

微通道反应器制备白藜芦醇纳米分散体

刘孟涛 尚尔康 樊蓉蓉 乐 园*

(北京化工大学 化学工程学院 有机无机复合材料国家重点实验室, 北京 100029)

摘 要: 对微通道反溶剂沉淀法制备白藜芦醇(RES)纳米药物分散体进行了研究。采用T型微通道反应器优化操作参数制备RES纳米分散体,当RES溶液与反溶剂水溶液进料流量比为1:20(分别为3 mL/min和60 mL/min),RES溶液水平进料时,制得的RES纳米分散体尺寸最小,平均粒径为132 nm;此时RES纳米分散体接触角为19°,水润湿性较原料药得到大幅度提高;在拟肠液(pH 7.4)环境下,RES纳米分散体在120 min内累积释放率可达到95%。在上述优化工艺的基础上利用套管式微通道反应器进行放大实验,得到套管式微通道反应器制备的RES纳米分散体颗粒尺寸更小,平均粒径为82 nm;在拟肠液环境下,所得RES纳米分散体在120 min内累积释放率可达到97%,略高于T型微通道反应器所得产品的溶出量。计算结果表明,套管式微通道反应器可显著提高处理量,约为T型微通道反应器处理量的10倍。

关键词: 反溶剂沉淀法; 白藜芦醇; 纳米分散体; T型微通道反应器; 套管式微通道反应器

中图分类号: TQ464 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2017.05.005

引 言

口服类剂型具有方便、安全、可实现局部或全身治疗等优点,然而约70%的药物活性组分具有水难溶性,很大程度上限制了这些药物在口服制剂上的应用^[1-2]。白藜芦醇(RES)是一种天然的肿瘤化学预防剂,可从诸多天然植物中提取、分离得到^[3]。白藜芦醇作为一种植物性抗毒素,具有抗氧化活性,可以预防癌症、心脑血管类疾病等,但由于其水溶性差、不易被人体吸收、生物利用度低,难以达到治疗效果,而将其制备成为纳米分散体可以有效改善药物的水溶性能,进而提高药物的溶出速率、累积溶出量、生物利用度及口服疗效。

纳米药物分散体由纳米药物颗粒及稳定剂组成,制备方法包括介质研磨^[4-5]、高压均质法^[6]和液相沉淀法^[7]等,其中液相沉淀法中应用最为广泛的是反溶剂沉淀法,由该方法所得纳米药物具有颗粒均一、形貌优、尺寸小等特点。反溶剂沉淀法制备药物纳米分散体是一个快速反应过程,而快速反应过程中药物颗粒尺寸的可控制备与反应

器的微观混合性能直接相关,反应器的微观混合性能直接影响小尺寸药物颗粒的生成。微通道反应器具有微观混合性能好、放大效应小、操作简便、时间成本低、费用成本低等优点^[8],可实现纳米药物颗粒的可控制备^[9-10]。本文利用微通道反溶剂沉淀法优化工艺条件制备了粒径较小的RES纳米分散体,有效提高了RES的体外溶出性能,并利用套管式微通道反应器进行工艺放大,显著提高了处理量。

1 实验部分

1.1 实验原料和仪器

1.1.1 实验原料

白藜芦醇,98%,十二烷基硫酸钠(SDS),95%,天津希恩思生化科技有限公司;聚乙烯吡咯烷酮(PVP),优级纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 实验仪器

T型微通道反应器,中科院大连物理化学研究所;套管式微通道反应器,自制;喷雾干燥器,德国BUCH;XRD-6000型X射线衍射仪,UV-2600紫外可见分光光度计,日本Shimadzu公司;RC8MD型智能溶出仪,天大天发科技有限公司;ZS90激光粒度仪(DLS),英国Malvern;8700傅里叶红外光谱仪,美国Nicolet公司;DSC204F1型差示扫描量热仪(DSC),德国Netzsch公司。

收稿日期: 2016-11-28

基金项目: 国家“973”计划(2015CB932100)

第一作者: 男,1991年生,硕士生

*通讯联系人

E-mail: leyuan@mail.buct.edu.cn

1.2 实验方法

1.2.1 T型微通道反应器制备 RES 纳米分散体

图1为采用T型微通道反应器示意图。称取一定量的原料药、PVP和SDS,将原料药溶于乙醇或丙酮中,辅料PVP和SDS溶解于实验室自制去离子水中(反溶剂水溶液),利用平流泵调节药物溶液与PVP和SDS辅料溶液的进料条件,待体系稳定后,在T型微通道反应器出口处收集药物纳米分散体浆料。

将T型微通道反应器制得的药物纳米分散体浆料置于磁力搅拌器上,在低速、均匀搅拌环境下,调节喷雾干燥参数为:加热温度140℃,抽气速率100%,空气流量40 mm,蠕动泵进料量30%。蠕动泵可使浆料匀速进入喷雾干燥器内部,一定时间后,收集药物纳米分散体固体粉末。

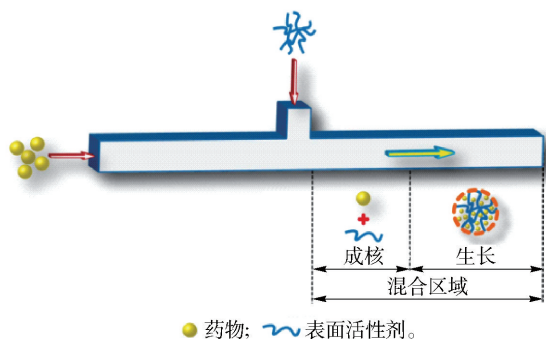


图1 T型微通道反应器制备药物纳米分散体示意图

Fig.1 Schematic of the preparation of the drug nanodispersion using a T-junction microchannel reactor

1.2.2 套管式微通道反应器制备 RES 纳米分散体

图2为套管式微通道反应器示意图。称取原料药和辅料,将原料药溶于乙醇或丙酮中,辅料PVP和SDS溶解于实验室自制去离子水中。利用蠕动泵调节药物溶液与辅料溶液的进料速度,药物溶液为外管进料,辅料溶液为内管进料。待体系稳定后,在出口处收集药物纳米分散体浆料。之后采用1.2.1节T型微通道反应器浆料干燥方法制得RES纳米分散体。

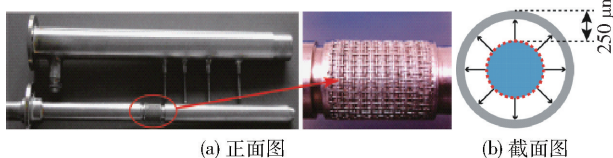


图2 套管式微通道反应器

Fig.2 Schematic of the tube-in-tube microchannel reactor

1.3 分析与表征

1.3.1 粒径测定

将RES纳米分散体分散在水中,超声使之分散均匀,取部分样品在633 nm He-Ne, 289.15 K的条件下利用DLS测定平均粒径。

1.3.2 结构与晶型测定

利用傅里叶红外光谱仪,KBr压片,在400~4000 cm^{-1} 范围内扫描测定原料药、辅料及药物纳米分散体的FT-IR谱图,表征纳米分散体结构。

利用X射线衍射仪,以10($^{\circ}$)/min的扫描速度在10 $^{\circ}$ ~50 $^{\circ}$ 范围内测定原料药、辅料及药物纳米分散体的XRD谱图,分析纳米分散体的晶型。

利用差示扫描量热仪,在40~400℃、10℃/min、 N_2 条件下对原料药、辅料及药物纳米分散体进行DSC分析。

1.3.3 接触角测定

分别称取相同质量的药物粉末和药物纳米分散体固体粉末置于压片模具内,将模具放入压片机,固定相同压片参数为压力10 MPa、压片时长60 s,压片结束后取出。将压片置于载玻片上,在压片上滴加体积相同的去离子水,利用接触角仪测定压片与去离子水的接触角。

1.3.4 载药量和载药率测定

精确称取一定量的RES标准品,溶于二甲基亚砜(DMSO)配制成不同浓度的标准液,利用紫外可见分光光度计分别在波长306 nm处测定紫外吸光度,绘制RES标准曲线。准确称取一定量喷雾干燥后的RES纳米分散体,充分溶解于DMSO,利用紫外可见分光光度计于306 nm处测定药物吸光度,再计算得到药物的质量浓度。RES纳米分散体的载药量和载药率按照公式(1)、(2)计算得到。

$$L = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

$$E = \frac{m_1}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

其中, L 为载药量; E 为载药率; m_0 为初始投入RES的总质量; m_1 为RES纳米分散体中药物的质量; m_2 为RES纳米分散体的总质量。

1.3.5 体外释药行为表征

纳米药物分散体的体外释药行为表征在pH7.4的PBS缓冲介质中进行。称取一定量的纳米药物分散体,置入300 mL PBS缓冲介质中,37℃、100 r/min条件下于智能溶出仪中进行测定。设置取样时

间点为 2 min、5 min、10 min、15 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min。取出 5 mL 释药溶液后补充 5 mL 的 PBS 缓冲介质。利用紫外-可见分光光度计测定介质中药物的浓度,计算得到药物纳米分散体的累积释药量。

2 结果与讨论

2.1 T 型微通道反应器操作条件及辅料用量对药物颗粒尺寸的影响

图 3 是白藜芦醇溶液与反溶剂水溶液在不同进料流量比 ($Q_S:Q_{AS}=1:5、1:10、1:20、1:30、1:40$) 下,T 型微通道反应器制备得到的 RES 纳米分散体平均粒径图。可以看到,当进料比为 1:20 时,制备所得 RES 药物颗粒尺寸最小,为 205 nm。

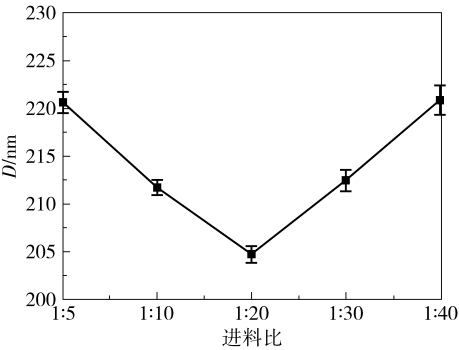


图 3 不同溶剂反溶剂进料比下 RES 药物颗粒的粒径图

Fig. 3 Variation of RES nanodispersion size with different Q_S/Q_{AS} flow ratios

图 4 为固定 RES 溶液与反溶剂水溶液进料比为 1:20 时,改变 RES 溶液和水溶液不同进料量,即 Q_S 为 1、2、3、4 mL/min, Q_{AS} 为 20、40、60、80 mL/min,T 型微通道反应器制备的 RES 药物颗粒尺寸分布图。当 RES 溶液进料量为 3 mL/min、反溶剂水溶液进料量为 60 mL/min 时,制备所得 RES 药物颗粒尺寸最小,为 133 nm。

图 5 是固定 RES 溶液进料量与反溶剂水溶液进料量分别为 3 mL/min 和 60 mL/min 时,改变 RES 溶液与水溶液的不同进料位置,即 RES 溶液水平进料或垂直进料,T 型微通道反应器制备的 RES 纳米颗粒尺寸图。当 RES 药物溶液水平进料时,所得 RES 药物颗粒尺寸最小,为 132 nm。

2.2 RES 纳米分散体的分析结果

图 6 为 RES 原料药、PVP、RES 纳米分散体的 FT-IR 谱图。从图中可以看出:3247 cm^{-1} 处为 RES 结构中酚羟基的强吸收峰,1602 cm^{-1} 处为顺式 —C=C— 的吸收特征峰,965 cm^{-1} 处为反式 —C=C—

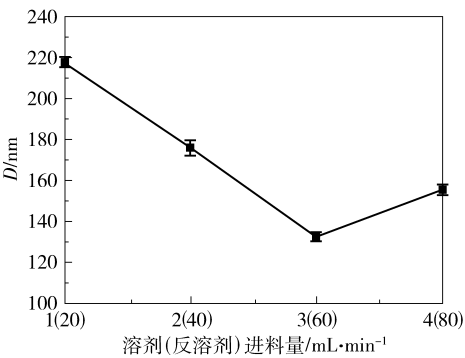


图 4 不同溶剂反溶剂进料量下 RES 药物颗粒的粒径图

Fig. 4 Variation of RES nanodispersion size with different Q_S and Q_{AS} flow rates

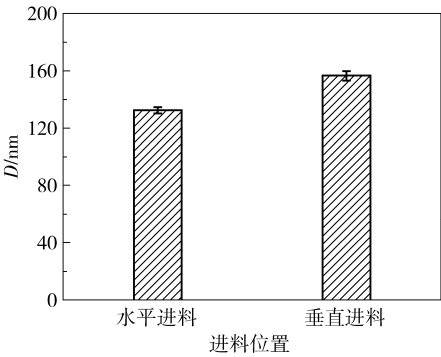


图 5 不同进料位置 RES 药物颗粒的粒径图

Fig. 5 Variation of RES nanodispersion size with different dispersion phase feed positions

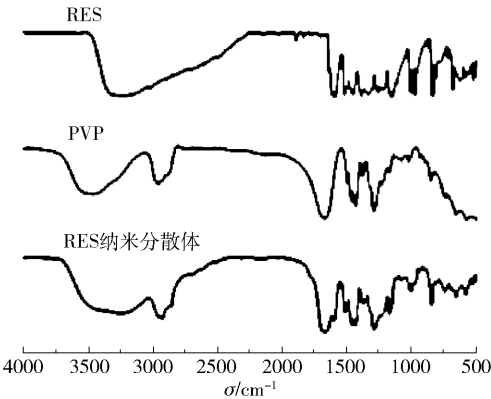


图 6 RES、PVP、RES 纳米分散体的 FT-IR 谱图

Fig. 6 FT-IR spectra of RES, PVP and the RES nanodispersion

C—的特征峰。在 RES 纳米分散体中特征峰强度均有所减弱。

图 7(a) 和 (b) 分别为 RES 原料药、PVP、RES 纳米分散体的 XRD 和 DSC 谱图。由图 7(a) 可以得到 RES 原料药为结晶态,RES 纳米分散体中并未出

现 RES 原料药的特征衍射峰,表明 RES 纳米分散体中的 RES 以无定型形态存在。由图 7(b)可以看出,RES 原料药在 267 °C 出现明显的吸热熔融峰,而 RES 纳米分散体中并未出现吸热熔融峰,进一步证明 RES 以无定型形态均匀分布于 PVP 中。无定型形态的纳米药物处于亚稳态,使得药物在介质中的饱和溶解度得到提高,进而增加药物的溶出速率。

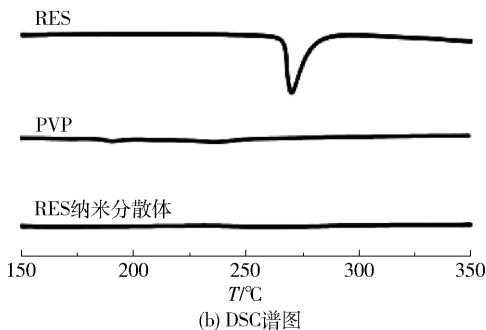
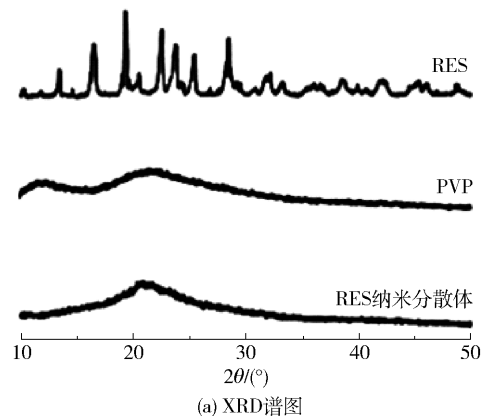


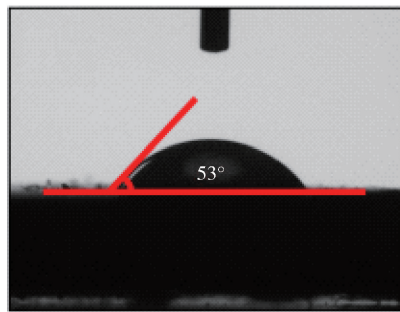
图 7 RES, PVP, RES 纳米分散体的 XRD 谱图和 DSC 谱图

Fig. 7 XRD patterns and DSC curves of RES, PVP and the RES nanodispersion

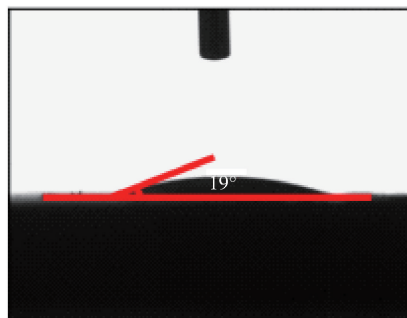
图 8 为 RES 原料药、RES 纳米分散体分别压片后与去离子水接触角的测定图。从图中可以看出,RES 原料药压片与去离子水接触角为 53°,RES 纳米分散体压片与去离子水接触角为 19°,表明 RES 纳米分散体有效地改善了 RES 原料药的润湿性能,进一步说明 RES 原料药水溶性得到提高。

2.3 RES 纳米分散体的载药量、载药率和体外释药行为

根据标准曲线的测定方法,得到 RES 的标准曲线为 $\rho = 22.7273A + 0.0206$ ($R^2 = 0.9999$), 其中 ρ 为药物的质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), A 为药物在 306 nm 处的紫外可见光谱吸收峰值。结合标准曲线和公式 (1)、(2), 计算得到 RES 纳米分散体载药量和载药率分别为 20.5% 和 82.9%。



(a) RES 原料药



(b) RES 纳米分散体

图 8 接触角测定

Fig. 8 Contact angle surveys

RES 纳米分散体在 pH 7.4 的 PBS 缓冲溶液中的体外释放结果如图 9 所示。可以看出,RES 原料药在 120 min 内累积释放率为 39%,RES 纳米分散体在 120 min 内累积释放率为 95%。表明 RES 纳米分散体与 RES 原料药相比,溶出速率和累积释放率均得到大幅度提升,从而证明了将 RES 制备成纳米分散体能够有效改善 RES 原料药的水溶性能。

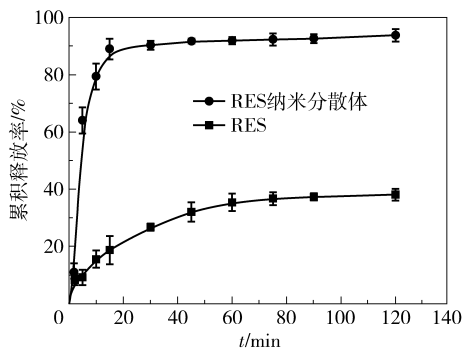


图 9 pH7.4 条件下 RES 原料药与 RES 纳米分散体的体外释药曲线

Fig. 9 In vitro drug release profiles of the drug and the drug nanodispersion in PBS at pH7. 4

2.4 套管式微通道反应器制备 RES 纳米分散体的表征结果

套管式微通道反应器可以看作多个 T 型微通道反应器的串、并联结果,实现了 T 型微通道反应

器的放大^[11-12]。在 T 型微通道反应器工艺优化的基础上,本文利用套管式微通道反应器进行了放大。

图 10 为套管式微通道反应器制备的 RES 纳米分散体的粒径分布图。结果表明制备所得 RES 纳米分散体的平均粒径为 82 nm,较上述 T 型微通道反应器制备所得分散体平均粒径有所减小。

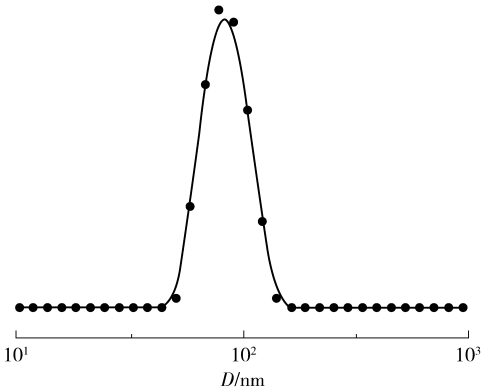


图 10 纳米药物分散体的粒径分布图

Fig. 10 Size distribution of RES nanodispersion obtained using the tube-in-tube microchannel reactor

套管式微通道反应器制备所得 RES 纳米分散体在 pH7.4 的 PBS 缓冲溶液中的体外释放结果见图 11。图中 RES 原料药和 T 型微通道反应器制备所得 RES 纳米分散体在 120 min 内累积释放率分别为 39% 和 95%,套管式微通道反应器制备所得 RES 纳米分散体在 120 min 内累积释放率为 97%,比 T 型微通道反应器制备所得 RES 纳米分散体溶出略有提高,这可能与制得的分散体颗粒尺寸更小有关。

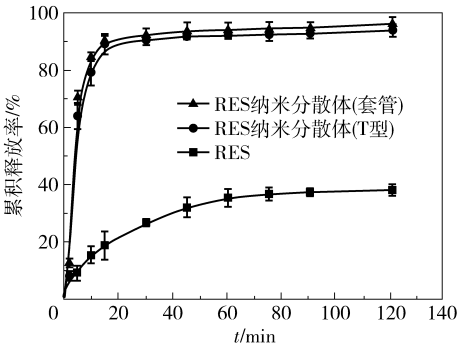


图 11 RES 原料药、T 型微通道反应器和套管式微通道反应器制得纳米药物分散体在 pH7.4 的 PBS 溶液中的体外释药行为

Fig. 11 In vitro drug release profiles of the drug, the drug nanodispersion prepared using the T-junction microchannel and using the tube-in-tube microchannel reactor in PBS at pH7.4

根据套管式微通道反应器及 T 型微通道反应器

制备 RES 纳米分散体的操作参数、药物浓度及辅料用量等条件,计算套管式微通道反应器和 T 型微通道反应器的处理量,具体结果如表 1 所示。可以看到,套管式微通道反应器处理量为 44.9g/h,约为 T 型微通道反应器处理量的 10 倍,处理量有显著提高。

表 1 T 型微通道反应器与套管式微通道反应器处理量的计算结果

Table 1 Throughput of T-junction microchannel and tube-in-tube microchannel reactor

反应器	产率/%	处理量/g·h ⁻¹	
		固体粉末	活性组分
T 型微通道	88.9	10.1	4.5
套管式微通道	89.5	101.5	44.9

3 结论

(1)T 型微通道反应器制备 RES 纳米分散体的优化操作条件为:RES 溶液与水溶液进料量比 1:20,即 RES 溶液进料量 3 mL/min、水溶液进料量 60 mL/min,RES 溶液水平进料。此时制备所得 RES 药物分散体的平均粒径最小,为 132 nm。

(2)RES 原料药及 RES 纳米分散体的 XRD、DSC 测定结果表明,在 RES 纳米分散体中 RES 以无定型形态有效均匀地分散在 PVP 与 SDS 辅料体系中。RES 纳米分散体接触角为 19°,RES 原料药接触角为 53°,表明 RES 纳米分散体润湿性得到改善。

(3)RES 纳米分散体的载药量及载药率分别为 20.5% 和 82.9%。体外溶出实验表明在 pH7.4 拟肠液介质中,RES 纳米分散体在 120 min 内累积溶出量可达到 95%。表明与 RES 原料药相比,RES 纳米分散体的溶出速率和累积释放率均得到大幅度提升。

(4)在 T 型微通道制备 RES 纳米分散体工艺优化的基础上利用套管式微通道反应器进行放大,制备得到 RES 纳米分散体平均粒径为 82 nm,在 pH7.4 介质中 120 min 累积释放率可达到 97%,较 T 型微通道反应器制备所得产物溶出性能略有提高。套管式微通道反应器制备 RES 纳米分散体的处理量约为 T 型微通道反应器处理量的 10 倍,显著提高了微通道制备 RES 纳米分散体的处理量。

参考文献:

[1] Martín del Valle E M, Galún M A, Carbonell R G. Drug

- delivery technologies; the way forward in the new decade [J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2009, 48(5): 2475–2486.
- [2] Cooper E R. Nanoparticles: a personal experience for formulating poorly water soluble drugs[J]. *Journal of Controlled Release*, 2010, 141(3): 300–302.
- [3] Pervaiz S. Chemotherapeutic potential of the chemopreventive phytoalexin resveratrol[J]. *Drug Resistance Updates*, 2004, 7(6): 333–344.
- [4] Niwa T, Danjo K. Design of self-dispersible dry nanosuspension through wet milling and spray freeze-drying for poorly water-soluble drugs[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, 50(3): 272–281.
- [5] Kaialy W, Al Shafiee M. Recent advances in the engineering of nanosized active pharmaceutical ingredients: promises and challenges[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2016, 228: 71–91.
- [6] Li Y, Zhao X H, Zu Y G, et al. Preparation and characterization of paclitaxel nanosuspension using novel emulsification method by combining high speed homogenizer and high pressure homogenization[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 490(1/2): 324–333.
- [7] 李瑞端, 张建军, 陈建峰, 等. 10-羟基喜树碱纳米微球的制备及表征[J]. *北京化工大学学报: 自然科学版*, 2014, 41(5): 83–88.
- Li R D, Zhang J J, Chen J F, et al. Preparation and characterization of 10-hydroxycamptothecin nanoparticles [J]. *Journal of Beijing University of Chemical Technology: Natural Science*, 2014, 41(5): 83–88. (in Chinese)
- [8] Dehghan M, Valipour M S, Saedodin S. Microchannels enhanced by porous materials: heat transfer enhancement or pressure drop increment? [J]. *Energy Conversion and Management*, 2016, 110: 22–32.
- [9] Kastner E, Verma V, Lowry D, et al. Microfluidic-controlled manufacture of liposomes for the solubilisation of a poorly water soluble drug [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 485(1): 122–130.
- [10] 任夫健, 凌永社, 王庆志. 化工放大技术方法的研究[J]. *现代化工*, 2011, 31(S1): 1–3.
- Ren F J, Ling Y S, Wang Q Z. Research on chemical amplification technology[J]. *Modern Chemical Industry*, 2011, 31(S1): 1–3. (in Chinese)
- [11] 向阳, 王琦安, 杨旷, 等. 微通道反应器中反应沉淀过程的工艺研究[J]. *高校化学工程学报*, 2009, 23(3): 474–479.
- Xiang Y, Wang Q A, Yang K, et al. Study of reactive precipitation in microchannel reactors [J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2009, 23(3): 474–479. (in Chinese)
- [12] Yang K, Chu G W, Shao L, et al. Micromixing efficiency of viscous media in micro-channel reactor[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2009, 17(4): 546–551.

Formation of poorly water-soluble oral drug nanodispersions in a microchannel

LIU MengTao SHANG ErKang FAN RongRong LE Yuan*

(State Key Laboratory of Organic – Inorganic Composites, College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: The preparation of resveratrol (RES) nanodispersion using an anti-solvent precipitation method in a microchannel reactor has been investigated. RES nanoparticles were prepared in a T-junction microchannel reactor after optimizing the operating parameters. The minimum size of the RES nanoparticles was 132 nm. The wettability of the RES was significantly improved using this method, with the contact angle of the RES nanodispersion reduced to 19°. The dissolution degree of the RES nanodispersion was 95% after 120 min in simulated human intestinal juice (pH 7.4). To scale up, RES nanodispersion was prepared in a tube-in-tube microchannel reactor. The size of RES nanodispersion was 82 nm, smaller than that of the products prepared in the T-junction microchannel reactor. In simulated human intestinal juice the dissolution degree of RES nanodispersion was 97% after 120 min. In addition, the throughput of the tube-in-tube microchannel reactor was significantly increased, being 10 times more than that of the T-junction microchannel reactor.

Key words: anti-solvent precipitation; resveratrol; nanodispersion; T-junction reaction; tube-in-tube reactor

(责任编辑: 吴万玲)