

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2016.02.004

雌二醇对非离子表面活性剂囊泡粒径的影响*

丁林¹ 柳青² 全先高¹ 孙珊珊¹ 张永强²

(¹ 济宁医学院药学院,日照 276826;² 济宁市中医院,济宁 272000)

摘要 目的 探索雌二醇与胆固醇配比对非离子表面活性剂囊泡粒径的影响。方法 选择钙黄绿素作为模型药物,采用薄膜分散法制备非离子表面活性剂囊泡,通过粒径仪测量粒径。结果 当胆固醇与雌二醇 1:1、胆固醇用量为 0.03g、水化时间 1.5h、超声 70 次(每次 3s 间隔 3s,功率 40w)时制备的非离子表面活性剂囊泡粒径最佳,大小为 400nm。结论 雌二醇可作为囊泡的膜材料,为开发治疗前列腺炎症靶向药物提供了依据。

关键词 非离子表面活性剂囊泡;雌二醇;钙黄绿素

中图分类号:R943 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2016)04-091-03

Influence of estradiol on the encapsulation efficiency and particle size of the non-ionic niosomes

DING Lin¹, LIU Qing², QUAN Xiangao¹, SUN Shanshan¹, ZHANG Yongqiang²

(¹ School of Pharmaceutical Sciences, Jining Medical University, Rizhao 276826, China; ² Jining Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jining 272000, China)

Abstract: Objective To explore the effects of ratio of estradiol/cholesterol on the particle size of non-ionic surfactant vesicles. **Methods** Calcein was selected as a model drug, non-ionic surfactant vesicles were prepared by thin-film dispersion method, and the particle size was measured by particle size analyzer. **Results**

The results indicated that the optimal size of non-ionic surfactant vesicles was about 400nm, when the ratio of cholesterol/estradiol was 1:1 with a dosage of 0.03g, the preparation was hydrated for 1.5 h and treated by ultrasound 70 times (3 second each, 3 seconds interval) with power of 40w. **Conclusion** This study demonstrated that estradiol may serve as a vesicle membrane materials, and provided a basis for the development of targeted therapies for prostatitis treatment.

Keywords: Non-ionic surfactant vesicles (niosomes); Estradiol; Calcein

近年来,我国前列腺炎患者每年呈明显上升趋势,由于前列腺上脂质膜和前列腺液 pH 值等因素的影响,抗菌药物不易自血浆透过前列腺上皮类脂膜的屏障扩散入前列腺腺泡,所以许多治疗效果不是很理想,而且反复发病率高,用药时间延长^[1-2]。雌二醇与前列腺组织具有特殊的亲和力,且结构与胆固醇相似^[3],将其与胆固醇配比制备成非离子表面活性剂囊泡^[4-5],将提高载药囊泡对前列腺组织的靶向性^[6]。本文主要研究雌二醇对囊泡粒径的影响,为下一步研究雌二醇对囊泡包封率的影响

打下基础,为后期监测囊泡在体内的靶向性提供依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

胆固醇(AR,北京双旋微生物培养基制品厂);雌二醇(AR,大连美仑生物技术有限公司);钙黄绿素(AR,天津市博迪化工有限公司);磷酸氢二钠(AR,天津市天河化学试剂厂);Span60(AR,上海山浦化工有限公司);无水乙醇(AR,烟台三和化学试剂有限公司);三氯甲烷(AR,烟台市双双化工有限公司)

* [基金项目] 济宁医学院科研项目(JY2013KJ006;JY2013KJ022)

1.2 实验仪器

JY92-II 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);电动吸引器(上海医疗器械工业公司);恒温磁力搅拌器(78HW-1 型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);旋转蒸发器 RE-2000A(上海亚荣生化仪器厂);数控恒温水浴锅(北京市长风仪表公司);数控超声波清洗器(KQ-500DB 型,昆山市超声仪器有限公司);电子天平(ESJ180-4,沈阳龙腾电子称量仪器有限公司);ZEN3690 型马尔文 zetasizer Nano (Malvern Instruments Limiteo);pH 酸度计(上海康仪仪器有限公司 pHHS-3C)

1.3 囊泡的制备^[7-11]

采用薄膜分散-超声法制备囊泡,称取司盘-60、雌二醇和胆固醇适量于旋蒸瓶中,加入氯仿 20ml 使其溶解,于 60℃ 水浴减压蒸发,去除氯仿,在瓶壁上形成均匀的薄膜层。另称取适量的钙黄绿素加入 pH = 7.5 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中充分溶解,取适量加入上述旋蒸瓶中,混合均匀,搅拌水化,水浴超声(每次 3s 间隔 3s,功率 40w),得乳黄色非离子表面活性剂囊泡混悬液。

1.4 囊泡形态学

取少量钙黄绿素囊泡制剂滴至载玻片上,用亚甲蓝进行染色,于光学显微镜下观察,囊泡呈圆形^[10]。见图 1。

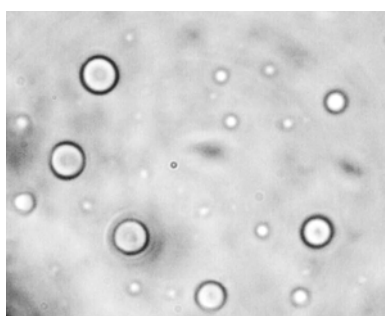


图 1 钙黄绿素囊泡的光学显微镜图(×1000)

1.5 钙黄绿素测定波长的选择

用 PBS 配制 0.5 mg/ml 的钙黄绿素溶液,取 0.2ml 转移至 10ml 容量瓶中配制 0.01 mg/ml 稀释液,在紫外光区(UV)与可见光区(VIS)作全波长扫描,确定最大吸收波长为 490 nm。见图 2。

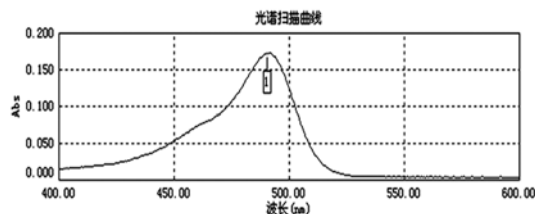


图 2 钙黄绿素最大波长扫描图

1.6 标准曲线的绘制

准确称取 25mg 钙黄绿素于 50ml 容量瓶,加 PBS 定容。分别移取 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4ml 于 5 个 10ml 容量瓶,加 PBS 定容。以 PBS 为空白,在 490nm 测定最大吸光度 A 值。以吸光度 A 对浓度 C 作图得钙黄绿素的标准曲线,经线性回归得方程 $A = 0.0479C + 0.0047$, $R^2 = 0.9989$ 。

2 结果

2.1 各因素对粒径的影响

改变胆固醇与雌二醇比例、胆固醇用量、水化时间和超声次数对囊泡粒径的影响见图 3、图 4、图 5、图 6。

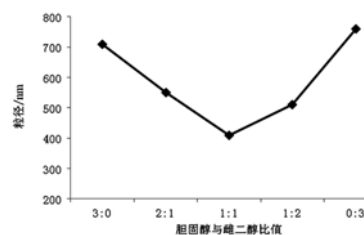


图 3 胆固醇与雌二醇比例对囊泡粒径的影响

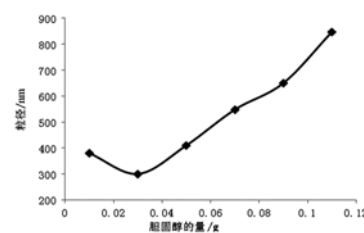


图 4 胆固醇的用量对囊泡粒径的影响

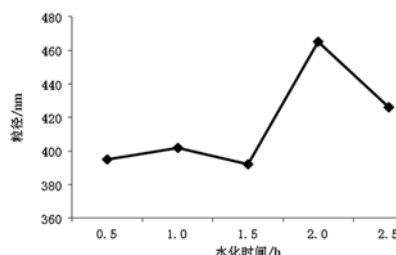


图 5 水化时间对粒径的影响

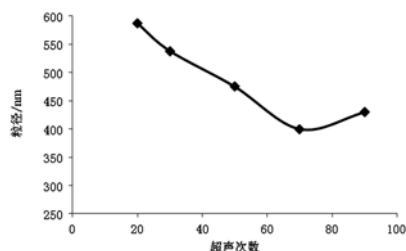


图 6 超声次数对粒径的影响

3 讨论

类脂囊泡是由非离子表面活性剂及胆固醇等材料自组装形成的单室或多室囊泡,双分子层结构能包载水/脂溶性药物,增强药物的穿透性并具有缓释的作用^[12-13]。胆固醇作为一种生物表面活性剂,在囊泡中可起到降低膜流动性提高囊泡稳定性的作用。目前,在制备类脂囊泡的处方研究中加入胆固醇的居多,以雌二醇和胆固醇配比的处方鲜有报道。本研究结果显示:在胆固醇与雌二醇配比的混合液中,随着胆固醇比例的减少,囊泡粒径变化呈现先减小后增大的趋势,当胆固醇与雌二醇比例为 1:1 时,囊泡粒径最小,约 400nm;增加胆固醇的用量,囊泡粒径逐渐变大,当胆固醇用量为 0.03g 时粒径最小,胆固醇用量过多会导致脂质体富集形成多层囊泡;水化时间不超过 1.5h 时,囊泡粒径较小且变化不大,约 400nm,1.5h 后增大明显,当水化时间超过 2.0h 时粒径又变小,这是由于水化时间过长囊泡破碎导致,因此,选 1.5h 为最佳水化时间;随超声次数的增加,囊泡粒径整体呈下降趋势,超声 70 次后,囊泡粒径趋于稳定,选择超声 70 次即可使多层脂质体分散得到粒径较小的单层囊泡。

综上所述,用旋转蒸发法可制备出雌二醇与胆固醇配比的非离子表面活性剂囊泡。当胆固醇与雌二醇比例为 1:1、胆固醇用量为 0.03g、水化时间 1.5h、超声次数 70 次时,可获得最佳囊泡,囊泡粒径大小约为 400nm。由此证实,雌二醇可作为囊泡的膜材料。该方法为开发新型药物载体提供了可能,为今后研究对前列腺组织具有靶向作用的载药囊泡提供了依据。

参考文献:

[1] 陆广利,杜正彩,邓家刚. 前列腺炎临床治疗研究进展[J]. 亚太传统医药,2015,11(8):40-42. DOI:10.11954/ytctyy. 201508020.

[2] 郭应禄,李宏军. 前列腺炎的预防[J]. 中华男科学,2002,8(3):157-161. DOI:10.3969/j. issn. 1009-3591. 2002. 03. 001.

[3] 肖向茜,符蓉,张立国,等. 前列腺间质细胞中雌二醇对 MMP-2, MMP-9 及其组织抑制因子表达的影响[J]. 中国病理生理杂志,2007,23(11):2248-2252. DOI:10.3321/j. issn:1000-4718. 2007. 11. 037.

[4] 张波,王慧云,全先高. 非离子表面活性剂囊泡作为头孢匹胺钠药物载体的研究[J]. 济宁医学院学报,2011,34(4):236-239,242. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-9760. 2011. 04. 003.

[5] 张波,王慧云,全先高,等. 5-氟尿嘧啶的囊泡制备及体外释放研究[J]. 中国现代医学杂志,2012,22(25):42-45.

[6] 邓超,孟风华,程茹,等. 多功能生物可降解聚合物纳米药物载体:设计合成及在肿瘤靶向治疗上的应用[J]. 科学通报,2015,60(15):1339-1351. DOI: 10.1360/N972015-00141

[7] 丁林,王慧云,周萧云,等. 双子表面活性剂及 NaCl 对氧氟沙星囊泡性质的影响[J]. 中国药理学杂志,2013,48(18):1564-1569. DOI: 10.11669/cpj. 2013. 18. 014.

[8] 丁林,王慧云,辛姗姗,等. 复乳冻干法制备甲氨蝶呤囊泡[J]. 中国药理学杂志,2014,49(15):1327-1332. DOI:10.11669/cpj. 2014. 15. 013.

[9] 孔霞,全先高,盛筱,等. 非离子表面活性剂囊泡作为阿司匹林药物载体的研究[J]. 济宁医学院学报,2010,33(1):8-10. DOI:10.3969/j. issn. 1000-9760. 2010. 01. 003.

[10] 张波,王启平,王慧云,等. 正交实验优化甲氨蝶呤囊泡的制备[J]. 济宁医学院学报,2015,38(4):247-250. DOI:10.3969/j. issn:1000-9760. 2015. 04. 005. 26(34):4835-4856

[11] 林宁,肖学成,饶泽萍,等. 阿司匹林缓释胶囊的释放度与生物利用度研究[J]. 中国药房,2002,13(6):330-332. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-0408. 2002. 06. 004.

[12] Yamanaka M, Yokota S, Iwao Y, et al. Development and evaluation of a tacrolimus cream formulation using a binary solvent system[J]. Int J Pharm, 2014, 464(1/2): 19-26. DOI:10.1016/j. ijpharm. 2014. 01. 017.

[13] 叶仕锋,陈日来,李玉珍,等. 他克莫司类脂囊泡的构建及表征[J]. 中国药房,2015,26(34):4853-4856. DOI 10.6039/j. issn. 1001-0408. 2015. 34. 33.

(收稿日期 2015-10-14)