

芒果苷自微乳给药系统的制备及其大鼠体内药动学研究

轩肖玉, 王亚静*, 张伟玲, 皮佳鑫, 郑银, 高旭

天津中医药大学 天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193

摘要: 目的 制备芒果苷(mangiferin, MGF)自微乳给药系统(SMEDDS), 并对其进行药动学研究。方法 评价系统自微乳化速度, 激光散射仪测定乳化后形成微乳粒径的大小及分布情况; 以 PBS 6.8 缓冲液为释放介质, 考察 MGF-SMEDDS 的体外释放行为; 采用 HPLC 法测定大鼠血浆药物浓度, 考察 MGF-SMEDDS 的体内吸收情况。结果 体系在 1 min 内可乳化完全, 乳化后粒径在 20 nm 左右; MGF-SMEDDS 在 120 min 的累积释放率可达 80% 以上; 大鼠体内药动学研究结果表明, MGF-SMEDDS 达峰时间为 0.43 h, 是 MGF 的 1/7; 最大血药浓度为 0.93 mg/L, 是 MGF 的 2.16 倍。结论 自微乳给药系统可以显著提高 MGF 的体外释放, 改善其药动学性质。

关键词: 芒果苷; 自微乳给药系统; 药动学

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)03-0166-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.03.002

Preparation of self-micro emulsifying drug delivery systems of mangiferin and its pharmacokinetic study in rats

XUAN Xiao-yu, WANG Ya-jing, ZHANG Wei-ling, PI Jia-xin, ZHENG Yin, GAO Xu

Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To prepare the mangiferin (MGF) self-micro emulsifying drug delivery system (SMEDDS) and to study the pharmacokinetic behavior in rats. **Methods** The self-micro emulsifying rate was evaluated and the self-micro emulsifying efficiency was evaluated by the particle size and distribution of resultant micro emulsions. Using PBS 6.8 as releasing medium, the *in vitro* release of MGF-SMEDDS was investigated. The plasma concentration was determined by HPLC and the *in vivo* absorption of MGF-SMEDDS was also evaluated. **Results** The system was self-micro emulsified in 1 min and the particle size was about 20 nm. The accumulated release rate was more than 80% at 120 min, T_{max} was 0.43 h and C_{max} was 0.93 mg/L in SMEDDS group, which were 1/7 and 2.16 times of those in MGF group. **Conclusion** The SMEDDS could increase the drug dissolution *in vitro* significantly and improve the pharmacokinetic properties.

Key words: mangiferin; self-micro emulsifying drug delivery system; pharmacokinetics

芒果苷(mangiferin, MGF)是一种四羟基吡酮的碳糖苷, 属双苯吡酮类化合物, 存在于多种植物中, 具有增强免疫、抗肿瘤、降血糖、保肝利胆等作用^[1-3], 应用前景广阔。但由于芒果苷口服吸收缓慢(t_{max} 在 4~6 h), 口服后血药浓度偏低^[4], 影响了其药效的有效发挥, 因此, 改善芒果苷的药动学性质, 对其临床应用与开发将具有重要的推动作用。自微乳给药系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS)为各向同性、均一稳定的给药体系, 当它进入胃肠道遇到水相介质可在胃

肠蠕动下自发乳化形成微乳, 粒径小于 100 nm, 能促进难溶性药物的溶解, 改善药物的生物药剂学性质^[5]。本实验制备了芒果苷自微乳给药系统(MGF-SMEDDS), 并对其在大鼠体内的药动学性质进行了考察。

1 材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪(配有 UV 检测器和 Chemstation 工作站, 美国 Agilent 公司); NANO 2S 型激光粒径测定仪(英国 Malvern 仪器有限公司); ZRS-8G 型智能溶出试验仪(天津海益达科

收稿日期: 2013-03-29

基金项目: 国家科技部“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09304007)

作者简介: 轩肖玉(1987—), 女, 回族, 在读硕士研究生, 研究方向为药物新制剂。

Tel: 13702157291 Fax: (022)27412619 E-mail: zijimei369@126.com

*通信作者 王亚静, 女, 副研究员, 硕士研究生导师。Tel: (022)59596169 Fax: (022)27412619 E-mail: yajing022@163.com

技术有限公司); SZCI-4B 型智能磁力加热搅拌器(巩义予华仪器有限责任公司); TK-6H 型透皮扩散测试仪(上海楷凯科技贸易有限公司); UV-2800H 紫外分光光度计(上海尤尼柯有限公司); XW-10A 型微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司); AL104 型电子天平(1/1 万, 梅特勒-托利多公司); 透析袋(相对分子质量 7 000)。

芒果苷对照品(批号 110505, 质量分数 >98%, 天津中新药业); 芒果苷(批号 110331, 质量分数 90%, 天津中新药业研究中心); 葛根素(批号 110752-100912, 质量分数 96%, 中国食品药品检定研究院); 肉豆蔻酸异丙酯(IPM, 浙江物美化学品有限公司); 棕榈酸异丙酯(IPP, 浙江物美化学品有限公司); 油酸(天津赢达稀贵化学试剂厂); 辛酸癸酸三甘油酯(GTCC, 浙江物美化学品有限公司); 聚氧乙烯(35)蓖麻油(Cremphor EL35, 德国巴斯夫公司); 聚山梨酯 80(天津北方天医化学试剂厂); 辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(labrasol, 法国嘉法狮公司); 聚乙二醇 400(PEG 400, 西陇化工股份有限公司); 无水乙醇(天津市化学试剂批发公司); 1, 2-丙二醇(天津市化学试剂批发公司); 四氢呋喃(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 冰醋酸(分析纯, 天津市化学试剂批发公司); 甲醇(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 乙腈(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司)。水为纯水, 其余试剂均为分析纯。

SD 大鼠, 雄性, 体质量(200±20) g, 天津市山川红实验动物科技有限公司提供, 合格证号 SCXK(津) 2009-0001。

2 方法与结果

2.1 MGF-SMEDDS 的制备

经预实验以油、乳化剂和助乳化剂对 MGF 的溶解性能为指标, 同时考虑其乳化能力, 对油、乳化剂和助乳化剂进行筛选, 最后选择 Cremphor EL35 作为乳化剂, labrasol 作为助乳化剂, IPM 作为油相。采用三元相图的方法^[6], 以选定的乳化剂、助乳化剂和油相各为一角, 按照不同比例混合并加入一定量的 MGF, 在 40 °C, 600 r/min 的条件下搅拌 6 h 左右使药物完全溶解。在自微乳区域内, 以表面活性剂用量少、自微乳化时间短、药液稳定性好为原则^[7], 选出较优处方为 IPM-EL35-labrasol (20:48:32), 载药量为 1.3%。

2.2 MGF-SMEDDS 的初步质量考察

2.2.1 外观形态与稳定性 MGF-SMEDDS 为黄色澄明的黏稠状液体。取适量加水稀释 100 倍搅拌均匀, 点样于铜网上, 干燥, 用 1% 磷钨酸染色 5 min, 透射电镜观察。取适量 MGF-SMEDDS 置于离心管中, 以 4 500 r/min 离心 15 min, 观察并记录现象。

自微乳化结果显示, MGF-SMEDDS 遇水后形成的微乳电位在 -10 mV 左右, 粒径小于 100 nm。稳定性考察结果显示, MGF-SMEDDS 离心后无分层现象, 仍呈澄清透明状, 提示其稳定性较好。见图 1。

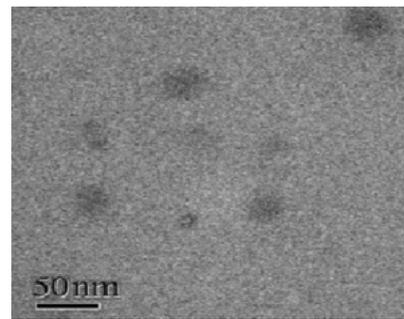


图 1 MGF-SMEDDS 透射电镜扫描图 (×27 000)

Fig. 1 Optical microscope scan of MGF-SMEDDS (×27 000)

2.2.2 自微乳效率、粒径大小和分布的测定 将 MGF-SMEDDS 置于量瓶中, 分别用水、0.1 mol/L HCl 或 PBS 6.8 缓冲液稀释 100 倍, 低速搅拌, 观察并记录体系达到平衡的时间, 采用粒度测定仪测定乳液的粒径大小和分布。结果见表 1。

表 1 自微乳化效率及粒径大小和分布 (n=3)

Table 1 Evaluation of self-micro emulsifying efficiency (n=3)

稀释介质	稀释外观	成乳时间/	平均粒径/	粒径分布/
		s	nm	nm
H ₂ O	淡黄色澄清透明	22.33±0.58	12.25±1.02	1~100
0.1 mol/L HCl	淡黄色澄清透明	23.00±1.00	14.21±1.56	1~100
PBS 6.8	淡黄色澄清透明	23.33±1.15	18.81±1.00	1~100

2.3 体外释放

根据文献, 采用透析袋法考察 MGF-SMEDDS 的体外释放^[9]。取 MGF-SMEDDS (含 MGF 2 mg) 和 MGF 各 6 份, 置透析袋中, 两端扎紧, 照释度测定方法(《中国药典》2010 年版二部附录 XD 第三法)的装置, 以 200 mL PBS 6.8 缓冲溶液为释放介质, 温度为 (37±0.5) °C, 转速 100 r/min, 分别于 0.25、0.5、0.75、1、2、4、6 h 取样 2 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 同时补充 2 mL 的空白释放介质,

取续滤液用高效液相色谱仪检测,计算累积释放率。结果见图2,与MGF相比,MGF-SMEDDS的释放速率有了显著提高($P<0.05$),在PBS 6.8缓冲液中180 min时累积释放率可达95%,而MGF在180 min内的累积释放率仅为48%。

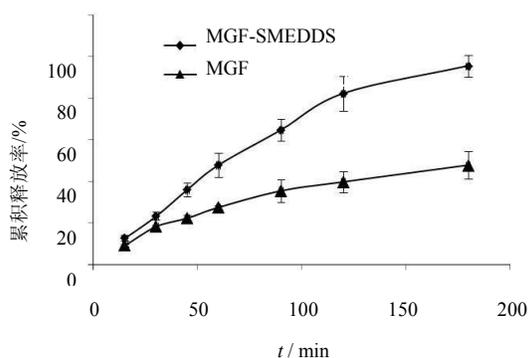


图2 MGF-SMEDDS和MGF的释放曲线($n=6$)

Fig. 2 Dissolution curves of MGF-SMEDDS and MGF ($n=6$)

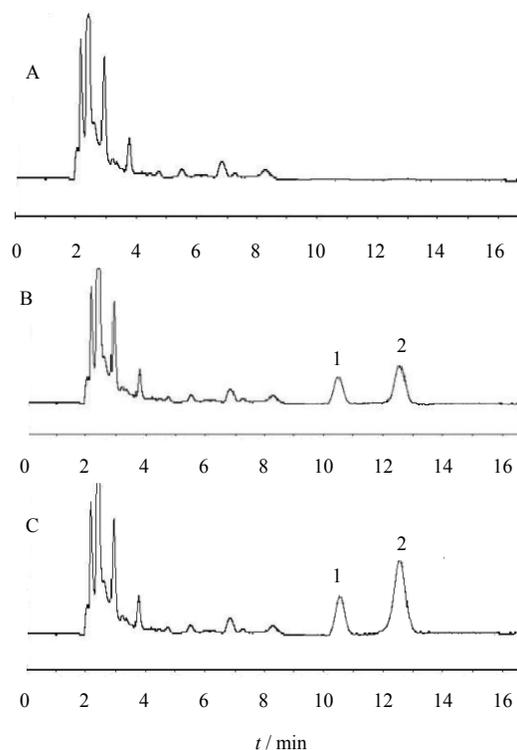
2.4 MGF-SMEDDS的体内药动学

2.4.1 色谱条件 色谱柱为Venusil MP C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(14:86, 含1%四氢呋喃和1%冰醋酸), 体积流量1 mL/min, 检测波长258 nm, 柱温35 °C, 进样量20 μL。

2.4.2 给药方案与血样采集 取健康SD大鼠10只, 随机分为两组, 每组5只, 实验前禁食12 h, 自由饮水。分别ig给予MGF和MGF-SMEDDS^[10-11] (剂量按MGF计40 mg/kg, MGF用适量蒸馏水冲服), 于0、0.167、0.33、0.5、1、2、4、6、8、12 h对大鼠眼眶取血600 μL, 置血样于肝素处理的离心管内, 6 000 r/min离心10 min, 取血浆于-20 °C低温保存。

2.4.3 血浆样品的处理 取大鼠血浆200 μL, 精密加入葛根素内标贮备液20 μL, 涡旋混匀, 再加入乙腈600 μL, 涡旋混合3 min, 13 000 r/min离心10 min, 取上层有机相氮气吹干, 加流动相200 μL复溶, 离心10 min, 取上清液20 μL, 注入高效液相色谱仪测定。

2.4.4 方法专属性 分别取空白血浆、加入一定量对照品溶液的空白血浆、大鼠给药后的血浆样品, 按照“2.4.3”项下方法进行提取测定(空白血浆处理时不加内标)。在上述色谱条件下, 葛根素和MGF的保留时间分别为10.587 min和12.776 min, 色谱峰分离完全, 峰形良好, 空白血浆中的内源性物质不干扰测定。结果见图3。



1-葛根素 2-芒果苷
1-puerarin 2-mangiferin

图3 空白血浆(A)、加入一定量对照品溶液的空白血浆(B)、大鼠给药0.5 h后的血浆样品(C)的HPLC图
Fig. 3 HPLC chromatograms of blank plasma (A), plasma with mangiferin and puerarin (B), plasma sample after 0.5 h (C)

2.4.5 标准曲线与定量限 精密量取空白血浆200 μL, 加入不同质量浓度的对照品溶液20 μL, 使血浆中药物质量浓度分别为0.02、0.10、0.40、1.0、2.0、4.0、8.0 μg/mL, 按照“血浆样品处理”项下方法进行提取测定, 以色谱峰面积比 A_{MGF}/A_{IS} 对血浆中药物浓度进行线性回归, 得标准曲线方程 $A_{MGF}/A_{IS}=2.454 1C-0.014 6$ ($r=0.999 5$)。MGF在0.02~8.0 μg/mL线性关系良好。配制不同浓度的MGF样品溶液, 按信噪比10/1计, 考察MGF的定量限为9 ng/mL。

2.4.6 提取回收率 取空白血浆200 μL, 加入不同浓度MGF对照品溶液, 配制质量浓度分别为0.02、2.0和8.0 μg/mL的血浆样品, 平行3份, 按照“血浆样品处理”项下方法进行提取测定, 记录MGF不同浓度的峰面积; 配制相应的MGF对照品溶液直接进样, 记录MGF和内标的峰面积 A_{MGF} 、 $A_{内标}$, 计算回收率低、中、高3个质量浓度的提取回收率分别为83.93%、96.80%、98.53%, 分别为5.09%、

0.99%、3.40%。

2.4.7 方法回收率 取空白血浆 200 μL ，加入不同浓度 MGF 对照品溶液，配制质量浓度分别为 0.02、2.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血浆样品，平行 5 份，按照“2.4.3”项下方法进行提取测定，将结果代入标准曲线计算低、中、高 3 个质量浓度的方法回收率分别为 83.86%、87.59%、101.62%，RSD 分别为 4.10%、4.17%、3.58%。

2.4.8 大鼠体内药时曲线结果 MGF 自微乳制剂及 MGF 体内药时曲线见图 4。由图知，与 MGF 相比，MGF 自微乳制剂的最大血药浓度 (C_{max}) 显著增大，达峰时间 (t_{max}) 明显前移。

2.4.9 药动学参数 采用 DAS1.0 统计软件，对药时曲线的数据进行拟合，计算相关药动学参数，并采用 SPSS11.5 软件对药动学参数进行统计分析，见表 2。结果显示，对于 MGF， $K_a=0.53\cdot\text{h}^{-1}$ ， $T_{\text{max}}=3.00\text{ h}$ ， $C_{\text{max}}=0.43\text{ mg}/\text{L}$ ；对于 MGF-SMEDDS， $K_a=5.55\cdot\text{h}^{-1}$ ， $T_{\text{max}}=0.43\text{ h}$ ， $C_{\text{max}}=0.93\text{ mg}/\text{L}$ 。将两组数据进行统

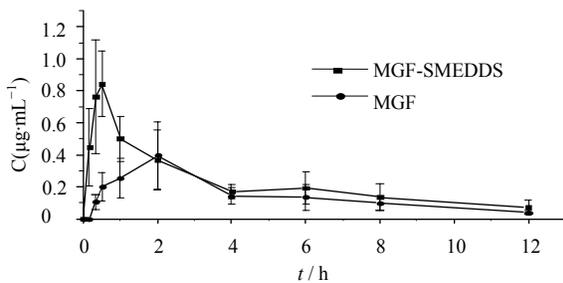


图 4 MGF-SMEDDS 和 MGF 血药浓度-时间曲线 ($n=5$)
Fig. 4 Plasma concentration-time curve of MGF-SMEDD and MGF ($n=5$)

表 2 MGF 和 MGF-SMEDDS 给药后的主要药动学参数 ($n=5$)

Table 2 Main pharmacokinetics parameters of MGF-SMEDD and MGF ($n=5$)

参数	单位	MGF	MGF-SMEDDS
T_{max}	h	3.00 ± 1.41	$0.43 \pm 0.09^{**}$
C_{max}	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.43 ± 0.18	$0.93 \pm 0.22^*$
$\text{AUC}_{(0-\infty)}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$	2.81 ± 0.75	3.14 ± 1.04
K_a	h^{-1}	0.53 ± 0.21	$5.55 \pm 1.73^{**}$
$t_{1/2\alpha}$	h	1.69 ± 0.84	$0.42 \pm 0.13^*$
$\text{MRT}_{(0-\infty)}$	h	11.32 ± 4.71	$6.17 \pm 2.36^*$
CL/F	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$	6.95 ± 3.88	$10.75 \pm 3.67^*$

与 MGF 相比: * $P<0.05$ ** $P<0.01$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs MGF

计学分析的结果表明，与 MGF 相比，MGF-SMEDDS 在大鼠体内的吸收显著加快，达峰时间明显缩短，最大血药浓度显著提高。

3 讨论

良好的自微乳溶剂系统，既要保证对药物有一定的溶解度，又要能形成自微乳效率较高的微乳^[12]。因此，油相和乳化剂的选择是至关重要的。乳化剂应具有较强的乳化能力，在温和的搅拌条件下即能与油相自发形成微乳，其亲水亲油平衡值 (HLB 值) 应在 10 左右^[13]。本实验最终的处方中选用了肉豆蔻酸异丙酯、聚氧乙烯 (35) 蓖麻油和辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯的最佳比例为 20:48:32 组成的药液，对芒果苷有较好的溶解性能，自微乳化效率高，符合自微乳制剂的要求。

芒果苷属脂水均难溶的中药活性成分，口服后血药浓度偏低等不良药动学性质是影响其药效发挥的重要因素。有研究表明，肠道菌群能快速破坏芒果苷稳定的 C-苷键，将其代谢为苷元，而芒果苷口服吸收缓慢 (t_{max} 在 4~6 h)^[14]，愈加剧了肠道菌群对芒果苷的代谢作用，可能是造成芒果苷口服后血药浓度较低的原因之一。

本文将其制备成自微乳给药系统，体内研究结果显示，其吸收速率 K_a 由 $0.53\cdot\text{h}^{-1}$ 提高到 $5.55\cdot\text{h}^{-1}$ ($P<0.01$)，达峰时间 T_{max} 由 3.00 h 减少至 0.43 h ($P<0.01$)，同时 C_{max} 显著提高至 (0.93 ± 0.22) mg/L ，为 MGF 的 2.16 倍，说明将 MGF 制备成自微乳制剂，能够改善 MGF 的药动学性质。其 C_{max} 的显著提高，除了自微乳给药系统本身具有改善药物释放、促进吸收的制剂学特性外，可能还与自微乳加快 MGF 释放和吸收从而减少肠道菌群对药物的代谢作用有关。

参考文献

- [1] Dar A, Faizi S, Naqvi S, *et al.* Analgesic and antioxidant activity of mangiferin and its derivatives: the structure activity relationship [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(4): 596-600.
- [2] Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, *et al.* Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats [J]. *Toxicology*, 2002, 176(3): 165-73.
- [3] 田 燕. 紫外-可见光谱在黄酮类鉴定中的应用 [J]. *大连医科大学学报*, 2002, 24(3): 213-214.
- [4] Li Y J, Sui Y J, Dai Y H, *et al.* LC determination and pharmaco-kinetics study of mangiferin in rat plasma and

- tissues [J]. *Chro-matographia*, 2008, 67(11-12): 957-960.
- [5] Nekkanti V, Karatgi P, Prabhu R, *et al.* Solid self micro-emulsifying formulation for *Candesartan Cilexetil* [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(1): 9-17.
- [6] 张楠, 周宏兵, 全东琴. 自微乳释药系统提高药物生物利用度的机理与应用 [J]. *中国医药生物技术*, 2009, 49(1): 47-50.
- [7] 王金锐, 陈建明, 张悦. 阿德福韦酯自乳化制剂的研究[J]. *药学实践杂志*, 2009, 27(2): 118-121.
- [8] 轩肖玉, 王亚静, 田慧等. 芒果苷磷脂复合物自微乳给药系统的制备及其体外评价 [J]. *中药材*, 35(9): 1508-1511.
- [9] 李馨儒, 袁泉, 李晓燕, 等. 水飞蓟素自微乳浓乳的制备和体内外评价 [J]. *中国新药杂志*, 2010, 19(5): 422-426.
- [10] 韦健全, 郑子敏, 薛强, 等. 芒果苷对大鼠胃溃疡的保护作用 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(6): 205-206.
- [11] 王超, 王国贤. 芒果苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(9): 697-700.
- [12] 沈海蓉, 李中东, 钟明康. 自微乳释药系统及其制剂的研究进展 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2005, 24(5): 409-412.
- [13] Shah N H, Carvajal M T, Patel C I, *et al.* Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs [J]. *Int J Pharm*, 1994, 106(1): 15-23.
- [14] 黄慧学, 谭珍媛, 邓家刚, 等. 人肠道菌群对芒果苷体外代谢转化的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(4): 443-445.