

鸢尾苷元自微乳口服释药系统的制备及体外溶出研究

岳山岚¹, 梁 华¹, 李 根¹, 何 丽¹, 黄清庭², 帅淑平², 张芸榕², 杨俊毅^{2*}

1. 成都市妇女儿童中心医院, 四川 成都 610031

2. 四川大学药学院, 四川 成都 610041

摘 要: 目的 将鸢尾苷元(TG)制备成自微乳口服释药系统(SMEDDS), 并对其体外溶出行为进行考察。方法 以 D-optimal 设计原理为基础使用 Design Expert 软件对制剂处方进行优化, 对制备出的制剂进行质量评价及体外溶出度研究。结果 最终制备得到的 TG-SMEDDS 用水稀释 10 倍后得到粒径为 (14.95 ± 0.31) nm 的 O/W 型微乳。粒径分布较均匀, Zeta 电位为 (-12.53 ± 0.80) mV, 载药量为 20 mg/g, 平均测定量为标示量的 $(99.03 \pm 0.70)\%$ 。TG-SMEDDS 在 pH 1.2 盐酸溶液及 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中 10 min 累积溶出率均接近 100%。结论 D-optimal 设计可成功应用于 TG-SMEDDS 的处方优化, 制备出的 TG-SMEDDS 相比 TG 原料药溶出度有显著改善, 可以预期相较于 TG 原料药, TG-SMEDDS 将更有利于胃肠道吸收, 该研究结果可为 TG 剂型设计以及临床研究提供数据支持及参考。

关键词: 鸢尾苷元; D-optimal 设计; 自微乳口服释药系统; 体外溶出; 质量评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)20-3618-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.20.011

Preparation of tectorigenin self micro-emulsifying drug delivery system and evaluation on its *in vitro* dissolution

YUE Shan-lan¹, LIANG Hua¹, LI Gen¹, HE Li¹, HUANG Qing-ting², SHUAI Shu-ping², ZHANG Yun-rong², YANG Jun-yi²

1. Chengdu Women and Children's Central Hospital, Chengdu 610031, China

2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To prepare self micro-emulsifying drug delivery system (SMEDDS) of tectorigenin (TG), and investigate its dissolution. **Methods** The formulation was optimized using Design Expert based on D-optimal design. The microemulsion's physicochemical and *in vitro* dissolution were evaluated after self-microemulsification. **Results** The particle size and Zeta potential of the final formulation were (14.95 ± 0.31) nm and (-12.53 ± 0.80) mV after it was diluted by 10 times with pure water. The microemulsion appeared to be spheres with homogeneous size, which can be observed through a transmission electron microscope. The drug loading capacity was 20 mg/g, and the average content was $(99.03 \pm 0.70)\%$. The results of *in vitro* dissolution study showed that the accumulative dissolution could be close to 100% after 10 min in both hydrochloric acid solution (pH 1.2) and PBS (pH 6.8). **Conclusion** D-optimal design could be used to optimize the formulations of TG-SMEDDS successfully. The TG-SMEDDS exhibits a larger accumulation dissolution than TG. This formulation would be easier absorbed through gastrointestinal tract compared to TG. The results of this study are expected to offer data support and reference for the TG's formulation design and clinical application.

Key words: tectorigenin; D-optimal design; self micro-emulsifying drug delivery system; *in vitro* dissolution; quality evaluation

鸢尾苷元(tectorigenin, TG)是从鸢尾属 *Iris* L. 植物的根茎中提取得到的一种异黄酮类化合物, 化学名为 5,7,4'-三羟基-6-甲氧基异黄酮。在古代就有使用鸢尾属植物晒干入药的记载。TG 作为其中的活性化合物之一, 迄今为止已有大量的药理活性方

面的报道, 包括抗炎^[1]、抗病毒及抗菌^[2-3]、清除自由基^[4]、抗动脉粥样硬化^[5-6]、雌激素样作用^[7], 潘静^[8]在对 TG 抗肿瘤作用进行研究后发现, TG 可以抑制人胃癌细胞株 SGC7901 的增殖, 有望开发成为抗肿瘤药物或者抗肿瘤治疗辅助药物。虽然 TG 具

收稿日期: 2016-05-14

作者简介: 岳山岚(1988—), 女, 硕士, 药师, 主要从事医院药学工作。Tel: 18086836436 E-mail: yueshanlan2013@163.com

*通信作者 杨俊毅(1974—), 男, 博士, 讲师, 主要从事临床药学研究。Tel: 18980922013 E-mail: yjydc@163.com

有上述广泛的药理活性,但是经实验室前期考察发现 TG 的溶解性较差,在水中及油中溶解度均低,属于生物药剂学分类(BCS)第IV类药物。此类药物若制成普通固体口服剂型,经口服后,胃肠道内的溶出和吸收都可能成为其疗效发挥的限制性因素,导致在临床应用中存在一些潜在的弊端,因此如何改善 TG 溶解性是其成药性的关键,而广泛的药理活性使 TG 得到了越来越多的关注,成为研究热点。

自微乳制剂即口服自微乳释药系统(self micro-emulsifying drug delivery system, SMEDDS)是由天然或合成油相,固态或液态表面活性剂,另外可能再加入增溶剂/助溶剂制成的各向同性混合物^[9-11]。SMEDDS 与普通乳剂相比更稳定,而且生产成本低,制备技术简单、重现性强,具备提高药物吸收速度及程度从而改善口服生物利用度的潜力^[12-15]。本课题拟从改善 TG 的生物药剂学缺陷出发,利用自微乳增溶能力强并能促进透膜吸收的优势进行剂型设计,使用 *D-optimal* 设计来优化处方,对制备出的 TG-SMEDDS 进行质量评价,并与原料药在体外的溶出速率进行对比,对 TG-SMEDDS 在体内的吸收情况进行预测。该设计思路可为难溶性的异黄酮类、萜类、生物碱等天然化合物的成药性评估甚至进一步的新药研发提供新的方法和研究模式。

1 仪器与材料

85-2 控温磁力搅拌器,常州普天仪器制造有限公司;KQ5200B 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;LC-20AT 高效液相-泵、CTO-10Asvp 高效液相-柱温箱、SPD-10Avp 高效液相-紫外可见光检测器、AUW 120D 电子天平,日本 Shimadzu 公司;ZP-200 振荡器,江苏太仓市实验设备厂;pHSJ-3F 型酸度计,上海精密科学仪器有限公司;TGL-16 高速离心机,上海安亭科学仪器厂;Zetasizer nano 激光粒度仪,英国 Malvern 公司;RO/DI digital 实验室纯化水系统,上海和泰仪器有限公司;DV-C 数显黏度计,美国 Brookfield 公司;H-600 透射电子显微镜,日本 Hitach 公司。

TG 对照品,批号 A0201,质量分数 $\geq 98\%$,成都曼斯特生物科技有限公司;TG-SMEDDS,实验室自制,批号 20141114,载药量 1.99%;批号 20141115,载药量 1.93%;批号 20141116,载药量 1.96%;TG 供试品,实验室自制,批号 20130914,质量分数 98.5%;油酸乙酯,GC 测得质量分数

75.0%,批号 F126003,阿拉丁试剂有限公司;中链甘油三酯(labrafac,批号 141469)、丙二醇单辛酸酯(Capryol 90,批号 144603)、单亚油酸甘油酯(Masine 35-1,批号 141597)、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol,批号 144789)、二乙二醇单乙基醚(Transcutol HP,批号 143339),法国嘉法狮公司;薏苡仁油,批号 HS-131201,广州合诚三先生物有限公司;大豆油,药用级,铁岭北亚药用油有限公司;聚氧乙烯醚氢化蓖麻油(Cremophore RH40),德国巴斯夫公司;磷酸,成都高新区石羊化学制剂厂,分析纯;聚乙二醇 400(PEG 400),天津博迪化工股份有限公司;丙三醇,天津市永大化学试剂有限公司;甲醇,美国 Honeywell Burdick & Jackson 公司,色谱纯。

2 方法与结果

2.1 TG-SMEDDS 的制备工艺

TG-SMEDDS 的具体制备步骤:称取处方量的乳化剂、助乳化剂及油相于烧杯中,室温条件下磁力搅拌均匀,即得空白 SMEDDS;最后在空白 SMEDDS 中加入规定量的 TG 原料药(相当于载药量 20 mg/g),继续搅拌至溶液澄清透明,即得 TG-SMEDDS。

2.2 TG-SMEDDS 定量测定方法的建立及验证

2.2.1 对照品储备液的制备 取 TG 对照品适量,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得 TG 质量浓度为 485.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。

2.2.2 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为水(磷酸调 pH 至 3.0)-甲醇(30:70);体积流量 0.7 mL/min;检测波长 268 nm;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 20 μL 。

2.2.3 专属性考察 将各备选辅料及溶解有 TG 的辅料溶液,用适量甲醇分别稀释后作为空白辅料溶液及供试品溶液,另取适量 TG 质量浓度为 485.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液,按照“2.2.2”项色谱条件进样进行检测,选取有代表性的 3 张色谱图如图 1 所示,结果表明,在本色谱条件下, TG 的保留时间约为 10.0 min,峰形良好,各辅料对药物 TG 测定无干扰。

2.2.4 系统适应性试验 在本色谱条件下, TG 峰的理论塔板数均 $>3\ 000$,拖尾因子在 1.10~1.20,分离度 >1.5 ,可满足样品的测定要求。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取质量浓度为 485.4 $\mu\text{g/mL}$ 的 TG 对照品储备液适量,分别用甲醇稀释

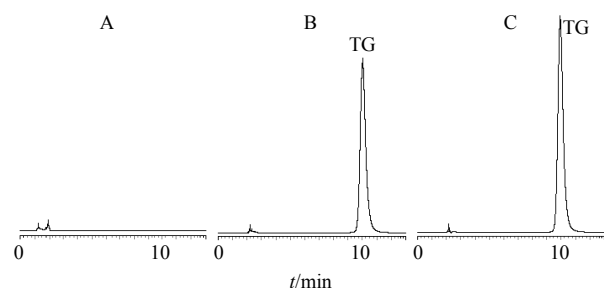


图1 空白 (A)、对照品 (B) 和样品 (C) 的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC of specificity of blank solution (A), reference substance (B), and sample (C)

成质量浓度为 48.54、24.27、9.71、2.43、0.24 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标曲工作液。进样测定后,以 TG 质量浓度 (X) 对测得峰面积积分值 (Y) 进行线性回归,得到标准曲线方程为 $Y=383\,509X+27\,606$, $r=0.999\,7$; 表明在本方法中 TG 在 0.24~48.54 $\mu\text{g/mL}$ 与测得峰面积积分值有较好的线性关系。按信噪比 3:1 稀释标曲样品测定,结果表明检测限为 1 ng。

2.2.6 供试品溶液的制备 取 TG-SMEDDS 约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度后得供试品溶液。

2.2.7 准确度与精密度试验 制备空白 SMEDDS,分别加入低、中、高质量浓度 TG 对照品溶液,用甲醇溶解并稀释制得低、中、高质量浓度分别为 2.43、9.71、24.27 $\mu\text{g/mL}$ 的供试品溶液。按“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算得到低、中、高质量浓度供试品溶液的平均回收率分别为 (101.23 $\pm$ 1.89) %、(99.66 $\pm$ 0.84) %、(100.14 $\pm$ 0.64) % ($n=3$)。1 d 内连续测定 6 次,计算日内精密度,得到 RSD 分别为 1.86%、0.84%、0.63% ($n=6$);连续测定 5 d,计算日间精密度,得到 RSD 分别为 0.75%、0.49%、0.28% ($n=5$)。表明方法准确度和精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取 TG-SMEDDS (含 TG 24.27 $\mu\text{g/mL}$) 约 0.5 g,精密称定,制备供试品溶液,分别于制备后 0、2、4、8、12、16、24 h 按照“2.2.2”项下色谱条件进样进行测定,记录峰面积并计算得到其 RSD 为 0.33%,结果表明供试品溶液室温放置至少能稳定 24 h。

2.2.9 重复性试验 取 TG-SMEDDS (含 TG 24.27 $\mu\text{g/mL}$) 约 0.5 g,精密称定,平行制备 6 份供试品溶液,按照“2.2.2”项下色谱条件进样分析,结果显示 TG 平均质量分数为 19.81 mg/g, RSD 为

0.45%,表明重复性较好。

2.3 TG 在不同辅料中的平衡溶解度考察及乳化剂筛选

分别量取中链甘油三酯、Capryol 90、丙三醇、Cremophore RH40、油酸乙酯、大豆油、Masine 35-1、薏苡仁油、Labrasol、PEG400 及 Transcutol HP 各 5 mL 置具塞离心管中,加入过量的 TG 供试品,涡旋混合 5 min 后,于室温下置摇床中振荡 72 h,使溶解达平衡。将各样品于 12 000 r/min 离心 5 min,移取上清液至 EP 管中,用甲醇稀释后按照前述色谱条件进样测定。TG 在不同辅料中的溶解度测定结果分别为 (1.231 $\pm$ 0.044)、(12.280 $\pm$ 0.028)、(0.232 $\pm$ 0.004)、(6.892 $\pm$ 0.152)、(0.575 $\pm$ 0.035)、(0.234 $\pm$ 0.009)、(0.762 $\pm$ 0.018)、(0.115 $\pm$ 0.007)、(9.968 $\pm$ 0.045)、(7.749 $\pm$ 0.041)、(29.797 $\pm$ 0.287) mg/mL ($n=3$)。根据 TG 在不同辅料中的溶解度测定结果,选择 Capryol 90 作为油相,Labrasol 及 Cremophore RH40 作为备选乳化剂,Transcutol HP 作为助乳化剂。

有文献报道,在以 Capryol 90 为油相,Transcutol HP 为助乳化剂时,Cremophore RH40 更易与其形成微乳^[16],根据参考文献方法^[13-16],称取适量的乳化剂 Cremophore RH40、Labrasol 至烧杯中,与适当比例的助乳化剂 Transcutol HP 混匀,得到混合乳化剂[乳化剂与助乳化剂的质量比 (K_m) 分别为 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3],按照混合乳化剂与油相质量比 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的比例分别加入油相 Capryol 90,室温下磁力搅拌使均匀。然后边搅拌边滴加蒸馏水,观察并记录体系由浊到清或由清到浊变化的临界点,并记录临界点时各组分的百分比,以油相、水、混合乳化剂为顶点绘制伪三元相图。当混合乳化剂比例越大时越能与更多比例的油相形成微乳,结果如图 2 所示。由伪三元相图结果可明显看出,在使用相同油相与助乳化剂,相同 K_m 值及油水比例条件下,Cremophore RH40 能与更多比例的油相形成微乳,成微乳能力优于 Labrasol,故选择 Cremophore RH40 为最终处方的乳化剂进行下一步的处方筛选。

2.4 绘制三元相图确定各组分的用量范围

称取适量的 Cremophore RH40 至烧杯中,与适当比例 ($K_m=8:1$ 、 $7:1$ 、 $6:1$ 、 $5:1$ 、 $4:1$ 、 $1:4$) 的 Transcutol HP 混匀,按照混合乳化剂与油相质

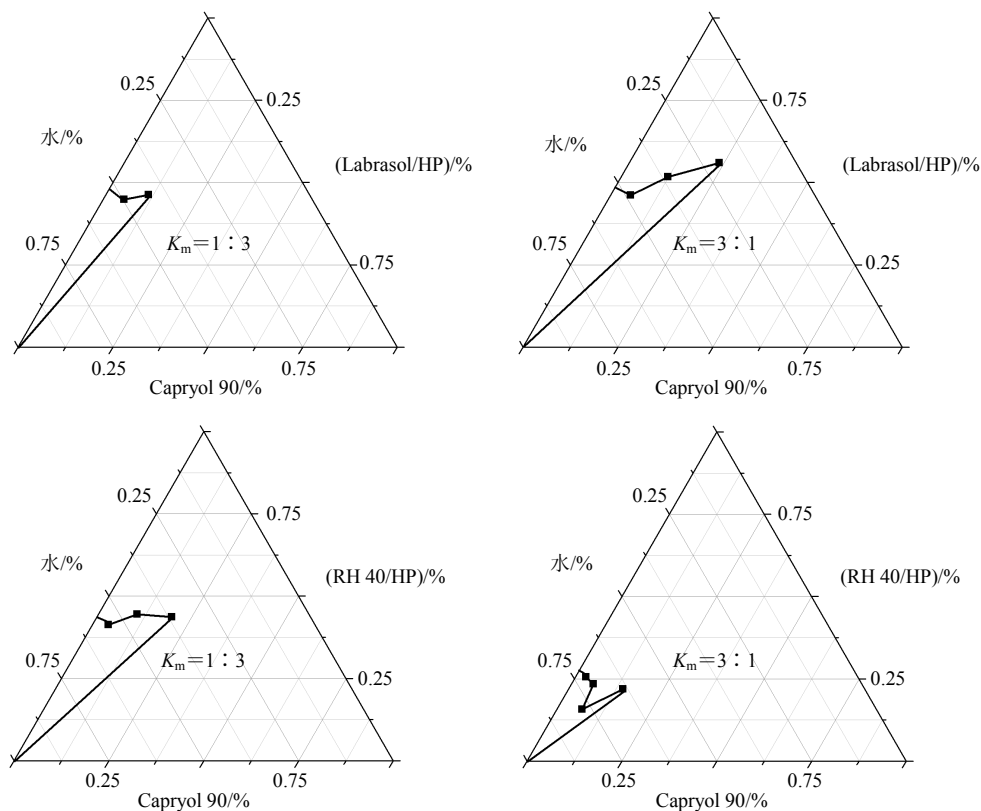


图 2 使用不同乳化剂制备伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams with different surfactants

量比 1 : 9、2 : 8、3 : 7、4 : 6、5 : 5、6 : 4、7 : 3、8 : 2、9 : 1 的比例分别加入油相 Capryol 90，室温下磁力搅拌使均匀，记录成微乳时各组分的用量百分比。以油相、乳化剂、助乳化剂为顶点绘制三元相图，将成微乳时各组分的百分比绘制在二元相图中，连接各临界点，得到成微乳区域。结果如图 3 所示，根据矩形框各顶点上 3 种组分的坐标值确定各组分的百分比用量范围。由三元相图数据可得到各组分的范围分别为 Cremophore RH40 17.4%~79.9%，Capryol 90 10.9%~40%，Transcutol HP 9.2%~57.2%。

2.5 处方优化

使用实验设计软件 Design-Expert 8.0.6，选择 D-optimal 设计，由软件给出各实验处方如表 1 所示。现以平衡溶解度、稀释后粒径及多分散系数 (PDI) 为考察指标进行实验，并记录结果如表 1 所示，用于最佳处方预测。

2.6 最优处方确定

分别对各响应指标与各试验点的百分质量比进行回归方程的拟合，得到最适回归方程类型及方差分析结果。

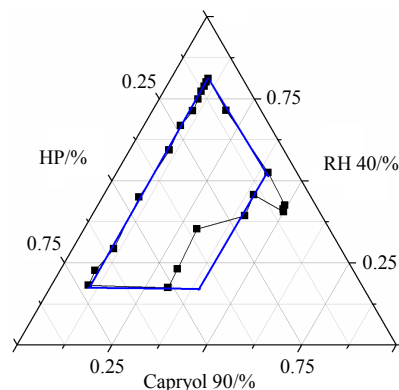


图 3 三元相图中的成微乳区域

Fig. 3 Ternary phase diagram with microemulsion existence region

当响应指标为粒径时，其最适回归方程为 3 次方程，方程具体为粒径 = $-2\,484.614\,20\,C - 433.542\,39\,R + 2\,308.058\,79\,H + 5\,150.671\,95\,CR + 6\,272.652\,81\,CH - 2\,119.535\,11\,RH - 20\,486.593\,26\,CRH + 12\,776.005\,02\,CH(C-H) + 4\,138.827\,10\,RH(R-H)$ ，其中 C 表示油相 Capryol 90 所占质量分数， R 表示乳化剂 RH40 所占质量分数， H 表示助乳化剂 HP 所占质量分数。

表1 TG-SMEDDS的*D*-optimal 设计方案及结果
Table 1 *D*-optimal design and results for TG-SMEDDS

方案	Capryol 90/%	Cremophore RH40/%	HP/%	溶解度/(mg·g ⁻¹)	平均粒径/nm	PDI
1	10.9	17.4	71.7	121.96±23.21	478.70±2.29	0.787±0.009
2	25.5	65.4	9.2	45.44± 2.05	16.96±0.27	0.338±0.010
3	18.2	45.0	36.8	41.77± 1.09	16.71±0.41	0.095±0.093
4	40.0	17.4	42.6	48.69± 2.59	478.45±2.12	0.351±0.007
5	10.9	79.9	9.2	44.64± 2.31	13.68±0.27	0.219±0.044
6	25.5	17.4	57.2	90.28± 4.18	233.00±1.12	0.277±0.018
7	32.7	37.7	29.5	43.83± 3.20	24.80±0.14	0.135±0.019
8	18.2	29.4	52.4	92.80± 3.17	21.56±0.48	0.293±0.011
9	40.0	50.8	9.2	45.32± 1.88	52.44±0.37	0.390±0.010
10	25.5	41.4	33.2	44.86± 1.31	19.42±0.44	0.192±0.008
11	25.5	29.4	45.2	49.93± 2.27	63.05±0.37	0.210±0.020
12	18.2	60.6	21.2	36.30± 1.16	15.94±0.14	0.093±0.046
13	32.7	29.4	37.9	59.41± 1.14	100.30±0.75	0.230±0.010
14	10.9	48.7	40.5	40.53± 1.09	14.64±0.44	0.153±0.044
15	40.0	34.1	25.9	45.80± 0.85	56.17±0.27	0.179±0.023
16	32.7	46.1	21.2	38.88± 0.24	23.73±0.20	0.169±0.003
17	25.5	53.4	21.2	39.14± 0.87	29.26±0.77	0.155±0.028

当响应指标为PDI时,其最适回归方程为2次方程,方程具体为 $PDI=0.988\ 46\ C+0.306\ 20\ R+1.958\ 73\ H-4.445\ 46\ CH-3.749\ 99\ RH$ 。

当响应指标为溶解度时,其最适回归方程为2次方程,方程具体为 $\text{溶解度}=-122.419\ 07\ C+39.323\ 90\ R+245.167\ 79\ H+337.929\ 94\ CR-406.222\ 38\ RH$ 。

理论上,应当选择对TG溶解度最大的处方,以确保制剂具有最大的载药量。在本课题的实际操作过程中发现,当助乳化剂用量增加时,TG的溶解度明显增大,但同时处方在稀释时更易析晶产生沉淀,或者导致处方稀释后粒径及PDI过大,无法满足纳米制剂的粒径要求。因此,在进行处方优化时,选择PDI及稀释后粒径最小为最优先满足指标,溶解度最大为次优先满足指标,经软件拟合给出最优处方各组分百分比分别为Capryol 90 13.0%,Cremophore RH40 47.7%,Transcutol HP 39.3%,预测该处方对TG的最大溶解度为44.00 mg/g,载药量为20 mg/g时,稀释后的粒径为13.69 nm,PDI为0.114。

2.7 TG-SMEDDS的初步质量评价

2.7.1 TG-SMEDDS的外观及微观形态 本研究自

制的TG-SMEDDS外观呈均一透明黄色液态,稍黏。取适量用纯水稀释后,滴加至覆盖有碳膜的铜网上,用2%磷钨酸负染色10 min,晾干后置透射电子显微镜(TEM)下对其微观形态进行观察(由于TEM观测对象为负染色后晾干得到的微乳痕迹而非液态微乳,因此只能用于微乳微观形态观察,不能用于粒径大小分析),所得结果如图4所示。由图可见,TG-SMEDDS在遇水稀释后,形成的微乳呈圆球状,边缘光滑,界限分明,分布较均匀。

2.7.2 溶解度、Zeta 电位、平均粒径及PDI 取3批自制样品(批号分别为20141114、20141115、

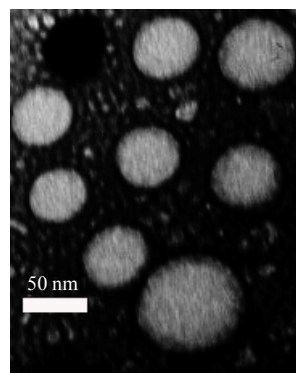


图4 TG-SMEDDS透射电镜图(×200 000)

Fig. 4 TEM photo of TG-SMEDDS (×200 000)

20141116), 按照“2.5”项下的最佳处方制备载药量为 20 mg/g 的 TG-SMEDDS, 用纯水稀释 10 倍, 使用 Zetasizer nano 激光粒度仪进行平均粒径、PDI 及 Zeta 电位测定, 记录结果, 粒径分布及电位测定结果如图 5 所示。测得样品的溶解度为 (43.43 ± 1.22) mg/g ($n=3$), Zeta 电位为 (-12.53 ± 0.80) mV ($n=3$), 平均粒径为 (14.95 ± 0.31) nm ($n=3$), PDI 为 0.116 ± 0.013 ($n=3$)。并将测得的结果与“2.5”项下的优化处方预测结果进行对比, 结果溶解度、平均粒径及 PDI 的偏差 [偏差=(实测值-预测值)/预测值] 分别为 1.3%、9.2%及 1.8%。由上述结果可见, 3 个指标的预测值均非常接近实验测得值, 表明本方法预测准确度较高, 可成功应用于 SMEDDS 的设计与优化。

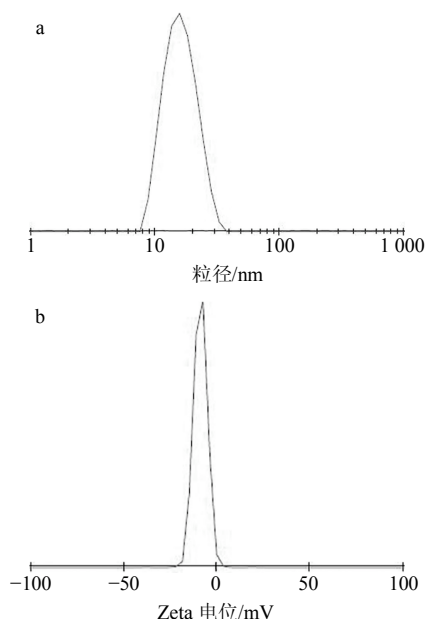


图5 载药量为 20 mg/g 的 TG-SMEDDS (批号 20141114) 用水稀释 10 倍后的粒径分布 (a) 及 Zeta 电位图 (b)

Fig. 5 Size distribution (a) and Zeta potential (b) of TG-SMEDDS (lot. 20141114) containing 20 mg/g TG after being diluted by 10 times of water

2.7.3 3 批 TG-SMEDDS 样品的定量测定 按照最终处方制备 3 批 TG-SMEDDS (批号 201401114、20141115、20141116), 分别取适量, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度后按照“2.2.2”项下色谱条件进行定量测定。并计算 TG 测定量占标示量的百分比。TG-SMEDDS 的实际测定量占标示量的 (99.03 ± 0.70) %。

2.7.4 稳定性考察 取 TG-SMEDDS 样品 (含 TG 9.71 μ g/mL) 适量, 分别考察室温放置 24 h 及 -20 $^{\circ}$ C

放置 10 d 时样品的稳定性。操作方法同“2.2.8”项。结果室温放置 24 h 后稳定性 RSD 为 0.55% ($n=3$), -20 $^{\circ}$ C 放置 10 d 后相对偏差 (RD) 为 -0.82% , 表明 TG-SMEDDS 室温放置至少能稳定 24 h, -20 $^{\circ}$ C 放置至少能稳定 10 d。

2.8 TG-SMEDDS 体外溶出度研究

2.8.1 线性关系考察 精密移取 TG 质量浓度为 48.5 μ g/mL 的对照品储备液适量, 用 pH 1.2 盐酸溶液及 pH 6.8 磷酸盐缓冲液分别稀释成质量浓度为 0.12、0.24、1.21、2.42、4.85 μ g/mL 的系列对照品溶液, 按照“2.2.2”项下条件进样测定, 以峰面积为纵坐标 (Y), TG 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得到 pH 1.2 盐酸缓冲液中的标准曲线方程为 $Y=96\ 231 X-1\ 960.8$, $r=0.999\ 9$; 得到 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的标准曲线方程为 $Y=96\ 302 X-1\ 822.4$, $r=0.999\ 9$ 。表明 TG 峰面积与质量浓度在 0.12~4.85 μ g/mL 有良好的线性关系。

2.8.2 TG-SMEDDS 在不同介质中的溶出行为考察及与 TG 原料药的对比研究 按照前述制备方法制备 TG-SMEDDS 装胶囊, 平行制备 6 份, 使每粒胶囊中含 TG 约 7 mg, 为供试制剂; 另称取适量 TG 原料药装胶囊, 平行制备 6 份, 使每粒胶囊中含 TG 约 7 mg, 为参比制剂。按照《中国药典》2015 年版四部附录 0931 溶出度测定第一法, 以 pH 1.2 盐酸溶液及 pH 6.8 PBS 分别作为溶出介质, 转速为 100 r/min, 水浴温度为 (37.0 ± 0.5) $^{\circ}$ C, 分别于 2、5、10、20、30、60、120、240 min 时取样 10 mL, 同时在介质中补充等温等体积的溶出介质, 立即用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 弃去 5 mL 初滤液, 取续滤液按照“2.2.2”项下条件进样测定, 计算出累积溶出率。以取样时间为横坐标, 累积溶出率为纵坐标绘制溶出曲线, 结果如图 6 所示。

由图 6 的溶出曲线可见, TG-SMEDDS 在 2 种介质中均可在短时间内达到溶出平衡, 10 min 的累积溶出率分别为 (97.88 ± 0.12) % 及 (93.38 ± 5.69) %, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。2 种介质分别模拟了人胃中的酸性环境及小肠中的弱碱性环境, 因此由该溶出曲线结果可以预测 TG-SMEDDS 经口服后可在胃中迅速被稀释成微乳液, 且在较长时间内未见药物析出, 有利于药物在胃及小肠中的吸收。

TG 原料药在 2 种介质中均较难溶出, 240 min 时 TG 原料药在 2 种介质中的累积溶出率分别仅为

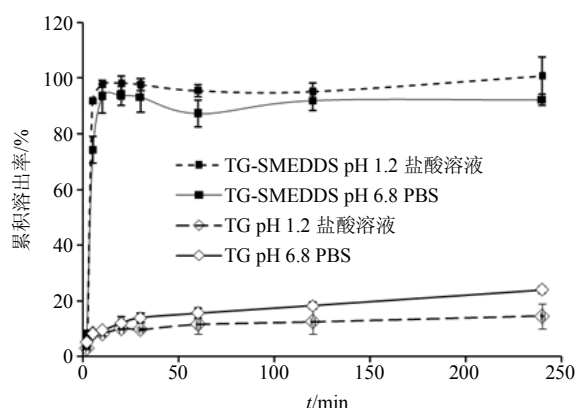


图6 TG-SMEDDS及TG原料药在不同介质中的溶出曲线 ($n=6$)

Fig. 6 Cumulative dissolution percentage of TG-SMEDDS and TG in different dissolution media ($n=6$)

(14.45 ± 4.44)%及(23.88 ± 1.18)%,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

在2种介质中TG-SMEDDS的溶出速率及累积溶出率均较TG原料药有明显改善,TG原料药由于油溶性及水溶性差的特性导致口服难以吸收,前期研究发现TG原料药口服后的生物利用度仅为11.19%。结合上述结果,将TG制备成TG-SMEDDS后将有望改善其口服吸收情况,使口服生物利用度有望得到提高。

3 讨论

乳化剂是O/W型自微乳中所占比例较大的辅料,也是文献报道造成微乳具有慢性毒性及胃肠道刺激性的主要原因^[17],关于乳化剂的安全用量范围目前还未有统一的标准,然而本研究所选择的乳化剂Cremophore RH40经查阅《药用辅料手册》^[18]和其他文献资料后,表明其大鼠口服半数致死量(LD_{50}) > 16.0 g/kg,安全性较高,为制备TG-SMEDDS的最佳乳化剂。

在三元相图的构建过程中,查阅了国内外相关文献后出现了关于微乳区域是否应当包含乳化剂及助乳化剂顶点的疑问^[19-21]。实验结果表明,当体系中只有乳化剂Cremophore RH40存在,或油相比例过低($< 1:9$)时,会形成黏性较大的凝胶,这一结果也与其他文献中当表面活性剂比例过高会形成凝胶的报道相一致。尽管也有研究表明此凝胶相在进一步稀释后会形成微乳^[22],但是由于本研究的最终剂型SMEDDS在进入胃肠道后接触到的胃肠液有限,无法保证是否有足够的胃肠液将凝胶相稀释为微乳,因此在三元相图中的微乳区域未包含乳化

剂、助乳化剂顶点及低油相区域。

240 min内TG在pH 6.8 PBS中的累积溶出率要显著大于pH 1.2盐酸溶液($P < 0.05$),这一结果可能与TG的化学结构有关,其结构中的3个羟基具备给予质子的能力,使TG溶液呈弱酸性,因此在碱性介质中成盐而更易溶解。

本实验结果为TG-SMEDDS在大鼠体内的药动学研究的可行性提供了数据支持。制剂遇水微乳化后的粒径小于50 nm,可以预见其在进入胃肠道与胃肠液接触后也可微乳化形成粒径为纳米级的微乳液,相对于原药物溶液将更易于经肠上皮黏膜吸收进入体循环,从而促进TG的口服吸收,提高TG的口服生物利用度。后期可以设计在体肠吸收及药动学实验来对该制剂的可能吸收作用及机制进行更深入的研究。

参考文献

- [1] Conforti F, Rigano D, Menichini F, *et al.* Protection against neurodegenerative diseases of *Iris pseudopumila* extracts and their constituents [J]. *Fitoterapia*, 2009, 80(1): 62-67.
- [2] 苏妙贤,李药兰,周艳晖,等. 瑶药“野葛花”的抗病毒和抑菌活性 [J]. 暨南大学学报, 2006, 27(2): 204-208.
- [3] Oh K B, Kang H, Matsuoka H. Detection of antifungal activity in *Belamcanda chinensis* by a single-cell bioassay method and isolation of its active compound, tectorigenin [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65(4): 939-942.
- [4] Kang K A, Lee K H, Chae S, *et al.* Cytoprotective effect of tectorigenin, a metabolite formed by transformation of tectoridin by intestinal microflora, on oxidative stress induced by hydrogen peroxide [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 519(1/2): 16-23.
- [5] 王金凤,杨翠艳,张艳萍,等. 鸢尾苷元抗血管平滑肌细胞增殖及抗动脉粥样硬化机制的研究 [J]. 解放军药学学报, 2010, 26(3): 203-205.
- [6] 王金凤,薄华本,孟祥颖,等. 鸢尾苷元对急性心肌梗死小鼠心肌的保护作用 [J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(2): 99-103.
- [7] Shim M, Bae J Y, Lee Y J, *et al.* Tectoridin from *Maackia amurensis* modulates both estrogen and thyroid receptors [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(5): 602-606.
- [8] 潘静. 川射干化学成分及体外抗肿瘤活性的研究 [D]. 武汉: 湖北中医学院, 2009.
- [9] Goyal U, Arora R, Aggarwal G. Formulation design and evaluation of a self-microemulsifying drug delivery

- system of lovastatin [J]. *Acta Pharm*, 2012, 62(3): 357-370.
- [10] 赵丹丹, 黄挺, 黄绳武. 依托泊苷过饱和自微乳化释药系统的制备工艺及质量评价研究 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 822-831.
- [11] 陈小新, 原素, 谢称石, 等. 葛根素自微乳给药系统的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1512-1516.
- [12] Aungst B J. Novel formulation strategies for improving oral bioavailability of drugs with poor membrane permeation or presystemic metabolism [J]. *J Pharm Sci*, 1993, 82(10): 979-987.
- [13] 卢秀霞, 何琳, 陈锦娜, 等. 丹参酮 II_A 口服自微乳的制备及其体外溶出度评价 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3256-3265.
- [14] 王章姐, 胡容峰, 王国凯, 等. 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.
- [15] 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.
- [16] Goyal U, Arora R, Aggarwal G. Formulation design and evaluation of a self-microemulsifying drug delivery system of lovastatin [J]. *Acta Pharm*, 2012, 62(3): 357-370.
- [17] 郑俊民. 药用辅料手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [18] 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, 4(1): 47-50.
- [19] 李洪松, 张学顺, 傅春升, 等. 苦参碱自微乳化制剂的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2013, 44(4): 414-419.
- [20] 赵岚, 沈骥. 微乳及其应用 [J]. 化学教育, 2006(2): 3-5.
- [21] 刘伟星, 李宁, 高崇凯. 葛根素自微乳化渗透泵控释胶囊的制备 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1568-1573.
- [22] Prajapati H N, Dalrymple D M, Serajuddin A T M. A comparative evaluation of mono-, di- and triglyceride of medium chain fatty acids by lipid/surfactant/water phase diagram, solubility determination and dispersion testing for application in pharmaceutical dosage form development [J]. *Pharm Res*, 2012, 29(1): 285-305.