



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111135142 A

(43)申请公布日 2020.05.12

(21)申请号 202010049561.6

A61P 35/00(2006.01)

(22)申请日 2020.01.16

A61P 39/06(2006.01)

(71)申请人 兰州大学

A61P 1/04(2006.01)

地址 730014 甘肃省兰州市城关区天水南路222号

A61P 1/06(2006.01)

A61P 21/02(2006.01)

(72)发明人 张晓云 乔华 刘春香

(74)专利代理机构 北京中誉威圣知识产权代理有限公司 11279

代理人 贾慧娜

(51)Int.Cl.

A61K 9/107(2006.01)

A61K 47/14(2006.01)

A61K 47/26(2006.01)

A61K 47/10(2006.01)

A61K 31/12(2006.01)

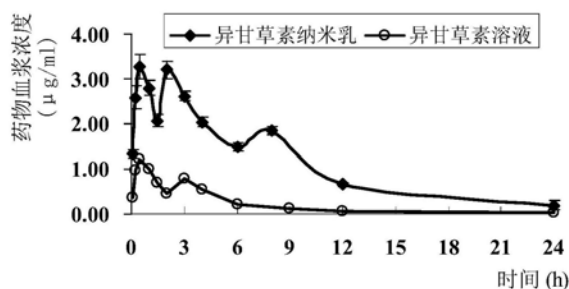
权利要求书1页 说明书9页 附图6页

(54)发明名称

一种异甘草素纳米乳及其制备方法

(57)摘要

本发明提供一种异甘草素纳米乳,所述异甘草素纳米乳由异甘草素和辅料组成;所述辅料由以下体积百分比的各组分组成:油相20-40%,混合乳化剂35-48%,蒸馏水18-40%;所述异甘草素和辅料的比例为0.2-1.0g:100ml;所述混合乳化剂由乳化剂和助乳化剂组成;所述乳化剂和助乳化剂的质量比为:0.8-1.8:1。本发明还提供其制备方法。本发明的异甘草素纳米乳能够提高异甘草素的溶解度,提高药物的生物利用度和药理活性。



1. 一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述异甘草素纳米乳由异甘草素和辅料组成;所述辅料由以下体积百分比的各组分组成:油相20-40%,混合乳化剂35-48%,蒸馏水18-40%;

所述异甘草素和辅料的比例为0.2-1.0g:100ml;

所述混合乳化剂由乳化剂和助乳化剂组成;所述乳化剂和助乳化剂的质量比为:0.8-1.8:1。

2. 根据权利要求1所述的一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述油相为过氧化二碳酸二异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯或辛酸癸酸三甘油酯;优选过氧化二碳酸二异丙酯。

3. 根据权利要求1所述的一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述乳化剂为Tween-20、Tween-80或泊洛沙姆188;优选Tween-20。

4. 根据权利要求1所述的一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述助乳化剂为正丁醇、聚乙二醇400或聚乙二醇600;优选正丁醇。

5. 根据权利要求1所述的一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述乳化剂和助乳化剂的质量比为1:1。

6. 根据权利要求1所述的一种异甘草素纳米乳,其特征在于:所述混合乳化剂和油相的质量比为9:1-1:9;优选质量比为6:4。

7. 权利要求1-6任一项所述的异甘草素纳米乳的制备方法,其特征在于:采用水滴定法制备。

8. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于:将异甘草素溶于油相,超声完全溶解,然后向其中加入乳化剂和助乳化剂,在搅拌条件下逐滴加入蒸馏水。

9. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于:所述搅拌时的搅拌速度为200r/min-800r/min;优选搅拌速度为500r/min。

10. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于:加入蒸馏水时,滴加速度为1min/1100 $\mu$ l-7min/1100 $\mu$ l;优选滴加速度为5min/1100 $\mu$ l或1min/1100 $\mu$ l;最优选滴加速度为5min/1100 $\mu$ l。

## 一种异甘草素纳米乳及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药制剂技术领域,具体涉及一种异甘草素纳米乳及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 异甘草素(Isoliquiritigenin)是一种具有多种药理活性和药用潜质的黄酮类候选化合物。其最初因分离自豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch)的干燥根及根茎而得名,为甘草的主要有效成分之一。大量文献资料研究显示:异甘草素具有明显的抗癌、抗氧化、抗衰老、抗溃疡、解痉、提高人体免疫力的功效;还是抗爱滋病(HIV)的有效成分;由于其可抑制糖醛还原酶,减少山梨醇在红细胞中聚集,也可用于糖尿病的辅助治疗。因此,异甘草素具有广阔的开发前景,但异甘草素的水溶性差,口服给药后生物利用度低,本申请人研究发现其大鼠口服生物利用度为22.70~33.62%,异甘草素虽然具有多种药理学活性但有待于进一步提高。

### 发明内容

[0003] 为了解决现有技术中存在的问题,本发明提供了一种异甘草素纳米乳及其制备方法。可以明显提高药物的溶解度,口服或注射给药后,可明显提高生物利用度和药理活性。

[0004] 本发明提供一种异甘草素纳米乳,所述异甘草素纳米乳由异甘草素和辅料组成;所述辅料由以下体积百分比的各组分组成:油相20-40%,混合乳化剂35-48%,蒸馏水18-40%;

[0005] 所述异甘草素和辅料的比例为0.2-1.0g:100ml;

[0006] 所述混合乳化剂由乳化剂和助乳化剂组成;所述乳化剂和助乳化剂的质量比为:0.8-1.8:1。

[0007] 优选地,所述油相为过氧化二碳酸二异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯或辛酸癸酸三甘油酯;优选过氧化二碳酸二异丙酯。

[0008] 优选地,所述乳化剂为Tween-20、Tween-80或泊洛沙姆188;优选Tween-20。

[0009] 优选地,所述助乳化剂为正丁醇、聚乙二醇400或聚乙二醇600;优选正丁醇。

[0010] 优选地,所述乳化剂和助乳化剂的质量比为1:1。

[0011] 优选地,所述混合乳化剂和油相的质量比为9:1-1:9;优选质量比为6:4。

[0012] 本发明提供上述异甘草素纳米乳的制备方法,采用水滴定法制备。

[0013] 优选地,将异甘草素溶于油相,超声完全溶解,然后向其中加入乳化剂和助乳化剂,在搅拌条件下逐滴加入蒸馏水。

[0014] 优选地,所述搅拌时的搅拌速度为200r/min-800r/min;优选搅拌速度为500r/min。

[0015] 优选地,加入蒸馏水时,滴加速度为1min/1100 $\mu$ l-7min/1100 $\mu$ l;优选滴加速度为5min/1100 $\mu$ l或1min/1100 $\mu$ l;最优选滴加速度为5min/1100 $\mu$ l。

[0016] 本发明的异甘草素纳米乳能够提高异甘草素的溶解度,提高药物的生物利用度和

药理活性。

### 附图说明

[0017] 附图用来提供对本发明的进一步理解,并且构成说明书的一部分,与本发明的实施例一起用于解释本发明,并不构成对本发明的限制。在附图中:

[0018] 图1为混合乳化剂和油相比例的确定伪三元相图。

[0019] 图2为水滴加速度对纳米乳稳定性的影响。

[0020] 图3为搅拌速度对纳米乳稳定性的影响。

[0021] 图4为制备的异甘草素纳米乳。

[0022] 图5为异甘草素纳米乳的透射电镜照片(40×1000倍)。

[0023] 图6为异甘草素纳米乳的粒径分布。

[0024] 图7为异甘草素纳米乳的ZetaPotential。

[0025] 图8为大鼠(SD,雄性,200±20g)分别口服给予异甘草素纳米乳和异甘草素溶液(给药剂量均为异甘草素100mg/kg)后的药时曲线。

[0026] 图9为异甘草素纳米乳的小鼠抑瘤动物实验结果,1为阴性对照、2为阳性对照、3为10mg/kg异甘草素混悬剂、4为20mg/kg异甘草素混悬剂、5为40mg/kg异甘草素混悬剂、6为10mg/kg异甘草素纳米乳、7为20mg/kg异甘草素纳米乳、8为40mg/kg异甘草素纳米乳。

### 具体实施方式

[0027] 以下的实施例便于更好地理解本发明,但并不限定本发明。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为市售。

[0028] 本发明的一种异甘草素纳米乳由异甘草素和辅料组成;所述辅料由以下体积百分比的各组分组成:油相20-40%,混合乳化剂35-48%,蒸馏水18-40%;

[0029] 所述异甘草素和辅料的比例为0.2-1.0g:100ml;

[0030] 所述混合乳化剂由乳化剂和助乳化剂组成;所述乳化剂和助乳化剂的质量比为:0.8-1.8:1。

[0031] 所述油相为过氧化二碳酸二异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯或辛酸癸酸三甘油酯。

[0032] 所述乳化剂为Tween-20、Tween-80或泊洛沙姆188。

[0033] 所述助乳化剂为正丁醇、聚乙二醇400或聚乙二醇600。

[0034] 所述乳化剂和助乳化剂的质量比优选为1:1。

[0035] 所述混合乳化剂和油相的质量比为9:1-1:9。

[0036] 本发明的异甘草素纳米乳的制备方法,采用水滴定法制备;具体地,将异甘草素溶于油相,超声完全溶解,然后向其中加入乳化剂和助乳化剂,在搅拌条件下逐滴加入蒸馏水。

[0037] 所述搅拌时的搅拌速度为200r/min-800r/min。

[0038] 加入蒸馏水时,滴加速度为1min/1100μl-7min/1100μl。

[0039] 实施例1

[0040] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:

- [0041] 异甘草素0.4g,IPP 30.0ml,吐温-20 20.6ml,正丁醇25.9ml,蒸馏水26.5ml。
- [0042] 制备方法采用水滴定法,包括下列步骤:将配方量的异甘草素溶于IPP中,超声震荡完全溶解。将配方量的吐温-20、正丁醇加入溶有药物的油相(IPP)中,以500r/min的搅拌速度条件下,以1100 $\mu$ l/5min的滴加速度逐滴加入处方量的蒸馏水,得到淡黄色澄清透明的异甘草素纳米乳。
- [0043] 实施例2
- [0044] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0045] 异甘草素0.32g,IPP 22.1ml,吐温-2016.8ml,正丁醇22.8ml,蒸馏水38.3ml。
- [0046] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0047] 实施例3
- [0048] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0049] 异甘草素0.24g,IPP 20.8ml,吐温-20 20.8ml,正丁醇26.6ml,蒸馏水31.8ml。
- [0050] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0051] 实施例4
- [0052] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0053] 异甘草素0.63g,IPP 36.1ml,吐温-20 20.3ml,正丁醇25.4ml,蒸馏水18.2ml。
- [0054] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0055] 实施例5
- [0056] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0057] 异甘草素0.37g,IPP 23.2ml,吐温-20 23.9ml,正丁醇22.1ml,蒸馏水30.8ml。
- [0058] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0059] 实施例6
- [0060] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0061] 异甘草素0.81g,IPP 40.0ml,吐温-20 17.5ml,正丁醇17.5ml,蒸馏水25.0ml。
- [0062] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0063] 实施例7
- [0064] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0065] 异甘草素0.20g,IPP 21.4ml,吐温-20 18.5ml,正丁醇20.1ml,蒸馏水39.0ml。
- [0066] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0067] 实施例8
- [0068] 本发明的异甘草素纳米乳处方中含有的各组分的组成为:
- [0069] 异甘草素0.53g,IPP 28.4ml,吐温-20 23ml,正丁醇28.5ml,蒸馏水20.1ml。
- [0070] 本实施例的制备方法与实施例1相同。
- [0071] 本发明的异甘草素纳米乳的优化过程实验如下:
- [0072] 1仪器与试剂
- [0073] 恒温加热磁力搅拌器(CL-2型,巩义市予华仪器有限责任公司),Sartorius1-14高速离心机,Zetasizer nano ZS(英国)纳米粒度和zeta电位及分子量分析仪。Agilent 1200高效液相色谱仪(G1311A四元泵,G1329A自动进样器,G1315B DAD检测器,G1316A柱温箱。
- [0074] 异甘草素(上海邦成化工有限公司,纯度99.0%),吐温20(上海化学试剂采购供应

站,旅顺),吐温80(Tween80,天津市兴复精细化工研究所),泊洛沙姆188(Poloxamer,北京凤礼精求商贸有限责任公司,原产地:德国BASF),正丁醇(郑州化学试剂工厂),聚乙二醇400(PEG400,天津市凯信化学工业有限公司,原天津天河化学试剂厂),聚乙二醇600(PEG600,中国上海试剂一厂,山海),IPP(过氧化二碳酸二异丙酯,浙江物美生物科技有限公司),IPM(肉豆蔻酸异丙酯,浙江物美生物科技有限公司),GTCC(辛酸癸酸三甘油酯,浙江物美生物科技有限公司)。

#### [0075] 2异甘草素纳米乳的制备

[0076] 精密称取异甘草素溶于油相中,超声震荡完全溶解。精密称取乳化剂、助乳化剂,加入溶有异甘草素的油相中,以500r/min的搅拌速度,再以1100 $\mu$ l/5min的滴加速度加入蒸馏水,得到异甘草素纳米乳。

[0077] 异甘草素的加入量根据异甘草素在IPP中的溶解度(约25 $^{\circ}$ C)加入的,要求不能有过的药物析出。

#### [0078] 3优化方法与优化结果

[0079] 根据预实验,以乳化剂:助乳化剂的质量比=3:2或者1:1来制备纳米乳,发现以乳化剂:助乳化剂=3:2制得的纳米乳非常不稳定,放置不久即可沉降。以乳化剂:助乳化剂=1:1得到的纳米乳较为稳定。即前期实验以乳化剂:助乳化剂的质量比=1:1来制备混合乳化剂。

[0080] 将混合乳化剂:油相分别按质量比9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9混合置于试管中搅拌,再逐滴滴加水相以得到澄清透明的纳米乳,通过肉眼观察纳米乳的稳定性,确定质量比9:1时最稳定。即前期实验以混合乳化剂:油相的质量比=9:1来进行。

#### [0081] 3.1油相的选择

[0082] 选取IPP(过氧化二碳酸二异丙酯)、IPM(肉豆蔻酸异丙酯)、GTCC(辛酸癸酸三甘油酯)为油相,以吐温20为乳化剂,正丁醇为助乳化剂,以混合乳化剂:油相的质量比=9:1,以乳化剂:助乳化剂的质量比 $K_m=1:1$ 的比例混合,用水相滴定法配得纳米乳。将配制好的纳米乳在紫外-可见分光光度计(396nm)下测定透光率,再以14000r/min离心8min,离心后再以紫外-可见分光光度计测定透光率,以透光率的差值为依据,筛选油相。结果如表1。

#### [0083] 表1油相的选择结果

油相	乳化剂 (吐温 80) (g)	助乳 化剂 (正 丁醇) (g)	油相(g)	水相 (蒸馏 水) (μl)	透光率 T%(离 心前)	透光率 T% (离心 后)	差值 ΔT%	差值均 数
GTCC	3.0053	3.0076	0.6764	1400	10.1	10.6	0.5	0.4
	3.0294	3.0094	0.6747	1425	7.56	7.60	0.4	
	3.0018	3.0255	0.6775	1425	7.44	7.74	0.3	
IPP	3.0298	3.0370	0.6790	1225	8.86	8.89	0.03	0.05
	3.0106	3.0079	0.6908	1400	7.72	7.76	0.04	
	3.0276	3.0062	0.6642	1400	8.21	8.30	0.09	
IPM	3.0294	3.0176	0.6666	1350	7.44	8.02	0.58	0.427
	3.0165	3.0067	0.6600	1300	7.44	7.74	0.3	
	3.0679	3.1239	0.6614	1250	7.75	8.15	0.4	

[0085] 由表1中数据可知,从稳定性上考虑,由于油相IPP的透光率差值最小,最终选择IPP作为处方的油相。

### [0086] 3.2乳化剂的选择

[0087] 选取Tween-20(吐温20)、Tween-80(吐温80)、Poloxamer188(泊洛沙姆188)为乳化剂,以IPP为油相,正丁醇为助乳化剂,以混合乳化剂:油相的质量比=9:1,以乳化剂:助乳化剂的质量比 $K_m=1:1$ 的比例混合,用水相滴定法配得纳米乳。将配制好的纳米乳在紫外-可见分光光度计(396nm)下测定透光率,再以14000r/min离心8min,离心后再以紫外-可见分光光度计测定透光率,以透光率的差值为依据,筛选乳化剂。结果如表2。

[0088] 表2乳化剂的选择结果

乳化剂	乳化剂 (g)	助乳 化剂 (正 丁醇) (g)	油相 (IPP) (g)	水 (蒸 馏水) (μl)	透光率 T%(离 心前)	透光率 T% (离心 后)	差值 ΔT%	差值均 数
吐温 80	3.0170	3.0109	0.6676	1250	7.62	7.73	0.11	0.11
	3.0150	3.0016	0.6909	1300	7.32	7.41	0.09	

	3.0611	3.0074	0.6653	1300	7.48	7.62	0.14	
[0090]	3.0165	3.0109	0.6621	1700	2.78	2.85	0.07	0.06
	3.0432	3.0148	0.6917	1900	2.81	2.86	0.05	
	3.0195	3.0085	0.6828	1900	2.74	7.81	0.07	
泊洛沙姆 188	3.0177	3.0276	0.6636	1700	96.7	97.2	0.5	0.7
	3.0136	3.0305	0.6791	1600	95.4	96.2	0.8	
	3.0164	3.0831	0.6616	1600	95.3	96.2	0.7	

[0091] 由表2中数据可知,从稳定性考虑,由于Tween20的透光率差值最小,最终选择Tween20作为处方的乳化剂。

[0092] 3.3最佳助乳化剂的筛选

[0093] 选取正丁醇、聚乙二醇400、聚乙二醇600为助乳化剂,以IPP为油相,Tween-20为乳化剂,以混合乳化剂:油相的质量比=9:1,以乳化剂:助乳化剂的质量比 $K_m=1:1$ 的比例混合,用水相滴定法配得纳米乳。将配制好的纳米乳在紫外-可见分光光度计(396nm)下测定透光率,再以14000r/min离心,离心后再以紫外-可见分光光度计测定透光率,以透光率的差值为依据,筛选助乳化剂。结果如表3。

[0094] 表3助乳化剂的筛选结果

助乳化剂 (g)	乳化剂 (吐温 80) (g)	助乳化剂(g)	油相 (IPP) (g)	水 (蒸馏水) ( $\mu$ l)	透光率 T%(离心前)	透光率 T%(离心后)	差值 $\Delta T\%$	差值均数
[0095] 聚乙二醇 400	3.0439	3.0179	0.6698	2000	1.157	1.162	0.005	0.022
	3.0032	3.0511	0.6633	1900	1.042	1.089	0.047	
	3.0045	3.0337	0.6735	1950	1.055	1.068	0.013	
聚乙二醇 600	3.0143	3.0514	0.6710	1900	1.092	1.098	0.006	0.026
	3.0227	3.0543	0.6831	1800	1.188	1.223	0.035	
	3.0546	3.0556	0.6698	1900	1.083	1.120	0.037	
正丁醇	3.0161	3.0030	0.6697	1500	0.971	0.971	0	0.02
	3.0529	3.0079	0.6782	1900	1.032	1.033	0.01	



[0096]		3.0174	3.0122	0.6742	1900	0.985	0.990	0.05	
--------	--	--------	--------	--------	------	-------	-------	------	--

[0097] 由数据可知,从稳定性考虑,由于助乳化剂正丁醇的透光率差值最小,最终选择正丁醇作为处方的助乳化剂。

[0098] 3.4混合乳化剂与油相的比例

[0099] 以吐温20为乳化剂,正丁醇为助乳化剂,IPP为油相,乳化剂:助乳化剂的质量比km值为1:1,再以混合乳化剂和油相以9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9的质量比置于试管中,观察乳剂由澄清变浑浊及由浑浊变澄清时的临界点,由此得到伪三元相图,如图1。

[0100] 图1为混合乳化剂和油相比例的确伪三元相图。

[0101] 结果表明,当混合乳化剂:油相的质量比=6:4时,乳区较大,即更易形成乳剂。所以选择混合乳化剂:油相的质量比=6:4以便获得较大的乳区和较好的稳定性。

[0102] 3.5水滴加速度对纳米乳稳定性的影响

[0103] 以筛选出的吐温20为乳化剂,正丁醇为助乳化剂,IPP为油相,混合乳化剂:油相的质量比=6:4,乳化剂:助乳化剂的质量比km值为1:1,以水滴加速度分别为1min/1100 $\mu$ l、2min/1100 $\mu$ l、3min/1100 $\mu$ l、4min/1100 $\mu$ l、5min/1100 $\mu$ l、6min/1100 $\mu$ l、7min/1100 $\mu$ l,逐滴滴加蒸馏水,重复实验三次,结果如表4及图2。

[0104] 表4水滴加速度对纳米乳稳定性的影响

水滴加速度	乳化剂(g)	助乳化剂(g)	油相(g)	水( $\mu$ l)	透光率T%(离心前)	透光率T%(离心后)	差值 $\Delta$ T%
1min/1100 $\mu$ l	3.0276	3.0020	0.6924	1100	30.2	30.8	0.6
	3.0223	3.0090	0.6681	1100	30.0	30.5	0.4
	3.0139	3.0038	0.6655	1100	31.2	31.5	0.3
2min/1100 $\mu$ l	3.0218	3.0218	0.6771	1100	29.7	30.6	0.9
	3.0086	3.0023	0.6616	1100	29.8	30.6	0.8
	3.0445	3.0164	0.6656	1100	31.1	32.0	0.9
3min/1100 $\mu$ l	3.0659	3.0155	0.6779	1100	29.1	31.0	0.9
	3.0029	3.0061	0.6907	1100	29.0	29.7	0.7
	3.0221	3.0109	0.6652	1100	31.0	32.1	1.1
4min/1100 $\mu$ l	3.0203	3.0112	0.6688	1100	27.6	29.0	1.4
	3.0468	3.0134	0.6792	1100	29.5	31.0	1.5
	3.0077	3.0233	0.6849	1100	28.6	30.1	1.5
5min/1100 $\mu$ l	3.0333	3.0028	0.6603	1100	30.5	30.8	0.3
	3.0662	3.0406	0.6664	1100	30.0	30.4	0.4
	3.0605	3.0085	0.6750	1100	30.1	31.0	0.9
6min/1100 $\mu$ l	3.0213	3.0270	0.6761	1100	28.8	29.6	0.8
	3.0297	3.0124	0.6901	1100	29.1	30.0	0.9
	3.0539	3.0215	0.6950	1100	28.7	29.5	0.8
7min/1100 $\mu$ l	3.0293	3.0121	0.6718	1100	29.2	29.7	0.5
	3.0386	3.0182	0.6737	1100	28.8	30.1	1.3

[0105]		3.0106	3.0044	0.6578	1100	29.5	30.2	0.7	
--------	--	--------	--------	--------	------	------	------	-----	--

[0106] 图2为水滴加速度对纳米乳稳定性的影响。

[0107] 结果表明,水滴加速度在4min/1100 $\mu$ l时差值最大亦即最不稳定,而在5min/1100 $\mu$

1时却整体透光率差值降为最低即此时形成的纳米乳最稳定；虽然1min/1100 $\mu$ l时形成的稳定性也很高，但是由于时间太短导致滴加时不便于操作，因此选5min/1100 $\mu$ l。

[0109] 3.6搅拌速度对纳米乳稳定性的影响

[0110] 以吐温20为乳化剂，正丁醇为助乳化剂，IPP为油相，混合乳化剂：油相的质量比=6:4，乳化剂：助乳化剂的质量比km值为1:1，搅拌速度分别以CL-2型恒温加热磁力搅拌器的转速调节到刻度200r/min、300r/min、400r/min、500r/min、600r/min、700r/min、800r/min，以5min/1100 $\mu$ l为水滴加速度，重复三次，结果如表5及图3。

[0111] 表5搅拌速度对纳米乳稳定性的影响

搅拌速度 10 <sup>2</sup> r/min	乳化剂 (吐温 80) (g)	助乳剂 (正丁 醇) (g)	油相 (IPP) (g)	水(蒸 馏水) ( $\mu$ l)	透光率 T%(离心 前)	透光率 T% (离心后)	差值 $\Delta$ T%
2	3.0559	3.0070	0.6750	1100	30.1	31.0	0.9
	3.0223	3.0019	0.6705	1100	28.5	29.2	0.7
	3.0164	3.0087	0.6655	1100	30.4	31.3	0.9
3	3.0287	3.0115	0.6635	1100	29.7	30.2	0.5
	3.0266	3.0007	0.6745	1100	28.0	28.7	0.7
	3.0146	3.0234	0.6647	1100	30.6	31.4	0.8
4	3.0055	3.0117	0.6712	1100	30.5	30.9	0.4
	3.0331	3.0014	0.6765	1100	29.1	30.0	0.9
	3.0276	3.0187	0.6603	1100	31.1	31.8	0.7
5	3.0288	3.0026	0.6639	1100	27.8	28.1	0.3
	3.0071	3.0108	0.6667	1100	29.9	30.2	0.3
	3.0614	3.0331	0.6758	1100	31.0	31.2	0.2
6	3.0007	3.0061	0.6708	1100	26.8	27.2	0.4
	3.0086	3.0196	0.6696	1100	28.2	29.2	1.0
	3.0300	3.0077	0.6608	1100	30.3	31.1	0.8
7	3.0547	3.0066	0.6759	1100	27.0	27.9	0.9
	3.0159	3.0104	0.6779	1100	28.4	28.9	0.5
	3.0475	3.0155	0.7000	1100	30.9	31.4	0.5
8	3.3027	3.0154	0.6629	1100	28.8	29.2	0.4
	3.0142	3.0048	0.6745	1100	28.0	28.6	0.6
	3.0323	3.0077	0.6608	1100	31.1	31.5	0.4

[0112] 图3为搅拌速度对纳米乳稳定性的影响。

[0113] 结果表明，当搅拌速度为500r/min时，所制得的纳米乳最稳定。

[0114] 4异甘草素纳米乳的最优制备方法

[0115] 精密称取0.4g异甘草素溶于30ml IPP中，超声震荡完全溶解(必要时也可超声并加热至25 $^{\circ}$ C溶解)。精密称取20.6ml吐温-20、25.9ml正丁醇，加入溶有药物的油相中，以500r/min的搅拌速度，再以1100 $\mu$ l/5min的滴加速度加入26.5ml蒸馏水，得到淡黄色澄清透明的异甘草素纳米乳。

[0116] 5步骤4制备的异甘草素纳米乳的质量和性能评价

[0117] 异甘草素水溶性差，用高效液相法测得异甘草素在水中的溶解度仅为 $17.07 \pm 1.02 \mu\text{g/ml}$ ，而本发明制备得到的异甘草素纳米乳中药物含量可达到 $10 \pm 0.24 \text{mg/ml}$ ，大大提高了药物的溶解度，制备的异甘草素纳米乳如图4，由图4可知，异甘草素纳米乳为淡黄色澄清透明的乳剂。

[0119] 图5为异甘草素纳米乳的透射电镜照片(40×1000倍)。由图5可知,异甘草素纳米乳为大小均一,圆整度较好的圆球形粒子。

[0120] 图6为异甘草素纳米乳的粒径分布。由图6可知,异甘草素纳米乳粒径分布为单峰,且分布范围较窄。平均粒径为317.9nm。制备的异甘草素纳米乳的粒径满足以下标准:平均粒径小于1 $\mu$ m的乳粒总数不得低于95%,大于1 $\mu$ m的乳粒径不得超过3%,不得检出大于5 $\mu$ m乳粒。

[0121] 图7为异甘草素纳米乳的Zeta Potential。由图7可知,异甘草素纳米乳平均Zeta Potential为-19.0mv。

[0122] 用步骤4制备的异甘草素纳米乳进行的药代动力学研究表明:异甘草素纳米乳口服后可明显促进异甘草素的吸收,提高异甘草素的血药浓度,提高药物的生物利用度。大鼠(雄性,200±20g)分别口服给予异甘草素纳米乳和异甘草素溶液剂(给药剂量均为异甘草素100mg/kg)后于给药后0.08,0.25,0.5,1,1.5,2,3,4,6,9,12和24h乙醚麻醉大鼠后采用眼底静脉丛取血0.3mL,至1%肝素钠溶液浸润过的离心管中,4500rpm离心10min后吸取上层血浆,-20℃保存。取冻存于-20℃的血浆样品,室温自然解冻后,精密量取100 $\mu$ L,加入2.5 $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>的内标工作液40 $\mu$ L,再加入60 $\mu$ L甲醇,涡旋1min,12000rpm离心10min后取上清液20 $\mu$ L进样检测药物峰和内标峰,结果代入回归方程计算血药浓度,得到药时曲线,见图5。

[0123] 其中,异甘草素溶液剂的制备方法为:异甘草素溶解在比例为10:15:75的医用乙醇-吐温80-0.9%氯化钠溶液(v/v/v)中。

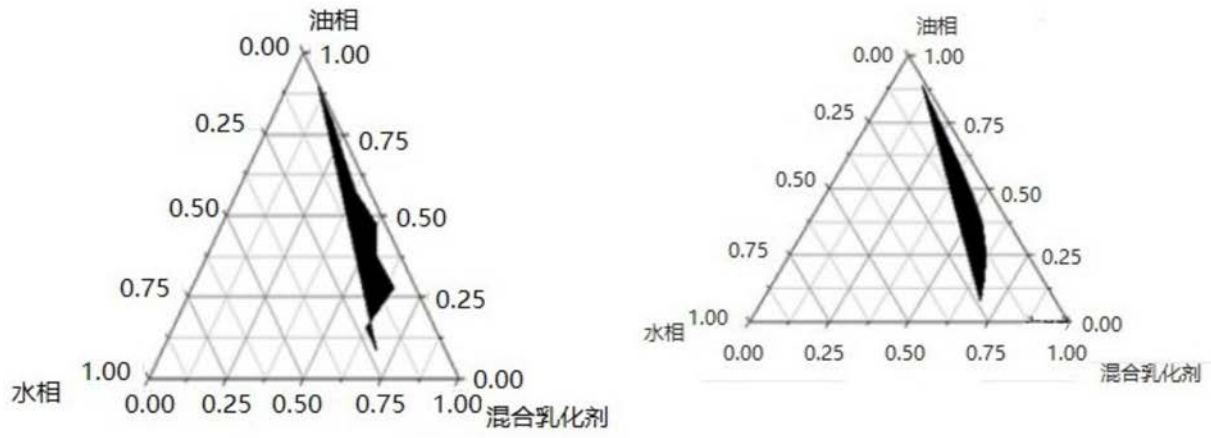
[0124] 图8为大鼠(SD,雄性,200±20g)分别口服给予异甘草素纳米乳和异甘草素溶液剂(给药剂量均为异甘草素100mg/kg)后的药时曲线。

[0125] 用步骤4制备的异甘草素纳米乳进行的抑瘤动物实验表明异甘草素纳米乳小鼠腹腔注射后具有明显的抑瘤效果,如图9。

[0126] 图9为异甘草素纳米乳的小鼠抑瘤动物实验结果,1为阴性对照、2为阳性对照、3为10mg/kg异甘草素混悬剂、4为20mg/kg异甘草素混悬剂、5为40mg/kg异甘草素混悬剂、6为10mg/kg异甘草素纳米乳、7为20mg/kg异甘草素纳米乳、8为40mg/kg异甘草素纳米乳。

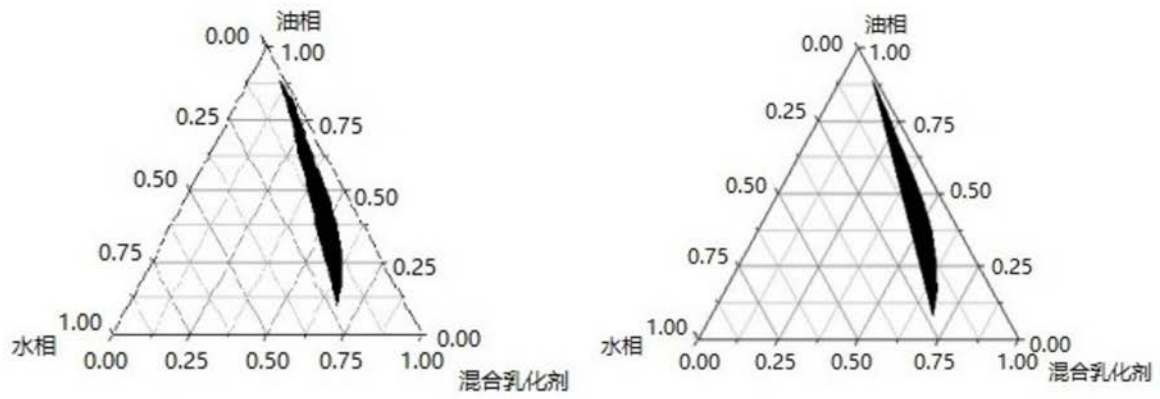
[0127] 其中,异甘草素混悬剂的制备方法为:1mL异甘草素乙醇溶液(5mg/mL)均匀分散在双蒸水中即得。

[0128] 最后应说明的是:以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,对于本领域的技术人员来说,其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。



第一组

第二组



第三组

第四组

图1

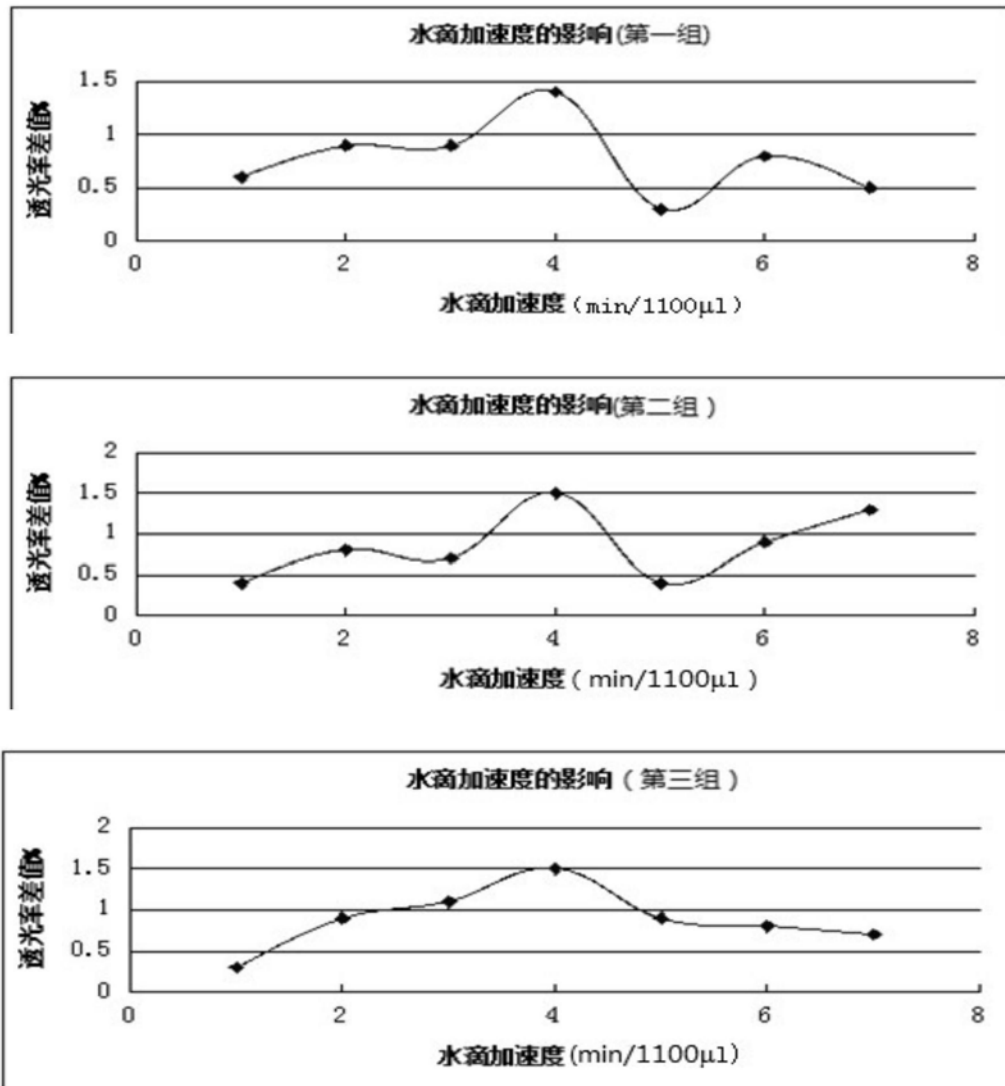


图2

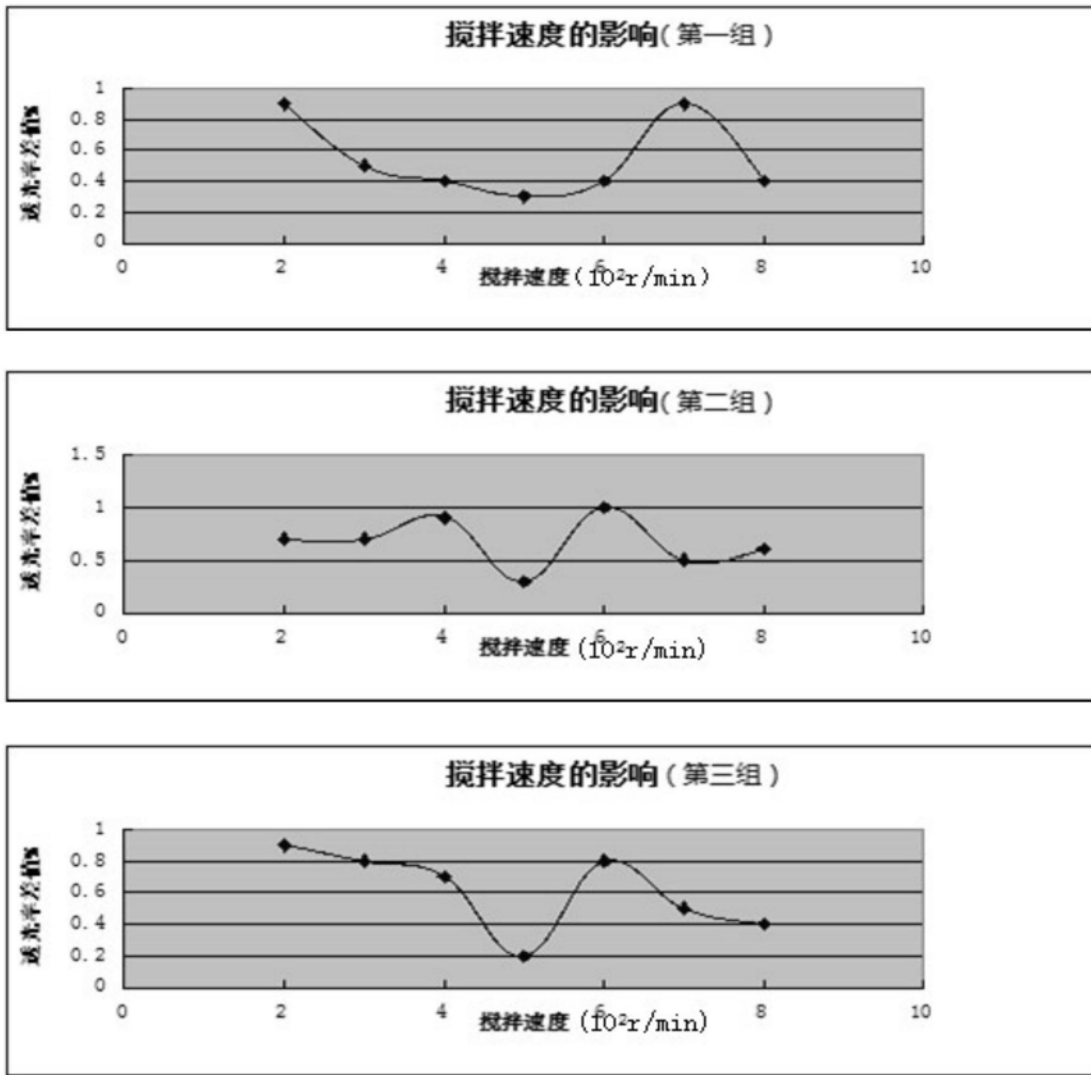


图3



图4

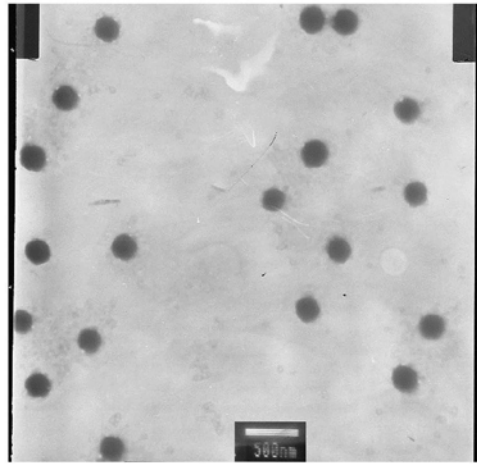


图5

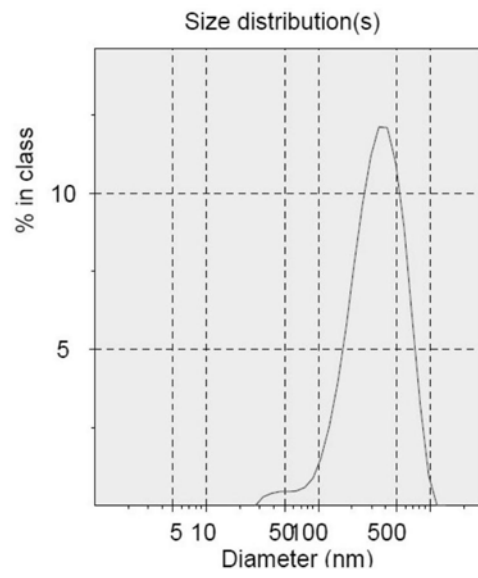


图6

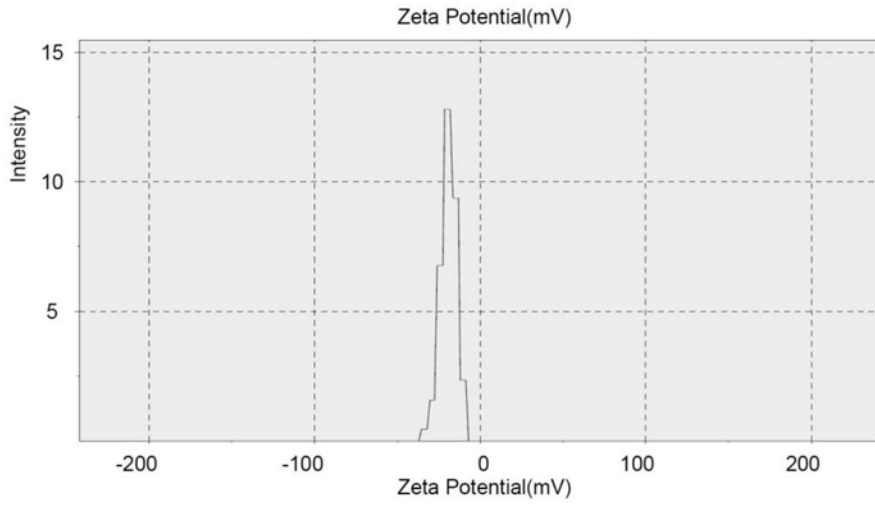


图7

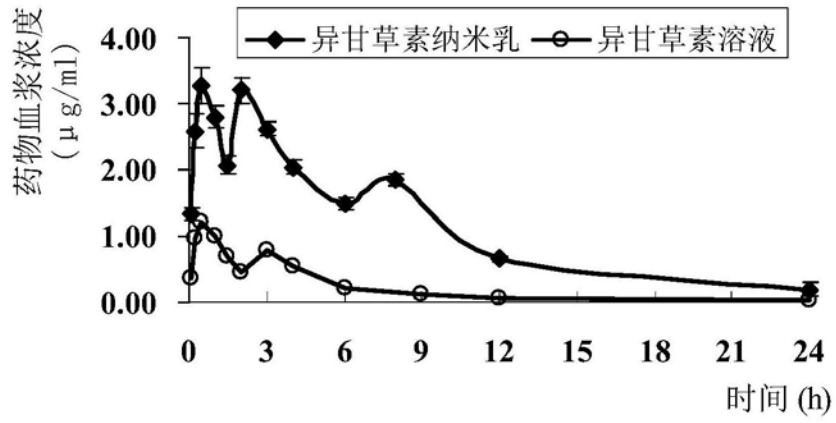


图8



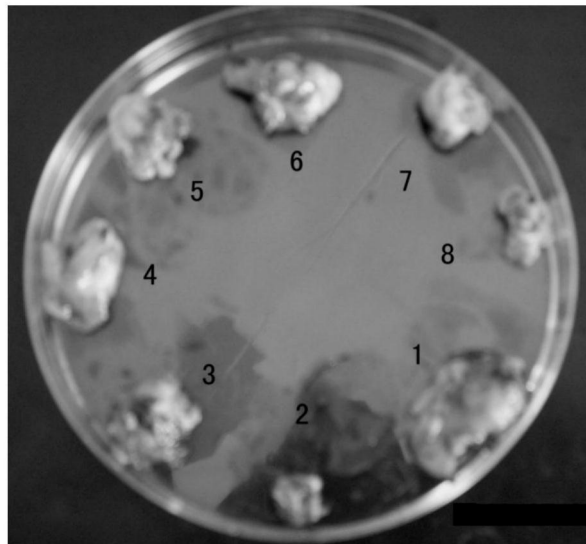


图9