

丹参酮 II_A 脂化乳的制备及其稳定性研究

张秀荣, 陈芳宁, 王秀丽*, 邱仁杰, 雷晓晴

北京中医药大学 中药学院, 北京 100102

摘要: **目的** 制备丹参酮 II_A 脂化乳, 并考察丹参酮 II_A 脂化乳在人工胃肠液中的稳定性, 为脂化乳作为口服制剂的合理性和可行性研究提供依据。**方法** 制备丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒。以原型药物为对照, 采用紫外分光光度法测定不同制剂中丹参酮 II_A 的质量浓度。比较丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒在人工胃液和人工肠液中的变化。**结果** 不同制剂中丹参酮 II_A 在人工胃液中的质量浓度均有所降低, 但脂化乳、脂化乳粒均较混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度高。在人工胃液中, 3 h 后混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度比脂化乳粒少 11.8%、比脂化乳少 33.3%。脂化乳粒、脂化乳在人工肠液中丹参酮 II_A 质量浓度几乎没有变化, 混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度有所降低, 但较胃液中降低幅度有所缓和。在人工肠液中, 6 h 后混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度比脂化乳粒少 20.3%、比脂化乳少 25.8%。**结论** 丹参酮 II_A 脂化乳、脂化乳粒均能提高人工胃、肠液中所负载丹参酮 II_A 的稳定性, 且脂化乳效果优于脂化乳粒, 提示稳定体系有助于进一步提高人工胃、肠液中制剂稳定性。

关键词: 丹参酮 II_A; 脂化乳; 混悬液; 脂化乳粒; 人工胃液; 人工肠液; 稳定性

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)01-0016-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.01.004

Preparation and stability of Tanshinone II_A Lipo-emul

ZHANG Xiu-rong, CHEN Fang-ning, WANG Xiu-li, QIU Ren-jie, LEI Xiao-qing

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To prepare Tanshinone II_A Lipo-emul, and study stability of tanshinone II_A in artificial gastrointestinal fluid, so as to provide the basis for study of rationality and feasibility for lipo-emul n as oral preparation. **Methods** Tanshinone II_A Suspension, Lipo-emul, and Lipo-emul Particles were prepared. Tanshinone II_A was used as model drugs, and UV spectrophotometry was used to determine concentration of tanshinone II_A in different preparations. Concentration changes of tanshinone II_A in different preparations in artificial gastrointestinal fluid were compared. **Results** Concentrations of tanshinone II_A in different preparations in artificial gastric juice were decreased, but concentration of tanshinone II_A in Tanshinone II_A Lipo-emul and Lipo-emul Particles were higher than those in Tanshinone II_A Suspension. In the artificial gastric juice treated for 3 h, the concentration of tanshinone II_A in Tanshinone II_A Suspension was 11.8% and 33.3%, which was less than that of Tanshinone II_A Lipo-emul Particles and Lipo-emul. The concentration of tanshinone II_A in Tanshinone II_A Lipo-emul and Lipo-emul Particles had almost no change in artificial intestinal juice, but that in Tanshinone II_A Suspension was decreased, however, the extent of decrease was shorter than those in gastric juice. In artificial intestinal juice treated for 6 h, the concentrations of tanshinone II_A in Tanshinone II_A Suspension were 20.3% and 25.8% less than those of Tanshinone II_A Lipo-emul Particles and Lipo-emul. **Conclusion** Tanshinone II_A Lipo-emul Particles and Lipo-emul both can improve the stability of loaded-drugs in the artificial gastrointestinal fluid, and the stability of Lipo-Emul is better than that of Lipo-Emul particles, which suggests that stability of the system is helpful to further enhance the stability of preparation in artificial gastrointestinal fluid.

Key words: tanshinone II_A; lipo-emul; suspension; lipo-emul particles; artificial gastric juice; artificial intestinal juice; stability

收稿日期: 2016-11-28

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (71321118)

作者简介: 张秀荣, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂。

*通信作者 王秀丽 (1978—), 女, 辽宁人, 副研究员, 博士, 研究方向: 中药复方新型给药系统及新型辅料研究。E-mail: lnwangxiuli@163.com

丹参酮 II_A 是丹参中的主要脂溶性活性成分, 属于二萜醌类化合物^[1], 具有增加冠脉流量、抗心肌缺血、抗心律失常、抗动脉粥样硬化等作用。丹参酮 II_A 水溶性差, 渗透性低, 目前上市剂型为丹参酮 II_A 磺酸钠注射剂, 但其存在易分解、稳定性差等问题, 致使临床应用受到限制^[2-3]。口服的给药方式因为相对安全、方便而更易于广大患者接受。口服给药方式的药物在胃肠道内的稳定性是其在机体内吸收、代谢和起效的一个重要环节。普通口服制剂在胃肠道中对药物成分没有保护作用, 因此开发一种新型纳米给药系统, 提高药物胃肠道稳定性、提高口服生物利用度是亟待解决的问题。本实验结合本研究团队新研制的纳米口服给药系统脂化乳, 以丹参酮 II_A 为模型药物, 制备含有稳定体系的丹参酮 II_A 脂化乳以及不含有稳定体系的脂化乳粒。以原型药物丹参酮 II_A 为对照, 采用紫外分光光度法对原型药物、丹参酮 II_A 脂化乳粒、脂化乳在人工胃、肠液中的变化进行考察, 以期达到改善丹参酮 II_A 胃肠稳定性, 提高口服生物利用度的目的, 为脂化乳作为口服制剂的合理性和可行性研究提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

TU-1810APC 型紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); CP225D、BS210S 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); KQ-5200DE 型数控超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)

1.2 试药

丹参酮 II_A (宝鸡市国康生物科技有限公司, 批号 120428, 质量分数 > 98%); 蛋黄卵磷脂 PC-98T (高纯度注射级, 日本丘比株式会社); 蛋黄卵磷脂 (PL-100M, 上海艾韦特医药科技有限公司, 批号 93685-90-6); 大豆卵磷脂 (德国 Lipoid 公司, 质量分数 > 94%); 氢化大豆磷脂 (HSPC, 上海艾韦特医药科技有限公司, 批号 92128-87-5); 中链甘油三酸酯 (MCT)、蓖麻油聚氧乙烯 (医用级)、大豆油 (药用级) 购自西安悦来医药科技有限公司; 十二烷基硫酸钠 (SDS); 胃蛋白酶 (Sigma Vetec 公司, 批号 V900497); 胰蛋白酶 (Sigma 公司, 批号 85450C); 甲醇 (色谱纯, Fisher 公司)。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 丹参酮 II_A 混悬液的制备

加入 SDS 溶液中, 制成 0.5 mg/mL 丹参酮 II_A 混悬液。

2.1.2 丹参酮 II_A 脂化乳、脂化乳粒的制备 称取处方量丹参酮 II_A 10 mg, 与 2.625 g 油相一起溶于适量无水乙醇中, 60 °C 水浴加热至完全溶解, 搅拌下加入 18 mL, 60 °C 含有适量稳定材料聚丙烯酰胺的蒸馏水中, 高压乳匀机中 60 MPa 循环 1 min, 即得丹参酮 II_A 脂化乳。所得丹参酮 II_A 脂化乳粒径为 (267.8 ± 5.66) nm, 多分散系数 (PDI) 为 0.073 ± 0.04, 电位为 (-4.65 ± 0.53) mV。

丹参酮 II_A 脂化乳粒制备方法与脂化乳相同, 但水相中不加入稳定材料聚丙烯酰胺。丹参酮 II_A 脂化乳粒的粒径为 (252.2 ± 6.03) nm, PDI 为 0.059 ± 0.08、电位为 (-5.88 ± 0.53) mV。

2.2 人工胃肠液的配制

取稀盐酸 16.4 mL, 加水约 800 mL 与 10 g 胃蛋白酶摇匀后, 加水稀释成 1 000 mL, 即得人工胃液 (pH 1.0)。

取磷酸二氢钾 6.8 g, 加水 500 mL 使溶解, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8; 另取胰酶 10 g, 加水适量使溶解, 将两液混合后, 加水稀释至 1 000 mL, 即得人工肠液 (pH 6.8)。

2.3 丹参酮 II_A 测定方法的建立

2.3.1 标准母液的配制 精密量取干燥至恒定质量的丹参酮 II_A 7.5 mg, 置于 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 300 μg/mL 丹参酮 II_A 标准母液。

2.3.2 测定波长的选择 将丹参酮 II_A 溶液于 190 ~ 400 nm 进行全波长扫描, 结果丹参酮 II_A 在 266 nm 处有最大吸收, 因此选定 266 nm 作为测定波长。

2.3.3 标准曲线的绘制 分别精密量取丹参酮 II_A 标准母液 30、50、100、200、300、500 μL, 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 分别得到质量浓度分别为 0.9、1.5、3.0、6.0、9.0、15.0 μg/mL 的系列溶液。以甲醇作参比, 分别测定 266 nm 处吸光度 (*A*), 记录 *A* 值。以 *A* 值对质量浓度进行线性回归, 得回归方程 $A = 0.0557C + 0.0732$ ($r = 0.9845$)。结果表明, 丹参酮 II_A 质量浓度在 0.9 ~ 15 μg/mL 与吸光度值线性关系良好。

2.3.4 精密度试验 取丹参酮 II_A 适量, 精密称定, 配成 6.0 μg/mL 溶液, 在 266 nm 处连续平行测定 6 次, 记录 *A* 值, 结果 *A* 值的 RSD 值为 2.98%。

2.3.5 稳定性试验 取丹参酮 II_A 脂化乳供试品溶

液, 室温条件下避光保存, 分别于 0、2、4、8、24、48 h 测定 A 值, 结果其 RSD 值为 3.63%。

2.3.6 重复性试验 精密吸取同一批丹参酮 II_A 脂化乳 6 份, 制备供试品溶液, 测定 A 值, 结果其 RSD 值为 3.19%。

2.3.7 加样回收率试验 取已知含量的丹参酮 II_A 脂化乳供试品溶液 6 份, 各 0.1 mL 于 10 mL 量瓶中, 其中 3 份加入 0.1 mL 丹参酮 II_A 对照品溶液, 另外 3 份加入 0.2 mL 丹参酮 II_A 对照品溶液, 混匀, 测定 A 值, 计算得平均回收率为 104.8%, RSD 值为 3.62%。

2.3.8 供试品溶液中丹参酮 II_A 的测定 精密吸取丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳粒、脂化乳各 1 mL, 加甲醇 6 mL, 摇匀, 在 266 nm 处测定 A 值, 计算供试样品液中丹参酮 II_A 的质量浓度。

2.4 丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒在人工胃液中的变化

精密量取丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒各 5 mL, 加入适量人工胃液中, 置于 37 °C 水浴中以 80 r/min 搅拌。每隔 0.5 h 取样 1 mL, 连续取样 3 h。每次取出的 1 mL 样品加入 6 mL 甲醇以灭活胃蛋白酶及破乳后, 在 266 nm 处测定 A 值, 计算不同制剂中丹参酮 II_A 与供试样品液中质量浓度 (100%) 进行比较, 计算平均剩余量, 结果见图 1。

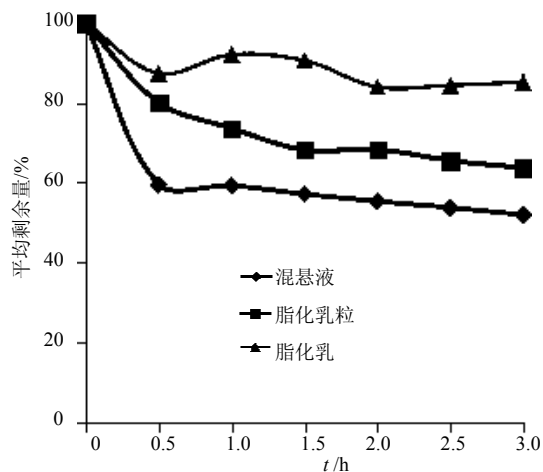


图 1 不同制剂中丹参酮 II_A 在人工胃液中的变化

Fig. 1 Changes of tanshinone II_A in different preparations in artificial gastric juice

可见不同制剂中丹参酮 II_A 在人工胃液中的质量浓度均有所降低, 但脂化乳、脂化乳粒均较混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度高。在人工胃液中, 3 h 后混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度比脂化乳粒少 11.8%、

比脂化乳少 33.3%。增加稳定体系的脂化乳效果均优于不含稳定体系的脂化乳粒, 说明稳定体系有助于进一步提高制剂稳定性。同时脂化乳、脂化乳粒均能提高所包载药物的稳定性。

2.5 丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒在人工肠液中的变化

精密量取丹参酮 II_A 混悬液、脂化乳、脂化乳粒各 5 mL, 加入适量人工肠液中。样品置于 37 °C 水浴中以 80 r/min 搅拌。每隔 1 h 取样 1 mL, 连续取样 6 h。每次取出的 1 mL 样品加入 6 mL 甲醇以灭活胃蛋白酶及破乳后, 在 266 nm 处测定 A 值, 计算不同制剂中丹参酮 II_A 的质量浓度。与供试样品液中质量浓度 (100%) 进行比较, 计算平均剩余量, 结果见图 2。

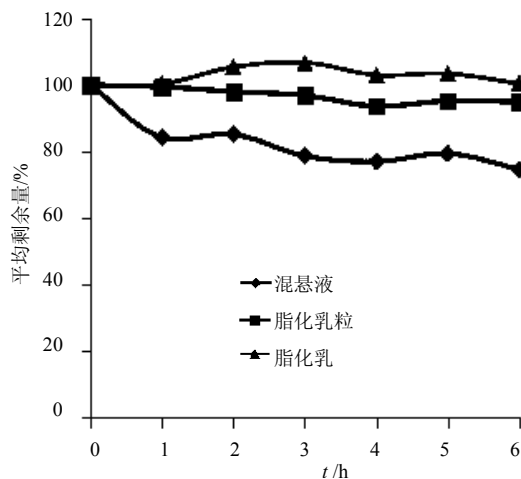


图 2 不同制剂中丹参酮 II_A 在人工肠液中变化

Fig. 2 Changes of tanshinone II_A in different preparations in artificial intestinal juice

可见脂化乳粒、脂化乳在人工肠液中丹参酮 II_A 质量浓度几乎没有变化, 混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度有所降低, 但较胃液中降低幅度有所缓和。在人工肠液中, 6 h 后混悬液中丹参酮 II_A 质量浓度比脂化乳粒少 20.3%、比脂化乳少 25.8%。结果说明脂化乳、脂化乳粒均能提高人工肠液中所包载药物丹参酮 II_A 的稳定性。

3 讨论

药物口服吸收的主要场所在胃肠道, 胃肠道的 pH 值和蛋白酶的消化作用会致使药物分解失活。本实验采用的模型药物丹参酮 II_A 具有较好的药理活性, 但其在胃中的不稳定性影响其口服吸收, 其口服绝对生物利用度低于 3.5%^[5]。脂化乳给药系统口服有助于提升丹参酮 II_A 胃肠道稳定性、促进吸收。

丹参酮 II_A 在人工胃液的酸性环境中质量浓度随时间延长而明显降低。但在人工肠液中, 丹参酮 II_A 质量浓度降低不明显, 与文献报道^[4]在较高 pH 值条件下 pH 值对丹参酮 II_A 的稳定性基本无影响一致。

本实验从提高药物制剂在人工胃肠液中稳定性的角度, 阐释丹参酮 II_A 脂化乳口服给药的合理性。由研究结果可知, 丹参酮 II_A 脂化乳、脂化乳粒均能提高人工胃、肠液中所包载丹参酮 II_A 的稳定性, 且脂化乳效果优于脂化乳粒, 提示稳定体系有助于进一步提高人工胃、肠液中制剂稳定性。

综上所述, 丹参酮 II_A 脂化乳可提高药物胃肠道中稳定性, 从而提高其口服生物利用度, 具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 刘海波, 徐 峻, 彭 勇, 等. 丹参活血化瘀活性成分的靶标 [J]. 物理化学学报, 2010, 26(1): 199-205.
- [2] 张志荣, 裘福荣. 丹参酮 II_A 药理作用研究进展 [J]. 医药前沿, 2016, 6(12): 32-34.
- [3] Sun J H, Yang M, Wang X M, *et al.* Identification of tanshinones and their metabolites in rat bile after oral administration of TTE-50, a standardized extract of *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-ESI-DAD-MSⁿ [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(2): 564-574.
- [4] 刘 梅, 夏鑫华. 丹参酮 II_A 的化学稳定性研究 [J]. 中药材, 2010, 33(4): 606-609.
- [5] 田葆萍, 袁志芳, 张兰桐. 丹参及其制剂的体内药代动力学研究概述 [J]. 中国药房, 2003, 14(6): 375-376.