

硝苯地平纳米晶体的制备及其在大鼠体内的药动学评价



李秋艳, 谢 鹏

唐山职业技术学院附属医院药剂科(河北唐山 063000)

【摘要】目的 制备硝苯地平纳米晶体(NDP-NCs)并评价其在大鼠体内的药动学。方法 采用介质研磨法制备NDP-NCs,并通过单因素试验确定NDP-NCs的处方组成及制备工艺;采用扫描电镜观察NDP-NCs及其固体颗粒的微观结构,比较NDP-NCs在喷雾干燥前后的粒径分布及Zeta电位,考察NDP-NCs颗粒的稳定性;比较NDP原料药与NDP-NCs颗粒的溶出速率,评价NDP混悬液和NDP-NCs颗粒经大鼠口服给药后的体内药动学。结果 以羟丙基纤维素(HPC-SL)和十二烷基硫酸钠(SDS)作为稳定剂,药物与稳定剂用量之比为5:1,研磨介质尺寸为0.2 mm,研磨介质与药液体积之比为1:1,研磨速度为2 000 r/min,研磨时间为3 h;制备的NDP-NCs在扫描电镜下呈不规则颗粒状分布,NDP-NCs颗粒呈多孔球状;NDP-NCs在喷雾干燥前后的平均粒径、多分散系数基本无变化;NDP-NCs颗粒在加速试验的条件下放置6个月稳定性良好;NDP-NCs颗粒在不同pH介质溶液中的溶解度明显提高;NDP-NCs颗粒的溶出速度明显增加,在15 min内药物可溶出90%以上;将NDP制备成纳米晶体后其口服生物利用度显著提高。结论 本研究将硝苯地平制备成纳米晶体,处方设计合理,制备工艺可行,可显著提高硝苯地平的口服生物利用度。

【关键词】硝苯地平;纳米晶体;介质研磨法;喷雾干燥;药动学

Preparation of nifedipine nanocrystals and its *in vivo* pharmacokinetics evaluation in rats

LI Qiuyan, XIE Peng

Department of Pharmacy, Tangshan Vocational and Technical College Affiliated Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Corresponding author: XIE Peng, Email: xiepeng2002@163.com

【Abstract】Objective To prepare nifedipine nanocrystals (NDP-NCs) and evaluate their *in vivo* pharmacokinetics in rats. **Methods** The NDP-NCs was prepared by medium grinding method, and the formulation and preparation technology of NDP-NCs were determined by single factor experiment. The microstructure of NDP-NCs and its solid powder was observed under scanning electron microscope. The particle size distribution and Zeta potential of NDP-NCs before and after spray drying were compared. The stability of the spray drying granules of NDP-NCs was investigated. The dissolution rates of the NDP raw material and NDP-NCs granules were compared. The *in vivo* pharmacokinetics of NDP suspension and NDP-NCs granules were evaluated after oral

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202402109

通信作者: 谢鹏, 主任药师, Email: xiepeng2002@163.com

administration in rats. **Results** Using hydroxypropyl cellulose (HPC-SL) and sodium dodecyl sulfate (SDS) as stabilizers, the ratio of drug to stabilizer was 5 : 1, the size of grinding medium was 0.2 mm, the ratio of grinding medium to liquid volume was 1 : 1, the grinding speed was 2 000 r/min, and the grinding time was 3 h. The NDP-NCs showed an irregular granular distribution, and the NDP-NCs granules were porous and spherical. The average particle size and polydispersity index had no change before and after spray drying. The NDP-NCs granules had good stability after 6 months under the condition of accelerated testing. The solubility of NDP-NCs in different pH media was obviously improved. The dissolution rate of NDP-NCs granules increased significantly, and the drug could dissolve more than 90% within 15 min. The oral bioavailability of NDP was significantly improved after it was prepared into nanocrystals. **Conclusion** In this study, the nifedipine is prepared into nanocrystals with reasonable formulation design and feasible preparation technology, which can significantly improve the oral bioavailability of nifedipine.

【Keywords】 Nifedipine; Nanocrystals; Medium grinding method; Spray drying; Pharmacokinetics

硝苯地平 (nifedipine, NDP) 为 1,4 二氢吡啶类高电位钙通道阻滞剂, 广泛用于预防和治疗冠心病心绞痛、高血压等心血管疾病^[1]。NDP 属于生物药剂学分类系统中的 II 类低溶解性 - 高渗透性药物, 在 pH 1.0~10.0 范围内溶解度为 6~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[2], 其较差的溶解性不利于口服吸收^[3], 为了克服 NDP 溶出速度受限的问题, 已有研究人员采用纳米技术来提高其口服生物利用度^[4-5]。

纳米晶体 (nanocrystals, NCs) 是以表面活性剂和 (或) 高分子聚合物作为稳定剂, 通过特殊工艺将难溶性药物制备成纳米级胶体分散系统, 在提高药物溶出速度以及口服生物利用度方面具有显著优势^[6-7]。作为一种新型且成熟的剂型, 纳米晶体已在多个上市产品中得到应用^[8]。因此, 本研究将 NDP 制备成纳米晶体, 并进一步固化成颗粒以提高纳米晶体的稳定性, 通过动物实验评价其口服生物利用度, 为 NDP 的二次开发应用奠定理论基础。

1 材料

1.1 主要仪器

ZLM-0.5 型实验室卧式砂磨机 (众时机械有限公司); RMRH 型实验用数显高速分散均质机 (上海鲁米机电科技有限公司); Zetasize Nano ZS90 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 (英国 Malvern 公司); FEI Apreo 型扫描电子显微镜 (赛默飞世尔科技公司); RC-8HD 型溶出试验仪 (天津市精拓仪器科技有限公司); B-290 型喷

雾干燥机 (瑞士步琦有限公司); TYOTK0.5 型冷冻干燥机 (楚天科技股份有限公司); LC-20A 型高效液相色谱系统, 包括 SPD-20A 检测器、SPD-M20A 二极管阵列检测器、SIL-20A 自动进样器、CTO-20A 柱温箱、LC-20AT 溶液传输单元 (日本岛津公司); MS204S 型电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 主要药品与试剂

NDP (云鹏医药集团有限公司, 批号: S20230411, 纯度 99.7%); 羟丙甲纤维素 (HPMC-E5, 陶氏化学公司, 批号: 22P34562); 羟丙基纤维素 (HPC-SL, 日本曹达株式会社, 批号: H221152); 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP-K30, 批号: 0231005) 和泊洛沙姆 188 (P188, 批号: 0612013) 购自巴斯夫有限公司; 维生素 E 琥珀酸聚乙二醇酯 (TPGS, 上海昌为医药辅料技术有限公司, 批号: T118459); 聚山梨酯 80 (TW80, 辽宁奥克药业股份有限公司, 批号: 20221207-1); 十二烷基硫酸钠 (SDS, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 230411); 地西洋 (中国食品药品检定研究院, 批号: 171225-201805, 纯度 99.9%); 其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

1.3 动物

12 只 SPF 级 SD 大鼠, 体重 (200 \pm 20) g, 雌雄各半, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2020-0004。本实验严格按照动物实验伦理要求

进行操作,且通过唐山职业技术学院伦理委员会审批通过(批件号:2301326)。

2 方法与结果

2.1 NDP-NCs的制备

本研究采用介质研磨法^[9]制备 NDP-NCs。将处方量的稳定剂分散并溶解到 100 mL 纯化水中,再加入处方量 NDP 药物粉末,搅拌分散,将该药物混悬液通过高速分散均质机预处理(剪切速度为 10 000 r/min,剪切时间为 10 min),初步降低药物颗粒粒径;然后将该混悬液加入到实验室卧式砂磨机中,放入研磨介质球珠(材质为氧化锆),设置研磨速度进行研磨,在不同时间点取样测定粒径分布。研磨结束后,使用 75 μm 烧结板过滤器过滤分离出研磨介质,收集 NDP-NCs,备用。

2.2 粒径、多分散系数及Zeta电位的测定

取 NDP-NCs 0.5 mL 加入到一次性聚苯乙烯比色皿中,再加入纯化水稀释至 1.5 mL,放入测

定池中,通过动态光散射原理测定 NDP-NCs 的粒径分布和多分散系数(polydispersity index, PDI)(选择 He-Ne 激光源,设定检测波长为 633 nm,入射角为 90°,介质折光率为 1.330,测定温度为 25 °C);另取 NDP-NCs 0.2 mL 加入 Zeta 电位样品池中,通过电泳光散射原理测定 NDP-NCs 的 Zeta 电位(设定介电常数为 80,折射率为 1.330)。每份样品均重复测定 3 次,取平均值。

2.3 处方筛选

2.3.1 稳定剂种类

分别以高分子聚合物(HPMC-E5、HPC-SL、PVP-K30)或表面活性剂(TPGS、P188、TW80、SDS)单独作为稳定剂,使药物与稳定剂的质量比均为 4:1,按照“2.1”项下方法,采用相同工艺参数制备 NDP-NCs,并将样品放置一定时间考察其稳定性,并考察不同种类稳定剂对 NDP-NCs 粒径、PDI 和 Zeta 电位的影响,结果见表 1。

表1 稳定剂种类的筛选结果($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1. The screening results of stabilizer types ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

稳定剂种类	放置0 h			放置48 h		
	粒径分 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)	粒径分布 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)
0.5% HPMC-E5	421.6 ± 13.6	0.216 ± 0.005	-3.5 ± 0.3	441.6 ± 14.7	0.209 ± 0.004	-3.6 ± 0.2
0.5% HPC-SL	396.2 ± 16.5	0.225 ± 0.007	-4.2 ± 0.2	406.4 ± 13.7	0.231 ± 0.005	-4.4 ± 0.3
0.5% PVP-K30	418.5 ± 14.8	0.251 ± 0.008	-3.7 ± 0.3	1 035.8 ± 45.3	0.689 ± 0.045	-1.5 ± 0.1
0.25% TPGS	326.5 ± 10.6	0.197 ± 0.003	-12.7 ± 0.5	332.7 ± 9.6	0.206 ± 0.004	-11.7 ± 0.3
0.25% P188	984.7 ± 32.6	0.537 ± 0.021	-10.5 ± 0.6	1 436.8 ± 57.8	0.637 ± 0.031	-8.5 ± 0.6
0.25% TW80	832.5 ± 23.5	0.427 ± 0.012	-8.3 ± 0.4	1 347.5 ± 43.8	0.537 ± 0.037	-7.3 ± 0.2
0.25% SDS	342.6 ± 12.6	0.226 ± 0.005	-39.6 ± 0.6	353.9 ± 14.7	0.217 ± 0.004	-39.5 ± 0.5

纳米晶体中的稳定剂通常以以下两种机理实现稳定性^[10]:一是通过在纳米晶体表面吸附高分子聚合物而形成空间位阻,这种稳定剂通常包括 HPMC、HPC、PVP 等;二是通过降低界面表面张力,或在纳米晶体表面形成静电斥力,这种稳定剂通常包括 TPGS、P188、TW80、SDS 等。本研究结果显示,以高分子聚合物 PVP-K30 作为稳定剂制备的 NDP-NCs,其粒径、PDI 以及 Zeta 电位绝对值均较小,但放置 48 h 后粒径及 PDI 均出现增长趋势,Zeta 电位绝对值出现降低趋势;以表面活性剂 P188 和 TW80 作为稳定剂制备的 NDP-NCs,其粒径、PDI 均较大,且放置 48 h 粒

径也不断在增大,Zeta 电位绝对值略有降低;而以 HPC-SL、HPMC-E5、TPGS 和 SDS 作为稳定剂制备的 NDP-NCs,在初始及放置过程中粒径、PDI 以及 Zeta 电位绝对值均保持相对稳定,适合于 NDP-NCs 的制备。

2.3.2 联合稳定剂使用

有文献报道,以高分子聚合物和表面活性剂联合使用作为稳定剂对纳米晶体所起到的稳定效果要远高于稳定剂单独使用^[11]。为此,本研究选择高分子聚合物(HPC-SL 和 HPMC-E5)和表面活性剂(TPGS 和 SDS)联合使用作为稳定剂,药物与稳定剂的质量比均为 4:1,按照“2.1”项下

方法, 采用相同的工艺参数制备 NDP-NCs, 并将样品放置一定时间考察其稳定性, 并考察不同种

类稳定剂对 NDP-NCs 粒径、PDI 和 Zeta 电位的影响, 结果见表 2。

表2 稳定剂联合使用的筛选结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2. The screening results of stabilizer combination ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

稳定剂浓度	放置0 h			放置48 h		
	粒径分 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)	粒径分 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)
0.5% HPC-SL/0.25% TPGS	334.9 ± 11.7	0.198 ± 0.002	-7.5 ± 0.2	338.1 ± 12.7	0.201 ± 0.003	-7.6 ± 0.3
0.5% HPC-SL/0.25% SDS	254.7 ± 8.4	0.185 ± 0.002	-33.8 ± 0.5	256.1 ± 7.7	0.186 ± 0.003	-33.4 ± 0.4
0.5% HPMC-E5/0.25% TPGS	384.8 ± 13.5	0.219 ± 0.005	-11.5 ± 0.4	383.6 ± 10.5	0.213 ± 0.003	-11.2 ± 0.5
0.5% HPMC-E5/0.25% SDS	389.5 ± 9.7	0.199 ± 0.003	-30.4 ± 0.2	392.4 ± 10.5	0.213 ± 0.005	-30.8 ± 0.3

结果显示, 以 HPC-SL 和 SDS 联合使用作为稳定剂时制备的 NDP-NCs 粒径最小, 在 200~300 nm 左右, 粒径明显小于其他稳定剂组合以及单一稳定剂制备的 NDP-NCs, 且放置过程中粒径、PDI 以及 Zeta 电位基本稳定, 说明以 HPC-SL 和 SDS 联合使用作为稳定剂制备的 NDP-NCs 具有更好的稳定性。

2.3.3 药物与稳定剂质量比

以 0.5% HPC-SL 和 0.25% SDS 作为稳定剂, 药物与稳定剂质量比为 2 : 1、5 : 1、10 : 1 制备 NDP-NCs, 按照“2.1”项下方法, 采用相同的工艺参数制备 NDP-NCs, 并将样品放置一定时间考察其稳定性, 并考察不同种类稳定剂对 NDP-NCs 粒径、PDI 和 Zeta 电位的影响, 结果见表 3。

结果显示, 药物与稳定剂的不同质量比均会对 NDP-NCs 的粒径产生明显的影响, 当药物与

稳定剂的比例为 5 : 1 时, NDP-NCs 的粒径可以稳定在 200~300 nm 左右, 并保持至少 48 h 稳定; 当稳定剂的加入量增加时, NDP-NCs 的粒径反而增大 (但 Zeta 电位基本不变), 推测是过量的稳定剂疏水核心附着在药物颗粒表面, 使其亲水部分分散在溶液中, 过度的吸附反而纳米晶体产生团聚或沉降^[12]。因此, 本研究确定药物与稳定剂质量比为 5 : 1。

2.4 制备工艺考察

2.4.1 研磨介质直径

以 0.5% HPC-SL 和 0.25% SDS 作为稳定剂, 使药物与稳定剂的质量比均为 5 : 1, 选择氧化锆珠粒直径分别为 0.2, 0.5, 1.0 mm, 按照“2.1”项下方法, 采用相同的工艺参数制备 NDP-NCs, 考察不同氧化锆珠粒直径对 NDP-NCs 粒径和 PDI 的影响, 结果见表 4。

表3 药物与稳定剂质量比的筛选结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3. The screening results of drug-to-stabilizer mass ratio ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

药物与稳定剂 质量比	放置0 h			放置48 h		
	粒径分 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)	粒径分 (nm)	PDI	Zeta电 (mV)
2 : 1	357.3 ± 11.5	0.218 ± 0.005	-31.4 ± 0.3	361.8 ± 12.7	0.221 ± 0.004	-30.3 ± 0.1
5 : 1	254.7 ± 8.4	0.185 ± 0.002	-33.8 ± 0.5	256.1 ± 7.7	0.186 ± 0.003	-33.4 ± 0.4
10 : 1	263.6 ± 7.2	0.179 ± 0.001	-33.5 ± 0.2	261.8 ± 8.1	0.181 ± 0.002	-33.7 ± 0.3

表4 研磨介质直径的考察结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 4. The results of grinding media diameter ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

氧化锆珠粒 直径 (mm)	放置0 h		放置48 h	
	粒径分布 (nm)	PDI	粒径分布 (nm)	PDI
0.2	225.1 ± 7.9	0.174 ± 0.001	224.4 ± 8.2	0.181 ± 0.001
0.5	254.7 ± 8.4	0.185 ± 0.002	256.1 ± 7.7	0.186 ± 0.003
1.0	293.1 ± 9.3	0.187 ± 0.003	295.7 ± 8.3	0.191 ± 0.002

结果显示, 研磨介质选用 0.2 mm 氧化锆珠粒制备的 NDP-NCs 粒径最小, 推测是由于直径越小氧化锆珠粒在研磨时越有利于与药物颗粒充分接触, 提高研磨效率^[13]。因此, 本研究选用 0.2 mm 氧化锆珠粒制备 NDP-NCs。

2.4.2 研磨介质体积

以 0.5% HPC-SL 和 0.25% SDS 作为稳定剂,

使药物与稳定剂的质量比均为 5 : 1, 氧化锆珠粒直径为 0.2 mm, 药液体积与氧化锆珠粒体积比分别为 2 : 1、1.5 : 1、1 : 1、1 : 1.5 和 1 : 2 (总体积占研磨室体积的 1/2), 按照“2.1”项下方法, 采用相同的工艺参数制备 NDP-NCs, 考察不同药液体积与氧化锆珠粒体积比对 NDP-NCs 粒径和 PDI 的影响, 结果见表 5。

表5 研磨介质体积的考察结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 5. The results of grinding media volume ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

药液与研磨 介质体积比	放置0 h		放置48 h	
	粒径分布 (nm)	PDI	粒径分布 (nm)	PDI
2 : 1	341.7 ± 15.6	0.209 ± 0.002	344.1 ± 14.9	0.215 ± 0.004
1.5 : 1	279.3 ± 10.6	0.211 ± 0.001	281.7 ± 12.5	0.208 ± 0.002
1 : 1	225.1 ± 7.9	0.174 ± 0.003	224.4 ± 8.2	0.181 ± 0.001
1 : 1.5	221.5 ± 8.1	0.178 ± 0.002	219.3 ± 8.8	0.178 ± 0.003
1 : 2	216.7 ± 8.7	0.176 ± 0.003	214.7 ± 6.6	0.187 ± 0.004

结果显示, 增大氧化锆珠粒体积有助于减小 NDP-NCs 的粒径, 这是由于增加氧化锆珠粒数量可以使药物更充分与其接触, 提高研磨效率^[13], 但是这样也增加了氧化锆珠粒之间的无效碰撞, 易脱落碎屑, 污染药物。因此, 本研究固定药液体积与研磨介质体积比为 1 : 1。

2.4.3 研磨速度与研磨时间

以 0.5% HPC-SL 和 0.25% SDS 作为稳定剂, 使药物与稳定剂的质量比均为 5 : 1, 氧化锆珠粒直径为 0.2 mm, 药液体积与氧化锆珠粒体积比为 1 : 1 (总体积占研磨室体积的 1/2), 按照“2.1”项下方法, 采用相同的工艺参数制备 NDP-NCs, 考察研磨速度与研磨时间对 NDP-NCs 的粒径影响, 结果见图 1。

结果显示, 研磨速度和研磨时间均对 NDP-NCs 的粒径有显著影响, 随着研磨转速的增加, 相同时间内制备的 NDP-NCs 粒径明显降低; 同样, 在相同的研磨速度下, 随着研磨时间的延长, 制备的 NDP-NCs 粒径也明显降低。然而过高转速或研磨时间过长会引起研磨室温度升高, 进而影响纳米晶体的稳定性^[14]。考虑到球磨机的生产能力, 在制备过程中将转速设定为 2 000 r/min, 研磨时间为 3 h。

2.5 NDP-NCs 固化研究

为了提高 NDP-NCs 的物理稳定性, 将 NDP-NCs 固化成固体状, 通常采用冷冻干燥技术

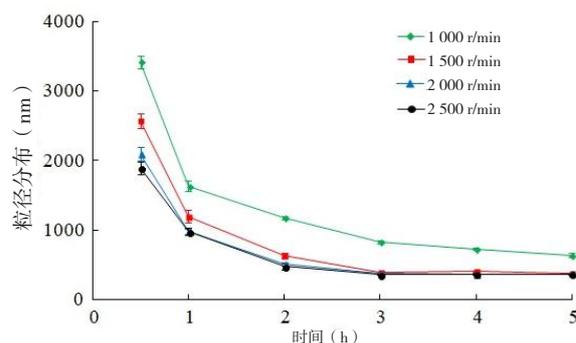


图1 碾磨速度与碾磨时间对 NDP-NCs 粒径分布的影响 ($n=3$)

Figure 1. The effect of grinding speed and grinding time on the particle size distribution of NDP-NCs ($n=3$)

或喷雾干燥技术进行固化, 因此本试验分别采用这两种固化技术进行筛选性研究^[15]。①冷冻干燥: 以甘露醇作为载体, 将甘露醇加入 NDP-NCs 溶液中, 使甘露醇浓度为 5% (w/v), 采用冷冻干燥机对纳米悬浮液进行冷冻干燥。②喷雾干燥: 以甘露醇作为载体, 将甘露醇加入 NDP-NCs 溶液中, 使甘露醇浓度为 5% (w/v), 采用微型喷雾干燥机对纳米悬浮液进行喷雾干燥。将两种固化后的 NDP-NCs 复溶后测定其粒径、PDI 及 Zeta 电位, 考察不通固化工艺对 NDP-NCs 性质的影响, 结果见表 6。

表6 固化工艺筛选结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 6. The screening results of curing process ($\bar{x} \pm s, n=3$)

固化工艺	固化前			固化复溶后		
	粒径分布 (nm)	PDI	Zeta电位 (mV)	粒径分布 (nm)	PDI	Zeta电位 (mV)
冷冻干燥	232.5 ± 6.8	0.176 ± 0.001	-32.5 ± 0.2	427.2 ± 11.7	0.226 ± 0.004	-30.9 ± 0.4
喷雾干燥	232.5 ± 6.8	0.176 ± 0.001	-32.5 ± 0.2	246.2 ± 7.9	0.177 ± 0.002	-33.1 ± 0.2

本研究结果显示, 采用喷雾干燥将 NDP-NCs 固化, 复溶后对其粒径、PDI 以及 Zeta 电位影响较小。因此本研究采用喷雾干燥固化 NDP-NCs。

2.6 质量评价

2.6.1 粒径、PDI及Zeta电位测定

按照“2.2”项下方法测定 NDP-NCs 的粒径分布 (图 2) 及 Zeta 电位 (图 3), 每份样品均重复测定 3 次, 取平均值。结果显示, NDP-NCs 的平均粒径为 (232.5 ± 6.8) nm, PDI 为 0.176 ± 0.001,

Zeta 电位为 (-32.5 ± 0.2) mV。

2.6.2 扫描电镜观察

利用扫描电镜对 NDP-NCs 及喷雾干燥后的颗粒形态进行评价。取喷雾干燥前 NDP-NCs 加入蒸馏水稀释, 并手动搅拌以获得均匀的分散体, 将样品均匀滴于干净硅片上, 自然晾干; 另取喷雾干燥后的 NDP-NCs 颗粒, 将两份样品粘附到双面碳胶粘带表面, 并在真空条件下用喷金处理, 放入到扫描电镜下观察显微照片, 并拍照 (图 4)。

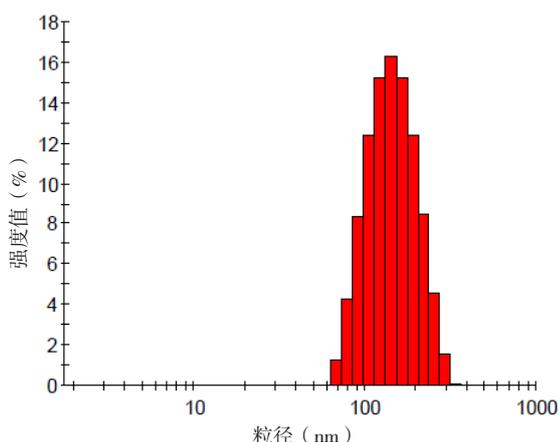


图2 NDP-NCs的粒径分布图

Figure 2. The particle size distribution of NDP-NCs

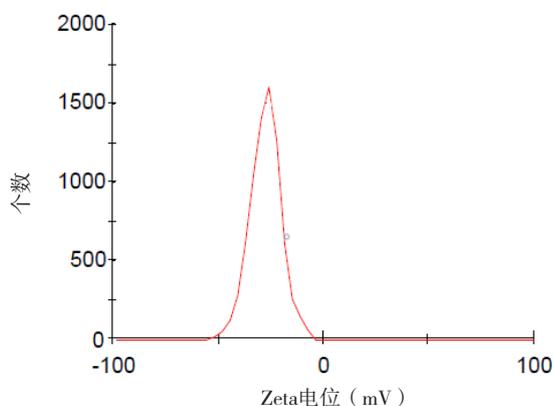


图3 NDP-NCs的Zeta电位图

Figure 3. The Zeta potential of NDP-NCs

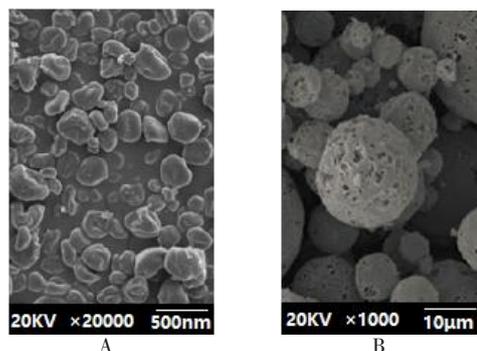


图4 扫描电镜照片

Figure 4. The photo of scanning electron microscope

注: A. 喷雾干燥前的 NDP-NCs ($\times 20\ 000$); B. 喷雾干燥后的 NDP-NCs 颗粒 ($\times 1\ 000$)。

电镜照片显示, 喷雾干燥前 NDP-NCs 呈不规则状, 其大小略有差异, 大部分粒子小于 500 nm [该样品通过纳米粒度仪测定的平均粒径为 (232.5 ± 6.8) nm]; 喷雾干燥后 NDP-NCs 颗粒呈球状, 表面孔隙较多, 有利于颗粒分散在介质中时, 水分通过孔隙迅速渗透到颗粒中, 达到良好的再分散性。

2.6.3 溶解度测定

取过量的 NDP 原料药、NDP 原料药与辅料的物理混合物和 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒, 分别加入 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液以及水中, 转移至 10 mL 小瓶内, 在 (37 ± 0.5) °C 下振荡 48 h, 1 073 × g 离心 10 min, 去上清液, 使用 0.1 µm 滤膜过滤,

续滤液经适当稀释后采用 HPLC 法测定药物浓度，并计算溶解度。色谱条件如下：色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)，流动

相为甲醇-水 (66:34)；检测波长为 235 nm；柱温为 25 °C；流速为 1.0 mL/min；进样体积为 20 μL。溶解度测定结果见表 7。

表7 溶解度测定结果 ($\bar{x} \pm s$, μg/mL, n=3)

Table 7. The results of solubility determination ($\bar{x} \pm s$, μg/mL, n=3)

类别	pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	水
NDP原料药	8.6 ± 0.1	8.6 ± 0.2	10.3 ± 0.4	6.7 ± 0.2
NDP辅料物理混合物	16.3 ± 0.6	18.3 ± 0.3	19.1 ± 0.5	14.1 ± 0.6
NDP-NCs喷雾干燥颗粒	93.7 ± 1.6	88.7 ± 0.8	95.2 ± 1.1	91.5 ± 0.7

结果显示，与 NDP 原料药相比，NDP 原辅料物理混合物在上述 4 种介质中的溶解度略有增加，这是由于辅料中的 HPC-SL 和 SDS 对 NDP 原料药起到一定增溶作用；而 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒在上述 4 种介质中的溶解度分别提高了 10.9, 10.3, 9.2, 13.7 倍，其原因可能为：根据 Ostwald-Freundlich 方程，粒径减小，溶解度增加；在制备纳米悬浮液的过程中使用的稳定剂 HPC-SL 和 SDS 可以增加溶解度^[16]。

2.6.4 体外溶出速度比较

通过体外溶出试验比较 NDP 原料药、NDP 辅料物理混合物、NDP-NCs 喷雾干燥颗粒的体外药物溶出情况。采用转篮法，溶出介质为 900 mL pH 1.2 盐酸溶液，水浴温度为 (37.0 ± 1.0) °C，转速为 100 r/min。取 NDP 原料药 10 mg、NDP 辅料物理混合物和 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒 (均含 NDP 10.0 mg) 装入 2 号明胶胶囊中，进行溶出度试验，在预定时间间隔为 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min 时抽取 5.0 mL 溶出介质 (并补加同温同体积空白介质溶液)，经 0.1 μm 滤膜过滤，进样检测药物浓度，计算药物累积溶出百分比并绘制溶出曲线，结果见图 5。

结果显示，NDP 原料药释药速度相对较慢，60 min 时药物累计溶出度不到 20%，而制备成 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒后显著提高了药物的溶出

速率，在 15 min 时累积溶出率达到 (95.4 ± 2.9)%。NDP 辅料物理混合物的溶出速率比原料组稍快，这与处方中加入的辅料 HPC-SL 和 SDS 具有一定的增溶作用有关，但改善溶出速率的程度远不如 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒明显，说明在纳米晶体中，药物溶出速率的增加不仅是由辅料的增溶作用引起，还与药物纳米化后其相对表面积增加有关^[17]。

2.6.5 稳定性考察

将 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒封装在铝箔袋内并置于 40 °C、相对湿度 75% 条件下考察稳定性，分别于 1, 2, 3, 6 个月取样测定 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒的粒径分布、PDI、Zeta 电位及 15 min 的药物溶出度，结果见表 8。

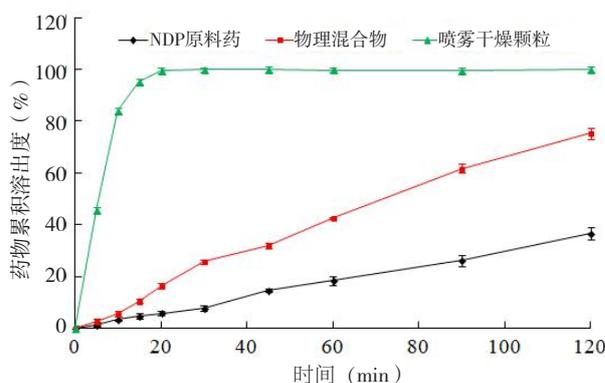


图5 体外药物溶出曲线 (n=3)

Figure 5. *In vitro* drug dissolution curve (n=3)

表8 稳定性试验结果 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

Table 8. The results of stability tests ($\bar{x} \pm s$, n=3)

时间 (个月)	粒径分布 (nm)	PDI	Zeta电位 (mV)	15 min溶出度 (%)
0	229.5 ± 8.4	0.165 ± 0.003	-34.2 ± 0.6	96.8 ± 2.6
1	233.7 ± 10.2	0.169 ± 0.007	-33.6 ± 0.4	95.4 ± 1.8
2	234.8 ± 9.6	0.167 ± 0.003	-34.5 ± 1.1	94.9 ± 2.1
3	238.6 ± 7.9	0.172 ± 0.007	-32.8 ± 0.7	95.1 ± 1.3
6	231.8 ± 8.5	0.166 ± 0.005	-33.1 ± 0.6	97.2 ± 2.5

结果显示, NDP-NCs 喷雾干燥颗粒在 40 ℃、相对湿度 75% 条件下放置 6 个月, 其粒径分布、PDI、Zeta 电位未发生明显变化, 15 min 溶出度均在 90% 以上, 说明 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒稳定性良好。

2.7 药动学研究

将 12 只 SD 大鼠随机分为两组。实验前禁食 12 h, 将 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒和 NDP 混悬液(分散在 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液中), 按 10 mg/kg 灌胃给药^[18], 给药后 4 h 自由饮水。分别于给药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 h 从眼眶静脉丛取血 0.4~0.6 mL, 置于肝素化离心管中, 1 677 × g 离心 10 min; 取出上层血浆, 于 -20 ℃ 冰箱中冷冻, 待测。移取血浆 100 μL 置 1.5 mL 尖底 EP 管中, 加入地西洋(浓度为 2 000 ng/mL)溶液 10 μL 作为内标, 涡旋振荡 1 min, 再加入 10 μL 氢氧化钠溶液(1 mol/L)涡旋振荡 1 min, 最后加入 800 μL 乙醚-氯仿(5:1, v/v)涡旋混合 3 min, 1 677 × g 离心 10 min, 收集有机层 500 μL 至另一尖底 EP 管中, 在 40 ℃ 下氮气流挥干有机相, 底部干燥残渣加入 50 μL 流动相, 旋涡混合 3 min 重新溶解, 6 708 × g 离心 10 min, 吸取上清 20 μL, 采用 HPLC 法检测药物含量。HPLC 色谱条件同“2.6.3”项, NDP 在 50.0~5 000.0 ng/mL 浓度范围内线性关系良好($r=0.999 2$), NDP 血浆样品的精密度和准确度 RSD 均小于 15% ($n=6$), 加样回收率均在 85~115% 之间, RSD 均小于 15% ($n=6$); 当信噪比为 3 时, 血浆样品中 NDP 浓度检测限为 10.0 ng/mL, 当信噪比为 10 时, 血浆样品中 NDP 浓度定量限为 25.0 ng/mL。药动学参数采用 WinNonlin 软件进行计算, 结果见表 9, 血药

表9 药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 9. The pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

参数	NDP混悬剂	NDP-NCs 喷雾干燥颗粒
达峰时间 (h)	1.73 ± 0.58	1.05 ± 0.37 ^a
达峰浓度 (ng/mL)	442.8 ± 94.5	799.1 ± 67.9 ^a
半衰期 (h)	5.8 ± 1.7	6.2 ± 0.9
药物曲线下面积 (ng · h/mL)	2 367.3 ± 379.4	3 684.8 ± 537.9 ^a

注: 与 NDP 混悬剂组比较, ^a $P < 0.05$ 。

浓度-时间曲线见图 6。数据采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

药动学结果显示, 与口服 NDP 悬浮剂组大鼠相比, 大鼠口服 NDP-NCs 喷雾干燥颗粒后, 其药物达峰时间缩短, 达峰浓度增加, 相对口服生物利用度提高到 1.56 倍。

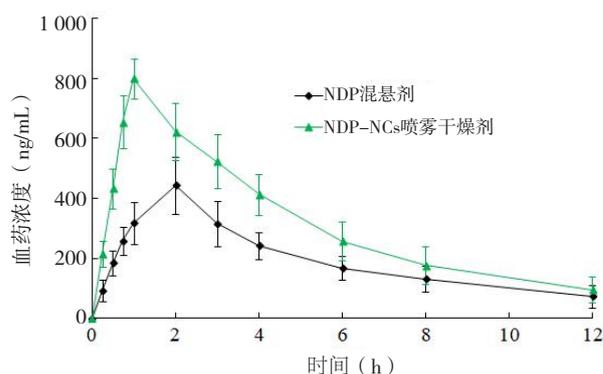


图6 血药浓度-时间曲线图 ($n=6$)

Figure 6. The blood drug concentration time curve ($n=6$)

3 讨论

为了提高 NDP 的溶解度以及口服生物利用度, 国内外制剂研究人员已将其制备成新型药物给药系统, 如: 刘子荣等^[19]采用单甲氧基聚乙二醇接枝玉米朊作为载体材料, 将 NDP 制备成胶束, 显著提高了药物的溶解度和生物利用度, 但单甲氧基聚乙二醇接枝玉米朊作为一种新型辅料, 其生物安全性尚需充分研究, 目前无法应用于临床。Yang 等^[4]采用甲氧基聚乙二醇-b-聚己内酯二嵌段共聚物作为载体材料, 采用溶剂蒸发法将 NDP 制备成共聚物胶束, 其口服生物利用度与市售片剂比较得到了显著提高, 然而胶束的物理稳定性较差, 且制备工艺复杂, 不利于商业化生产。Weerapol 等^[20]将 NDP 制备成固体自乳化释药系统后, 极大地提高了药物达峰浓度和口服生物利用度, 然而药物达峰浓度过高易发生毒副作用, 其安全性需充分评估。Haware 等^[21]采用聚乙二醇 1450 和羟丙甲纤维素醋酸琥珀酸酯作为载体材料, 将 NDP 制备成固体分散体后, 药物的溶解度显著提高, 但固体分散体存在老化现象, 药物晶型易发生转变。基于目前现有的研究结果, 本研究将 NDP 制备成纳米晶体, 并进一步固化成颗粒剂, 以期达到提高 NDP 溶解度和口服生物利用

度的目的。

根据制备原理,可将纳米晶体制备技术分为自上而下(如介质研磨法、高压均质法、微射流法等)和自下而上(如溶剂扩散法等)两种^[22]。自下而上技术由于使用到有机试剂,因此在商业化生产中极少使用,而自下而上技术中的介质研磨法在已上市的产品普遍使用,故本研究以介质研磨法制备 NDP 纳米晶体。

在纳米晶体的制备与储存过程中,一方面由于药物颗粒尺寸较小,会出现相互聚集现象,另一方面由于存在奥斯特瓦尔德熟化效应,纳米晶体在储存期间会逐渐增大,因此,稳定性对保持纳米晶体的物理稳定性至关重要。本研究通过处方筛选,最终选择 HPC-SL 和 SDS 联合使用作为稳定剂制备 NDP-NCs,其稳定性机理如下: HPC-SL 中含有羟基、非极性链等基团,可以通过氢键、疏水作用力等方式吸附在药物粒子表面,形成空间屏障,阻碍药物粒子间聚集; SDS 属于离子型表面活性剂,其疏水端通过疏水作用力牢固地吸附于粒子的疏水表面,亲水端(离子)分散于液体介质中,形成介电层,通过静电排斥来达到药物粒子间的稳定性。

虽然纳米晶体中加入了稳定剂,但仍不能完全确保纳米晶体的物理稳定性,为了获得长期稳定性,避免聚集、水解等稳定性问题,需要对纳米晶体进行固化^[23]。通常纳米晶体固化采用冷冻干燥或喷雾干燥法,由此获得的这些固化的纳米晶体可以进一步制备成颗粒剂、片剂或胶囊。冷冻干燥法涉及到冻干机等特殊设备,且冻干后物料需要二次加工,生产周期较长,在商业化生产中实用性较差;喷雾干燥生产周期较短,且干燥后的颗粒呈球形,流动性能良好,可以直接进行下一步的加工生产。本研究根据 NDP-NCs 固化后的稳定性确定采用喷雾干燥法将 NDP-NCs 固体化。

本研究通过单因素试验对 NDP-NCs 的处方及制备工艺进行了优化,研究结果显示稳定剂种类、用量、制备工艺参数等均会对纳米晶体的粒径分布产生影响。将 NDP-NCs 经进一步经喷雾干燥制备成颗粒,体外溶出速度明显高于原料药,而体内口服生物利用度提高到 1.56 倍,说明 NDP-NCs 可有效提高 NDP 的口服吸收,本研究为 NDP 的临床应用提供了新的策略。

本文仅通过大鼠体内药动学研究初步证实将 NDP 制备成纳米晶体能够显著提高药物生物利用度,而缺乏对灵长类以及人体安全性和有效性的评价。因此,本研究制备的 NDPCs 能够真正应用到临床还需进行更系统、全面的研究。

参考文献

- 1 赫志静,秦怀国,常罡,等. 硝苯地平临床应用与剂型研究进展[J]. 药学研究, 2022, 41(8): 545-550. [He ZJ, Qin HG, Chang G, et al. Progress in clinical application and dosage form of nifedipine[J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2022, 41(8): 545-550.] DOI: [10.13506/j.cnki.jpr.2022.08.012](https://doi.org/10.13506/j.cnki.jpr.2022.08.012).
- 2 Bi Y, Lyu B, Li L, et al. A liposomal formulation for improving solubility and oral bioavailability of nifedipine[J]. *Molecules*, 2020, 25(2): 338. DOI: [10.3390/molecules25020338](https://doi.org/10.3390/molecules25020338).
- 3 Weerapol Y, Limmatvapirat S, Kumpugdee-Vollrath M, et al. Spontaneous emulsification of nifedipine-loaded self-nanoemulsifying drug delivery system[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2015, 16(2): 435-443. DOI: [10.1208/s12249-014-0238-0](https://doi.org/10.1208/s12249-014-0238-0).
- 4 Yang YH, Ding PT. Study on the preparation of nifedipine-loaded oral copolymer micelles and its pharmacokinetics in rats[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(1): 155-160. DOI: [10.1007/s12013-014-0178-z](https://doi.org/10.1007/s12013-014-0178-z).
- 5 Sarker S, Rafe MR. Formulation development of nifedipine through nanotechnology: a comprehensive review[J]. *Pharm Nanotechnol*, 2021, 9(4): 262-270. DOI: [10.2174/2211738509666210707162155](https://doi.org/10.2174/2211738509666210707162155).
- 6 Zhou Y, Du J, Wang L, et al. Nanocrystals technology for improving bioavailability of poorly soluble drugs: a mini-review[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2017, 17(1): 18-28. DOI: [10.1166/jnn.2017.13108](https://doi.org/10.1166/jnn.2017.13108).
- 7 高洋洋,陈丽,丁瑞. 盐酸雷洛昔芬纳米晶体的制备及口服生物利用度研究[J]. 中国药师, 2021, 24(11): 2033-2037. [Gao YY, Chen L, Ding R. Preparation and oral bioavailability of raloxifene hydrochloride nanocrystals[J]. *China Pharmacist*, 2021, 24(11): 2033-2037.] DOI: [10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.11.013](https://doi.org/10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.11.013).
- 8 Cheng Z, Lian Y, Kamal Z, et al. Nanocrystals technology for pharmaceutical science[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(21): 2497-2507. DOI: [10.2174/138161282466618051](https://doi.org/10.2174/138161282466618051)

- 8082420.
- 9 Peltonen L. Design space and QbD approach for production of drug nanocrystals by wet media milling techniques[J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(3): 104. DOI: [10.3390/pharmaceutics10030104](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030104).
 - 10 Singh SK, Vaidya Y, Gulati M, et al. Nanosuspension: principles, perspectives and practices[J]. *Curr Drug Deliv*, 2016, 13(8): 1222–1246. DOI: [10.2174/1567201813666160101120452](https://doi.org/10.2174/1567201813666160101120452).
 - 11 黄平, 毛坤军, 王雪婷, 等. 纳米混悬剂中稳定剂的研究进展 [J]. *广州化工*, 2016, 44(20): 7–9, 32. [Huang P, Mao KJ, Wang XT, et al. Research progress on stabilizers nanosuspensions[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2016, 44(20): 7–9, 32.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-9677.2016.20.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-9677.2016.20.003).
 - 12 Liu Y, Li Y, Xu P, et al. Development of abiraterone acetate nanocrystal tablets to enhance oral bioavailability: formulation optimization, characterization, *in vitro* dissolution and pharmacokinetic evaluation[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(6): 1134. DOI: [10.3390/pharmaceutics14061134](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061134).
 - 13 Karakucuk A, Celebi N. Investigation of formulation and process parameters of wet media milling to develop etodolac nanosuspensions[J]. *Pharm Res*, 2020, 37(6): 111. DOI: [10.1007/s11095-020-02815-x](https://doi.org/10.1007/s11095-020-02815-x).
 - 14 Bitterlich A, Laabs C, Krautstrunk I, et al. Process parameter dependent growth phenomena of naproxen nanosuspension manufactured by wet media milling[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 92: 171–179. DOI: [10.1016/j.ejpb.2015.02.031](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.02.031).
 - 15 Medarević D, Djuriš J, Ibrić S, et al. Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling[J]. *Int J Pharm*, 2018, 540(1–2): 150–161. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2018.02.011](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.011).
 - 16 Murdande SB, Shah DA, Dave RH. Impact of nanosizing on solubility and dissolution rate of poorly soluble pharmaceuticals[J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(6): 2094–2102. DOI: [10.1002/jps.24426](https://doi.org/10.1002/jps.24426).
 - 17 Ouranidis A, Gkampelis N, Vardaka E, et al. Overcoming the solubility barrier of ibuprofen by the rational process design of a nanocrystal formulation[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(10): 969. DOI: [10.3390/pharmaceutics12100969](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100969).
 - 18 Park JW, Choi JS. Role of kaempferol to increase bioavailability and pharmacokinetics of nifedipine in rats[J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(9): 690–697. DOI: [10.1016/S1875-5364\(19\)30083-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(19)30083-4).
 - 19 刘子荣, 王典, 鲁传华, 等. 胶束增溶硝苯地平缓释微球的制备及体内药动学研究 [J]. *中国药学杂志*, 2013, 48(3): 191–196. [Liu ZR, Wang D, Lu CH, et al. Preparation of sustained-release microspheres of nifedipine with micelle solubilization and its *in vivo* pharmacokinetic study[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2013, 48(3): 191–196.] DOI: [10.11669/epj.2013.03.008](https://doi.org/10.11669/epj.2013.03.008).
 - 20 Weerapol Y, Limmatvapirat S, Jansakul C, et al. Enhanced dissolution and oral bioavailability of nifedipine by spontaneous emulsifying powders: effect of solid carriers and dietary state[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 91: 25–34. DOI: [10.1016/j.ejpb.2015.01.011](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.01.011).
 - 21 Haware RV, Vinjamuri BP, Gavireddi M, et al. Physical properties and solubility studies of nifedipine-PEG 1450/HPMCAS-HF solid dispersions[J]. *Pharm Dev Technol*, 2019, 24(5): 550–559. DOI: [10.1080/10837450.2018.1519573](https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1519573).
 - 22 田阳, 彭一凡, 张志伟, 等. 纳米晶体药物制备技术的研究进展 [J]. *药学学报*, 2021, 56(7): 1902–1910. [Tian Y, Peng YF, Zhang ZW, et al. Research progress on preparation technology of nanocrystal drugs[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2021, 56(7): 1902–1910.] DOI: [10.16438/j.0513-4870.2021-0248](https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2021-0248).
 - 23 Toziopoulou F, Malamataris M, Nikolakakis I, et al. Production of aprepitant nanocrystals by wet media milling and subsequent solidification[J]. *Int J Pharm*, 2017, 533(2): 324–334. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2017.02.065](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.02.065).

收稿日期: 2024 年 02 月 25 日 修回日期: 2024 年 03 月 30 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳