

丹酚酸 B 脂化乳的制备及其稳定性研究

陈芳宁, 张秀荣, 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** 制备丹酚酸 B 脂化乳, 并考察其在人工胃液中的稳定性。**方法** 制备丹酚酸 B 脂化乳粒、脂化乳。采用紫外分光光度法测定并比较脂化乳粒、脂化乳中丹酚酸 B 在人工胃液和人工肠液中的变化。**结果** 不同制剂中丹酚酸 B 在人工胃液中的量均有所降低, 但脂化乳和脂化乳粒均较水溶液中丹酚酸 B 的量高, 3 h 后丹酚酸 B 水溶液中药物的量分别较脂化乳、脂化乳粒少 19.3%、6.4%。不同制剂中丹酚酸 B 在人工肠液中的量均有所降低, 但脂化乳、脂化乳粒均较水溶液中丹酚酸 B 的量高, 6 h 后丹酚酸 B 水溶液中药物的量分别较脂化乳、脂化乳粒少 32.7%、5.3%。**结论** 丹酚酸 B 脂化乳、脂化乳粒均能提高人工胃、肠液中所包载药物的稳定性; 且脂化乳效果优于脂化乳粒。

关键词: 丹酚酸 B; 脂化乳; 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)02-0179-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.02.004

Preparation and stability of Salvianolic Acid B Lipo-emul

CHEN Fang-ning, ZHANG Xiu-rong, 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 Salvianolic Acid B Lipo-emul, and study stability of salvianolic acid B in artificial gastrointestinal fluid. **Methods** Salvianolic Acid B Lipo-emul and Lipo-emul Particles were prepared. UV spectrophotometry was used to determine concentration of salvianolic acid B in different preparations. Concentration changes of salvianolic acid B in different preparations in artificial gastrointestinal fluid were compared. **Results** The contents of salvianolic acid B of different preparations in artificial gastric juice were decreased, but the index in lipo-emul and lipo-emul particle was higher than those in solution. In artificial gastric juice, salvianolic acid B content in solution was 19.3% and 6.4% less than lipo-emul and lipo-emul particle after 3 h. The contents of salvianolic acid B of different preparations in artificial intestinal juice were also decreased, and salvianolic acid B content in solution was 32.7% and 5.3% less than lipo-emul and lipo-emul particle after 6 h. **Conclusion** Salvianolic Acid B Lipo-emul and Lipo-emul Particles can improve the loaded-drugs' stability in the artificial gastrointestinal fluid. And Lipo-Emul's stability is better than Lipo-Emul particle's.

Key words: salvianolic acid B; lipo-emul; lipo-emul particles; artificial gastric juice; artificial intestinal juice; stability

口服给药方式, 因为相对安全、方便而更易为广大患者接受。但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使药物分解失活, 从而影响口服药物的生物利用度。普通口服制剂在胃肠道中对药物成分没有保护作用, 开发一种新型纳米给药系统, 提高药物胃肠道稳定性并提高生物利用度, 是亟待解决的问题。丹酚酸 B 是丹参水溶性酚酸类成分中含量最高、活性最强的

成分^[1], 对心血管系统、肝脏、肾脏、肺均具有保护作用^[2]。但丹酚酸 B 化学结构不稳定, 在水溶液、胃肠道中易降解, 大大限制了其临床应用^[3]。本课题组创新研制的新型给药系统脂化乳为载药系统, 制备了丹参酮 II_A 脂化乳, 并研究了其稳定性^[4]。本实验以丹酚酸 B 为模型药物, 制备了丹酚酸 B 脂化乳, 并制备不含稳定体系的丹酚酸 B 脂化乳粒, 以丹酚酸 B 为对照, 采用紫外分光光度法对丹酚酸 B

收稿日期: 2016-11-28

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (7132118)

作者简介: 陈芳宁, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂。

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

脂化乳、丹酚酸 B 脂化乳粒及原形药物中的丹酚酸 B 在人工胃液液孵育不同时间后的变化进行测定, 为脂化乳的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); TK-12D 型透皮扩散试验仪 (上海锴凯科技贸易有限公司, 使用其磁力搅拌功能); CP225D、BS210S 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); KQ-5200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

丹酚酸 B (宝鸡国康生物科技有效公司, 批号 MUST-12020104, 质量分数 $\geq 98\%$); 蛋黄卵磷脂 PC-98T (日本产, 高纯度级); 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 (医用级别); 大豆油 (药用级, 西安悦来医药科技有限公司); 十二烷基硫酸钠 (SDS); 自制甘氨酸-盐酸缓冲溶液 (pH 3.32); 胃蛋白酶 (Sigma Vetec, 货号 V900497); 胰蛋白酶 (Sigma 公司, 货号 85450C); 甲醇 (Fisher, 色谱纯)。

2 方法与结果

2.1 丹酚酸 B 脂化乳、脂化乳粒的制备

称取 2.625 g 油相, 溶于 2 mL 无水乙醇中, 置于 60 °C 水浴中至乙醇挥尽。称取适量稳定材料聚丙烯酰胺加入甘氨酸-盐酸缓冲溶液 (pH 3.32) 中静置过夜溶胀后, 加入丹酚酸 B 30 mg 即为水相。将 18 mL 水相加入油相中, 电动搅拌器 3 500 r/min 搅拌 2 min 后, 4.14 MPa 下高压乳匀 1 min 即得均一乳白色丹酚酸 B 脂化乳。

丹酚酸 B 脂化乳粒制备方法与脂化乳相同, 但水相中不加入稳定体系材料。所得丹酚酸 B 脂化乳粒径为 (251.3 ± 3.98) nm, 多分散系数 (PDI) 为 (0.061 ± 0.02) 、电位为 (-6.87 ± 0.67) mV。丹酚酸 B 脂化乳粒的粒径为 (246.4 ± 5.87) nm, PDI 为 (0.066 ± 0.02) 、电位为 (-5.76 ± 0.56) mV。

2.2 紫外分光光度法测定丹酚酸 B

2.2.1 光谱条件 对丹酚酸 B 甲醇溶液于 190~

400 nm 进行全波长扫描, 确定丹酚酸 B 的最大吸收波长为 288 nm。

2.2.2 标准曲线的绘制 精密量取 7.5 mg 丹酚酸 B, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 300 $\mu\text{g/mL}$ 丹酚酸 B 对照品母液。精密量取丹酚酸 B 对照品母液 100、300、500、700、1 000 μL , 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 分别得到 3.0、9.0、15.0、21.0、30.0 $\mu\text{g/mL}$ 系列溶液。于上述最大吸收波长处测定, 记录吸光度 (A) 值。以 A 与质量浓度绘制标准曲线, 得回归方程 $A = 0.0224C - 0.0172$, $r^2 = 0.9967$ 。结果表明丹酚酸 B 在 3.0~30.0 $\mu\text{g/mL}$ 时吸光度值与质量浓度的线性关系良好。

2.2.3 精密度试验 取丹酚酸 B 适量, 精密称定, 配成质量浓度为 15.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 在 288 nm 处连续测定 6 次, 记录 A 值, 结果 RSD 值为 2.21%。

2.2.4 稳定性试验 取丹酚酸 B 脂化乳, 4 °C 条件下保存, 分别于 0、2、4、8、24、48 h 测定, 记录 A 值, 结果 RSD 值为 4.79%, 说明丹酚酸 B 脂化乳 4 °C 条件下保存较为稳定, 未出现显著降解。

2.2.5 重复性试验 取丹酚酸 B 脂化乳 6 份, 测定 A 值, 结果 RSD 值为 3.91%。

2.2.6 加样回收率试验 取丹酚酸 B 脂化乳 6 份各 0.1 mL 于 10 mL 量瓶中, 其中 3 份加入 0.1 mL 丹酚酸 B 对照品溶液, 另外 3 份加入 0.2 mL 丹酚酸 B 对照品溶液, 加入甲醇定容、混匀, 测定 A 值, 计算得平均回收率为 103.97%, RSD 值为 4.07%。

2.3 人工胃液中稳定性试验

2.3.1 人工胃液 (pH 2.0) 的配制 取稀盐酸 0.5 mL, 加水约 900 mL、胃蛋白酶 10 g, 摇匀后, 加水稀释成 1 000 mL, 即得。

2.3.2 丹酚酸 B 水溶液的配制 称取适量丹酚酸 B, 加水配制成质量浓度为 0.8 mg/mL 的丹酚酸 B 水溶液。于使用前现配。

2.3.3 在人工胃液 (pH 2.0) 中的释放 适量 37 °C 人工胃液中加入丹酚酸 B 水溶液、丹酚酸 B 脂化乳、丹酚酸 B 脂化乳粒各 5 mL, 于 TK-12D 型透皮扩散试验仪中 37 °C 水浴以 80 r/min 进行搅拌。30 min 取一次消化液, 每次 1 mL。每次取出的消化液样品加入 6 mL 甲醇以灭活胃蛋白酶及破乳后, 在 288 nm 波长下测定吸光度值。与测得供试样品液中质量浓度 (100%) 进行比较, 计算质量浓度变化, 得到平均剩余量, 结果见图 1。

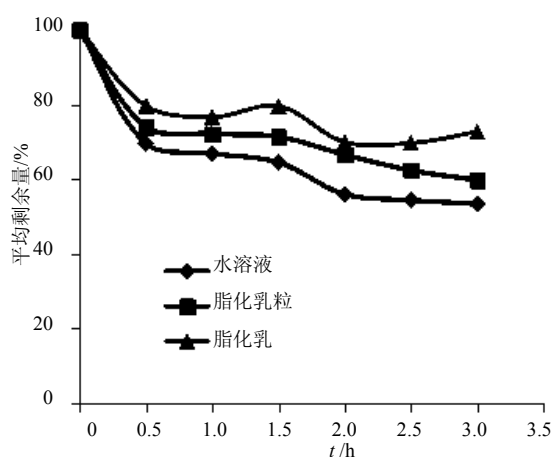


图 1 人工胃液中不同制剂所含丹酚酸 B 平均剩余量曲线
Fig. 1 Time-varying curves of salvanolic acid B of different preparations in artificial gastric juice

由实验结果可知,不同制剂中丹酚酸 B 在人工胃液中的量均有所降低,但脂化乳和脂化乳粒均较水溶液中丹酚酸 B 的量高,3 h 后丹酚酸 B 水溶液中药物的量分别较脂化乳、脂化乳粒少 19.3%、6.4%,说明脂化乳、脂化乳粒均可提高丹酚酸 B 的稳定性。增加了稳定体系的脂化乳效果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的稳定性。

2.4 人工肠液中稳定性试验

2.4.1 人工肠液 (pH 6.8) 的配制 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。

2.4.2 丹酚酸 B 水溶液的配制 称取适量丹酚酸 B,加水配制成质量浓度为 0.8 mg/mL 的丹酚酸 B 水溶液。于使用前现配。

2.4.3 在人工肠液 (pH 6.8) 中的释放 适量 37 °C 人工肠液中分别加入丹酚酸 B 水溶液、脂化乳、脂化乳粒各 5 mL,TK-12D 型透皮扩散试验仪中 37 °C 水浴以 80 r/min 进行搅拌。30 min 取一次消化液,每次 1 mL。每次取出的消化液样品加入 6 mL 甲醇以灭活胰蛋白酶及破乳后,在 288 nm 波长下测定 A 值。与测得供试样品液中质量浓度 (100%) 进行比较,计算质量浓度,得到平均剩余量,结果见图 2。

由实验结果可知,不同制剂中丹酚酸 B 在人工肠液中的量均有所降低,但脂化乳、脂化乳粒均较水溶液中丹酚酸 B 的量高,6 h 后丹酚酸 B 水溶液中药物的量分别较脂化乳、脂化乳粒少 32.7%、

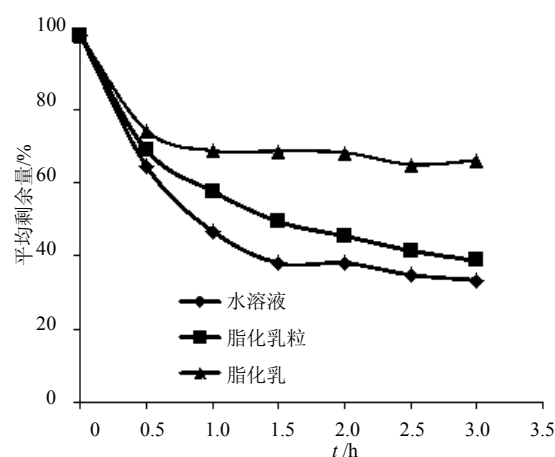


图 2 人工肠液中不同制剂所含丹酚酸 B 平均剩余量曲线
Fig. 2 Time-varying curves of salvanolic acid B of different preparations in artificial intestinal juice

5.3%。说明稳定体系有助于进一步提高人工肠液中制剂稳定性,同时,脂化乳、脂化乳粒均能提高人工肠液中所包载药物丹酚酸 B 的稳定性。

3 讨论

药物口服生物利用度低,一是在胃肠道中药物成分遭到破坏,二是药物成分的溶解性和/或渗透性低。构建一种提高药物成分在胃肠道中稳定性,提高药物成分溶解性和/或渗透性的新型给药系统,有着迫切需求及广阔应用前景。

丹酚酸 B 属于生物药剂学分类系统 (BCS) III 类药物^[5],其水溶性好,具有良好的药理活性。但丹酚酸 B 生物膜透过性差,且在胃肠道中不稳定,导致其口服生物利用度很低,在大鼠和犬体内生物利用度很低,分别为 2.3%、1.07%^[6-7]。本文从提高药物制剂在人工胃肠液中稳定性的角度,阐释新型给药系统脂化乳口服给药的合理性。关于脂化乳提升水溶性药物渗透性的研究,将作为后续的研究继续进行。

实验结果表明,脂化乳、脂化乳粒均能提高包载药物丹酚酸 B 在人工胃、肠液中的稳定性,且脂化乳的稳定效果均明显优于脂化乳粒,说明稳定体系有助于进一步提高人工胃、肠液中制剂稳定性。但从图 1、2 中均可看出,丹酚酸 B 脂化乳中药物剩余含量出现反复情况,说明制剂存在包载药物含量不均一的情况,在后续研究中可通过优化制备工艺改善此情况。

参考文献

- [1] 马金鹏,舒乐新,刘志东.丹酚酸 B 脂质体的制备及其

- 体外释药的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 65-68.
- [2] 赵 先, 王婧雯, 陆 杨, 等. 丹酚酸 B 药理作用的研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2015, 21(1): 107-110.
- [3] 林珈好. 丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与甘草次酸复方脂质体构建及体内外评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [4] 张秀荣, 陈芳宁, 王秀丽, 等. 丹参酮 II_A 脂化乳的制备及其稳定性研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(1): 16-19
- [5] 刘 嘉, 李俊松, 狄留庆, 等. 丹酚酸 B 及其磷脂复合物在 SD 大鼠的生物利用度研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(18): 1408-1411.
- [6] 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.
- [7] Gao D Y, Han L M, Zhang L H, *et al*. Bioavailability of salvianolic acid B and effect on blood viscosities after oral administration of salvianolic acids in beagle dogs [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(5): 773-779.