

iv- 钩吻素己 Ⅱ- 1-甲氧基钩吻碱

iv- gelsenicine Ⅱ- gelsevirine

图 3 经 HSCCC 分离得到流份 iv (A) 和流份 Ⅱ (B) 的 HPLC 色谱图

Fig 3 HPLC Chromatograms of fraction iv (A) and fraction Ⅱ (B) by HSCCC

期短, 样品损失少, 操作简单等优点, 为钩吻生物碱单体的研发提供了一种高效分离纯化的制备技术。

本研究采用半制备型高速逆流色谱分离纯化钩吻生物碱单体, 一次进样 300 mg 钩吻总碱粗品可

分离得到 19.4 mg 钩吻素己和 21.2 mg 1-甲氧基钩吻碱单体, 质量分数分别为 95.4%、98.6%。此外, 如采用制备型高速逆流色谱仪, 其进样量大, 可达克~100 克量级, 产量可达较大规模, 易于衔接工程化生产制备。有关钩吻素己、1-甲氧基钩吻碱药理作用、毒理作用, 有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘浩, 俞昌喜. 钩吻的研究进展[J]. 福建医科大学学报, 2008, 42(5): 469-472
- [2] 迟德彪, 杨鸿轩, 郑有顺. 钩吻研究进展[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(2): 48-49
- [3] 杜秀宝, 戴韵华, 张常麒, 等. 钩吻生物碱的研究 iv. 钩吻素己的结构[J]. 化学学报, 1982, 40(12): 1137-1140
- [4] 袁黎明, 傅若农, 张天佑. 高速逆流色谱在植物有效成分分离中的应用[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(1): 60-64
- [5] 韩海斌. 钩吻化学成分及生药学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007

丹参酮自乳化药物传递系统的初步研究

杨小军, 魏希颖*, 徐慧娴

(陕西师范大学生命科学院, 陕西 西安 710062)

摘要: 目的 筛选丹参酮自乳化药物传递系统的处方, 考察其稳定性。方法 通过溶解度试验、乳化程度观察, 乳化完全时间、乳滴粒径大小测定以及伪三相图绘制, 确定丹参酮自乳化药物传递系统最佳处方, HPLC 法测定处方中药物的量, 光照、高温、低温条件下考察其稳定性。结果 丹参酮自乳化药物传递系统最佳处方中的油相为油酸乙酯, 乳化剂为 TX10 和聚山梨酯 80, 助乳化剂为异丙醇, 四者比例为 60: 84: 21: 35。结论 所得到的丹参酮自乳化药物传递系统处方在避光和常温下性质稳定。

关键词: 丹参酮自乳化药物传递系统; 丹参酮; 伪三元相图; 稳定性

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)09-1395-04

Preliminary study on self-emulsifying drug delivery system of tanshinone

YANG Xiao-jun, WEI Xi-ying, XU Hui-xian

(School of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Objective To screen the formulation for tanshinone self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) and evaluate its stability. **Methods** The optimal tanshinone SEDDS formulation was established through solubility experiment, emulsion examination, fully emulsified time, droplet size determination, and pseudo-ternary diagram drawing. The content and stability were evaluated by HPLC assay under the condition of illumination, high and low temperature. **Results** The oil phase, surfactant and co-surfactant in the optimal tanshinone SEDDS formulation were ethyl oleate, TX10, Tween 80, and isopropyl alcohol (60: 84: 21: 35). **Conclusion** The acquired formulation of tanshinone SEDDS is stable in the dark and room temperature.

Key words: tanshinone self-emulsifying drug delivery system (SEDDS); tanshinone; pseudo-ternary diagram; stability

* 收稿日期: 2009-01-17

作者简介: 杨小军(1984—), 男, 内蒙古乌兰察布人, 中药学专业硕士研究生, 本科就读于内蒙古医学院中药学专业, 研究方向为中药新剂型及中药药理。E-mail: yxj3905896@163.com

* 通讯作者 魏希颖 E-mail: whm801@yahoo.com.cn

丹参酮是唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 干燥根及根茎中的脂溶性成分, 主要包括丹参酮 ①, 丹参酮 iv, ②, 隐丹参酮等, 具有抑菌、抗氧化、抗动脉粥样硬化、减少心肌耗氧量、抑制体外肿瘤细胞增殖等作用^[1]。目前临床使用的含丹参酮成分的口服制剂有复方丹参片、丹参舒心胶囊、精制冠心片等^[2]。由于丹参酮类物质具有菲醌类的片状刚性结构, 在水中几乎不溶, 普通口服制剂存在吸收差、生物利用度低等缺点。自乳化药物传递系统可以增大药物的溶解度, 延长释放时间, 提高生物利用度等^[3]。丹参酮 ① 自乳化药物传递系统的研究已报道很多^[4], 丹参酮自乳化药物传递系统处方研究还未见报道, 而临床上使用的丹参制剂多以丹参酮为原料药, 因此, 本实验研究了丹参酮自乳化药物传递系统。

1 仪器与材料

BP221s 电子天平(德国赛多利斯), TU—1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 90Plus 激光粒度分析仪(Brookhaven Instrument 公司, Software Ver. 3. 80), LC—2010A HPLC 色谱仪(日本岛津)。

丹参酮原料(质量分数为 90. 2%, 陕西鼎盛生物医药科技有限公司), 丹参酮 ① 对照品(中国药品生物制品检定所生产, 批号 110766-200314); 油酸乙酯(北京长城化学试剂厂), 蓖麻油(江西吉水县康民本草药用油提炼厂); TX10(北京中联化工试剂厂), 聚山梨酯 80(西安化学试剂厂), Labrasol(聚乙二醇-8 甘油辛酸/癸酸酯, 法国 Gattefosse 公司), 无水乙醇、异丙醇、PEG-400、丙二醇均为分析纯, 甲醇为色谱纯(天津科密欧公司)。

2 方法与结果

2.1 丹参酮 ① 的 HPLC 法测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱为 Dikma Inertsil ODS 柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为甲醇-水(75:25); 体积流量为 1 mL/min; 检测波长为 270 nm; 柱温为 30℃; 进样量为 20 μL。

2.1.2 计算方法^[5]: 外标法计算丹参酮 ① 的质量浓度。

2.2 溶解度的测定: 取过量的丹参酮分别与 1 g 油酸乙酯、蓖麻油、聚山梨酯 80、TX10、Labrasol、无水乙醇、异丙醇、丙二醇及 PEG400 混合, 涡旋混匀, 25℃超声振荡 7 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置于 10 mL 棕色量瓶中, 甲醇定容, HPLC 法测定丹参酮 ① 的质量浓度, 再折算成丹参酮的质量, 结果见表 1。结果表明, 丹参酮在各种辅料中均有较

好的溶解性, 溶解度大小为: 无水乙醇> 丙二醇> PEG400> 蓖麻油> 异丙醇> Labrasol> 聚山梨酯 80> 油酸乙酯> TX10。

表 1 丹参酮在各种辅料中的溶解度

Table 1 Solubility of tanshinone in various vehicles

辅料	溶解度/(mg·g ⁻¹)	辅料	溶解度/(mg·g ⁻¹)
油酸乙酯	6.42	无水乙醇	19.27
蓖麻油	9.34	异丙醇	9.02
聚山梨酯 80	6.86	丙二醇	11.56
TX10	5.62	PEG400	11.32
Labrasol	8.70		

2.3 处方筛选: 为了提高自乳化制剂的稳定性, 处方采用复合乳化剂^[6], 以油酸乙酯和蓖麻油作为油相, 以聚山梨酯 80、TX10、Labrasol 作为乳化剂, 以无水乙醇、异丙醇、丙二醇及 PEG400 作为助乳化剂, 油相、主乳化剂、次乳化剂、助乳化剂按 4: 3: 1: 2 配制, 样品总量为 1 g。加入 100 倍量的蒸馏水(pH 2.5, 37℃水浴条件下), 轻轻晃动, 观察溶液的澄清度, 紫外可见分光光度计测定自乳化完全时间, 显微镜测定乳滴粒径。分 5 个等级进行评价^[7], 综合筛选最佳处方。结果见表 2。可知 15 号处方即油酸乙酯+ TX10+ 聚山梨酯 80+ 异丙醇, 在 1 min 之内乳化完全, 可形成澄清、透明且泛蓝色乳光的溶液, 并且粒径小于 1 μm, 为最佳配比。

2.4 伪三元相图的绘制: 以油酸乙酯为油相, TX10-聚山梨酯 80 为乳化剂, 异丙醇为助乳化剂, 通过改变各相的比例, 配制不同乳剂, 用 100 倍量的蒸馏水(pH 2.5, 37℃)稀释, 观察是否形成透明、微泛蓝光的乳液, 测定自乳化完全时间和粒径大小, 用 Origin7.5 软件绘制伪三元相图以确定自乳化区域, 筛选最佳处方配比。结果见图 1。

处方配比为油相: 混合乳化剂分别以 2: 8、3: 7、4: 6、5: 5、6: 4 混合; 复合乳化剂与助乳化剂分别以 1: 0、1: 1、2: 1、3: 1、4: 1 混合; 主乳化剂与次乳化剂分别以 1: 1、2: 1、3: 1、4: 1 混合。混合乳化剂为复合乳化剂和助乳化剂; 复合乳化剂为主乳化剂和次乳化剂。

可知 K_m 从 3: 7 增加至 5: 5 时, 自乳区域随着 K_m 的增大而减小, K_m 为 2: 8 和 6: 4 所制备的处方均不能形成自乳体系, 当 K_m 为 2: 8 时, 丹参酮自乳化药物传递系统在 100 倍的蒸馏水中不能扩散, 呈片状聚集; K_m 为 6: 4 时, 有较大油滴漂浮, 说明处方中油相的用量是处方能否形成自乳体系的重要因素。因此, 选择 K_m 为 3: 7。根据自乳化后的澄清度、自乳化完全时间及乳滴粒径大小, 选

定复合乳化剂与助乳化剂比例为 3: 1, 主乳化剂与次乳化剂比例为 4: 1, 这时乳滴粒径最小。因此处方最佳比例为油酸乙酯、TX10、聚山梨酯-80、异丙醇的比例为 60: 84: 21: 35。

表 2 丹参酮自乳化药物传递系统处方的初步筛选

Table 2 Primary selection of tanshinone SEDDS formulation

编号	油相	主乳化剂	次乳化剂	助乳化剂	乳化效果	编号	油相	主乳化剂	次乳化剂	助乳化剂	乳化效果
1	油酸乙酯	聚山梨酯 80	TX10	无水乙醇	B	25	油酸乙酯	聚山梨酯 80	TX10	丙二醇	C
2	油酸乙酯	聚山梨酯 80	Labrasol	无水乙醇	D	26	油酸乙酯	聚山梨酯 80	Labrasol	丙二醇	D
3	油酸乙酯	TX10	聚山梨酯 80	无水乙醇	B	27	油酸乙酯	TX10	聚山梨酯 80	丙二醇	B
4	油酸乙酯	TX10	Labrasol	无水乙醇	D	28	油酸乙酯	TX10	Labrasol	丙二醇	D
5	油酸乙酯	Labrasol	聚山梨酯 80	无水乙醇	D	29	油酸乙酯	Labrasol	聚山梨酯 80	丙二醇	D
6	油酸乙酯	Labrasol	TX10	无水乙醇	D	30	油酸乙酯	Labrasol	TX10	丙二醇	D
7	蓖麻油	聚山梨酯 80	TX10	无水乙醇	C	31	蓖麻油	聚山梨酯 80	TX10	丙二醇	C
8	蓖麻油	聚山梨酯 80	Labrasol	无水乙醇	D	32	蓖麻油	聚山梨酯 80	Labrasol	丙二醇	E
9	蓖麻油	TX10	聚山梨酯 80	无水乙醇	C	33	蓖麻油	TX10	聚山梨酯 80	丙二醇	C
10	蓖麻油	TX10	Labrasol	无水乙醇	D	34	蓖麻油	TX10	Labrasol	丙二醇	E
11	蓖麻油	Labrasol	聚山梨酯 80	无水乙醇	D	35	蓖麻油	Labrasol	聚山梨酯 80	丙二醇	D
12	蓖麻油	Labrasol	TX10	无水乙醇	D	36	蓖麻油	Labrasol	TX10	丙二醇	D
13	油酸乙酯	聚山梨酯 80	TX10	异丙醇	B	37	油酸乙酯	聚山梨酯 80	TX10	PEG400	B
14	油酸乙酯	聚山梨酯 80	Labrasol	异丙醇	D	38	油酸乙酯	聚山梨酯 80	Labrasol	PEG400	D
15	油酸乙酯	TX10	聚山梨酯 80	异丙醇	A	39	油酸乙酯	TX10	聚山梨酯 80	PEG400	B
16	油酸乙酯	TX10	Labrasol	异丙醇	D	40	油酸乙酯	TX10	Labrasol	PEG400	D
17	油酸乙酯	Labrasol	聚山梨酯 80	异丙醇	D	41	油酸乙酯	Labrasol	聚山梨酯 80	PEG400	D
18	油酸乙酯	Labrasol	TX10	异丙醇	D	42	油酸乙酯	Labrasol	TX10	PEG400	D
19	蓖麻油	聚山梨酯 80	TX10	异丙醇	C	43	蓖麻油	聚山梨酯 80	TX10	PEG400	C
20	蓖麻油	聚山梨酯 80	Labrasol	异丙醇	D	44	蓖麻油	聚山梨酯 80	Labrasol	PEG400	E
21	蓖麻油	TX10	聚山梨酯 80	异丙醇	C	45	蓖麻油	TX10	聚山梨酯 80	PEG400	C
22	蓖麻油	TX10	Labrasol	异丙醇	D	46	蓖麻油	TX10	Labrasol	PEG400	D
23	蓖麻油	Labrasol	聚山梨酯 80	异丙醇	D	47	蓖麻油	Labrasol	聚山梨酯 80	PEG400	D
24	蓖麻油	Labrasol	TX10	异丙醇	D	48	蓖麻油	Labrasol	TX10	PEG400	D

A: 乳化时间< 1 min, 溶液呈澄清且微泛蓝色, 粒径< 1 μm; B: 乳化时间< 1 min, 略浊, 呈蓝白色, 粒径 1~ 2 μm; C: 乳化时间 1~ 2 min, 呈亮白色不透明液体, 粒径 2~ 3 μm; D: 乳化时间> 2 min, 色泽暗, 呈灰白色, 略带油状, 粒径> 5 μm; E: 难乳化

A: denotes a rapidly forming (within 1 min) emulsion which was clear or slightly bluish in appearance, particle size was smaller than 1 μm; B: denotes a rapidly forming, slightly less clear emulsion which had a bluish white appearance, particle size was 1—2 μm; C: denotes a bright white emulsion (similar to milk) that formed within 2 min, particle size was 2—3 μm; D: denotes a dull, greyish white emulsion with a slightly oily appearance that was slow to emulsify (longer than 2 min), particle size was larger than 5 μm; E: denotes a formulation which exhibited either poor or minimal emulsification with large oil droplets present on surface

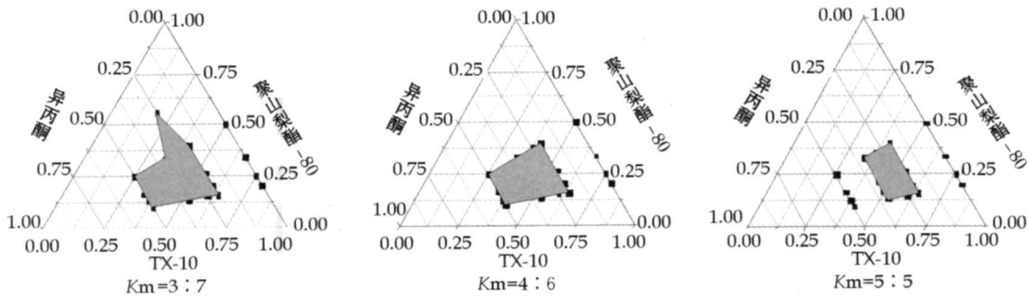


图 1 油酸乙酯+ TX10/ 聚山梨酯-80+ 异丙醇自乳化体系的伪三元相图

Fig 1 Pseudo-ternary phase diagrams of SEDDS (ethyl oleate+ TX10/ Tween-80+ isopropyl alcohol)

所得自乳化溶液为透明、泛蓝色乳光的溶液, 在 1 min 内完全乳化, 激光粒度仪测定平均粒径为 230 nm, 粒径分布情况见图 2。可见所选处方粒径分布呈

正态分布, 粒径分布范围较窄, 说明液滴分布均匀。
2.5 稳定性考察: 将处方量的丹参酮 SEDDS 加 100 倍蒸馏水 (pH 2.5, 37 ℃) 制备成自乳化溶液,

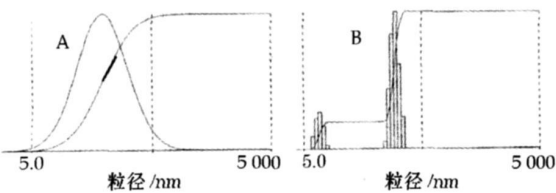


图 2 丹参酮自乳化制剂粒径正态分布图 (A) 和柱形分布图 (B)

Fig 2 Normal distribution (A) and cylindrical distribution (B) of particle size in tanshinone-SEDDS

置于试管中密封, 平行 3 份, 放置在 70 ℃ 水浴中 2 min, 取出静置到室温, 观察外观形态变化, 未见分层破乳现象。取所制丹参酮自乳化制剂以 10 000 r/min 离心 10 min, 结果发现自乳化制剂仍保持透明均一的外观, 未出现分层等异常现象。将适量的丹参酮 SEDDS 装入安瓿瓶中, 封口, 分别于常温避光、光照 (4 500 lx)、高温 (60 ℃)、低温 (- 20 ℃) 放置 10 d, 于第 5、10 天观察外观形态, 测定, 结果见表 3。可知在高温、光照、低温条件下, 丹参酮的质量均有不同程度的降低, 在持续 5 d, 4 500 lx 光照条件下, 丹参酮损失殆尽。在常温避光的条件下, 丹参酮的量基本不变。

表 3 丹参酮自乳化制剂的稳定性

Table 3 Stability of tanshinone-SEDDS

条 件	时间/d	丹参酮质量分数/ %	外观形态
室温 (20 ℃)	0	100.0	透明, 均一, 红棕色
	5	99.6	透明, 均一, 红棕色
	10	99.2	透明, 均一, 红棕色
光照 (4 500 lx)	5	0.0	透明, 均一, 黄色
	10	0.0	透明, 均一, 黄色
高温 (60 ℃)	5	21.2	透明, 均一, 黄色
	10	2.2	透明, 均一, 黄色
低温 (- 20 ℃)	5	78.1	透明, 均一, 红棕色
	10	77.4	透明, 均一, 红棕色

3 讨论

自乳化处方的优势在于其对药物本身有良好的溶解能力, 故衡量药物在不同辅料中的溶解度至关重要。通常脂肪油、植物油、油酸乙酯等均可作为油相; 非离子表面活性剂由于对胃肠道毒性较低, 往往被优先选用; 助表面活性剂多为中链或短链醇类, 可辅助溶解药物, 并有可能因为增加界面膜的流动性和柔韧性而形成自乳化液。为了增加乳剂的稳定

性, 常使用复合乳化剂, 这样可以更合理的调节 HLB 值, 提高界面膜的强度, 以及调节乳剂的稠度等^[8]。乳滴粒径的大小与胃肠壁的吸收好坏有着密切关系, 本实验所选丹参酮 SEDDS 处方的平均粒径为 230 nm, 远小于自乳化制剂粒径上限 5 μm。

自乳化制剂处方中, 油相的质量比例一般占 25% ~ 70%, 乳化剂质量比例占 25% 以上, 助乳化剂质量比例占 0~ 25%^[9]。因此实验处方配比均按照该理论配制。发现异丙醇的比例为 0 时不能形成自乳化液, 用微乳复合凝聚膜理论^[10]可解释为, 异丙醇在水相、油相和乳化剂的三相中进行分配时, 异丙醇主要分配于水相(异丙醇可以和水以任意比例互溶, 但其余二相则不能任意互溶)。异丙醇在水中达到一定浓度, 才能有足量的异丙醇分子和乳化剂形成复合凝聚膜, 才能形成自乳化乳滴。

丹参酮属菲醌类化合物, 在光和热的作用下很容易分解^[11], 因此丹参酮 SEDDS 应在非高温、避光条件下保存。本实验为含丹参酮类药物的有效利用提供了一定的科学依据。

参考文献:

[1] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000

[2] 尚 平, 吴琴雪, 孙百虎. 丹参制剂的研究进展[J]. 河北化工, 2007, 30(10): 12-14

[3] Agatonovic-Kustrin S, Glass B D, Wisch M H, et al. Prediction of a stable microemulsion formulation for the oral delivery of a combination of anti-tubercular drugs using ANN methodology [J]. *Pharm Res*, 2003, 20(11): 1760

[4] 徐月红, 陈可奇, 杨 蕾. 丹参酮 E_A 自微乳释药系统的制备和性质研究[J]. 中草药, 2008, 39(5): 686-688

[5] 冀虎圣, 俞 发. 丹参酮微乳中丹参酮 E_A 的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1938-1939

[6] Myers D. *Surfactant Science and Technology* [M]. New York: John Wiley+ Sons, 2006

[7] Khoo S M, Humberstone A J, Porter C J H, et al. Formulation design and bioavailability assessment of lipidic self-emulsifying formulations of halofantrine [J]. *Int J Pharm*, 1998, 167(1-2): 155-164

[8] 范君亭. 中药药剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.

[9] Pouton C W. Formulations of self-emulsifying drug delivery systems [J]. *Adv Drug Delivery Rev*, 1997, (25): 47-58

[10] 陆 彬, 张正全. 用三角相图法研究药用微乳的形成条件 [J]. 药学学报, 2001, 36(1): 58-62

[11] 孙文基. 天然活性成分简明手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998