

Box-Behnken 试验设计法优化人参皂苷 Rg₃ 自乳化释药系统和质量评价

张南生¹, 郭虹¹, 孙卫军¹, 应聪慧²

1. 温州医科大学附属第一医院, 浙江 温州 325000

2. 温州医科大学, 浙江 温州 325000

摘要: 目的 通过 Box-Behnken 试验设计 (BBD) 法优化人参皂苷 Rg₃ 自乳化制剂的处方配比, 并对其质量进行评价。方法 采用 3 因素 3 水平 BBD, 以乳化剂、助乳化剂和油相为主要因素进行考察, 载药量和平均粒径为响应值, 用 BBD 软件绘制响应面图并得到各考察因素对指标影响的多项式, 最终得到优化的处方配比, 通过对自乳化效率、粒径、溶出度等方面进行体外评价。结果 人参皂苷 Rg₃ 自乳化制剂最优处方的乳化剂为 [RH40-Triton X100 (1:1)], 助乳化剂为异丙醇, 油相为油酸乙酯, 最优比例为 3:1.475:0.5; 优化后制备的制剂 5 min 内乳化完全, 平均载药量为 917.53 μg/mL, 平均粒径为 111.6 nm, 且体外溶出度试验表明其释药速度与程度明显优于市售的胶囊剂。结论 BBD 法用于人参皂苷 Rg₃ 自乳化制剂的处方优化是可行的, 数学模型的预测值与实验观察值相符。

关键词: 人参皂苷 Rg₃; 自乳化释药系统; Box-Behnken 试验设计法; 质量评价; 载药量

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)23-3500-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.23.010

Optimization and quality evaluation of ginsenoside Rg₃ self-emulsifying drug delivery by Box-Behnken experimental design

ZHANG Nan-sheng¹, GUO Hong¹, SUN Wei-jun¹, YING Cong-hui²

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

2. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Abstract: Objective To optimize the formulation of ginsenoside Rg₃ self-emulsifying drug delivery by Box-Behnken experimental design (BBD) and evaluate its quality. **Methods** Formulations were optimized using design of experiments by employing a 3-factor, 3-level BBD. Independent variables studied were the emulsifier, co-emulsifier, and the oil phase. The dependent variables were drug loading and average particle size. Through the BBD software, the response surface plots were drawn and the polynomial of influence of each factor index was obtained. Finally the formula optimization was obtained and the efficiency, droplet size, and dissolution rate of self-emulsifying drug delivery were investigated. **Results** Optimum prescription was as follows: emulsifier [RH-400-Triton X-100 (1:1)], co-emulsifier (isopropanol), and the oil phase (ethyl oleate). The optimum proportion was 3:1.475:0.5. The optimized ginsenoside Rg₃ self-emulsifying drug delivery could fully emulsify in 5 min and the average drug loading was 917.53 μg/mL, average particle size was 111.6 nm. The dissolution degree *in vitro* of the formulations showed that the release rate and level were apparently superior to the conventional capsules. **Conclusion** The observed responses are in close agreement with the predicted values of the mathematic models, and the BBD is suitable for optimizing ginsenoside Rg₃ self-microemulsifying drug delivery.

Key words: ginsenoside Rg₃; self-emulsifying drug delivery; Box-Behnken statistical design; quality evaluation; drug loading

Box-Behnken 试验设计 (BBD) 是一种基于 3 水平的二阶试验设计方法, 其可以考察各个因素对效应的影响及各影响间的交互作用, 也能进行各个因素的最优化^[1]。近年来国内外许多药学工作者将 BBD 法广泛用于药物处方筛选、剂型制备过程、生

物过程以及化学合成过程的优化^[2-3]。人参皂苷 Rg₃ 不溶于水, 且油水分配系数小, 难以通过胃肠道黏膜吸收而极大地降低了其生物利用度。自乳化释药系统可以有效提高药物的溶解度, 提高药物的口服吸收^[4]。本实验以人参皂苷 Rg₃ 为模型药, 以载药量

收稿日期: 2015-06-13

基金项目: 浙江省中医药管理局课题 (2011ZA075)

作者简介: 张南生 (1968—), 女, 浙江温州人, 主任药师, 研究方向为中药制剂和医院药学。E-mail: zns6701@163.com

和平均粒径作为考察指标,在单因素考察的基础上,采用BBD法对影响制剂的关键处方因素进行优化,成功制备了人参皂苷Rg₃自乳化释药系统,同时对其体外性质进行多方面考察,包括自乳化效率、体外释药行为等,为新剂型制备时的处方筛选方法提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1260型HPLC仪,美国安捷伦公司; 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; SB-4200 DTD超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司; Mettler toledo精密电子天平,梅特勒托利多仪器公司(上海); Biofuge Primo centrifuge离心机,美国Thermo scientific; QL861型旋涡混合器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司; 85-2恒温磁力搅拌器,金坛市富华仪器有限公司; N4Plus超细颗粒粒度分析仪,美国贝克曼库尔特有限公司。

曲拉通(Triton) X-100,试剂级,上海凌峰化学试剂有限公司; Cremophor RH-40 (RH-40),上海运宏化工制剂辅料技术有限公司,德国BASF生产; 油酸乙酯、椰子油,上海千为油脂科技有限公司; 异丙醇(色谱纯),天津市四友精细化学品有限公司; 人参皂苷Rg₃对照品,质量分数为98.8%,中国食品药品检定研究院提供,批号110804; 人参皂苷Rg₃原料药,由吉林亚泰制药股份有限公司提供,批号20111205, HPLC法测得质量分数为96.1%; 参一胶囊(10 mg×16),吉林亚泰制药股份有限公司,批号20131101; 无水乙醇、甲醇、乙腈为色谱纯; 磷酸,AR; 水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷Rg₃自乳化释药系统的制备

按初步筛选的处方组成和比例分别取乳化剂[RH-400-Triton X-100(1:1)]、助乳化剂(异丙醇)和油相(油酸乙酯)于烧杯中,用恒温磁力搅拌器400 r/min于37℃搅拌至澄清透明状,再加入等比例高纯水,继续搅拌至澄清透明状,制得空白微乳。

取上述配制的空白微乳,向其中加入过饱和量的人参皂苷Rg₃原料药,磁力搅拌10 min后再超声搅拌(功率400 W,频率40 kHz)20 min,放冷,放置24 h,8000 r/min离心10 min,吸取上清液,即为人参皂苷Rg₃自乳剂(供试品)。

2.2 定量方法的建立

2.2.1 人参皂苷Rg₃测定波长的选择

配制质量浓度为10 μg/mL的人参皂苷Rg₃对照品甲醇溶液,以甲醇为空白对照,按紫外分光光度法在190~400 nm进行紫外扫描,人参皂苷Rg₃对照品的最大吸收波长为203 nm,选择203 nm作为测定波长。

2.2.2 色谱条件 色谱柱为Hypersil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱: 0~6 min, 52%乙腈; 6~15 min, 90%乙腈; 15~20 min, 52%乙腈; 体积流量1.000 mL/min; 检测波长203 nm; 柱温40℃; 进样量20 μL。

2.2.3 对照品溶液的配制 精密称取人参皂苷Rg₃对照品10.02 mg于100 mL量瓶中,加甲醇涡旋片刻,再超声溶解15 min并稀释至刻度,摇匀制成质量浓度为100.20 μg/mL的人参皂苷Rg₃对照品溶液,备用。

2.2.4 方法的专属性 在“2.2.2”项色谱条件下分别进样对照品(人参皂苷Rg₃的甲醇溶液)、空白辅料(按“2.1”项制备缺人参皂苷Rg₃的空白乳剂,以甲醇稀释)、供试品(人参皂苷Rg₃自乳剂,甲醇稀释)溶液,结果人参皂苷Rg₃与辅料分离度良好,峰形稳定,辅料与溶剂对Rg₃的测定无干扰。色谱图见图1。

2.2.5 标准曲线的绘制及线性关系考察 精密吸取“2.2.3”项下的对照品溶液4 mL,依次稀释2倍,配成质量浓度分别为50.10、25.05、12.53、6.26 μg/mL

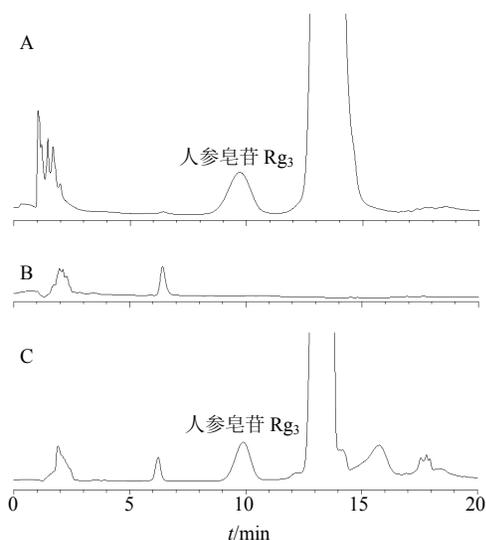


图1 人参皂苷Rg₃甲醇溶液(A)、空白辅料溶液(B)和人参皂苷Rg₃自乳剂样品(C) HPLC图

Fig. 1 HPLC of ginsenoside Rg₃ methanol solution (A), blank material solution (B), and ginsenoside Rg₃ in self-emulsifying samples (C)

的对照品溶液，进样 20 μL，以进样质量浓度为横坐标 (X)，以峰面积积分为纵坐标 (Y)，并以最小二乘法进行线性回归，计算回归方程 $Y=7.088 5 X-1.287 5$ ， $r^2=0.999 2$ 。结果表明，人参皂苷 Rg₃ 进样质量浓度在 6.26~100.2 μg/mL 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.6 精密度试验 配制低、中、高 3 个质量浓度 (6.26、50.1、100.2 μg/mL)，人参皂苷 Rg₃ 对照品溶液，每个质量浓度样品平行 5 次，按“2.2.2”项下的色谱条件分别在 1 d 和连续 5 d 内平行测定，以人参皂苷 Rg₃ 峰面积计算其 RSD，结果日内精密度 RSD 为 1.52%、1.91%、1.67% (n=5)；日间 RSD 为 1.93%、1.87%、2.23% (n=5)。

2.2.7 重复性试验 取“2.1”项下的人参皂苷 Rg₃ 自乳剂 6 份，按“2.2.2”项下方法连续进样，记录峰面积，计算人参皂苷 Rg₃ 质量浓度的 RSD 为 1.47%，表明该方法的重复性较好。

2.2.8 回收率试验 精密吸取空白微乳 100 μL 置试管中，分别向其中加入人参皂苷 Rg₃ 对照品溶液 (0.5、1、1.5 mL)，涡旋混匀。按“2.2.2”项下方法，分别进样，记录峰面积，计算回收率。结果，本法测定的低、中、高 3 个质量浓度的平均回收率分别为 98.17%、98.43%、99.01%，其 RSD 分别为 1.27%、1.24%、0.46%，符合要求。

2.3 BBD 优化人参皂苷 Rg₃ 自乳化释药系统处方

2.3.1 初步处方筛选 前期研究^[5]首先通过平衡溶解度实验，对人参皂苷 Rg₃ 在各表面活性剂、助表面活性剂、油相中的平衡溶解度进行考察，初步筛选出溶解度相对较大的各相，在此基础上采用水滴定法绘制伪三元相图，考察各系统的相图行为，并结合乳剂的含药量和粒径等，结果表明相对于使用

单一乳化剂，联合乳化剂的使用，相面积更大，载药量更大些，与文献报道^[6]联合乳化剂的使用的目的的一致，同时筛选出人参皂苷 Rg₃ 的自乳化处方组成。初步筛选出较佳处方组成：表面活性剂 Cremopher RH-40-Triton X-100 (1:1)-助表面活性剂 (异丙醇)-油相 (油酸乙酯) 比例为 0.32:0.32:0.26:0.1。

2.3.2 试验设计 为进一步优化处方组成，通过单因素考察并综合文献报道，选择对乳剂性质影响较显著的 3 个因素：乳化剂 [RH-400-Triton X-100 (1:1), A]、助乳化剂 (异丙醇, B) 和油相 (油酸乙酯, C) 的用量为主要因素进行考察，在低、中、高 3 个水平上进行优化研究。每个因素的低、中、高水平分别记作 -1、0、+1，试验因素水平及编码见表 1；载药量、平均粒径是自乳化制剂质量评价的重要指标，故本实验以载药量 (Y₁)、平均粒径 (Y₂) 为评价指标即效应值，实验数据采用软件 Design-Expert trial version 8.0.5.0 进行分析，最终得到优化的人参皂苷 Rg₃ 自乳化处方。

根据表 1 按照“2.1”项下方法，配制人参皂苷 Rg₃ 自乳剂 15 组，这 15 组都在 5 min 内乳化完全，测定其载药量与平均粒径。结果见表 1。

2.3.3 考察因素对载药量的影响 应用 Design-Expert trial version 8.0.5.0 对表 1 中的数据进行分析。考察因素对效应值 1 (载药量) 的影响结果见表 2。由表 2 可知，预测模型的 P 值为 0.001 7，小于 0.05，说明模型显著。失拟项的 P 值为 0.077 5，说明模型对真实情况的模拟是准确的，综合来看该预测模型可以用于人参皂苷 Rg₃ 处方的优化。因素 B 的 P 值为 0.000 2，小于 0.05，说明助乳化剂对载药量的影响最为显著，3 个因素对载药量影响的主

表 1 BBD 设计与结果

Table 1 Experimental results and values of responses for BBD

试验号	A/g	B/g	C/g	载药量/(μg·mL ⁻¹)	平均粒径/nm	试验号	A/g	B/g	C/g	载药量/(μg·mL ⁻¹)	平均粒径/nm
1	3 (-1)	2 (0)	0.3 (-1)	1 064.79	100.2	9	5 (1)	2 (0)	0.9 (1)	1 320.98	426.4
2	4 (0)	1 (-1)	0.9 (1)	3 898.39	579.5	10	3 (-1)	1 (-1)	0.6 (0)	2 801.40	526.1
3	3 (-1)	3 (1)	0.6 (0)	1 083.97	63.3	11	4 (0)	2 (0)	0.6 (0)	1 139.28	102.3
4	4 (0)	1 (-1)	0.3 (-1)	1 654.19	556.9	12	3 (-1)	2 (0)	0.9 (1)	833.71	99.8
5	4 (0)	3 (1)	0.9 (1)	1 137.30	350.6	13	4 (0)	2 (0)	0.6 (0)	1 173.98	102.8
6	5 (1)	3 (1)	0.6 (0)	953.62	90.3	14	5 (1)	2 (0)	0.3 (-1)	1 120.37	100.6
7	5 (1)	1 (-1)	0.6 (0)	2 174.19	167.9	15	4 (0)	2 (0)	0.6 (0)	1 303.20	108.8
8	4 (0)	3 (1)	0.3 (-1)	1 040.81	92.1						

表2 效应面回归分析结果 (载药量)

Table 2 Statistical analysis of variance for experimental results (drug loading)

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	11 254 503	9	21.94	0.001 7	A ²	279 128	1	4.90	0.077 8
A	184 441	1	3.24	0.132 0	B ²	2 499 460	1	43.84	0.001 2
B	4 980 922	1	87.37	0.000 2	C ²	33 727	1	0.59	0.476 5
C	1 369 696	1	24.03	0.004 5	残差	285 032	5		
AB	61 718	1	1.08	0.345 8	失拟项	270 107	3	12.06	0.077 5
AC	512 431	1	8.99	0.030 2	纯误差	14 925	2		
BC	1 153 159	1	20.23	0.006 4	总差	11 539 535	14		

次顺序为 B>C>A: 助乳化剂(异丙醇) > 油相(油酸乙酯) > 乳化剂 [RH-400-Triton X-100 (1:1)]。

拟合得到二次回归方程为 $Y_1 = 1\ 205.49 - 151.84 A - 789.06 B + 413.78 C + 124.22 AB + 357.92 AC - 536.93 BC - 274.85 A^2 + 822.76 B^2 - 95.57 C^2$ ，方程拟合后的结果显示，其相关系数 $r^2 = 0.975\ 3$ ，说明预测模型可靠，能够对真实情况进行很好地描述，使用该方程代替真实的实验点进行分析是可行的。模型信号噪声比为 19.292 5，大于 4，是可取的^[7]，说明该模型有足够的分辨力，结果是可取的，能真实反映实验结果。

图 2 表示的响应面图显示不同的独立变量对人参皂苷 Rg₃ 自乳化处方载药量的影响。结果表明，

随着乳化剂和助乳化剂的升高，导致载药量先下降后升高；随着乳化剂和油相的升高，导致载药量下降；随着助乳化剂和油相的升高，导致载药量先下降后升高。

2.3.4 考察因素对平均粒径的影响 应用 Design-Expert trial version 8.0.5.0 对表 1 中的数据进行分析。考察因素对效应值 2 (平均粒径) 的影响，结果见表 3。由表 3 中的数据可知，预测模型的 P 值为 0.052 6，大于 0.05，这说明模型不显著。失拟项的 P 值为 0.000 7，小于 0.05，说明模型对真实情况的模拟是不准确的。对模型进行拟合得到的二次回归方程为 $Y_2 = 104.63 - 0.53 A - 154.26 B + 75.81 C + 96.30 AB + 81.55 AC + 58.98 BC - 52.88 A^2 + 160.15 B^2 + 130.00 C^2$ ，对方程的拟合结果显示，相关系数

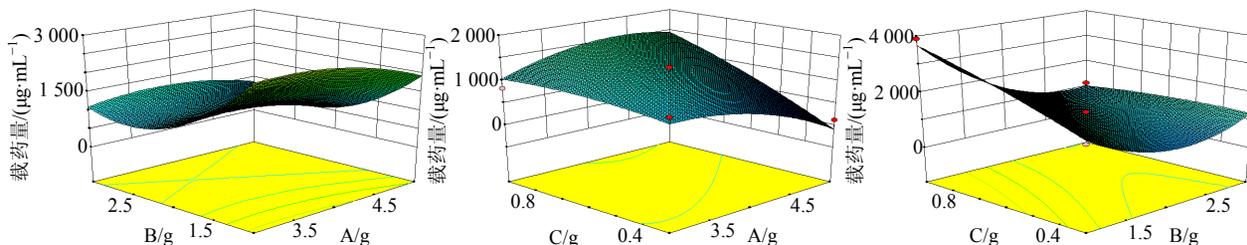


图 2 载药量与 A、B、C 的效应面与等高线图

Fig. 2 Responsive surfaces and contours of Y₁ and A, B, C

表 3 效应面回归分析结果 (平均粒径)

Table 3 Statistical analysis of variance for experimental results (average particle size)

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	480 322.1	9	4.651 92	0.052 6	A ²	10 324.5	1	0.899 93	0.386 4
A	2.2	1	0.000 19	0.989 5	B ²	94 695.5	1	8.254 13	0.034 9
B	190 375.4	1	16.594 06	0.009 6	C ²	62 396.0	1	5.438 75	0.067 0
C	45 980.3	1	4.007 87	0.101 7	残差	57 362.5	5		
AB	37 094.8	1	3.233 36	0.132 1	失拟项	57 336.3	3	1 460.798	0.000 7
AC	26 601.6	1	2.318 73	0.188 3	纯误差	26.2	2		
BC	13 912.2	1	1.212 66	0.321 0	总差	537 684.5	14		

$r^2=0.8933$, 接近 0.9, 说明该模型拟合良好, 而校正决定系数 (R_{adj}^2) = 0.7013, 表明此模型拟合程度一般, 而模型信号噪声比 = 6.9066, 大于 4, 是可取的, 说明该模型有一定的分辨力。因此, 该效应值 Y_2 (平均粒径) 预测模型不能对真实情况进行很好地描述, 使用该方程代替真实的实验点进行分折可能与真实值会有偏差。

考虑粒径对制剂的吸收和稳定性有一定影响, 而 BBD 可以考虑各影响间的交互作用和综合作用, 取载药量为主要效应值, 从效应面图判断出最佳点的实验考察区域, 并以粒径为非主要效应值, 取载药量最大值和平均粒径最小值交叉结果, 确定处方组成比例。

2.3.5 优化处方预测与验证 根据优化的最佳处方精密称取乳化剂 [RH-400-Triton X-100 (1:1)] 3 g、助乳化剂 (异丙醇) 1.475 g 和油相 (油酸乙酯) 0.5 g, 按 “2.1” 项下方法制备人参皂苷 Rg_3 自乳化制剂, 预测载药量为 998.74 $\mu\text{g/mL}$ 。根据预测处方, 制备 3 批人参皂苷 Rg_3 自乳化制剂, 分别测定载药量和平均粒径, 载药量结果分别为 928.56、904.40、919.64 $\mu\text{g/mL}$, 平均载药量为 917.53 $\mu\text{g/mL}$, 平均粒径结果分别为 92.7、129.8、112.3 nm, 平均粒径为 111.6 nm, 真实的载药量与载药量预测值偏差为 1% 左右, 真实值与预测值吻合良好, 效应面预测准确。

2.4 人参皂苷 Rg_3 自乳化优化处方质量评价

2.4.1 人参皂苷 Rg_3 自乳化效率与透光率 称取处方量的乳化剂 RH-40 和 Triton X-100, 助乳化剂异丙醇和油相油酸乙酯于 250 mL 烧杯中, 置于恒温磁力搅拌器上, 在 400 r/min、37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌均匀, 再取处方量的纯化水倒入上述体系中, 分别于 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 min 取样, 放置室温。在 700 nm (药物及辅料自身均无吸收) 处测定透光率 (T), 当 T 值不再变化 (既乳化完全) 时停止搅拌, 观察液面是否有油层及溶液是否澄清, 放置 24 h 观察油水分层及药物沉淀情况。根据实验结果可知, 优化后的人参皂苷 Rg_3 自乳化剂在 5 min 内乳化完全, 无水分层及药物沉淀, 自乳化剂平均透光率为 89% ($n=3$)。

2.4.2 乳化后人参皂苷 Rg_3 的性状及 pH 值 经优化处方制备得到的人参皂苷 Rg_3 自乳化剂均为无色澄清、略透明的均一溶液, 流动性较好。所测人参皂苷 Rg_3 自乳化剂的 pH 值平均值为 6.22 ± 0.03 ($n=3$)。

2.4.3 乳化后人参皂苷 Rg_3 的粒径及粒径分布 用 50 mL 左右的高纯水将配制好的人参皂苷 Rg_3 自乳化剂取 2~3 滴进行稀释, 用 N4Plus 超细颗粒粒度分析仪, 以 500 nm 的标准样品 (L500) 为对照品, 在 90° 角调整浓度仪器显示 5×10^4 时, 测得平均粒径及粒径分布。优化的人参皂苷 Rg_3 处方 (平行 3 组) 进行粒径测量与统计, 结果粒径分别为 92.7、129.8、112.3 nm, 多分散系数分别为 1.950、1.460、1.412。最终的平均粒径为 111.6 nm。具体见图 3。

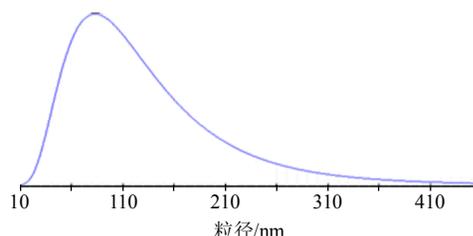


图 3 人参皂苷 Rg_3 自乳化剂粒径分布

Fig. 3 Size distribution of ginsenoside Rg_3 self-emulsifying drug delivery

2.4.4 人参皂苷 Rg_3 的定量测定 按 “2.2.2” 项下的色谱条件, 将配制自乳化剂稀释 20 倍, 测定乳化后自乳化剂中人参皂苷 Rg_3 的量。结果 3 批的平均质量浓度为 $(917.53 \pm 43.13) \mu\text{g/mL}$ 。

2.4.5 人参皂苷 Rg_3 乳化后稳定性考察 取优化处方制备的自乳化剂于离心管中, 敞口, 置于室温 (25°C) 空气中, 连续观察 20 d。结果表明, 人参皂苷 Rg_3 自乳化剂在 10 d 内保持澄清透明, 但 15 d 后, 略显浑浊。这可能与人参皂苷 Rg_3 自乳化剂暴露空气中, 其中水相比比例的改变而导致乳剂的不稳定有关。提示人参皂苷 Rg_3 自乳化剂应密封保存。

取优化配方制备的自乳化剂于离心管中, 以 4 000 r/min 的转速离心 1 h 及 8 500 r/min 的转速离心 20 min。结果显示, 人参皂苷 Rg_3 自乳化剂始终保持澄清透明, 不分层, 稳定性好。

取优化配方制备的自乳化剂于离心管中, 密封。分别置于 4°C 冰箱冷藏柜 (低温) 和 60°C 烘箱 (高温) 中 10 d, 连续观察并于 1、5、10 d 取样测定各项指标。结果见表 4。结果显示, 人参皂苷 Rg_3 自乳化剂在 4°C 的条件下, 透光率与质量浓度相对稳定, 而 60°C 时, 5 d 质量分数下降了 17.4%, 建议不要放置于高温环境, 最好冷藏保存。

2.4.6 人参皂苷 Rg_3 体外溶出度实验 采用《中国药典》2010 年版二部附录 XC 第二法进行测定, 以

表4 低温和高温放置实验结果 (n=3)

Table 4 Results of low temperature and high temperature experiments (n=3)

放置条件	时间/d	外观	T值	人参皂苷 Rg ₃ /(μg·mL ⁻¹)
4 °C	1	澄清透明	89.26	930.17
	5	澄清透明	89.02	930.88
	10	澄清透明	89.15	930.75
60 °C	1	澄清透明	87.12	930.17
	5	澄清透明	87.59	768.26
	10	澄清透明	88.14	750.22

市售胶囊(参一胶囊)为对照。分别以900 mL的0.1 mol/L HCl(模拟胃液)及pH 6.8 PBS(模拟肠液)为溶出介质,转速100 r/min,温度37 °C,将人参皂苷 Rg₃自乳剂约0.5 g装入硬胶囊壳中,迅速放入0.1 mol/L HCl(900 mL)及pH 6.8 PBS(900 mL)溶出介质中,转速100 r/min,温度(37±1) °C,于5、10、20、30、45、60、90 min时间点取出5 mL溶液,同时补充等体积空白介质。HPLC法测定质量浓度,计算累积释放率。以时间为横坐标,累积释放率为纵坐标,作溶出度曲线。结果见图4。

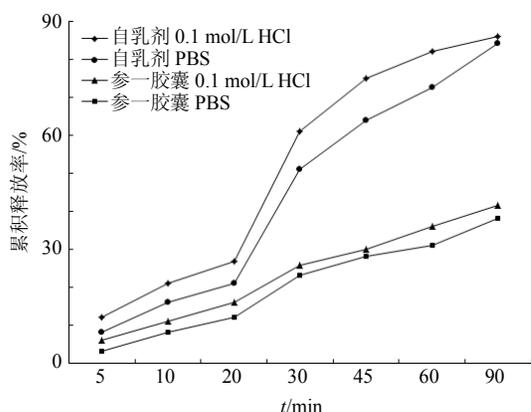


图4 人参皂苷 Rg₃在不同溶剂中的溶出曲线

Fig. 4 Stripping curves of ginsenoside Rg₃ in different solvents

结果表明,2种不同pH值的释放介质中人参皂苷 Rg₃自乳剂的释药速度和程度都明显大于市售胶囊,在模拟肠液(pH 6.8)中的释放较模拟胃液(0.1 mol/L HCl)中的释放稍慢,进一步的实验,发现在胃液中的相对自乳化时间2 min,而模拟肠液中4 min,是否与在模拟肠液中释放稍慢有关有待进一步考察。但自乳化制剂在90 min左右基本溶出。

3 讨论

药物制剂工艺非常复杂,许多因素影响药效,

需要进行多因素的同时考察,对因素间的相互作用进行分析,才能得到优化的因素组合。目前有许多自乳化处方筛选和优化的方法可以选择,各有特点,而Box-Behnken效应面法可以克服正交试验只能给出最佳因素水平组合,而无法找出整个区域内的因素最佳组合和最优响应值的缺陷^[8],使用方便、计算比较简便,优选条件预测性好,是解决实际问题的有效手段^[9]。本实验采用了BBD法优化了人参皂苷 Rg₃微乳的处方,真实值与预测值吻合良好,效应面预测准确。可见BBD法可以提高优化效果,预测指导性更强。特别在难溶性药物的处方优化上应用较为广泛,具有较好的推广应用价值^[3]。

自乳化释药系统(self-emulsifying drug delivery systems, SEDDS)由药物、油相、表面活性剂和助表面活性剂组成的均一混合物,口服后在胃肠道(体温37 °C)的轻微蠕动下,能自发形成颗粒较细的O/W乳滴(粒径<5 μm)^[10-11]。经查阅大量相关文献,国内外均未有统一、完整的质量控制标准。本实验对制备的人参皂苷 Rg₃自乳剂从自乳化效率与透光率、性状及pH值、平均粒径及粒径分布、定量测定、稳定性影响因素(离心试验、暴露空气试验、低温放置、高温放置试验)等方面进行评价,结果建议本制剂在室温或4 °C、密封条件下保存。自乳化后的乳滴的粒径也比较小而均匀,在100 nm左右,粒径分布属于高斯分布,而体外溶出度实验结果表明2种不同pH值的释放介质中人参皂苷 Rg₃自乳剂的释药速度和程度都明显大于对照市售胶囊,但人参皂苷 Rg₃自乳剂在模拟肠液中的释放较模拟胃液中的释放稍慢。

以载药量和粒径为考察指标,首先载药量是本实验目的——提高人参皂苷 Rg₃溶解度从而促进药物吸收;而粒径影响体系的稳定性和体内的吸收,粒径越小,油水界面积越大,稳定性、吸收越好,生物利用度相对越高^[12]。运用非线性方程拟合,该模型对载药量的真实情况的模拟是准确的,而对粒径的模拟是有误差的,但可以作为次要因素。其他如乳化效率、体外释放度等也作为考察指标建立模型,结果是否更优,有待进一步的实验。

综上,采用BBD法用于人参皂苷 Rg₃自乳化制剂的处方优化是可行的,数学模型的预测值与实验观察值相符。本实验制备的人参皂苷 Rg₃自乳化释药系统,体外质量评价显示,主药的载药量显著增加,乳剂粒径小而均匀,且各项指标符合要求,稳

定性好,易于保存,满足口服给药的要求,达到了预期目的。进一步 SEDDS 固态化,物理和化学稳定性方面均均好于液体制剂,而且患者服用更方便,这将是自乳化制剂发展的一个方向^[13]。

参考文献

- [1] 吴成杨,尹东东,王杏林. 自乳化药物传递系统的处方优化方法和应用 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(2): 192-194.
- [2] Kim M S, Kim J S, You Y H, *et al.* Development and optimization of a novel oral controlled delivery system for tamsulosin hydrochloride using response surface methodology [J]. *Int J Pharm*, 2007, 341(1/2): 97-104.
- [3] 田宝成,贾昌平,杨军涛,等. Box-Behnken 效应面法优化红旱莲总黄酮提取工艺的研究 [J]. 中成药, 2010, 32(3): 389-392.
- [4] 梁文权. 乳状液科学与技术基础 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [5] 张南生,胡卢丰,郭虹. 伪三元相图研究人参皂苷 Rg₃ 自微乳释药系统的处方组成 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(4): 954-957.
- [6] Hong J Y, Kim J K, Song Y K, *et al.* A new self-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption [J]. *J Cont roll Rel*, 2006, 110(2): 332-338.
- [7] 吴波,陈长华,杨琳. 洛伐他汀发酵培养基配方优化及 15L 罐放大 [J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(7): 409-413.
- [8] 秦凌浩,方耀高,邹国省,等. Box-Behnken 响应面设计法优化复方酮替阴道泡腾片处方 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(17): 1436-1439.
- [9] Hows M E P, Perrett D, Kay D J. Optimisation of a simultaneous separation of sulphonamides, dihydrofolate reductase inhibitors and β -lactam antibiotics by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1997, 768: 97-105.
- [10] Gursoy R N, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs [J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58(3): 173-182.
- [11] 轩肖玉,王亚静,张伟玲,等. 芒果苷自微乳给药系统的制备及其大鼠体内药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 166-170.
- [12] 王章姐,胡容峰,王国凯. Box-Behnken 设计-效应面法优化柚皮素自微乳给药系统 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2461-2466.
- [13] 李新刚,赵庆春,乔明曦. 自乳化药物传递系统研究进展 [J]. 中南药学, 2009, 7(4): 289-292.