

酸枣仁油脂质体温敏凝胶的制备

王黎,赵宁,王丹

(西安医学院药学院,西安710021)

摘要:为了提高酸枣仁油的脑部生物利用度,增加其制剂稳定性与缓释性,将其制备为酸枣仁油脂质体温敏凝胶。通过优化制备工艺,使酸枣仁油脂质体包封率达73.8%,并将脂质体制备为胶凝温度为35~36℃的温敏凝胶,载药量为2.8%。该凝胶在30~33℃的鼻下部为液体,可流入手指难以触及的鼻腔嗅区粘膜,并在该区域受热胶凝黏附,以脂质体的形式缓释。

关键词:酸枣仁油;脂质体温敏凝胶;缓释

中图分类号:TS224;R94

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)05-0063-04

Preparation of liposome thermosensitive gel of jujube seed oil

WANG Li, ZHAO Ning, WANG Dan

(School of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China)

Abstract: In order to improve the bioavailability of the jujube seed oil and improve its stability and sustained release, the jujube seed oil was prepared to be the liposome thermosensitive gel. By optimizing the preparation process, the encapsulation rate of jujube seed oil was 73.8%. The liposome obtained was prepared as a thermosensitive gel with a gelling temperature of 35-36℃, with the drug-loading rate of 2.8%. The gel was liquid in the lower part of the nasal cavity at 30-33℃. Thus it could flow into the nasal olfactory region mucous membrane which was difficult to touch, and adhere in that area with a sustained release by the form of liposome.

Key words: jujube seed oil; liposome thermosensitive gel; sustained release

酸枣仁(*Ziziphi spinosae semen*)是鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子,是治疗失眠和焦虑的经典中药之一^[1]。酸枣仁油(jujube seed oil, JSO)是采用压榨法、溶剂提取法^[2]、超临界萃取法^[3]等从酸枣仁中得到的油脂,酸枣仁出油率为33.37%~39.51%^[4]。酸枣仁油富含多种不饱和脂肪酸^[5],且具有很强的安神助眠^[6]、提高学习记忆能力^[7]和抗抑郁^[8]等作用,其药用的靶部位是大脑。药物经鼻给药时,若能够流入手指难以触及的鼻腔嗅区粘膜并黏附,可经双极嗅细胞沿嗅神经入脑,达到靶向

给药的目的^[9-10]。

鼻用原位凝胶剂是药物以溶液状态给药后,由于其相转变温度适宜,在鼻腔内相转变为半固体凝胶的一类鼻制剂^[11]。其以液态形式给药,深入嗅区粘膜产生靶向;在鼻腔内转变为具有生物黏附作用的半固体,延长了药物在鼻腔内滞留时间,从而持续提高患者的睡眠质量;增加药物吸收,提高其脑部生物利用度^[12]。

此前,本课题组开发了以酸枣仁皂苷为活性物质的鼻腔定位给药凝胶^[13-14],获得了良好的效果;然而,酸枣仁皂苷价格昂贵且属于亲水性化合物,中枢生物利用度不如亲脂性的酸枣仁油。因此,本文拟开发以酸枣仁油为原料的定位给药凝胶,将其先制备为脂质体,提高其水溶性及缓释性,再将脂质体制备为温敏凝胶,提高其生物利用度。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

收稿日期:2017-07-12;修回日期:2018-02-28

基金项目:陕西省教育厅专项科研项目(15JK1630);西安医学院2016年配套基金项目(2016PT16);2016年国家级、省级大学生创新创业训练计划项目(201611840007, 2273)

作者简介:王黎(1978),女,副教授,硕士,主要从事药物制备与质量控制工作(E-mail)t_lizi@sina.com。

酸枣仁;泊洛沙姆 407 (P407)、泊洛沙姆 188 (P188)为药用级(德国 BASF 公司);大豆卵磷脂、胆固醇为化学纯(上海梯希爱化成工业发展有限公司);角鲨烯为分析标准品级(Sigma Aldrich);其他常见有机溶剂、试剂均为分析纯,必要时干燥。

1.1.2 仪器与设备

GC-7820A 型气相色谱仪, FID 检测器(美国安捷伦科技有限公司);SPB-3 全自动空气源(北京中惠普分析技术研究所);氮气、氢气高压气体钢瓶(高纯气);DF-10S 型集热式恒温加热磁力搅拌器;GR-202 型微量天平(日本 AND 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 酸枣仁油的提取

取酸枣仁适量,用粉碎机粉碎并过 80 目筛,获得酸枣仁粉,粉碎过程中注意粉碎仓温度,若接近 40℃时,应停止粉碎等待其自然冷却后再开始粉碎。取酸枣仁粉 100 g,置于具贴壁滤纸筒和脱脂棉的索氏提取器中,并将索氏提取器安装于 250 mL 圆底烧瓶上。向圆底烧瓶中加入 200 mL 石油醚(60~90℃),油浴加热回流提取 2 h。将圆底烧瓶中石油醚旋转蒸发回收至干,所得褐色油脂即为酸枣仁油。

1.2.2 酸枣仁油脂质体的制备

由于酸枣仁油为亲脂性,故采用薄膜分散法及乙醇注入法制备脂质体并比较。

薄膜分散法:向 250 mL 圆底烧瓶中精密称取处方量的大豆卵磷脂 12 g、胆固醇 2 g 及酸枣仁油 2 g,加入氯仿-无水乙醇溶液超声溶解,以旋转蒸发器减压缓缓蒸除溶剂,使溶质在烧瓶壁上均匀覆盖为一层薄膜。于密闭条件下将 50 mL pH 6 的 PBS 缓冲液缓慢注入上述圆底烧瓶中,继续在旋转蒸发器上在一定水化温度下常压旋转一定时间,再在冰水浴中超声一定时间,以微孔滤膜(0.22 μm)过滤,即得酸枣仁油脂质体溶液。

乙醇注入法:称取大豆卵磷脂 12 g、胆固醇 2 g 及酸枣仁油 2 g 置于烧杯中,加入 5 mL 无水乙醇,超声至悬液均匀,得 A 相;取 45 mL pH 6 的 PBS 缓冲液置于 250 mL 烧杯中为 B 相,一定水化温度下恒速搅拌,将 A 相加入恒压滴液漏斗中,并以 1 滴/s 的速率慢慢滴入 B 相,将所得混悬液在冰水浴中超声一定时间,以微孔滤膜(0.22 μm)过滤,即得酸枣仁油脂质体溶液。

1.2.3 多组分温敏型鼻用凝胶制备

称取 22.8 mL 酸枣仁油脂质体溶液及 3 g 甘

油、3 mg 尼泊金乙酯以及一定剂量(M_1)的泊洛沙姆 407 和一定剂量(M_2)泊洛沙姆 188,磁力搅拌使其分散均匀,于 4℃冰箱放置 24 h,充分溶胀形成澄清透明溶液,即得多组分温敏型鼻用凝胶。该凝胶的载药量(LE)按下式估算:

$$LE = \frac{2}{50} \times \frac{22.8}{22.8 + 3 + M_1 + M_2} \times 100\%$$

1.2.4 GC 法分析酸枣仁油中的标志性成分

本研究选择酸枣仁油中含量相对较高,且不被脂质体基质卵磷脂、胆固醇等干扰的角鲨烯作为标志性成分进行分析。样品前处理方法采用皂化后正己烷提取法^[5],GC 分析条件^[5]:色谱柱为 Varian CP7502 毛细管柱(25.0 m×0.25 mm,0.25 μm);采用程序升温,从 160℃以 15℃/min 的速率升温到 220℃,保持 2 min,再以 10℃/min 的速率升温到 280℃,保持 10 min;FID 检测器温度 300℃,进样口温度 250℃;载气(氮气)流速 30 mL/min,燃气(氢气)流速 40 mL/min,空气流速 450 mL/min;进样量 1.0 μL,分流比 100:1。采用峰面积归一化外标法定量。经测定,本研究所使用酸枣仁油中角鲨烯的含量为 0.56%。

1.2.5 酸枣仁油脂质体包封率的测定

精密量取 1.0 mL 酸枣仁油脂质体于 10 mL 容量瓶,加入脂质体消解液进行破乳溶解,正己烷稀释至刻度线,吸取适量过微孔滤膜(0.22 μm),按 1.2.4 条件测定角鲨烯含量,并以角鲨烯的含量折算脂质体中酸枣仁油的总含量(C_1)。同时精密平行量取 1.0 mL 同批酸枣仁油脂质体溶液于离心管中离心 30 min(3 000 r/min),用针管吸取适量上清液过微孔滤膜(0.22 μm),同法测定酸枣仁油脂质体中游离酸枣仁油含量(C_f),依下式计算其包封率。

$$\text{包封率} = (1 - C_f/C_1) \times 100\%$$

1.2.6 胶凝温度的测定

胶凝温度的测定采用“搅拌子法”^[15]。在 50 mL 锥形瓶中加入一定量所配制的未凝结的凝胶溶液及搅拌子,置于冰水浴中,溶液中置入温度计,以封口膜封口。磁力搅拌(200 r/min),保持水浴以 1~2℃/min 的速度缓慢升温,计磁力搅拌子停止转动时的温度,平行测定 3 次,其平均温度即为胶凝温度。

2 结果与讨论

2.1 酸枣仁油脂质体的制备条件

以酸枣仁油包封率为指标,考察了薄膜分散法中的水化温度、水化时间、超声时间,以及乙醇注入法中的水化温度、超声时间、搅拌速度对脂质体包封率的影响,结果分别见表 1 和表 2。

表1 薄膜分散法制备条件对酸枣仁油包封率的影响

实验号	水化温度/ ℃	水化时间/ min	超声时间/ min	包封率/ %
1	25	20	5	51.2
2	35	20	10	60.8
3	45	20	20	60.7
4	35	30	5	63.2
5	45	30	10	69.4
6	25	30	20	57.3
7	45	40	5	66.1
8	25	40	10	45.6
9	35	40	20	51.9
k_1	51.4	60.9	60.2	
k_2	62.0	63.3	61.9	
k_3	65.4	54.5	56.6	
R	14.0	8.8	5.3	

表2 乙醇注入法制备条件对酸枣仁油包封率的影响

实验号	水化温度/ ℃	搅拌速度/ (r/min)	超声时间/ min	包封率/ %
1	25	30	3	54.2
2	35	30	7	49.4
3	45	30	15	55.3
4	35	75	3	51.1
5	45	75	7	70.7
6	25	75	15	73.8
7	45	120	3	60.2
8	25	120	7	69.5
9	35	120	15	57.6
k_1	65.8	53.0	55.2	
k_2	52.7	65.2	63.2	
k_3	62.1	62.4	62.2	
R	13.1	12.2	8.0	

由表1、表2可知,采用薄膜分散法时,较好工艺条件是 $A_3B_2C_2$,此时脂质体包封率达69.4%;采用乙醇注入法时,比较 $A_1B_1C_2$ 和 $A_1B_2C_3$ 条件下的包封率,较好工艺条件是 $A_1B_2C_3$,此时脂质体包封率达73.8%。因此,采用乙醇注入法制备酸枣仁油脂质体,最佳工艺条件为水化温度25℃、搅拌速度75 r/min、超声时间15 min。

2.2 酸枣仁油脂质体凝胶的制备处方

为了使酸枣仁油脂质体凝胶在鼻腔下部时处于液态得以流入鼻腔深处,并在鼻腔深处胶凝附着于嗅区粘膜持续给药,必须使凝胶具有恰当的胶凝温度。鼻腔下部温度为30~33℃,而鼻腔深处则更接近体温35~36℃^[16]。因此,应使凝胶的胶凝温度在35~36℃,从而使其在30~33℃的鼻下部为液体,流入鼻腔深处后受热胶凝。按照表3处方比例,采用1.2.3方法制备酸枣仁油脂质体凝胶,再用

1.2.6方法测定其胶凝温度,结果见表3。

表3 不同比例凝胶组成对胶凝温度的影响

P407/g	P188/g	胶凝温度/℃
4.8	0.6	40.2
4.8	1.8	41.4
5.1	0.6	33.5
5.1	1.8	37.7
5.4	0.6	31.3
5.4	1.8	35.2
5.7	0.6	24.8
5.7	1.8	28.0
6.0	0.6	25.9
6.0	1.8	30.3

由表3可见,泊洛沙姆P407的增加可以使胶凝温度下降,至5.7 g后基本保持不变;泊洛沙姆P188的增加可以使胶凝温度上升。结合胶凝温度要求,选取P407为5.4 g、P188为1.8 g为最佳处方。该条件下载药量为2.8%。

3 结论

本研究制备了酸枣仁油脂质体温敏凝胶,并通过优化制备工艺,使其脂质体包封率达73.8%,胶凝温度35~36℃,载药量为2.8%。制备工艺为:称取大豆卵磷脂12 g、胆固醇2 g及酸枣仁油2 g置于烧杯中,加入5 mL无水乙醇,超声至悬液均匀,得A相;取45 mL pH 6的PBS缓冲液置于250 mL烧杯中为B相,25℃下75 r/min恒速搅拌,将A相加入恒压滴液漏斗中,并以1滴/s的速率慢慢滴入B相,并将此混悬液在冰水浴中超声15 min,以微孔滤膜(0.22 μm)滤过,得酸枣仁油脂质体溶液;称取1.8 g泊洛沙姆188与5.4 g泊洛沙姆407,22.8 mL上述酸枣仁油脂质体溶液及3 g甘油、3 mg尼泊金乙酯,磁力搅拌使其分散均匀,于4℃冰箱放置24 h,充分溶胀形成澄清透明溶液,即得酸枣仁油鼻腔给药脂质体温敏凝胶。本研究将脂质体溶液制备为温敏凝胶,结合了两种剂型的优势,为获得一种更加缓释、稳定、有效的安眠抗抑郁药物提供了一定依据。

参考文献:

- [1] 李世全. 秦岭巴山天然药物志[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987: 493.
- [2] 张雪,李云芳,张晓根,等. 酸枣仁油提取工艺优化研究[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报,2012,32(4): 8-9.
- [3] 贡济宇,赵启铎,蔡广知,等. 超临界萃取酸枣仁油及其成分研究[J]. 长春中医学院学报,2005,21(1): 58-59.

(下转第87页)

速油脂次级氧化进程,次级过氧化产物积累随之增加;蒙古扁桃种仁油较强的抗氧化性是基于其较强的自由基清除能力上。

参考文献:

- [1] 孙丽琴, 孙立君, 郑刚. 不同的存放条件对油脂酸价和过氧化值的影响[J]. 粮油检测与加工, 2007(2): 45 - 46.
- [2] 丛玲美, 姚小华, 费学谦, 等. 长期贮藏对茶油酸值和过氧化值的影响[J]. 林业科学研究, 2007, 20(2): 246 - 250.
- [3] 裴振东, 许喜林. 油脂的酸败与预防[J]. 粮油加工与食品机械, 2004(6): 47 - 49.
- [4] 朱加虹. 浅谈油脂酸败及其过氧化值测定[J]. 食品工业, 2001(3): 44 - 45.
- [5] 斯琴巴特尔. 荒漠植物蒙古扁桃生理生态学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2014.
- [6] 张小秋. 蒙古扁桃种仁油脂特性及其品质的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2017.
- [7] SULTANA B, ANWAR F, PRZYBYLSKI R. Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of corn oil subjected to microwave heating[J]. Food Chem, 2007, 104: 997 - 1005.
- [8] MARKLUND S, MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase [J]. Eur J Biochem, 1974, 47(3): 469 - 474.
- [9] BENZIE I F F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay [J]. Anal Biochem, 1996, 239(1): 70 - 76.
- [10] BRAND - WILLIAMS W, CUVELIER M E, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity[J]. LWT - Food Sci Technol, 1995, 28(1): 25 - 30.
- [11] 栾霞, 祖丽亚, 樊铁. 食用油脂中 *p* - 茴香胺值的测定[J]. 中国油脂, 2006, 31(11): 38 - 40.
- [12] GUNSTONE F D, NORRIS F A. Lipids in foods: chemistry, biochemistry and technology[M]. Oxford: Pergamon Press, 1983: 58 - 69.
- [13] FRANKE E N. Lipid oxidation [M]. Dundee: The Oily Press, 1998.
- [14] SCHERER R, GODOY H T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl method [J]. Food Chem, 2009, 112(3): 654 - 658.
- [15] 胡喜兰, 韩照祥, 陶莹, 等. DPPH · 法测定 17 种植物的抗氧化活性[J]. 食品科技, 2006(10): 264 - 268.
- (上接第 65 页)
- [4] 王力川, 于玲, 董丽丽, 等. 酸枣仁油的提取工艺比较及酸枣仁作为油料作物的可行性研究[J]. 邢台学院学报, 2015, 30(4): 187 - 188.
- [5] 张东生, 薛雅琳, 金青哲, 等. 油茶籽油中角鲨烯含量的测定[J]. 中国油脂, 2013, 38(11): 85 - 88.
- [6] 李宝莉, 夏传涛, 袁秉祥, 等. 不同提取工艺的酸枣仁油对小鼠镇静催眠作用的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2008, 29(2): 693 - 695.
- [7] 李宝莉, 陈雅慧, 张正祥, 等. 复方酸枣仁油栀子油对小鼠学习记忆的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(6): 673 - 676.
- [8] 赵启铎, 舒乐新, 王颖, 等. 酸枣仁油对行为绝望小鼠模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 190 - 192.
- [9] DANIELYAN L, SCHFER R, AMELN A, et al. Nasal delivery of cells to the brain [J]. Eur J Cell Biol, 2009, 88(6): 315.
- [10] ILLUM L. Nasal drug delivery: new developments and strategies[J]. Drug Discov Today, 2002, 7(23): 1184 - 1189.
- [11] 邓树海, 巩洪刚, 常建辉. 智能化凝胶控释粘膜给药系统应用研究进展[J]. 中国医药技术经济与管理, 2008, 2(8): 52 - 59.
- [12] CAO S L, REN X W, ZHANG Q Z, et al. In situ gel based on gellan gum as new carrier for nasal administration of mometasone furoate [J]. Int J Pharm, 2009, 365(1/2): 109 - 115.
- [13] 赵宁, 王黎, 李伟泽, 等. 酸枣仁鼻用温敏凝胶的制备研究[J]. 应用化工, 2016, 45(7): 1290 - 1292.
- [14] 王黎, 赵宁, 李欣, 等. 酸枣仁多组分鼻用温敏凝胶的制备、评价及其联合释放研究[J]. 当代化工, 2017, 46(1): 4 - 7.
- [15] GILBERT J C, HADGRAFT J, BYE A, et al. Drug release from Pluronic F - 127 gels [J]. Int J Pharm, 1986, 32: 223 - 228.
- [16] 黄鹤年. 现代耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2003.