

中图分类号: R972+.6; TQ460.6 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)09-0036-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.09.009



Box - Behnken 响应面法优化阿托伐他汀钙类脂囊泡处方工艺

李东泽, 付琳, 任书杉, 王超, 张向宇[△]

(佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:目的 制备阿托伐他汀钙类脂囊泡(ATC-NIS), 优化处方及工艺, 改善阿托伐他汀钙的释药性能。方法 采用薄膜-超声分散法制备 ATC-NIS; 采用高效液相色谱法建立阿托伐他汀钙体外释放分析方法; 以包封率为评价指标, 设计单因素试验分别筛选超声时间、Span60 与 ATC 的比例及 β -谷甾醇添加量的优化区间, 采用 Box-Behnken 响应面法设计三因素三水平试验优化处方及工艺, 以二项式拟合预测最佳处方。采用透射电子显微镜观察类脂囊泡的外观形貌, 采用激光粒度分析仪检测 ATC-NIS 的粒径分布、分散系数及 Zeta 电位, 并采用动态透析法评价其体外释放情况。结果 最优处方工艺为超声时间为 12 min, Span60:ATC 为 7:1(m/m), β -谷甾醇添加量为 12 mg。按最优处方制备的载药类脂囊泡包封率为 $(75.36 \pm 1.17)\%$, 载药量为 $(7.95 \pm 0.42)\%$, 平均粒径为 (211.81 ± 1.05) nm, 分散系数为 0.199 ± 0.013 , Zeta 电位为 (-38.24 ± 0.105) mV。通过透射电子显微镜观察, ATC-NIS 呈光滑圆整球形或类球形。体外释放分析结果表明, ATC-NIS 较游离阿托伐他汀钙具备较明显的缓释性能。结论 经 Box-Behnken 响应面法优化的 ATC-NIS 处方工艺简单易行、成品性质优良、囊泡分散性良好, 具备缓释效果。

关键词:阿托伐他汀钙; 类脂囊泡; Box-Behnken 响应面法; 质量评价

Optimization of Prescription Process of Atorvastatin Calcium Niosomes by the Box - Behnken Response Surface Methodology

LI Dongze, FU Lin, REN Shushan, WANG Chao, ZHANG Xiangyu

(College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang, China 154007)

Abstract: Objective To prepare atorvastatin calcium niosomes (ATC-NIS), to optimize the prescription process, and to improve

第一作者: 李东泽, 女, 硕士研究生在读, 研究方向为缓释给药系统, (电子信箱)2509575446@qq.com。

[△]通信作者: 张向宇, 男, 博士, 副教授, 研究方向为靶向、缓释给药系统及新药开发, (电子信箱)qunqun8010801@163.com。

综上所述, 本研究中优选的十枣汤的最佳提取工艺为提取 2 次, 提取时间为 1.5 h, 加入 10 倍量水, 经验证工艺合理、可行。

参考文献

[1] KASZTELAN - SZCZERBINSKA B, CICHOSZ - LACH H. Refractory ascites - the contemporary view on pathogenesis and therapy[J]. Peer J, 2019, 7:e7855.
[2] BERNARDI M, ANGELI P, CLARIA J, et al. Albumin in decompensated cirrhosis: new concepts and perspectives[J]. Gut, 2020, 69(6): 1127 - 1138.
[3] 刘建军, 牛蓓. 对 2017 年《肝硬化腹水及相关并发症的诊疗指南》的解读与商榷[J]. 新医学, 2018, 49(1): 1 - 5.
[4] 赵文霞. 中医药内服外治治疗肝硬化腹水的临床应用[J]. 北京医学, 2021, 43(9): 853 - 855.
[5] 王桂芬, 刘少杰, 李义松, 等. 肝硬化腹水的中医药治疗概况[J]. 光明中医, 2011, 26(2): 400 - 403.
[6] 陈静, 柳慧, 张如苗, 等. 十枣汤的逐水作用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2020, 18(4): 180 - 182.
[7] 李振岚, 张桥, 楼坚伟, 等. 十枣汤研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 221 - 226.
[8] 邓甜甜, 韩晓春, 马山, 等. 十枣汤临床应用综述[J]. 河南中医, 2018, 38(9): 1303 - 1306.
[9] SILVA VAO, ROSA MN, MIRANDA - GONCALVES V, et al.

Euphol, a tetracyclic triterpene, from Euphorbia tirucalli induces autophagy and sensitizes temozolomide cytotoxicity on glioblastoma cells[J]. Invest New Drugs, 2019, 37(2): 223 - 237.

[10] 刘金敏, 卢金清, 龚敏. 芫花的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(S2): 1 - 2.
[11] 王瑞, 张朋俊, 翟晓晓, 等. 不同产地芫花根皮药材中西瑞香素含量比较[J]. 中国药业, 2014, 23(23): 50 - 51.
[12] 马丽, 王嘉霖, 柴甜, 等. 甘遂中的新三萜及其抗氧化活性[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2269 - 2273.
[13] 马丽, 孟宪华, 杨军丽. 甘遂化学成分、药理活性和临床应用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 699 - 712.
[14] 刘淑岚, 翁连进, 韩媛媛, 等. 京大戟的化学成分和药理作用研究概述[J]. 中国现代中药, 2019, 21(1): 129 - 138.
[15] 张坤, 仇峰, 覃禹, 等. 大戟属植物的药用研究进展[J]. 中国药业, 2011, 20(22): 27 - 30.
[16] 杨玥, 吕德鹏. 大枣多糖的生物活性研究进展[J]. 中国食品, 2022(5): 119 - 121.
[17] 刘燕, 陈积, 胡珊珊, 等. 正交设计法优选胆石六号汤提取工艺[J]. 中国现代中药, 2017, 19(5): 711 - 715.
[18] 李玥, 吴文静, 甘璐, 等. 正交试验-多指标综合评价法优选小儿肠系膜淋巴结炎中药复方汤剂的水提工艺[J]. 中国现代中药, 2021, 23(6): 1061 - 1067.

(收稿日期: 2022-04-30; 修回日期: 2022-12-05)

the drug release performance of atorvastatin calcium. **Methods** ATC - NIS was prepared by the thin film - ultrasonic dispersion method. *In vitro* release assay of atorvastatin calcium was established by the high - performance liquid chromatography (HPLC) method. With the encapsulation efficiency as an evaluation index, the ultrasound time, ratio of Span60 to ATC, and the optimal interval of the addition amount of β - sitosterol were optimized by the single factor experiment, the prescription and process were optimized by the three - factor - three - coded level experiment based on the Box - Behnken response surface design, and the best prescription was predicted by binomial fitting. The appearance and morphology of niosomes were observed by the transmission electron microscope, and the particle size distribution, polydispersity coefficient, and Zeta - potential of ATC - NIS were detected by the laser particle size analyzer. The *in vitro* release of ATC - NIS was evaluated by the dynamic dialysis method. **Results** After the optimization, the optimal prescription process was as follows: the ultrasound time was 12 min, Span60: ATC was 7:1 (*m/m*), the addition of β - sitosterol was 12 mg, the encapsulation efficiency of drug - loaded niosomes prepared according to the optimal prescription was $(75.36 \pm 1.17)\%$, the drug loading capacity was $(7.95 \pm 0.42)\%$, the average particle size was (211.81 ± 1.05) nm, the polydispersity index (PDI) was 0.199 ± 0.013 , and the Zeta - potential was (-38.24 ± 0.105) mV. The results of transmission electron microscopy observation showed that the photomicrograph of ATC - NIS was a smooth and round spherical shape or quasi - spherical shape. The results of *in vitro* release assay indicated that ATC - NIS had significant sustained - release properties compared to free atorvastatin calcium. **Conclusion** The prescription process of ATC - NIS optimized by the Box - Behnken response surface methodology was simple and feasible, it had excellent product properties, good dispersion of niosomes, and a sustained - release effect.

Key words: atorvastatin calcium; niosomes; Box - Behnken response surface methodology; quality evaluation

阿托伐他汀钙(ATC)广泛用于治疗高脂血症,通过将 β -羟[基]- β -甲戊二酸单酰辅酶A(HMG-CoA)转化为甲戊酸^[1]以抑制胆固醇的生物合成,降低血液中胆固醇、低密度脂蛋白和三酰甘油的水平。但其水溶性差,生物利用度低,体内半衰期短,消除速率快,单次大剂量口服可能导致肝功能异常及肾功能衰竭^[2],限制了临床应用。故需应用类脂囊泡药物递送系统^[3]、自乳化药物递送系统^[4]、口腔黏膜给药系统^[5]、胃滞留缓释给药系统^[6]、局部透皮给药系统^[7]、聚合物纳米粒^[8]等新型给药系统,以改善ATC的疏水性,提高生物利用度。类脂囊泡是由非离子表面活性剂和胆固醇或胆固醇衍生物构成的类脂质双分子层球囊结构,具备包封亲水性和亲脂性物质的能力^[9-10]。类脂囊泡生物膜相容性良好^[11],可避免药物在到达有效位点前被破坏,延长药物半衰期,并起到被动靶向的作用^[12-13]。响应面法是以数理统计为基础,对设计点及因素进行数学建模集合,得到约束目标函数的响应面模型,进一步预测非试验点响应值的试验优化方法,包括中心组合设计、全因素设计、Box - Behnken设计等。Box - Behnken响应面法优化的拟合模型准确、可靠^[14-15],在各参数离散水平影响下得到最佳的条件组合及对应的最优响应值,广泛用于医学、生物、化学等行业^[16-18]。 β -谷甾醇是一种膳食植物甾醇^[19],具备与胆固醇相似的化学结构和可生物降解的性能,在生物制药领域中常作为胆固醇的替代物用于药用辅料。本研究中采用薄膜 - 超声分散法^[20]制备以 β -谷甾醇和Span60为囊材、包载ATC的类脂囊泡(ATC - NIS),采用Box - Behnken响应面法优化处方工艺,分别从外观形态、粒径分布、包封率、载药量、

体外释放性能等方面进行评价,以得到ATC - NIS的最佳制备工艺及处方。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

FA2004N型电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司,精度为万分之一);TGL - 16GB型台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂);UV765型紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);KQ - 400KB型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为220 W);JY92 - 2D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司,功率为900 W);DF - 101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 试剂

ATC原料药(武汉远成共创科技有限公司,批号为J1203AS);Span60(大连美仑生物技术有限公司,批号为O1013A); β -谷甾醇(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号为S111182,含量>95%);乙腈、甲醇(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司);醋酸铵、醋酸(天津凯通化学试剂有限公司);透析袋(美国Union Carbide公司)。

2 方法与结果

2.1 类脂囊泡制备

采用薄膜 - 超声分散法制备。称取处方量的ATC、Span60和 β -谷甾醇,溶于3.0 mL氯仿 - 甲醇(4:1, V/V)的混合溶剂中,超声(功率为88 W)使分散均匀,置旋转蒸发仪65℃、减压蒸发至有机溶剂挥发完全,在圆底烧

瓶内形成均一的透明薄膜,加入同温适量蒸馏水,静置孵育30 min后,置恒温磁力加热搅拌器(转速为100 r/min)65 °C加热条件下水化1.0 h,得ATC-NIS混悬液,转移至超声波细胞破碎机超声处理(功率为200 W)5 min,即得ATC-NIS。

2.2 ATC 体外分析

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:醋酸铵缓冲液(醋酸调pH至4.5)-乙腈(50:50, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:246 nm;柱温:25 °C;进样量:20 μL。

2.2.2 方法学考察

专属性试验:分别取类脂囊泡和ATC-NIS,加入10倍体积甲醇超声(功率为200 W)处理2 min,溶解,使类脂囊泡破碎,分别过0.22 μm有机相微孔滤膜,备用。加等量标准贮备液(质量浓度为5 μg/mL),按2.2.1项下色谱条件进样测定,并根据出峰情况考察药物与类脂囊泡的特性。空白类脂囊泡对ATC测定无干扰,ATC保留时间为5.20 min,理论板数、拖尾因子等均符合要求,特征峰与其他成分峰间的分离度均大于1.5,表明方法专属性强。色谱图见图1。

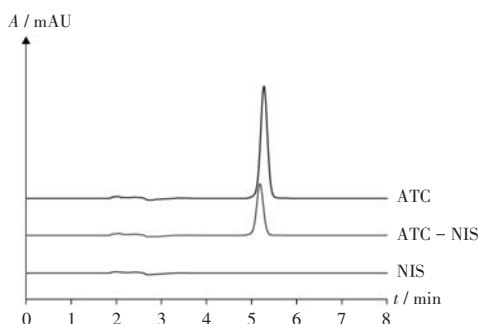


图1 高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram

线性关系考察:取ATC适量,用甲醇溶解,并分别稀释为质量浓度为5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 μg/mL的标准贮备液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以质量浓度(C)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $A = 48.187C - 74.23$ ($R^2 = 0.9999, n = 7$)。结果ATC质量浓度在5~50 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限确定:精密量取ATC供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图的信噪比(S/N),分别以S/N为10和3时的进样量确定最低定量限和最低检测限。结果ATC最低定量限和检测限分别为0.617 ng和0.184 ng。

精密度试验:分别取等体积10, 20, 40 μg/mL不同质量浓度的ATC供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,每日进样5次,计算日内精密度;另在每日同一

时间内进样1次,连续进样5 d,计算日间精密度。结果见表1,表明仪器精密度良好。

表1 日内和日间精密度试验结果(n=5)

Tab. 1 Results of intra-day and inter-day precision tests (n=5)

质量浓度 (μg/mL)	日内精密度		日间精密度	
	$\bar{X} \pm s$ (μg/mL)	RSD (%)	$\bar{X} \pm s$ (μg/mL)	RSD (%)
10.00	9.60 ± 0.10	1.01	9.68 ± 0.13	1.38
20.00	19.35 ± 0.02	0.12	19.22 ± 0.21	1.09
40.00	38.23 ± 0.53	1.41	38.24 ± 0.43	1.14

加样回收试验:取精密度试验项下不同质量浓度的ATC供试品溶液,分别加入空白类脂囊泡液5.0 mL,经适量甲醇稀释得3种质量浓度贮备液,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定3次,记录峰面积,代入线性回归方程,经计算得3种质量浓度下的加样回收率分别为(100.65 ± 0.84)%, (100.52 ± 0.62)%, (100.38 ± 0.67)%, RSD分别为0.84%, 0.62%, 0.67% (n=3),表明方法准确度高。

2.3 包封率与载药量测定

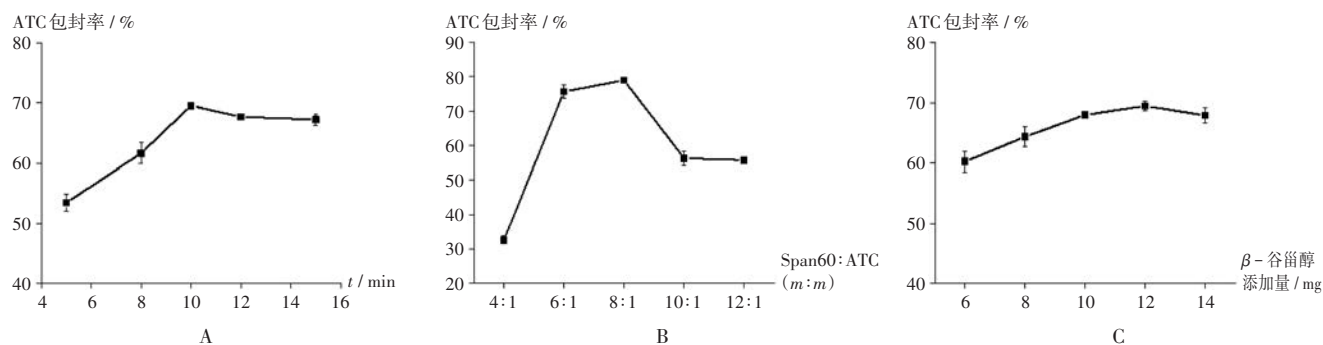
量取2.1项下ATC-NIS混悬液1.0 mL,置离心管中离心(转速为10 000 r/min)10 min,弃上清液,加蒸馏水重新分散清洗沉淀2次,加适量甲醇溶解沉淀,转移至25.0 mL容量瓶中,定容,过0.22 μm有机相滤膜,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,带入线性回归方程计算游离药物量,按公式计算ATC-NIS的包封率及载药量。包封率(%) = (投药量 - 游离药物量) / 投药量 × 100%, 载药量(%) = 囊泡内包封药物量 / 囊泡质量 × 100%。

2.4 工艺与处方因素水平确定

超声时间:按2.1项下方法制备ATC-NIS,固定其他因素不变。只改变超声时间^[21],设定超声功率为200 W,超声时间分别为5, 8, 10, 12, 15 min,考察超声时间对类脂囊泡包封率的影响。超声时间的长短会直接影响类脂囊泡的粒径及包封率的大小,超声时间过久可能会破坏类脂囊泡的结构而使药物泄露。由图2 A可知,经单因素试验确定超声时间范围为10~15 min。

Span60与ATC质量比:按2.1项下方法制备ATC-NIS,固定其他因素不变。只改变Span60与ATC质量比^[22],设定处方内Span60添加量为0.086 g,比例分别为4:1, 6:1, 8:1, 10:1, 12:1,考察Span60与ATC的比例对类脂囊泡包封率的影响。药脂比是类脂囊泡构成的关键因素,非离子表面活性剂起支撑作用,影响类脂囊泡的构型,从而影响药物的包封率。由图2 B可知,经单因素试验确定Span60与ATC质量比在6:1~8:1范围内存在最优比例。

β-谷甾醇添加量:按2.1项下方法制备ATC-NIS



A. 超声时间 B. Span60:ATC(m:m) C. β -谷甾醇添加量

图2 不同处方单因素对ATC-NIS包封率的影响($n=3$)

A. Ultrasound time B. Span60:ATC(m:m) C. Addition amount of β -sitosterol

Fig. 2 Effect of different prescription factors on the encapsulation efficiency of ATC-NIS ($n=3$)

NIS,固定其他因素不变。考察当 β -谷甾醇添加量分别为6,8,10,12,14 mg时对类脂囊泡包封率的影响。 β -谷甾醇在类脂囊泡中起膜稳定剂的作用^[23],使双层膜结构更加紧密,防止药物泄露,提高包封率。由图2 C可知,经单因素试验确定 β -谷甾醇添加量为10~14 mg。

2.5 Box-Behnken 响应面法优化处方

优化编码及水平:经单因素试验确定影响ATC-NIS制备过程中较显著的3个因素的3个水平,采用Box-Behnken响应面法优化处方,以包封率为评价指标,考察Span60:ATC(因素A)、 β -谷甾醇加水量(因素B)、超声时间(因素C)对类脂囊泡包封率的影响。试验因素与水平见表2,结果见表3。

表2 Box-Behnken响应面法因素与水平

Tab. 2 Factors and levels of the Box-Behnken response surface methodology

水平	因素A(m:m)	因素B(mg)	因素C(min)
-1	6:1	10	10
0	7:1	12	12
+1	8:1	14	15

表3 Box-Behnken响应面法试验设计与结果

Tab. 3 Experimental design and results of the Box-Behnken response surface methodology

序号	因素			包封率 (%)	序号	因素			包封率 (%)
	A	B	C			A	B	C	
1	0	0	0	74.07	10	-1	0	+1	54.07
2	+1	-1	0	53.61	11	-1	0	-1	59.49
3	+1	0	+1	57.99	12	0	0	0	74.07
4	+1	0	-1	56.84	13	-1	+1	0	58.04
5	0	-1	-1	60.86	14	+1	+1	0	58.00
6	0	0	0	74.07	15	0	-1	+1	52.82
7	0	0	0	75.72	16	0	0	0	74.14
8	0	+1	-1	57.23	17	0	+1	-1	58.42
9	-1	-1	0	55.38					

多元二次回归方程建立:经Design-Expert 8.0.6软件对表3中的数据进行回归分析,得二次多元回归方程 $Y = 74.41 - 0.0675X_1 + 1.13X_2 - 1.39X_3 + 0.4325X_1X_2 + 1.64X_1X_3 + 2.31X_2X_3 - 9.20X_1^2 - 8.96X_2^2 - 8.12X_3^2$ ($R^2 = 0.9936, P < 0.01$)。由表4可知,数学模型拟合良好,预测数据可靠,可信度高,失拟项 P 值大于0.05,表明模型预测值与实测值差异较小。

表4 ATC-NIS包封率回归模型系数的方差分析结果

Tab. 4 ANOVA results of encapsulation efficiency regression model coefficient of ATC-NIS

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1144.18	9	127.13	120.60	<0.0001**
A	0.0364	1	0.0364	0.0346	0.8578
B	10.17	1	10.17	9.65	0.0172*
C	15.46	1	15.46	14.66	0.0065*
AB	0.7482	1	0.7482	0.7098	0.4274
AC	10.79	1	10.79	10.24	0.0151*
BC	21.30	1	21.30	20.20	0.0028*
A ²	356.05	1	356.05	337.75	<0.0001**
B ²	338.08	1	338.08	320.70	<0.0001**
C ²	277.67	1	277.67	263.39	<0.0001**
残差	7.38	7	1.05		
失拟项	5.24	3	1.75	3.27	0.1410
纯误差	2.14	4	0.5339		
总离差	1151.56	16			

注:*为差异显著,**为差异极显著。

Note:* refers to a significant difference,** refers to an extremely significant difference.

优化预测:由试验结果可知,影响因素中显著性大小为 $C > B > A$,根据优化目的,将包封率设为最大,通过Design-Expert 8.0.6软件绘制不同影响因素对于各指标的三维响应面图,结果见图3。得到优化后的处方为Span60:ATC为7:1(m/m), β -谷甾醇添加量为12 mg,超声时间为12 min。按优化的最优处方工艺,平行制备3批ATC-NIS,所得包封率为 $(75.36 \pm 1.17)\%$ ($n=3$),

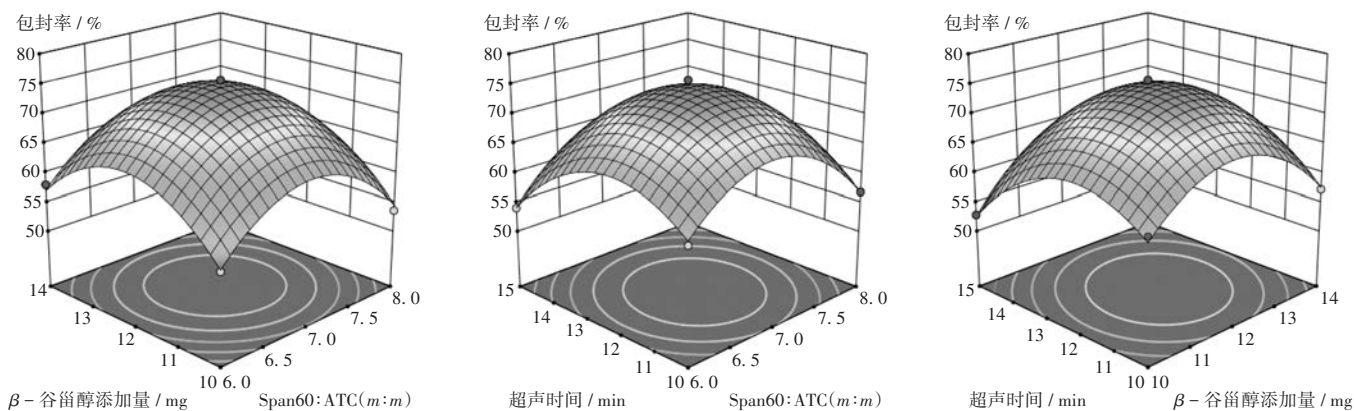


图3 各影响因素对ATC包封率影响的三维响应面图

Fig. 3 3D response surface of various influencing factors on encapsulation efficiency of ATC

载药量为 $(7.95 \pm 0.42)\%$ ($n = 3$)。与包封率预测值74.6%接近,说明所建立的方法预测性良好。

2.6 ATC - NIS 的体外质量评价

粒径分布及Zeta电位测定:取ATC - NIS适量,精密称定,加蒸馏水按1:1比例稀释,使其分散均匀,使用激光粒度分析仪测量平均粒径、多分散系数(PDI)和Zeta电位,重复3次。ATC - NIS粒径为 $(211.81 \pm 1.05)\text{nm}$, PDI为 0.199 ± 0.013 , Zeta电位为 $(-38.24 \pm 0.105)\text{mV}$ 。详见图4和图5。

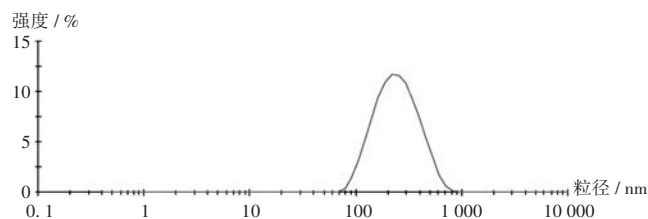


图4 ATC - NIS 粒径分布

Fig. 4 Distribution of particle size of ATC - NIS

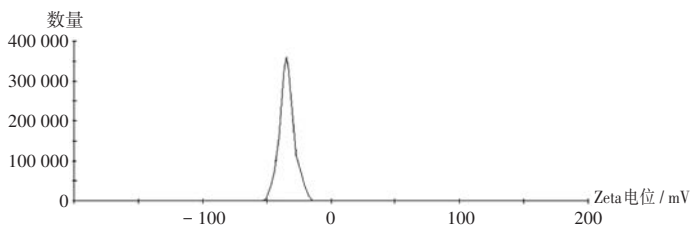


图5 ATC - NIS Zeta 电位图

Fig. 5 Zeta - potential of ATC - NIS

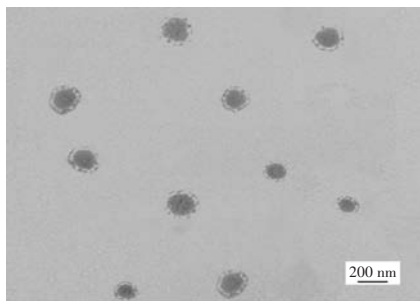


图6 ATC - NIS 透射电子显微镜整体形态 ($\times 10\ 000$)

Fig. 6 Overall morphology of the transmission electron microscope of ATC - NIS ($\times 10\ 000$)

外观形态:采用磷钼酸负染色法制备透射电镜样品,取少量ATC - NIS,加双蒸水稀释后滴在铜网上,室温干燥,滴加2.0%磷钼酸染液负染色,室温下孵育过夜,晾干,在透射电子显微镜下观察ATC - NIS的微观形态。结果ATC - NIS相对分散无聚集,呈大小均一、表面光滑的类球形。详见图6。

体外释放行为考察:考察ATC - NIS在磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中的释放行为^[24],首先取等体积ATC - NIS和ATC溶液适量,置透析袋中,两端扎紧,将透析袋浸入900.0 mL含有0.5% SDS的磷酸盐缓冲液(pH 6.8)释放介质中,置恒温水浴摇床振荡,温度保持在 $(37 \pm 0.5)\text{°C}$,搅拌速率为90 r/min,于0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 h时收集样品3.0 mL,同时添加等体积新鲜释放介质,采集的样品经0.22 μm 滤膜滤过,适当稀释,并按2.2.1项下色谱条件进样测定,分析每个时间点的药物含量,并以ATC原料药为参比制剂进行试验,重复5次。计算各时间点的累积释放率,绘制ATC和ATC - NIS的释放曲线。由图7可知,ATC在5.0 h内释放96.77%以上,而ATC - NIS在48.0 h内可稳定、长效地持续释放。

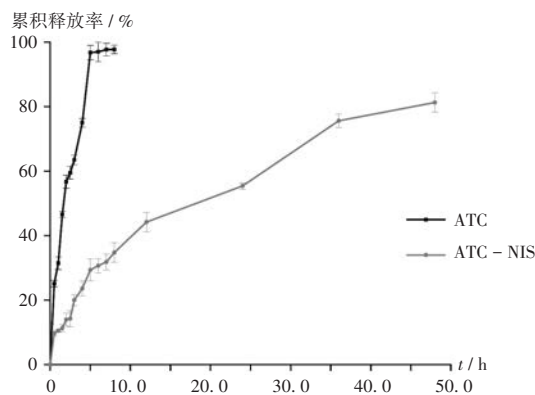


图7 ATC - NIS在pH 6.8磷酸盐缓冲液中的体外释放情况 ($n = 5$)

Fig. 7 Release profiles *in vitro* of ATC - NIS in pH 6.8 PBS ($n = 5$)

3 讨论

类脂囊泡是具备优良生物相容性的药物载体,其特殊的双层类脂质膜结构可将疏水性成分ATC包载于壁层。本研究中制备ATC-NIS,经单因素筛选Span60与ATC质量比可知,随着投药量的增加,包封率呈现先增大后减小的趋势,推测是由于投药量增加使囊材所包覆药物量增大,囊泡体系黏度增加,但当投药量持续增大时,囊材的包载能力达到临界值后会引漏药,包封率减小。

因3个影响因素间存在交互作用,采用Box-Behnken响应面法优化ATC-NIS的制备工艺,经Design-Expert构建数学模型响应面图,因素影响大小为超声时间 $>\beta$ -谷甾醇添加量 $>$ Span60:ATC($m:m$)。超声时间对包封率的影响最显著,随着超声时间的增大,包封率先增大后减小,可能是超声使囊泡粒子均匀分散在外水相溶液中,但超声时间过长会使囊泡粒子破裂,导致包封药物渗出,从而降低包封率。

β -谷甾醇作为类脂囊泡中的膜稳定剂,与类脂囊泡的包封率关系密切,随着添加量的增加,膜材由坚实变得柔软且富有弹性,为类脂囊泡提供了较强的流动性,药物更稳定地包载于囊材中,不易破裂,但添加过量时会导致囊材流动性过大,使ATC-NIS不易成型,从而降低包封率。

对所优化的最优处方进行模拟体外释放显示,ATC-NIS可显著减缓ATC的释放。激光粒度仪分析显示,ATC-NIS粒径分布均匀,通过透射电子显微镜观察ATC-NIS的形态特征为球形或类球形。综合分析表明,薄膜分散法结合超声的应用可有效减小NIS的粒径大小,降低粒子间的聚集,Box-Behnken响应面法优化ATC-NIS准确可靠、高效可行,得到具备缓释效果的ATC-NIS,为后期试验奠定了制剂学基础。

参考文献

- [1] LIU Z, XU YQ, HAO HJ, et al. Efficacy of high intensity atorvastatin versus moderate intensity atorvastatin for acute coronary syndrome patients with diabetes mellitus[J]. International Journal of Cardiology, 2016, 222(2): 22 - 28.
- [2] CHOUDHARY A, RANA AC, AGGARWAL G, et al. Development and characterization of an atorvastatin solid dispersion formulation using skimmed milk for improved oral bioavailability[J]. Acta Pharm Sin B, 2012, 12(2): 421 - 429.
- [3] MOGHASSEMI S, HADJIZADEH A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review[J]. Journal of Controlled Release, 2014, 185: 22 - 36.
- [4] DJEKIC L, JANKOVIC J, ČALIJA B, et al. Development of semi-solid self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDSs) filled in hard capsules for oral delivery of aciclovir[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2017, 528(1/2): 372 - 380.
- [5] DAMRONGRUNGRUANG T, PANPITAKKUL P, SOMUDORN J, et al. Glutaryl Melatonin Niosome Gel for Topical Oral Mucositis: Anti-inflammatory and Anticandidiasis[J]. Current Drug Delivery, 2020, 17(3): 195 - 206.
- [6] 张纯刚, 于子尧, 于琛琛, 等. 胃滞留给药系统的研究进展及其在中药制剂中的应用[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 877 - 885.
- [7] SHAH J, NAIR AB, SHAH H, et al. Enhancement in antinociceptive and anti-inflammatory effects of tramadol by transdermal proniosome gel[J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 15(6): 786 - 796.
- [8] XIAO B, CHEN QB, ZHANG Z, et al. TNF α gene silencing mediated by orally targeted nanoparticles combined with interleukin-22 for synergistic combination therapy of ulcerative colitis[J]. Journal of Controlled Release, 2018, 287: 235 - 246.
- [9] BANG HAM AD, DAWSON RM. Control of lecithinase activity by the electrophoretic charge on its substrate surface[J]. Nature, 1958, 182(4645): 1292 - 1295.
- [10] UCHEGBU IF, VYAS SP. Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery[J]. International Journal of Pharmaceutics, 1998, 172: 33 - 70.
- [11] MASJEDI M, MONTAHA EI T. An illustrated review on non-ionic surfactant vesicles (niosomes) as an approach in modern drug delivery: Fabrication, characterization, pharmaceutical, and cosmetic applications[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2020, 56: 108 - 113.
- [12] AKBARZADEH I, SHAYAN M, BOURBOUR M, et al. Preparation, Optimization and In-Vitro Evaluation of Curcumin-Loaded Niosome@calcium Alginate Nanocarrier as a New Approach for Breast Cancer Treatment[J]. Biology, 2021, 10(3): 173.
- [13] YADAVAR NIKRAVESH MS, AHMADI S, MILANI A, et al. Construction and characterization of a novel Tenofovir-loaded PEGylated niosome conjugated with TAT peptide for evaluation of its cytotoxicity and anti-HIV effects[J]. Advanced Powder Technology, 2021, 47(5): 3161 - 3173.
- [14] HAN DE, XIN YF, WEI HC, et al. Formulation optimization of emodin nanostructured lipid carriers by Box-Behnken response surface method and *in vitro* quality evaluation[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(4): 913 - 921.
- [15] ZHANG T, WANG J, SHEN BD, et al. Preparation and *in vitro* quality evaluation of self-microemulsion co-loaded with tenuifolin and β -asarone[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(24): 5988 - 5995.
- [16] NEKOEI F, NEKOEI S. Comparative study of photocatalytic activities of Zn₅(OH)₈C₁₂·H₂O and ZnO nanostructures in ciprofloxacin degradation: Response surface methodology and kinetic studies[J]. Science of the Total Environment, 2017, 6(1): 508 - 517.
- [17] ROSTAS AM, KUNC SER AC, GHICA D, et al. Electron paramagnetic resonance and microstructural insights into the ther-