

# Nicomp 3000在脂质体递送中的客户应用(一)

Nicomp® 在线粒度仪

## 概述

Guan 等人<sup>1</sup>在研究胆盐脱氧胆酸钠 (SDC) 的脂质体作为口服给药系统,以提高难溶、低渗透药物环孢素A (CyA) 的口服生物利用的过程中,采用 Nicomp 3000 测量 CyA 脂质体的颗粒大小和 Zeta 电位。本文梳理整合《Enhanced oral bioavailability of cyclosporine A by liposomes containing a bile salt》中使用 Nicomp 3000 的实验方法和实验结果用以参考。

## 介绍

环孢素A (Cyclosporine A, CyA)是一种由11个氨基酸组成的亲脂性环状多肽,在临床上被用作一种有效的免疫抑制剂,用于预防各种器官移植中的同种异体移植排斥反应,以及治疗全身和局部自身免疫性疾病。尽管 CyA 具有巨大的治疗价值,但其最初的油基口服制剂(Sandimmune®)由于分子量高、刚性环结构和水溶性差,表现出较高的个体变异性和较差的生物利用度。

p-糖蛋白介导排出肠细胞、广泛全身代谢前肠壁和肝脏,进一步降低了CyA的口服生物利用度。目前临床上可用的 CyA 商业产品是以微乳为基础的预浓缩制剂(Sandimmune Neole®),该制剂显示出相对较高的治疗口服生物利用度,且变异性较小。

## SPC/SDC脂质体制备

取圆底烧瓶,将SPC、SDC和CyA溶解于二氯甲烷/乙醇(9/1, V/V) 溶液中,通过旋转蒸发仪在30°C水浴去除有机溶剂。干燥的脂膜在真空中保持2小时,以去除微量的溶剂。然后在40°C下通过磷酸缓冲溶液(50 mM, pH7.4)进行复溶30分钟,得到脂质体粗分散体。

然后进行高压均质,得到粒径更小的脂质体。脂质体在4°C下保存至使用。对于SPC/Chol脂质体的制备,其步骤类似,使用Chol 替换SDC。

在不同均质参数、配方变量(SPC/SDC 的比例、SPC 的浓度和 CyA 负载量)下制备了不同脂质体并进行了相应的实验:

① 使用不同的均质压力(50,100,150,200bar),不同的均质次数(5,10,15,20,25次)制备脂质体,测量不同均质参数下 CyA 脂质体的颗粒大小。

② 使用不同的SPC/SDC 的比例(3/1、4/1、5/1、6/1、9/1)、不同的SPC 的浓度(1%、2%、3%、4%、5%、6%)和不同的 CyA 负载量(0.8、1.2、1.6、2、2.4 mg/mL)制备脂质体,测量不同浓度配比下 CyA 脂质体的颗粒大小。

## 方法

粒径对脂质体的体外和体内性能都有显著影响,影响脂质体粒径的因素包括均质参数、配方变量(SPC/SDC 的比例、SPC 的浓度和 CyA 负载量)等。

粒径检测参数设置:

检测温度:23°C;

检测时间:5分钟;

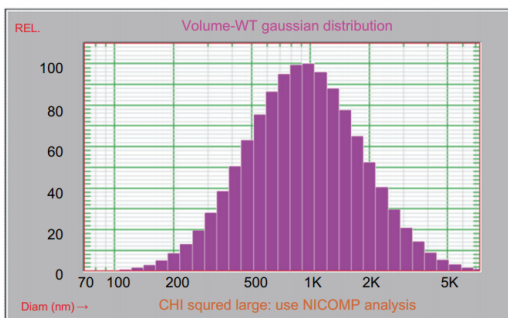
检测角度:90°;

通过ZPW388软件进行数据分析,分析高斯分布下体积粒径分布结果。同时,也用NicompTM 3000测试样品Zeta电位。

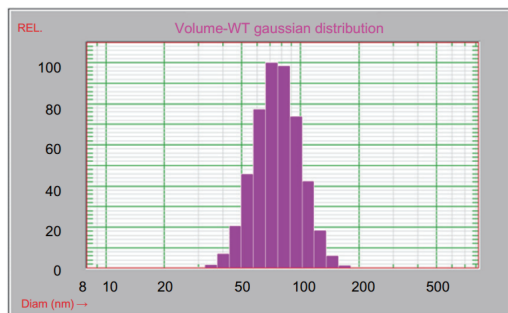
## 结果-均质参数对粒径的影响

我们研究了几个因素对脂质体颗粒大小和分布的影响。如图 1A 和图 1C 所示, SPC/SDC 脂质体在均质前通常为 1  $\mu\text{m}$ 大小,并表现出较宽的尺寸分布。均质后脂质体的粒径和分散性指数(PI)显著减小,当均质压力增加到 100bar 时,脂质体的直径最小(约80 nm)(图1B, 1C)。

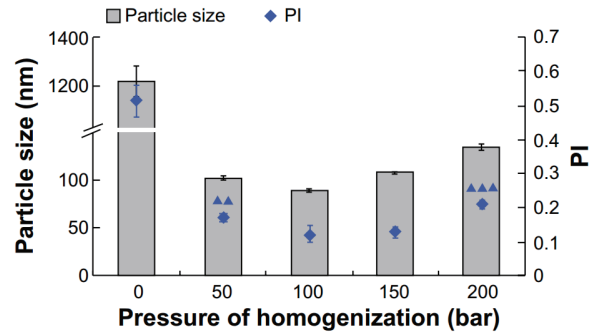
A



B



C



D

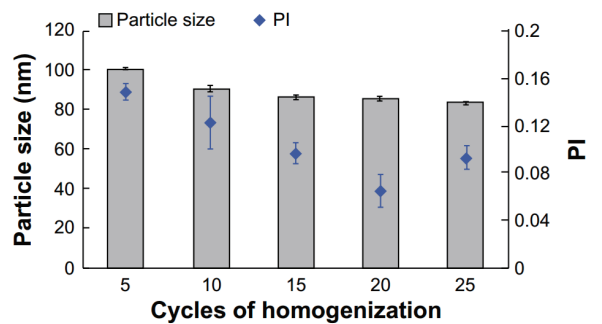


图1均质参数对环磷酸胺SPC/SDC脂质体粒径和PI(多分散系数)的影响。缩写: Chol, 胆固醇; CyA, 环孢素A; PI, 多分散指数; SPC, 大豆磷脂酰胆碱; SDC, 脱氧胆酸钠。(A)和(B)显示了均质前加载 CyA 的 SPC/SDC 脂质体的尺寸分布。粒径和 PI 与不同因素, 包括均质压力(▲▲ $P < 0.01$  比较 100 和 150 bar 的 PI; ▲▲▲ $P < 0.001$  比较 100 和 150 bar 的 PI) (C) 和均质次数 (D) 显示。数据以平均值±标准差( $n=3$ )表示。

然而,当均质压力进一步增加到 200bar 时,颗粒尺寸和 PI(多分散系数)显著增加( $P < 0.01$ )。这一现象可以用均质大剪切力作用下囊泡的破裂和聚集来解释。此外,在 100bar 的均质压力下均质次数大于 5 次,颗粒大小没有明显变化( $P > 0.05$ )(图1D)。然而,当均质次数增加到 20 次时,PI(多分散系数)最低,25次均质后可能发生破裂和聚集,导致 PI 增加(图1D)。因此,我们选择了100bar或200bar的均质压力来制备 SPC/SDC 脂质体,用于后续的研究。

为了获得与 SPC/SDC 脂质体相近的平均粒径,选择 300bar 均质20次来均质 SPC/Chol 脂质体,但其柔韧性较差。此外,微米级的脂质体常为多层结构,通常通过薄膜分散法制备而得。进一步的均质可能会产生单层脂质体。

## 结果-配方变量对粒径的影响

SPC/SDC 的比例、SPC 的浓度和 CyA 负载量也对粒径和分布有显著影响。在 SPC/SDC 比率为 3/1 时, 粒径约为 80 nm, PI 为 0.1。SPC/SDC 比率从 3/1 增加到 4/1 ( $P > 0.05$ , 图 2A) 时, 双层结构的粒径没有显著变化。相反的是, 继续增加 SPC/SDC 含量至 6/1 或 9/1, 粒径和 PI 值显著增加 (图 2A)

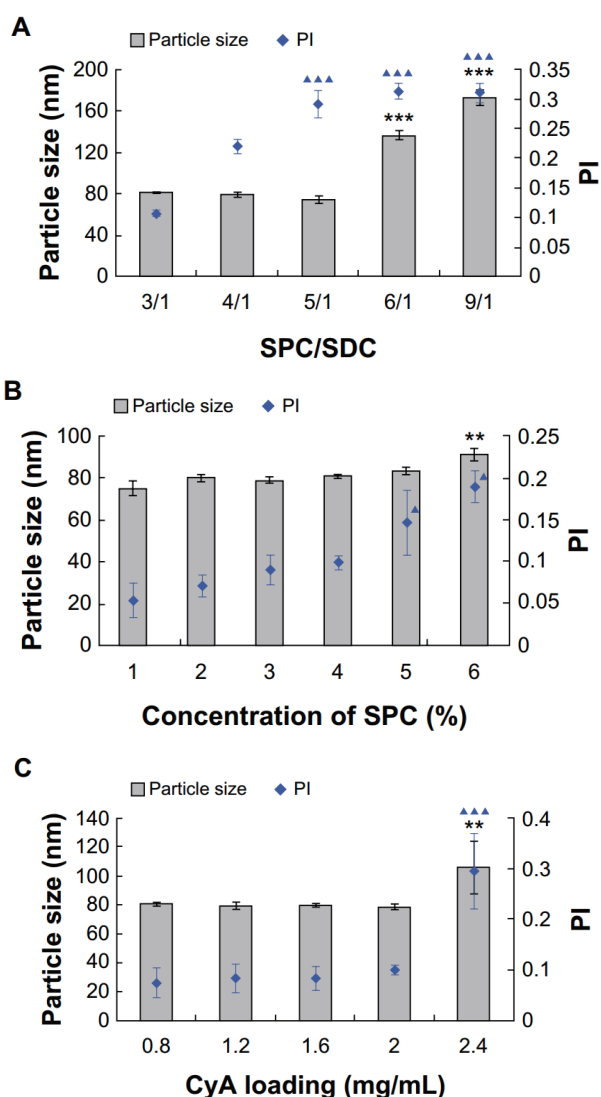


图2 配方变量对CyA-SPC/SDC脂质体粒径和PI(多分散系数)的影响。缩写:CHOL, 胆固醇;CyA, 环孢素A;PI, 多分散指数;SPC, 大豆磷脂酰胆碱;SDC, 脱氧胆酸钠。SPC/SDC(A)的比例( $***P < 0.001$ , 比较两组的颗粒大小;  $***P < 0.001$ , 以3/1和4/1的比例比较PI); SPC(B)的浓度( $**P < 0.01$ , 比较两组的颗粒大小;  $\blacktriangle P < 0.05$ , 比较两组的PI); CyA载量(C)( $**P < 0.01$ , 比较两组的颗粒大小;  $\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle P < 0.001$ 比较两组的PI)。数据以平均值±标准差( $n=3$ )表示。

脂质双分子层的粒径和 PI 值随着 SDC 含量的减小而减小可能是由于囊泡的柔韧性增加和表面张力降低所致。通过 DHA/SDC 二元混合物制备, 增加 SDC 含量, 会降低得到悬浮液的粒径。

进一步研究了 SPC 浓度对颗粒大小和PI的影响, 结果表明, 将 SPC 的重量比提高到 4% ( $P > 0.05$ ), 对颗粒大小和 PI 没有显著影响。(图 2B)。然而, 当 SPC 的重量比达到 6% 时, 脂质体略有增大, PI 增加, 这可能是由于 SPC 浓度升高导致粘度增加(图 2B)。

当 CyA 浓度低于 2 mg/mL 时, 载药量对颗粒大小和PI无显著影响( $P > 0.05$ )。然而, 当 CyA 负载为 2.4 mg/mL 时, 颗粒大小和 PI 显著增加(图 2C)。可能是未封装药物的再结晶和表面张力的显著增加。

## TEM结果

图 3 显示了装载 CyA 的 SPC/SDC 脂质体的 TEM 照片。载有 CyA 的 SPC/SDC 脂质体的粒径约为 90 nm, 这与通过粒径测量获得的结果具有良好的相关性。

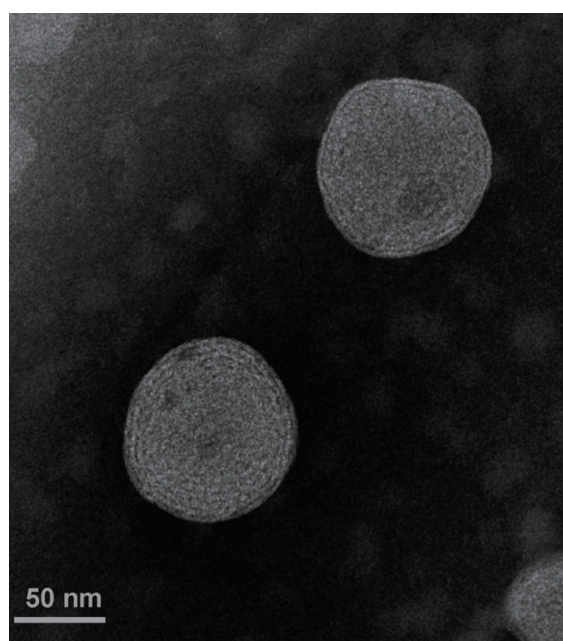


图3 载有 CyA 的 SPC/SDC 脂质体的 TEM 形态。缩写: CyA, 环孢素A; SPC, 大豆磷脂酰胆碱; SDC, 脱氧胆酸钠。

## 结论

在研发脂质体递送提高药物生物利用率过程中, Nicomp 3000 能稳定且快速对脂质体颗粒大小、颗粒分布、Zeta电位进行表征, 此外还可搭配PSI微射流均质机、AccuSizer颗粒计数器、德国LUM稳定性分析仪, 为脂质体的研发、生产和质量控制提供整套解决方案。

## 参考资料

- 1 Peipei Guan, Yi Lu, Jianping Qi, Mengmeng Niu, Ruyue Lian, Fuqiang Hu, Wei Wu, Enhanced oral bioavailability of cyclosporine A by liposomes containing a bile salt

如需更多信息, 请致电客户服务中心, 了解奥法美嘉能为您做些什么。  
访问Alpharmaca.com并选择“联系我们”链接, 以找到离您最近的客户服务中心。

销售条款和条件所有采购均服从奥法美嘉的销售条款和条件。



上海奥法美嘉科技有限公司

上海市 闵行区 浦江镇 浦江高科技园F区  
新骏环路 588 号 23 幢 402 室

Customer Service  
Tel: 400-829-3090  
Email: info@Alpharmaca.com



官方公众号



官方服务号