

纳米混悬剂的制备、表征及其应用研究进展

陈充抒¹, 梁艳¹, 梁莉² 综述, 陈虹³ 审校

【关键词】 纳米混悬剂; 难溶性药物; 制备方法; 表征; 应用

【中国图书分类号】 R945

在药物研制中发现,近40%的药物是水难溶性的,一些药物甚至难溶于有机溶剂,导致其生物利用度低不能使充分发挥疗效^[1],使一些药物在研制开发过程中面临溶解度低、药物稳定性低,口服吸收差等问题,将会直接导致药物生物利用度低。而常规制剂技术难以解决难溶性药物溶解度的问题,严重阻碍高效制剂产品的研发。目前,发现纳米混悬技术给这些难溶性药物提供了重现自身价值的机会。现对纳米混悬剂制备方法、表征及其应用的研究进展做一综述。

1 纳米混悬剂的制备

1.1 制备条件 纳米混悬剂是用特殊的技术将药物直接制备成纳米大小的粒子,并借助于表面活性剂等对其进行稳定而得到的给药系统。与脂质体、胶束、聚合物纳米粒等使用了大量药物辅料的给药系统相比,纳米混悬剂是近乎“纯药物”的纳米颗粒^[2,3],与传统上的基质骨架型纳米体系不同,纳米混悬剂无需载体材料,它是通过表面活性剂的稳定作用,将纳米尺度的药物粒子分散在水中形成稳定的体系,具有最大限度的载药量和药物传输效率,特别适合大剂量难溶性药物的口服和注射给药,与普通混悬剂最主要的区别在于其药物粒子的粒径小于1 μm,多数在150~800 nm的范围内。不论是难溶性药物,还是水和油都不易溶的药物,均可通过该方法制备得到相应的纳米混悬剂。由于纳米粒子具有较大的表面积,药物溶出速度和程度均较高,进而提高了生物利用度,加之远高于其他纳米制剂的载药量,这使得那些溶解性差的抗生素类药物、抗肿瘤药物和一些治疗窗窄的药物能更好的发挥作用,纳米混悬剂已成为目前解决难溶性药物应用于临床的最有效的载体和途径。

1.2 制备方法

1.2.1 分散法^[4] 将药物大颗粒分散到纳米范围并稳定下来,包括介质研磨法、高压匀质法、微射流等。

1.2.1.1 介质研磨法 此法需要专用设备介质研磨机,介质研磨机主要由研磨室、研磨杆和一个再循环室组成。介质研磨法是将药物粉末分散在表面活性剂溶液中,再将研磨介质和药物粉末的分散液放入介质研磨机的研磨室内,在研磨杆的高速剪切运动下,使药物粒子之间及其研磨

介质、研磨室内壁发生猛烈的碰撞,从而粉碎得到纳米级的药物粒子^[5]。得到的混合物通过滤网分离,使研磨介质和大颗粒截留在研磨室内,小粒子药物则进入再循环室,再循环室内中的药物粒径如达到粒径要求则可取出,其余进入新一轮的研磨,从而粉碎得到纳米级的药物粒子。研磨介质一般为玻璃粒子、氧化铝粉末或高交联聚苯乙烯树脂^[6]。用该法得到纳米混悬剂所需时间从几个小时到几天不等。研磨可一次或多次进行。一般用此法制备纳米混悬剂会受到药物含量、研磨球数量、研磨速度、研磨时间和温度等因素的影响。Indrajit等^[7]采用诺华制药提供的NVS-102化合物采用湿法研磨技术,把15~20 μm大小的微粒研磨成粒径在260~500 nm之间的粒子。该法的优点是不仅适用于水溶性差药物,还适用于那些水溶性和有机溶剂溶解均差的药物,且得到的纳米混悬剂的粒径分布范围窄,制备过程简单,利于推广。但与高压匀质法相比,因研磨介质磨损而导致有毒物质进入制剂,所以静脉注射纳米混悬剂不适用此法制备。

1.2.1.2 高压匀质法 先将药物微粉化制成混悬液,药物混悬液通过高压均质机的柱塞泵吸入并加压,在柱塞作用将药物混悬液挤压进入压力大小可调的阀组中,经过特定宽度的限流缝隙(工作区)后,瞬间失压的药物混悬液以极高的流速(1000~1500 m/s)喷出,碰撞在阀组件之一的冲击环上,利用其产生的空穴效应、撞击效应和剪切效应,从而将微分化的药物进一步粉碎为纳米尺寸的粒子,同时降低药物粒径的多分散性。本法可一步完成,也可分两步完成,即经过两个串联的均质阀,第一个匀化阀的压力将较大,主要起分散混悬剂的作用,第二个匀化阀的压力将低于第一个,以提高纳米混悬剂的稳定性。Xiong等^[8]利用此法制备尼莫地平纳米混悬剂,并考察了匀质压力和匀质次数对粒径大小及粒径分布的影响。采用直接高压匀质法可避免有机溶剂的加入,适用于既难溶于水也难溶于油的药物,而且工艺的重现性好,但需将药物微粉化,其粒径不大于25 μm。

1.2.2 凝聚法 药物溶液通过控制结晶或沉淀形成纳米级别的药物粒子。常见的有超临界流体技术、沉淀法、压缩流体法、重力场控制沉淀技术、溶剂蒸发沉降法、类乳化溶剂扩散法及固态反相胶束溶液法等。在实际应用中,经常不同方法配合使用,最常见的是和高压匀质的联合使用。为了得到稳定的药物制剂,还需要在体系中加入一些调节剂。例如牛血清白蛋白、聚维酮、十二烷基硫酸钠、吐温-80、羧甲基纤维素钠等,还需要加入缓冲液、盐、多元醇、一些渗透压调节

作者简介:陈充抒,本科学历,主任药师,E-mail: 1013ccs@sina.com

作者单位:100039 北京,武警总医院:1.药剂科,2.超声科,3.300162 天津,武警后勤学院药理学教研室

通讯作者:梁艳,E-mail: ly_w.j@163.com

剂和抗冻剂等附加剂以满足不同需要^[5]。

1.2.2.1 沉淀法 沉淀法是将药物溶解到一定的溶剂中形成溶液,这一溶剂称为良溶剂;然后将药物的良溶剂溶液加入到另一不能溶解药物的溶剂中,这一溶剂称为不良溶剂。在含有药物的良溶剂滴加到不良溶剂的过程,药物浓度过饱和,而析出结晶,通过控制析晶条件组建纳米粒子。该技术涉及两个关键的阶段,即晶核的形成和成长。只有晶核形成快而成长慢才能得到最小粒径的稳定混悬液。两个阶段都受温度、药物的过饱和度和机械搅拌的影响。理想的成核温度应低于成长温度。少量药物溶于与水互溶的溶剂,再与水快速混合而产生的高过饱和度会使药物自发成核。随着晶核周围过饱和程度降低、晶核成长变慢,结晶生长受到抑制,最终可得到纳米粒径的药物结晶。Swarnali等^[9]利用此技术制备两性霉素B纳米混悬剂并进行了该制剂对眼部耐受力的测试。

沉淀法的优点是操作简便,生产过程可以一步完成,消耗的机械力较小,适用于稳定性较差的药物。但是应用沉淀法的前提条件有两点:(1)药物至少能溶于一种良溶剂中;(2)这一良溶剂需要和不良溶剂混溶,因此不适合既不溶于水又不溶于非水溶剂的药物。由于制备过程中使用了有机溶剂,涉及到有机溶剂的残留和后处理问题,在去除有机溶剂时可能造成药物粒径的变化,还会破坏环境并影响人体使用的安全性。

1.2.2.2 超临界流体技术 这是一项近10年发展起来的制备超细微粒的新技术。在超临界条件下,溶质的溶解度可随温度和压力在较大范围内调节,降低压力可以导致过饱和,且可以达到高的过饱和度,固体溶质从超临界流体中沉析出来,形成平均粒径较小的均匀粒子。Shin等^[10]通过超临界流体反溶剂技术制备了维生素K纳米粒,并考察了制备条件对实验结果的影响。与传统的粉碎机结晶技术相比,使用超临界流体可避免大量使用有机溶剂及由此造成的环境污染,且无需为了去除产品中残留的有机溶剂进行繁琐的操作,是国际上公认的绿色技术。

1.2.2.3 纳米喷雾干燥法 本法是通过控制喷嘴的大小来调节药物粒径,将药物溶于有机良溶剂(水溶性药物直接用水做溶剂)进行喷雾干燥,所得药物颗粒用含有稳定剂的水相分散即得纳米混悬剂。此法操作简单、药物粒径可控,但是对于比重特小的药物来说,再次用水相分散不易形成较好均一的混悬液。

总之,难溶性药物纳米混悬剂的几种制备方法都各有优、缺点,如果单独使用不能保证制备效果,可以考虑几种制备方法联合使用增加制备效果。有专家报道将高压匀质法和沉淀法联合使用制备紫衫醇纳米混悬剂^[9]。在制备过程中先用沉淀法制备得到药物结晶的初悬液,将初悬液旋转蒸发除去有机溶剂,所得到的浓缩液置高压匀质机中利用高压匀质机获得粒径更加均匀的产品。这样克服了沉淀法生产的产品粒径不均匀,容易团聚的问题。将不同制备方法相结合用于制备难溶性药物纳米混悬剂具有广泛的开

发前景。

2 纳米混悬剂的表征

2.1 粒径、粒径分布及其电位 纳米混悬剂粒径大小和粒径分布直接影响药物的溶解度、溶出速率以及物理稳定性。粒径及其分布的测定可以采用光子相关光谱、激光衍射和动态光散射。多分散指数(polydispersity index, PI)是衡量粒径分布均匀与否的标准,PI值0.1~0.25之间,说明纳米混悬剂粒径分布越窄,大于0.5说明粒径分布广,即粒径分布不均匀^[11]。较宽的粒径分布是发生奥斯特瓦尔德熟化的最重要原因,导致晶体快速成长和粒子聚集,导致制剂不稳定,因此控制合适的粒径分布是很必要的,一般在150~350 nm之间相对稳定。故制剂制备过程中除需选择良好的表面活性剂外,工艺条件的控制也必不可少。

纳米混悬剂 Zeta 电位的大小是影响其稳定性的重要因素。对于纳米混悬液,纳米粒子之间的排斥作用也有利于胶体分散体的长期稳定。一般认为,同时存在有静电稳定作用和空间稳定作用时,Zeta电位的绝对值20 mV就可以维持纳米混悬剂的稳定,因为静电稳定作用赋予粒子空间足够的立体排斥力;当只有静电稳定作用时,混悬剂的 Zeta 电位绝对值超过30 mV才能维持整个体系的稳定^[12]。

2.2 制剂晶型和外观研究 由于制备工艺的差异,同一化学结构的药物可能呈现不同的晶型,产生多晶型,多晶型药物因晶型不同会在稳定性、溶出度和生物利用度方面产生影响,进而影响药物的安全性。因此,对纳米混悬剂晶体形态的研究是很必要的,X线衍射法和差示热量扫描法(differential heat scanning, DSC)常用于确证药物的晶型。XRP法能区分无定型态和结晶型态,结晶态的药物通常有一个尖锐的熔点峰,在无定型态中则没有。另外,DSC常作为X线衍射法的补充,不同晶型间的熔点可能不同,DSC可用来区分不同的晶型。对于微粒的外观形态,常用扫描电子显微镜、透射电子显微镜和原子力显微镜进行考察。

2.3 饱和溶解度和溶出速率 提高难溶性药物的饱和溶解度和溶出速率是纳米混悬剂的主要优势之一,纳米混悬剂的使用过程中,纳米粒子溶解和释放速率直接影响药物的吸收速度和程度,因而与药效密切相关。固体纳米粒子需要溶解为分子形式后才可发挥治疗作用,而药物分子的形成速度取决于纳米粒子的溶出速率。在特定的溶解介质中,结合透析袋法和溶出度法可测定不同纳米混悬剂的溶出速率^[13]。根据 Ostwald - Freundlich 方程和 Noyes - Whitney 方程^[14],增加纳米粒子的饱和溶解度可提高药物溶出速率^[15]。饱和溶解度的测定通常将药物的过饱和溶液在恒温条件搅拌或振荡直到溶解达到平衡,采用高效液相进行浓度测定。

2.4 纳米混悬剂的稳定性 纳米混悬剂属于热动力学不稳定体系,其稳定性主要由粒径来决定,与大粒子相比,小粒子比表面积大,具有较高的表面能,因此粒子相互接触碰撞的机会增加,同时粒子间存在较强的相互吸引力,分子间相互作用力增强,粒子很容易发生不可逆聚集以降低其表面

能^[16,17]。所以,通常使用适量的稳定剂来提供给粒子足够的空间为阻力或静电斥力,以防止粒子聚集。

3 纳米混悬剂的应用

纳米混悬剂在开发难溶性药物方面得到了日益广泛的应用,但国内对纳米混悬剂的研究才刚刚起步,而国外发展迅速,迄今为止已有3种纳米混悬剂获准上市。如乳腺癌治疗药物紫杉醇静脉注射剂^[18],采用壳聚糖和油酸甘油制备,粒径为(432.5 ± 37.1) nm,疗效几乎是 Cremophor-EL 溶媒紫杉醇制备的2倍;免疫抑制剂西罗莫司的口服纳米混悬剂^[19],生物利用度较口服溶液高了近1倍;止吐药阿瑞吡坦^[20]纳米混悬剂其生物利用度比普通混悬剂提高4倍。除此之外白消安、布地奈德、胰岛素等纳米混悬剂正处在不同的临床试验阶段。

3.1 提高制剂的安全性 目前用于药物制备的辅料中有些对人体会产生不安全的影响,通过将药物制成纳米混悬剂可以减少或消除这些影响。例如,市售依托泊苷注射液为增加其溶解度,加入大量的吐温-80、聚乙二醇、乙醇等溶剂增溶,刺激性大,使用过程中药物容易析出,患者顺应性差。另外,依托泊苷注射液的不良不良反应为骨髓抑制,可使患者白细胞和血小板减少等。作为一种内源性物质,白蛋白具有良好的组织相容性,可生物降解,没有毒性和免疫原性,以白蛋白为稳定剂制备的依托泊苷纳米混悬剂其骨髓抑制作用明显低于市售依托泊苷注射液^[21]。Kayser等^[22]研究表明,阿非迪霉素纳米混悬剂的半数有效浓度是用二甲亚砜助溶溶液的5倍。Peters等^[23]将抗微生物药物氯法齐明制备成纳米混悬剂后,给接种病菌的小鼠静脉注射使用,结果表明,虽然两组制剂针对小鼠肺部感染上没有显著性差异,但在小鼠的肝脏和脾脏的感染程度明显低于脂质体组。

3.2 提高生物利用度 She等^[24]利用乳化扩散法制备得到了口服灯盏花素纳米混悬剂,粒径为(293.11 ± 55.86) nm,在给予相同剂量的情况下,给大鼠灌胃后进行了药代动力学研究,结果发现灯盏花素纳米混悬剂与普通混悬剂相比,纳米混悬剂在大鼠体内的C_{max}和AUC分别为(358.9 ± 80.26) ng/ml和(4520.4 ± 1157.3) ng/(h·ml),而普通混悬剂分别为(84.59 ± 128.4) ng/ml、(408.2 ± 288.3) ng/(h·ml),其绝对生物利用度较普通纳米混悬剂提高了近11倍。Wang等^[25]将水飞蓟素制备成纳米混悬剂,并对其进行了比格犬药代动力学的研究,与未研磨的水飞蓟素药物相比,药物在血液中的药物分布情况如图1。

由图1可以看出,该纳米混悬剂的达峰时间显著缩短2/3,C_{max}和AUC分别提高了1.78倍和3倍。这主要是由于将水溶性差的药物制备成纳米混悬剂后,药物的粒径显著减小,比表面积增大,使溶解度和溶出速率均增加,加强药物的口服吸收,进而提高药物生物利用度。

3.3 提高物理稳定性 10-羟基喜树碱具有酯环结构,在碱性条件下内酯环容易开环,开环后药物失去药理活性。付

强等^[26]通过此技术制备了平均粒径为131 nm、zeta电位为-25.5 mV的10-羟基喜树碱纳米混悬剂,稳定性实验表明,在pH 7.0~8.0内,开环结构不到10%,相反,此条件下溶液剂几乎全部开环,体外溶出实验表明,与粗混悬剂相比,纳米混悬剂的生物利用度明显提高,主要是因为其平均粒径小和多分散指数小,增加其物理稳定性。

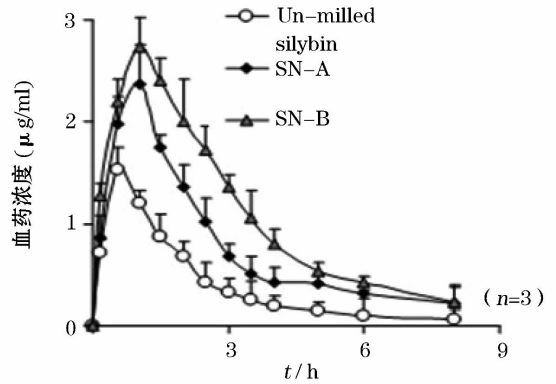


图1 不同剂型水飞蓟素口服给药后的血药浓度-时间曲线

3.4 提高对体内黏膜组织的黏附性 小球隐孢子虫是引起艾滋病患者严重腹泻的主要致病菌,布帕伐醌纳米混悬剂不仅能直接作用于胃肠道黏膜上的病原菌,而且能够克服患者因腹泻导致的药物流失。体内实验显示布帕伐醌纳米混悬剂比普通混悬剂的大鼠胃肠道感染指数低^[27]。主要原因是纳米混悬剂药物粒径小、比表面积大,因此对黏膜的黏附性比较强,可延长药物在胃肠道的滞留时间,提高生物利用度。

3.5 实现靶向性 在炎症部位,由于一些病变生理学变化,如内皮细胞损伤,毛细管通透性增加,组织浸润等原因,影响了内皮细胞的完整性,导致一定大小的粒子可以被炎症组织摄取在炎症部位从而起到靶向的作用。研究表明粒径小于100 nm时能较高的被炎症组织摄取。如果要实现靶向给药,可以通过控制纳米混悬剂中药物粒子的粒径来实现或对其表面修饰来实现,目前比较成功的主要有纳米药物脑靶向和肺靶向,将达拉根纳米混悬剂用吐温-80和聚异丁基氰丙烯酸酯进行表面修饰后可实验脑靶向,用PEG对药物粒子进行表面修饰后,可延长药物在体内的循环时间,使之富集于炎症部位^[28]。

4 前景与展望

纳米混悬剂的用途十分广泛,除直接口服提高生物利用度外,也可以通过冷冻干燥、喷雾干燥转变为固体形式,制成片剂、丸剂、或胶囊等传统形式,以便保存和运输,还可以直接应用于注射给药,从而获得较高的生物利用度。以满足不同需要。

目前,已有超过20家公司正致力于将纳米技术用于药物传递系统^[29]。近年来,纳米混悬剂在解决难溶性药物溶解度方面发挥了巨大的作用。通过制剂手段将难溶性药物制成纳米给药系统可以增加难溶性药物的溶解度继而提高生物利用度,辅料用量少,不良反应小,同时制备工艺简单、具有规模化生产的可能,因此受到广大科研工作者的青睐。本文通过讨论纳米混悬剂的制备方法、表征及应用现状进行阐述,为纳米混悬剂新药的开发与研究提供思路和参考。

【参考文献】

[1] Lipinski C A. Drug like properties and the causes of poor solubility and poor permeability [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2000, 44 (1): 235 - 249.

[2] Rao G C, Kumar M S, Mathivanan N, *et al.* Nanosuspensions as the most promising approach in nanoparticulate drug delivery systems [J]. *Pharmazie*, 2004, 59(1): 5 - 9.

[3] Patravale V B, Date A A, Kulkarni R M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, 56(7): 827 - 840.

[4] Cornelia M K, Rainer H M. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation [J]. *Eur J PharmBiopharm*, 2006, 62(1): 3 - 16.

[5] 钱 帅, 张建军, 高 缘, 等. 纳米混悬剂研究进展 [J]. *药学进展*, 2007, 31(1): 9 - 14.

[6] 朱建芬, 吴祥根. 纳米混悬剂的制备方法及其在药剂学中应用研究进展 [J]. *中国医药工业杂志*, 2006, 37(3): 196 - 200.

[7] Indrajit G, Sonali B, Radha V, *et al.* Nanosuspension for improving the bioavailability of a poor soluble drug and screening of stabilizing agents to inhibit crystal growth [J]. *Int J Pharm*, 2011, 409(1 - 2): 260 - 268.

[8] Xiong R, Lu W, Li J, *et al.* Preparation and characterization of intravenously injectable nimodipine nanosuspension [J]. *Int J Pharm*, 2008, 350(1 - 2): 338 - 343.

[9] Swarnali D, Mpharm, Suresh PK, *et al.* Nanosuspension: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to amphotericin B [J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2011, 7(2): 242 - 247.

[10] Shin M S, Lee Y, Kim H, *et al.* Method for preparing nanoparticles comprising vitamin K and poly - isopropyl - butyl methacrylate - acrylic acid copolymer with supercritical fluid using molecular association theory: US, 20080152715(A1) [P], 2008 - 06 - 26.

[11] Mishra P R, Shaal L A, Müller R H, *et al.* Production and characterization of hesperetin nanosuspensions for dermal delivery [J]. *Int J Pharm*, 2009, 371(1 - 2): 182 - 189.

[12] 陈 莉, 汤 恣, 陆伟根. 纳米混悬剂粒径稳定性及其控制策略 [J]. *世界临床药物*, 2010, 31(4): 245 - 247.

[13] Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Preparation and evaluation of

nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs [J]. *Int J Pharm*, 2006, 312(1 - 2): 179 - 186.

[14] Carstensen J T. *Advanced Pharmaceutical Solids* [M]. New York: Marcel Dekker, 2001: 45.

[15] 熊若兰, 陆伟根. 纳米混悬剂研究进展 [J]. *世界临床药物* 2007, 8(2): 117 - 121.

[16] Wong J, Brugger A, Khare A, *et al.* Suspensions for intravenous (IV) injection: a review of development, preclinical and clinical aspects [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(8): 939 - 954.

[17] Kesisoglou F, Panmai S, Wu Y. Nanosizing - oral formulation development and biopharmaceutical evaluation [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(7): 631 - 644.

[18] Trickler W J, Nagvekar A A, Dash A K. A Novel Nanoparticle Formulation for Sustained Paclitaxel Delivery [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2008, 9(2): 486 - 493.

[19] 田治科. 西罗莫斯新制剂的制备及体内药物动力学研究 [D]. 浙江大学, 2005: 45.

[20] 王 勤, 顾王文. 应用纳米技术增加难溶性药物吸收的研究进展 [J]. *药学服务与研究*, 2009, 9(1): 48 - 51.

[21] 张 栋. 依托泊苷白蛋白纳米混悬剂的研究 [D]. 山东大学, 2011: 78 - 79.

[22] Kayser O, Olbrich C, Yardley V, *et al.* Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration [J]. *Int J Pharm*, 2003, 254(1): 73 - 75.

[23] Peters K, Leitzke S, Diederichs J E, *et al.* Preparation of a clofazimine nanosuspension for intravenous use and evaluation of its therapeutic efficacy in murine mycobacterium avium infection [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2000, 45(1): 77 - 83.

[24] She Z Y, Ke X, Ping Q N, *et al.* Preparation of Breviscapine Nanosuspension and its Pharmacokinetic Behavior in Rats [J]. *china journal of natural medicines*, 2007, 5(1): 50 - 55.

[25] Wang Y, Zhang D, Liu Z, *et al.* In vitro and in vivo evaluation of silybin nanosuspensions for oral and intravenous delivery [J]. *Nanotechnology*, 2011, 21(15): 1 - 12.

[26] 付 强, 孙 进, 何仲贵. 纳米结晶的研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(12): 933 - 960.

[27] Scholer N, Krause K, Kayser O, *et al.* Atovaquone nanosuspensions show excellent therapeutic effect in a new murine model of reactivated toxoplasmosis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(6): 1771 - 1779.

[28] Muller R H, Jacobs C, Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy Rationale for development and what we can expect for the future [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1): 3 - 19.

[29] Patricia V A. Nanotechnology advances in drug delivery [J]. *PharmTechnol*, 2007, 31(48): 50 - 52.

(2012 - 04 - 22 收稿 2012 - 11 - 20 修回)

(责任编辑 郭 青)