期的水难溶性药物纳米粒缓释的目的;以固体脂质纳米粒作为经皮给药的载体是可行的,而且具有较好的应用前景。

### 参考文献:

- [1] Jain SK, Chourasia MK, Masuriha R, et al. Solid lipid nanoparticles bearing flurbiprofen for transdermal delivery[J]. Drug Deliv, 2005, 12(4):207.
- [2] Olivera-Marlinez BI, Cazares-Delgado J, Calderilla-Fajardo SB, et al. Preparation of polymeric nanocapsules containing octyl methoxycinnamate by the emulsification-diffusion technique: penetration across the stratum corneum[J]. J Pharm Sci, 2005, 94(7):1552.
- [3] Yilmaz E, Borchert HH. Design of a phytosphingosine - containing, positively charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2005, 60(1):91.
- [4] Pinon SE, Ganem QA, Alonso PV, et al. Preparation and characterization of triclosan nanoparticles for periodontal treatment[J]. Int J Pharm, 2005, 294(1-2):217.
- [5] Souto EB, Wissing SA, Barbosa CM, et al. Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2004, 58(1):83.
- [6] Kalariya M, Padhi BK, et al. Chougule M, Clobetasol propionate solid lipid nanoparticles cream for effective treatment of eczema; formulation and clinical implications[J]. Indian J Exp Biol, 2005, 43(3):233.
- [7] Mei Z, Wu Q, Hu S, et al. Triptolide loaded solid lipid nanoparticle hydrogel for topical application[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2005, 31(2):161.

收稿日期:2006-11-29

(上接第 345 页)

莫地平还可以直接作用于脑神经细胞,通过减少  $Ca^{2+}$  内流,减轻  $Ca^{2+}$  负荷对脑组织的损伤作用。此外尚具有保护和促进记忆、促进智力恢复的作用。

### 参考文献:

- [1] Setoguchi S, Hirooka Y, Eshima K, et al. Tetrahydrobiopterin improves impaired endothelium-dependent forearm vasodilation in patients with heart failure[J]. Cardiovasc Pharmacol. 2002; 39: 363.
- [2] Davis SM, Lees KR, Albers GW, et al. Selfotel in acute ischemic stroke: possible neurotoxic effects of an NMDA antagonist[J]. Stroke. 2000;31:347.

- [3] Gelmers HJ, Gorter K, De Weerd CJ, et al. A controlled trial of nimodipine in acute ischemic stroke[J]. N Engl J Med. 1988; 318:203.
- [4] Infeld B, Davis SM, Donnan GA, et al. Nimodipine and perfusion changes after stroke[J]. Stroke. 1999;30:1417.
- [5] 芮耀斌. 现代药理学[M]. 北京:人民军医出版社,1999: 537.
- [6] Onoue H, Nakamura N, Toda N. Endothelium-dependent and independent responses to vasodilators of isolated cerebral arteries[J]. Stroke. 1988;19:1388.
- [7] Horn J, Limburg M. Calcium antagonists for acute ischemic stroke[J]. Cochrane Database Syst Rev. 2000;CD001928.

收稿日期:2008-05-26