

栀子苷乳剂的制备工艺及质量评价

王金悦¹, 叶青卓¹, 武琰琛¹, 刘玲², 张向荣^{3*}

1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 辽宁海思科制药有限公司, 辽宁 葫芦岛 125000

3. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 制备油包水型栀子苷乳剂, 对方剂工艺进行优化并进行质量评价。方法 通过单因素考察和混料设计, 以乳化时间、析油时间和静置分层时间为指标, 研究处方对乳剂性质的影响, 并筛选出最佳的制备工艺, 得到最优的栀子苷乳剂。并对乳剂的性质、稳定性、含量和体外释放进一步考察。**结果** 栀子苷乳剂的平均粒径为 $(5.48 \pm 0.02) \mu\text{m}$, PDI 值为 0.125 ± 0.096 ; 离心加速实验 4 000 r/min 离心 15 min 未见分层; 栀子苷乳剂的平均质量分数为 92.14%, RSD 为 1.86% ($n=3$); 6 h 内栀子苷乳剂在 pH 4.5、6.8、7.4 的环境下体外释放分别最高达 105.32%、98.41%、98.70%, 而在 pH 1.2 的环境下体外释放最高为 63.45%; 最后通过拟合方程来解释释药规律。**结论** 高速剪切机械法可用于栀子苷乳剂的制备, 优化后处方的质量评价符合要求。

关键词: 栀子苷; 油包水型乳剂; 混料设计; 稳定性; 体外释放

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0375-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.015

Preparation and quality evaluation of gardenoside emulsion

WANG Jin-yue¹, YE Qing-zhuo¹, WU Yan-chen¹, LIU Ling², ZHANG Xiang-rong³

1. Traditional Chinese Medicine College, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Liaoning Haisike Pharmaceutical Co., Ltd., Huludao 125000, China

3. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To prepare water-in-oil gardenoside emulsion, optimize its formulation process, and evaluate the quality.

Methods The formulation was optimized based on emulsification time, oil floating time and phase separation time, and investigated the optimal gardenoside emulsion by the single factor investigation and mixture design. The properties, stability, content, and *in vitro* release of the emulsion were also studied. **Results** The mean particle size of gardenoside emulsion was $(5.48 \pm 0.02) \mu\text{m}$ and the value of PDI was 0.125 ± 0.096 ; Centrifugation accelerated test was performed at 4 000 r/min for 15 min without delamination; The average mass fraction of gardenoside emulsion was 92.14% and RSD was 1.86% ($n=3$); The *in vitro* release of gardenoside emulsions at pH 4.5, 6.8, and 7.4 was up to 105.32%, 98.41%, and 98.70%, respectively, while the *in vitro* release at pH 1.2 was up to 63.45%; Finally, the law of drug release was explained by fitting equation. **Conclusion** The high speed shear mechanical method can be used to prepare gardenoside emulsion, and the quality evaluation of the optimized prescription meets the requirements.

Key words: gardenoside; water-in-oil emulsion; mixture design; stability; *in vitro* release

栀子苷 (geniposide, GE) 是从茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 干燥成熟果实中提取精制而得的环烯醚萜苷类化合物^[1], 具有保肝^[2]、降糖^[3-4]、抗炎镇痛^[5]、抗哮喘^[6]、抗氧化^[7]及抗肿瘤^[8]等广泛的药理作用。研究表明, 栀子苷水溶性较强, 脂溶性弱, 膜渗透性差, 进而导致口服生物

利用度低, 限制了其药效的发挥^[9-10]。乳剂剂型则可以顺利解决这个问题, 将栀子苷溶于水, 制备成油包水型乳剂, 有效提高栀子苷的生物利用度。近年来, 乳剂作为一种低可溶性药物的口服传递系统越来越受到人们的重视^[11-14], 由于其在物理化学稳定性方面的优势, 提高了药物的负荷能力和大规模

收稿日期: 2018-08-28

基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划 (20170540864)

作者简介: 王金悦 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药剂学。Tel: 18240325142 E-mail: wangjinyue1995@163.com

*通信作者: 张向荣 (1969—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为药剂学和食品药理学。E-mail: zhangxr@vip.sina.com

生产的适宜性^[15-16], 开发前景良好。葡萄籽油富含亚油酸, 是一种重要的脂肪酸, 对皮肤和细胞膜具有重要的作用。最重要的是, 葡萄籽油不仅可以预防疾病, 还可以抗衰老, 延长生命^[17]。同样杏仁油也富含众多物质, 如蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素、无机盐、膳食纤维和人体所需的微量元素等等, 具有润肺、健胃、补充体力的作用。二者联合使用, 可以使功效增强。所以选择葡萄籽油和杏仁油的混合油作为油相制备乳剂。

在本研究中, 通过单因素考察和混料设计, 选择出制备栀子苷乳剂的最优处方, 且进一步考察影响栀子苷乳剂稳定性的工艺因素, 然后用马尔文激光粒度仪对栀子苷乳剂的平均粒径和多分散指数(PDI)值进行测定; 通过离心加速试验和稳定常数的测定, 确定栀子苷乳剂的稳定性; 最后通过 HPLC 法对栀子苷乳剂的含量和体外释放度进行测定, 确定栀子苷乳剂的口服效果。

1 仪器与材料

CP114 分析天平, 沈阳杰龙仪器有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; FLUKO FM 200 高剪切分散乳化机, 上海弗鲁克流体机械制造有限公司; 电子天平, 余姚市金诺天平仪器有限公司; TG 16G 台式高速离心机, 天津广丰科技有限公司; ZS90 激光粒度分析仪, 英国马尔文公司; 液相色谱仪, 日本日立公司; UV 5100 型紫外可见分光光度计, 上海元析仪器有限公司; MOTIC-BA400 显微镜, 北京麦克奥迪仪器仪表有限公司; 透析袋, 瑞典 Pharmacia 公司, 截留相对分子质量 10 000。

栀子苷原料药, 质量分数 >95%, 临川之信生物科技有限公司; 葡萄籽油, 辽宁晟麦实业股份有限公司; 杏仁油, 邯郸晨光珍品油脂有限公司; 聚山梨酯 80 (Tween 80, T80)、失水山梨糖醇脂肪酸酯 (Span 80, S80), 天津市恒兴化学试剂制造有限公司; 丙三醇, 天津市大茂化学试剂厂; 甲醇, 色谱纯, 山东禹王实业有限公司; 纯净水, 实验室自制, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方工艺优化

乳剂的处方中包含 3 相, 分别是水相、油相和乳化剂, 所以通过筛选水相、油相和乳化剂及 3 相的比例得到栀子苷乳剂的最优处方。

2.1.1 载药量的选择

根据药物在油中的溶解度以及可接受的临床治疗用量, 以 25 mg/g 为目标载药量。

2.1.2 油相的选择 乳剂的油相主要为长链甘油三酯 (LCT), 常用的有大豆油、芝麻油、红花油、玉米油和中链甘油三酯等。本品为口服食用乳剂, 葡萄籽油有多种功效, 故选用葡萄籽油作为油相的主要成分, 又考虑到复合油可能有更稳定的效果, 所以加入少许杏仁油, 使得所制乳剂更加稳定, 治疗效果更好, 所以在预试验的基础上通过单因素考察筛选出葡萄籽油和杏仁油的最佳比例。

精密称取葡萄籽油和杏仁油, 按质量比 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5 混合均匀, 制备乳剂。选择 3 个指标对乳剂进行综合评价: 乳化时间 (乳化时间越短越好); 析油时间 (无油层好, 有油层差, 析油时间越长越好); 静置分层时间 (观察静置分层的时间, 静置分层时间越长越好)^[18]。综合评价结果最好的乳剂处方即为筛选出的处方。

根据单因素考察结果 (表 1) 可知, 各比例乳剂的稳定效果相似, 差别较小。但葡萄籽油-杏仁油质量比为 8:2 和 7:3 时, 乳化时间较短, 证明此时的乳剂形成的更快, 且葡萄籽油-杏仁油质量比为 8:2 时, 析油时间更长, 乳剂效果更好。所以综合评价可知, 葡萄籽油-杏仁油质量比为 8:2 时, 所得乳剂最稳定, 即选择该比例的复合油作为油相。

表 1 油的比例对栀子苷乳剂的影响

Table 1 Effect of oil ratio on gardenoside emulsion

序号	葡萄籽油-杏仁油质量比	乳化时间/min	析油时间/d	静置分层时间/d
1	9:1	4.50	2.00	>8.00
2	8:2	3.33	2.92	>8.00
3	7:3	3.75	2.29	>8.00
4	6:4	5.27	1.67	>8.00
5	5:5	5.97	1.67	>8.00

2.1.3 乳化剂的选择 乳化剂选择 S80、T80 和助乳化剂丙三醇按一定比例制备成混合乳化剂, 通过乳化剂的亲水亲油平衡值 (HLB) 公式确定油包水型乳剂中乳化剂的比例。混合 HLB 值的计算公式为 $HLB_{AB} = (HLB_A \times W_A + HLB_B \times W_B) / (W_A + W_B)$, 其中, HLB_A 为乳化剂 A 的亲水亲油平衡值, HLB_B 为乳化剂 B 的亲水亲油平衡值, HLB_{AB} 为混合乳化剂 A 和 B 的亲水亲油平衡值, W_A 为乳化剂 A 的质量, W_B 为乳化剂 B 的质量。

已知 S80 的 HLB 值为 4.3, T80 的 HLB 值为 15.0, 油包水型乳化剂的 HLB 值要求在 3~8, 所以根据混合 HLB 值的计算公式, 当 S80-T80 的质量比 >1.89 时符合要求, 且实验结果表明, 当丙三醇(助乳化剂)-表面活性剂(乳化剂)质量比为 2:1 时, 乳化效果最好, 所以最终选择 S80-T80-丙三醇质量比为 4:1:10, 三者混合作为混合乳化剂。

2.1.4 三相比例的选择 油相、水相和乳化剂作为乳剂形成的三相, 其比例对乳剂的稳定性有着关键作用。通过混料设计, 以乳化剂和助乳化剂为三元相图的 1 个顶点, 油相和水相作为另 2 个顶点, 通过更改三者的比例, 以设定的 3 个评价指标进行综合评价, 设计 21 组试验, 制得三元相图, 最终筛选出栀子苷乳剂的最优处方^[19]。

查阅文献设定了 3 个评价指标, 综合评价, 分数越高越好, 满分为 80 分: (1) 乳化时间占 20 分。当滴加过程中所得溶液白色或偏黄, 且透光率低时即为初步乳化。乳化时间 <1 min, 20 分; 1~3 min, 15 分; 3~5 min, 10 分; 其余为 5 分。(2) 析油时间占 30 分。>10 d 无油层, 30 分; 5~10 d 有油层, 20 分; 1~5 d 有油层, 10 分; <1 d 有油层, 0 分。(3) 静置分层时间占 30 分。>10 d 静置无分层, 30 分; 5~10 d 静置分层, 20 分; 1~5 d 静置分层, 10 分; <1 d 静置分层, 0 分^[18]。

通过混料设计, 更改三相的比例, 设计了 21 组试验, 如表 2 所示。根据表 2 的实验数据, 绘制三元相图(图 1)。图 1 所示, 红色线为乳化时间分数线, 绿色线为析油时间分数线, 蓝色线为静置分

表 2 混料设计试验结果

Table 2 Results of mixture design

序号	油相/ %	水相/ %	乳化剂/ %	乳化时 间/min	析油时 间/d	静置分层 时间/d	序号	油相/ %	水相/ %	乳化剂/ %	乳化时 间/min	析油时 间/d	静置分层 时间/d
1	12.5	12.5	75.0	6.12	>10.00	>10.00	12	37.5	12.5	50.0	3.27	<0.50	<1.00
2	12.5	25.0	62.5	4.10	>10.00	>10.00	13	37.5	25.0	37.5	3.97	<2.00	<4.00
3	12.5	37.5	50.0	1.25	<9.00	<9.00	14	37.5	37.5	25.0	2.25	<2.00	<2.00
4	12.5	50.0	37.5	0.92	<1.00	<0.50	15	37.5	50.0	12.5	1.67	<1.00	<1.00
5	12.5	62.5	25.0	0.50	<1.00	<0.25	16	50.0	12.5	37.5	5.17	<1.00	<0.04
6	12.5	75.0	12.5	0.33	<1.00	<0.04	17	50.0	25.0	25.0	2.53	<0.04	<0.04
7	25.0	12.5	62.5	3.75	<3.00	<3.00	18	50.0	37.5	12.5	4.33	<2.00	<2.00
8	25.0	25.0	50.0	6.75	<1.00	<1.00	19	62.5	12.5	25.0	2.70	<0.04	<0.04
9	25.0	37.5	37.5	3.40	<6.00	<6.00	20	62.5	25.0	12.5	3.00	<0.04	<0.04
10	25.0	50.0	25.0	3.67	<1.00	<0.02	21	75.0	12.5	12.5	1.78	<1.00	<1.00
11	25.0	62.5	12.5	2.00	<1.00	<0.02							

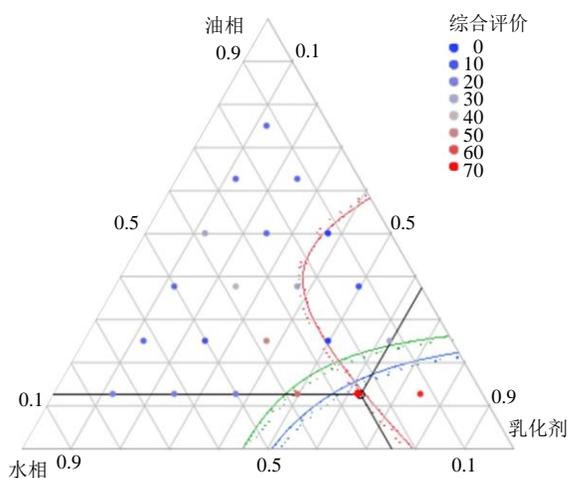


图 1 三元相图

Fig. 1 Ternary phase diagram

层时间分数线。当分别设定乳化时间分数 >10 分, 析油时间分数 >15 分, 静置分层时间分数 >20 分, 得到唯一的处方 2 号, 即最优处方, 此时油相、水相、乳化剂的质量比为 12.5:25.0:62.5。

2.2 制备工艺的考察

选择用高速剪切机械法来制备乳剂, 分别对乳化方式、乳化温度和搅拌速度进行优化, 以得到更稳定的乳剂。

2.2.1 乳化方式的考察 通过更改乳化的时间和操作, 设计 3 种乳化方式分别进行了乳剂的制备, 通过观察比较所制备乳剂的乳化时间、析油时间和静置分层时间, 评价乳剂的稳定性, 选择出最佳的乳化方式。3 种乳化方式分别为 (1) 搅拌乳化 20

min, 直接剪切; (2) 搅拌乳化 20 min, 保温 5 min, 再搅拌乳化 5 min, 最后剪切; (3) 搅拌乳化 30 min, 直接剪切。结果如表 3 所示, 发现第 2 种乳化方式制备乳剂的稳定性最好, 所以最终选择第 2 种乳化方式。

表 3 乳化方式对栀子苷乳剂的影响

Table 3 Effect of emulsifying method on gardenoside emulsion

乳化方式	乳化时间/min	析油时间/d	静置分层时间/d
搅拌乳化 20 min, 直接剪切	1.66	<0.50	<0.50
搅拌乳化 20 min, 保温 5 min, 再搅拌乳化 5 min, 最后剪切	1.32	>3.00	>3.00
搅拌乳化 30 min, 直接剪切	1.57	<1.00	<1.00

表 4 乳化温度对栀子苷乳剂的影响

Table 4 Effect of emulsifying temperature on gardenoside emulsion

乳化温度/°C	乳化时间/min	析油时间/d	静置分层时间/d
50	1.73	<0.50	<0.50
60	1.45	>3.00	>3.00
70	1.42	<1.00	<1.00

果, 综合考虑, 最终选择乳化温度为 60 °C。

2.2.3 搅拌速度的考察 最后, 考察搅拌速度对乳剂的影响, 筛选出最佳的搅拌速度。根据先前研究, 制备乳剂时的搅拌速度一般在 400 r/min 左右^[20], 所以分别考察了 300、400、500 r/min 3 个搅拌速度对乳剂的影响, 根据对乳化时间、析油时间和静置分层时间的综合考察, 选择出最佳的搅拌速度, 考察结果如表 5 所示。根据实验结果, 3 种搅拌速度制备的乳剂稳定性相近, 综合考虑最终选择搅拌速度为 400 r/min。

2.3 处方和制备工艺确定

根据实验结果确定栀子苷油包水型乳剂的最终处方和制备工艺, 具体如下: 称取处方量的栀子苷溶于 7 mL 的水中, 加入乳化剂 (T80 和丙三醇), 即得水相于烧杯中。称取处方量的葡萄籽油和杏仁油, 加入乳化剂 (S80), 得油相于烧杯中。二相分

表 5 搅拌速度的影响

Table 5 Effect of stirring speed on gardenoside emulsion

搅拌速度/ (r·min ⁻¹)	乳化时间/ min	析油时间/ d	静置分层时间/ d
300	1.78	>10.00	>10.00
400	1.50	>10.00	>10.00
500	1.33	>10.00	>10.00

2.2.2 乳化温度的考察 乳化温度也同样对乳剂的稳定性有着较大的影响。所以在预试验的基础上, 综合比较了在 50、60、70 °C 条件下所制得的乳剂的乳化时间、析油时间和静置分层时间, 根据结果, 筛选出最佳的乳化温度, 结果见表 4。根据实验结

别在 60 °C 水浴中搅拌均匀, 在 400 r/min 的搅拌速度下向油相中逐滴加入水相 (滴加速度不能过快), 20 min 内滴加完毕。停止搅拌, 保温 5 min 后, 再水浴搅拌 5 min, 即得初乳。最后将高剪切分散乳化机调至 2 档, 进行剪切匀化, 剪切过程: 剪切 1 min, 停机 1 min, 再剪切 1 min, 即得栀子苷油包水型乳剂。

2.4 栀子苷乳剂的性质考察

2.4.1 外观 制备的栀子苷乳剂为乳白色均一液体, 静置不分层, 具有良好的流动性, 见图 2。取一干净塑料滴管, 吸取少量乳液滴于冷水中, 呈油滴状不扩散, 证明是一种非均相液体分散体系。将乳剂密封, 遮光、低温储存, 包装封口严密, 瓶外整洁、无污物, 1 个月之后, 未见有发霉、酸败、变色、异物、产生气体或其他变质现象, 证明栀子苷乳剂性质稳定。

2.4.2 粒径和粒度分布 将制备的栀子苷乳剂用葡萄籽油和杏仁油为 8:2 的比例搅拌而得的复合油稀释 50 倍, 置于显微镜下, 采用 10×4 的放大倍数进行观察。显微镜观察结果 (图 3) 显示, 乳剂的粒径均匀圆整, 分布均匀, 栀子苷乳剂性质良好。

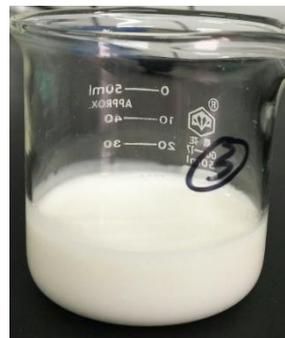


图 2 栀子苷乳剂的外观

Fig. 2 Appearance of gardenoside emulsion



图 3 显微镜观察结果 (10×4)

Fig. 3 Result of microscope observations (10×4)

将稀释好的栀子苷乳剂,用马尔文激光粒度仪精密测定其粒径大小和分布,如图 4 所示。测定结果显示,栀子苷乳剂平均粒径为 $(5.48 \pm 0.02) \mu\text{m}$,粒度分布呈单峰, PDI 值为 0.125 ± 0.096 。说明该处方制得的乳剂粒径较小、分布均匀、分布范围较窄且分散均匀,是均一稳定的分散体系。

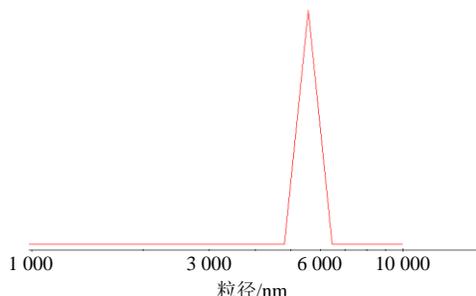


图 4 栀子苷乳剂的粒径分布

Fig. 4 Particle size and distribution of gardenoside emulsion

2.5 栀子苷乳剂稳定性考察

乳剂属于热力学不稳定体系,当外界条件发生变化或长期放置等过程中,容易发生分层、絮凝、转相或合并等不稳定因素的变化,引起制剂外观、色泽、粒径及含量等一系列性质的改变,会对药物的药效、作用等产生本质上的影响,因此制得乳剂的稳定是其存在和发挥作用的前提,对其稳定性进行考察是有非常必要的。

根据《中国药典》2015 年版要求,取栀子苷乳剂,以 4 000 r/min 离心 15 min 观察^[21],未见分层,符合要求;以 15 000 r/min 离心 15 min 观察^[22],有轻微分层,通过振摇恢复原状,静置 24 h 未见再次分层。综合考察,可认为乳剂的稳定性良好。

2.6 乳剂中栀子苷测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(体积比为 35:65); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 238

nm; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL; 理论塔板数以栀子苷峰计算不低于 2 550。

2.6.2 标准曲线制备 精密称取栀子苷 0.01 g 于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液。精密量取上述溶液 10、20、40、80、160、320 μL 于 1.5 mL 的 EP 管中,用甲醇稀释至 1 mL,混合得澄清无色溶液,在 238 nm 处检测, HPLC 进样 10 μL 测定。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 制备标准曲线,得到拟合方程 $Y=12\ 870 X+60\ 252$, $r=0.999\ 2$, 栀子苷质量浓度在 10~320 mg/L 与峰面积线性关系良好。

2.6.3 精密度试验 取低、中、高 3 种质量浓度(50、150、300 mg/L)的对照品溶液,在同 1 d 内按照 2 h 的时间间隔,进样 10 μL 检测,每个质量浓度平行测定 3 次,按所测峰面积积分值,求取日内 RSD,计算日内精密度。同时,将该试验样品在第 1~5 天分别测定,计算日间精密度。结果日内精密度 RSD 分别为 1.92%、1.88%、1.98%, 日间精密度 RSD 分别为 1.21%、0.67%、1.06%, 可知,根据本方法所求得的日内及日间精密度的 RSD 均小于 2%, 证明精密度符合要求。

2.6.4 重复性试验 配制低、中、高 3 种质量浓度(50、150、300 mg/L)的栀子苷水溶液各 6 份,取上述样品过 0.45 μm 的微孔滤膜,按“2.6.1”项色谱条件在同 1 d 内将 6 份续滤液依次连续进样 10 μL,测定其峰面积求取 RSD,计算得 RSD 为 1.15%, 表明方法重复性良好。

2.6.5 稳定性试验 取样品溶液适量,分别在 0、2、4、6、12 h 取续滤液 10 μL,按“2.6.1”项色谱条件进样分析,记录峰面积以考察其稳定性。经计算求得峰面积的 RSD 值为 0.85%, 可见样品溶液在 12 h 内的稳定性良好。

2.6.6 检测限和定量限的确定 精密称取栀子苷用甲醇稀释成不同质量浓度后,取 10 μL 进行 HPLC 检测,测得其检出限 ($S/N=3$) 质量浓度为 2 mg/L, 定量限 ($S/N=10$) 质量浓度为 5 mg/L。

2.6.7 含量测定 制剂的含量是评价制剂质量的主要指标之一,故通过测定栀子苷乳剂中栀子苷的含量来评价乳剂的质量。取 1 mL 栀子苷乳剂至 10 mL 的刻度试管中,用甲醇定容,超声溶解 20 min,离心 15 min,取上清液过 0.45 μm 滤膜,取续滤液 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定乳剂中所含栀子苷的

质量浓度。3 组平行样品，取平均值。将栀子苷乳剂的峰面积代入标准曲线方程中，得到乳剂中栀子苷的量，计算含量（栀子苷含量=乳剂中的栀子苷/加入的栀子苷），统计 3 组数据得到平均含量，计算可知乳剂中栀子苷的平均含量为 92.14%，RSD 为 1.86%（ $n=3$ ），乳剂质量较好。

2.7 体外释放度考察

2.7.1 不同 pH 值下的释放曲线 栀子苷乳剂被设计为口服制剂，所以需要进一步对体外释放度进行考察。取栀子苷乳剂，依照半透膜法测定不同 pH 值条件下栀子苷的释放，释放介质分别为 pH 1.2、4.5、6.8、7.4 的缓冲溶液。

取栀子苷乳剂 5 g，置于透析袋内，将系紧的透析袋没入 450 mL 释放介质中，释放温度为（ 37.0 ± 0.5 ）℃开始计时，在 10、20、30、40、50 min 及 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 h 时间点分别取溶液 1 mL，同时补充相同温度、体积、pH 值的释放介质，所取溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，通过 HPLC 测定栀子苷的质量浓度（3 批样品平均值），计算各时间点的累积释放率，绘制累积释放曲线。

体外释放曲线如图 5 所示，6 h 内栀子苷乳剂在 pH 4.5、6.8、7.4 的环境下体外释放速率分别最高达 105.32%、98.41%、98.70%，基本释放完全，而在 pH 1.2 的环境下体外释放速率最高达 63.45%，释放较差。

2.7.2 释药机制的研究 药动力学研究表明栀子苷属于肠吸收^[23]，乳剂在 pH 6.8 的条件下，释放曲线最具代表性，故将 pH 6.8 的释放曲线进行拟合，解释其释药规律。本实验将释药曲线分别用零级、一级、Higuchi 方程、Ritger-Papers 方程、Hixon-Crowell

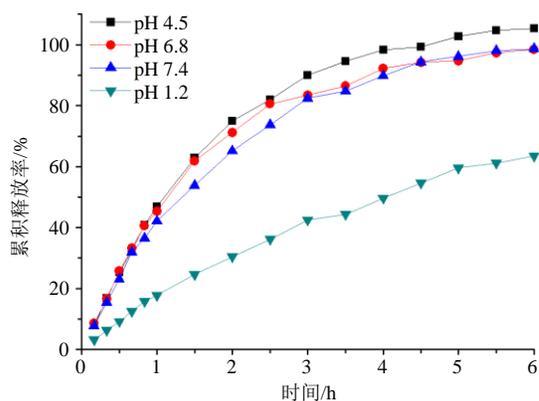


图 5 体外释放曲线 ($n=3$)

Fig. 5 *In vitro* release curve ($n=3$)

方程进行拟合，结果见表 6。由表 6 可见，栀子苷乳剂体外释药模型拟合接近程度依次为一级模型 > Hixon-Crowell 模型 > Higuchi 模型 > Ritger-Peppas 模型 > 零级模型。因此认为栀子苷乳剂体外释药符合一级模型，控制释放，6 h 内药物基本释放完全。

表 6 栀子苷乳剂的释放规律

Table 6 Release patterns of gardenside emulsion

模型	方程	r
零级	$R=14.675 t+26.789$	0.920 0
一级	$\ln(99.623-R)=4.622-0.639 t$	0.999 4
Higuchi	$R=45.563 t^{1/2}+2.235 2$	0.976 9
Ritger-Peppas	$\ln R=0.645 6 \ln t+3.649 6$	0.974 1
Hixon-Crowell	$(100-R)^{1/3}=-0.561 7 t+4.375 6$	0.990 6

3 讨论

乳剂是一种热力学不稳定的系统，决定其稳定性的成分有许多。油相、水相和乳化剂作为乳剂形成的 3 个组分，对乳剂的形成都起着至关重要的作用。其中乳化剂的种类及用量对于乳剂的稳定性起到重要的作用，选择合适的乳化剂对于油相和水相的分散更有利更充分更均匀。乳化剂一般应具有高效的乳化能力，自身稳定性良好，对人体的副作用极小，对高温高压灭菌及长时间贮存能达到自身不分解等优点。目前乳化剂的种类主要有大豆卵磷脂、普郎尼克 F68 和聚山梨酯（Tween）系列和失水山梨糖醇脂肪酸酯（Span）系列。根据制备的栀子苷乳剂的类型，故选用 S80 和 T80 按一定比例混合作为混合乳化剂。同样油相、水相和乳化剂三者的比例对乳剂的稳定性也是至关重要的，故选用混料设计，设计出 21 组试验，筛选出三相最佳的比例，得到最稳定的乳剂。

制备工艺影响乳剂的稳定性，乳化方式、乳化温度和搅拌速度都确定之后，才能得到稳定性良好的乳剂。通过试验，采用间歇式乳化方式，制备出更稳定的乳剂。在磷脂相转变的温度范围内，乳化温度的提高，即从 50℃ 上升到 60℃，在一定程度上可降低连续相的黏度，有利于剪切力的传递和乳剂的制备；但温度的升高会使介面膜发生膨胀，即在 70℃ 的条件下，使得乳滴易聚集导致合并，从而乳剂的稳定性较差。所以在最佳乳化温度 60℃ 下，才能使得油水接口上 2 种乳化剂紧密排列混合形成稳定的介面膜，同时使乳滴的粒径达到最小。从结果观察可知，搅拌速度对乳剂稳定性的影响不

是十分显著,特别是400 r/min和500 r/min 2个速度,乳剂稳定性变化不大,但考虑到高速搅拌会引起制备过程中乳液的飞溅,造成实验的失败和人员的伤害,所以选择400 r/min作为搅拌速度。

乳剂的稳定性通常可以通过多个指标进行评价,包括离心稳定性、灭菌稳定性、加速稳定性和长期稳定性等等。本研究就选用离心实验来评价栀子苷乳剂的稳定性,通过目视分层结果来证明所制备的栀子苷乳剂稳定性良好。

已知栀子苷在整个肠段都有吸收,无特定吸收部位,具有广泛的吸收窗^[23]。所以配制pH 4.5、6.8、7.4的释放介质来模拟人体整个肠道的环境,通过释放试验证实栀子苷乳剂在该条件下释放良好。而栀子苷在胃中不易吸收^[23],所以制备释放介质为pH 1.2来模拟胃内环境,结果显示口服栀子苷乳剂在酸性环境中释放较差。猜测可能与栀子苷的结构有关,栀子苷为环烯醚萜苷类化合物,而环烯醚萜苷对酸很敏感,其苷键极易被酸水解,生成的苷元很不稳定,易发生聚合反应,进而具有抑制胃液分泌的药理作用。

本研究以混料设计方法优化了水溶性化合物栀子苷油包水的乳剂制备工艺,表明油相、水相、乳化剂的配比对乳剂的稳定性有重要影响,对粒径、离心加速实验、稳定常数和体外释放进行评价,结果表明性质稳定,在碱性条件下释放速度大于酸性条件,为其进一步开发奠定基础。

参考文献

- [1] 郑浩然,褚扬,李伟,等.天然环烯醚萜类化合物的药理学研究进展[J].药物评价研究,2018,41(6):1147-1153.
- [2] Ma T, Huang C, Zong G, et al. Hepatoprotective effects of geniposide in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63(4): 587-593.
- [3] Guo L X, Zheng X X, Liu J H, et al. Geniposide suppresses hepatic glucose production via AMPK in HepG2 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2016, 39(4): 484-491.
- [4] 姚冬冬,舒变,杨蕾,等.栀子苷降糖作用及相关机制研究[J].中草药,2014,45(8):1121-1125.
- [5] 王刚.栀子苷镇痛抗炎药理作用分析[J].医药前沿,2013,3(11):30.
- [6] 刘雨东,王美霞,邓跃林,等.栀子苷减轻幼年哮喘小鼠气道炎症反应并下调TLR4/NF- κ B活性[J].基础医学与临床,2016,36(10):1417-1421.
- [7] Pan L, Zhou J, Zhu H, et al. Study on integrated pharmacokinetics of gardenia acid and geniposide: Time-antioxidant efficacy after oral administration of Huanglian-Zhizi Couplet Medicine from Huang-Lian-Jie-Du-Tang in MCAO rats [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(2): 393-407.
- [8] 游伟良,平其能,孙敏捷,等.栀子苷的药理学研究新进展[J].药学进展,2012,36(4):158-162.
- [9] 唐岚,吴兰,孙伯璇,等.栀子苷磷脂复合物的制备及评价[J].浙江工业大学学报,2018,46(1):110-118.
- [10] 宋艳丽,韩腾飞,李莎莎,等.栀子苷经鼻给药醇质体喷雾剂的制备及其体外鼻黏膜渗透性研究[J].中草药,2013,44(9):1105-1110.
- [11] Mundada V, Patel M, Sawant K. Submicron emulsions and their applications in oral delivery [J]. *Crit Rev Ther Drug*, 2016, 33(3): 265-308.
- [12] 李明,侯世祥,毛声俊,等.复方丹参冻干乳剂的制备及其体外溶出特性研究[J].中草药,2017,48(13):2632-2637.
- [13] 逯获,任晓文,王博,等.载药脂肪乳剂的研究进展[J].现代药物与临床,2011,26(5):339-343.
- [14] 江敏瑜,闫丹,陈娇,等.蛇床子素发泡微乳剂制备研究[J].中草药,2018,49(7):1562-1568.
- [15] Dong W, Zhang L, Niu Y, et al. A stable and practical etoposide-containing intravenous long-/medium-chain triglycerides-based lipid emulsion formulation: Pharmacokinetics, biodistribution, toxicity, and antitumor efficacy [J]. *Expert Opin Drug Del*, 2013, 10(5): 559-571.
- [16] Kharat M, Zhang G D, McClements D J. Stability of curcumin in oil-in-water emulsions: Impact of emulsifier type and concentration on chemical degradation [J]. *Food Res Int*, 2018, 111: 178-186.
- [17] 郭秀春,郭小白,李艺晶,等.葡萄籽油氧化稳定性研究[J].河南大学学报:医学版,2018,37(3):153-158.
- [18] 何琳,刘意,郑冬梅,等.盐酸小檗碱自微乳剂的处方设计及体外评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(10):26-30.
- [19] 江敏瑜,闫丹,陈娇,等.蛇床子素发泡微乳剂制备研究[J].中草药,2018,49(7):1562-1568.
- [20] 李翔.丙烯酸酯类乳液胶黏剂的制备及其应用[J].包装工程,2017,38(17):91-95.
- [21] 中国药典[S].二部.2015.
- [22] 王银艳,李曦,赖秀俊,等.丹参双相载药乳剂的研制及其质量评价[J].中国中药杂志,2014,39(19):3748-3752.
- [23] 李允,郎巧玲,冯芳,等.栀子大黄汤有效成分在体肠吸收研究[J].药学与临床研究,2014,22(3):197-200.