

## • 药剂与工艺 •

## 复方丹参冻干乳剂的制备及其体外溶出特性研究

李 明, 侯世祥, 毛声俊, 金 辉, 王乾韬\*

四川大学华西药学院 靶向药物及释药系统教育部重点实验室, 四川 成都 610041

**摘 要:** 目的 研制复方丹参冻干乳剂, 改善复方丹参片中脂溶性成分的溶出。方法 采用高速剪切-均质法制备复方丹参液态乳; 以物理外观、复溶效果为评价指标, 采用均匀设计试验法优选油相比例与支架剂用量, 进而以冷冻干燥法制得复方丹参冻干乳剂。以方剂中脂溶性代表成分丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑为检测指标, 分别考察复方丹参冻干乳剂与片剂在人工胃液和人工肠液中的溶出度; 以复溶后外观、平均粒径和 Zeta 电位为指标, 考察冻干乳剂长期留样稳定性。结果 液态乳油相(中链甘油三酸酯)比例为 10%, 加入 18% 麦芽糖和 0.25%  $\beta$ -环糊精作为支架剂时, 制备的冻干乳剂外观均匀、复溶迅速且完全, 稳定性良好。以人工胃液为溶出介质, 复方丹参冻干乳剂中的丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑在 30 min 时的累积溶出率分别为 (94.8 $\pm$ 2.8)%、(97.4 $\pm$ 2.9)%; 而复方丹参片中的丹参酮 II<sub>A</sub> 几乎未溶出, 龙脑的累积溶出率也仅为 (23.3 $\pm$ 3.4)%。以人工肠液为溶出介质, 片剂中的丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑在 120 min 时的累积溶出率分别为 (42.5 $\pm$ 2.7)%、(74.4 $\pm$ 1.8)%, 仍显著低于冻干乳剂的 (97.8 $\pm$ 1.9)%、(92.7 $\pm$ 3.5)%。冻干乳剂室温放置 1 年后, 各项指标均无显著变化。结论 与市售片剂相比, 冻干乳剂可显著提高复方丹参方剂中脂溶性成分的溶出度, 且具有速释特点, 其物理稳定性良好。

**关键词:** 复方丹参; 冻干乳剂; 脂溶性成分; 高压均质; 丹参酮 II<sub>A</sub>; 龙脑; 溶出度; 均匀设计试验; 冷冻干燥

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)13-2632-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.13.008

## Preparation and dissolution characteristics of Compound Danshen freeze-dried emulsion

LI Ming, HOU Shi-xiang, MAO Sheng-jun, JIN Hui, WANG Qian-tao

Key Laboratory of Drug Targeting and Drug Delivery System, Ministry of Education, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract:** **Objective** To improve *in vitro* dissolution of lipophilic constituents in Compound Danshen Tablet, a novel freeze-dried emulsion was designed and developed. **Methods** Compound Danshen liquid emulsion was prepared by high-speed shearing, following by high pressure homogenization process. The oil phase and cryoprotectants were optimized by uniform design test, using physical appearance and redispersibility as evaluation indexes. The *in vitro* dissolution profile of tanshinone II<sub>A</sub> and borneol in the freeze-dried emulsion and Compound Danshen Tablet was determined in artificial gastric juice and artificial intestinal juice containing 0.5% sodium lauryl sulfate (SDS). Based on the appearance, average particle size and zeta potential, the stability of freeze-drying emulsion was investigated. **Results** The developed Compound Danshen freeze-dried emulsion had good physical appearance, meanwhile maintained a good redispersibility and stability, when 10% medium chain triglycerides (MCT) was adopted as oil phase of liquid emulsion and 18% maltose combined with 0.25% beta-cyclodextrin was optimized as cryoprotectants. In artificial gastric juice, the accumulated dissolution rates of tanshinone II<sub>A</sub> and borneol in Compound Danshen freeze-dried emulsion reached up to (94.8 $\pm$ 2.8)% and (97.4 $\pm$ 2.9)% at 30 min, respectively. However, the accumulated dissolution rate of borneol in the tablet was only (23.3 $\pm$ 3.4)% at 120 min, while tanshinone II<sub>A</sub> showing no dissolution. In artificial intestinal juice, the accumulated dissolution rates of tanshinone II<sub>A</sub> and borneol in the tablet rose to (42.5 $\pm$ 2.7)% and (74.4 $\pm$ 1.8)% at 120 min, but they were still much lower than that in

收稿日期: 2017-02-28

基金项目: 四川省科技支撑计划项目 (2011SZ0009)

作者简介: 李 明 (1991—), 男, 在读硕士, 研究方向为新型给药系统及其应用基础。Tel: 18382105581 E-mail: vector789@126.com

\*通信作者 王乾韬 (1984—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为创新药物设计。Tel: (028)85501070 E-mail: qwang@scu.edu.cn

the freeze-dried emulsion which reached up to  $(97.8 \pm 1.9)\%$  and  $(92.7 \pm 3.5)\%$ . After one year's storage, there were no significant changes of the stability evaluation index for freezing dry emulsion. **Conclusion** The dissolution rates of lipophilic constituents in Compound Danshen freeze-dried emulsion increased significantly and exhibited a fast and fairly complete drug release, which provides a potential and promising formulation to improve bioavailability of the original dosage form of tablet. Its physical stability is good.

**Key words:** Compound Danshen; freeze-dried emulsion; lipophilic constituents; high pressure homogenization; tanshinone II<sub>A</sub>; borneol; dissolution rate; uniform design test; freeze-drying

复方丹参片组方由丹参 *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*、三七 *Notoginseng Radix et Rhizoma* 和冰片 *Borneolum* 3 味药组成<sup>[1-3]</sup>, 具有活血化瘀、理气止痛之功效, 用于治疗冠心病、心绞痛等<sup>[4]</sup>。该方剂主要含 4 类有效成分: 丹参中的水溶性成分丹酚酸类与脂溶性成分丹参酮类, 三七中的总皂苷以及冰片中的龙脑<sup>[1]</sup>。丹参酮 II<sub>A</sub> 是丹参中的代表性脂溶性成分, 具有抗氧化、抗炎、扩张冠状动脉、增加心肌血流量等功效<sup>[5-6]</sup>。冰片中的主要成分为龙脑, 其可促进其他有效成分穿透生物屏障<sup>[7-9]</sup>。丹参酮 II<sub>A</sub> 与龙脑的水溶性差, 口服吸收生物利用度低, 限制了其药效发挥<sup>[10-11]</sup>。亚微乳作为一种给药载体<sup>[12-14]</sup>, 可同时包载脂溶性和水溶性药物, 具有增加药物吸收, 提高其生物利用度等优点<sup>[15-16]</sup>。然而亚微乳属热力学不稳定系统, 在长期放置过程中易发生分层、絮凝甚至破乳现象。冻干乳剂是在液态乳处方中加入支架剂与稳定剂, 进而采用冷冻干燥工艺制备而得到的固体剂型, 临用前加水复溶可还原成液态乳剂, 其兼具液态乳对脂溶性药物溶解性能良好与作为固体制剂理化稳定性好的优点<sup>[17]</sup>。据此, 本实验拟研制复方丹参冻干乳剂, 以期改善复方丹参片中脂溶性成分的溶出。

## 1 仪器与材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪、6890N 型气相色谱仪, 美国 Agilent 公司; ZS90 激光粒度分析仪, 英国 Malvern 公司; ALC-110.4 电子天平, 北京赛多利斯公司; SK5200H 超声仪, 上海科导超声仪器有限公司; GL-16G 离心机, 上海安亭仪器厂; FE28 酸度计, 瑞士 Mettler Toledo 公司; Modulyo-D 冷冻干燥机, 美国 Thermo Electron 公司; EF-C5 高压均质机, 加拿大 Avestin 公司; C25 高速剪切机, 上海恒川机械设备公司; ZRS-8G 智能溶出仪, 天大天发科技公司。

丹参饮片、三七粗粉, 四川思达康药业有限公司惠赠, 经四川大学药学院毛声俊教授鉴定丹参基原为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根, 三七基原为五加科人参属植物三七

*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎; 复方丹参片, 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 批号 H5A019; 冰片, 北京同仁堂股份有限公司, 龙脑量不低于 96.0%; 蛋黄卵磷脂, 德国 Lipoid 公司; 中链甘油三酸酯 (MCT), 中航药业股份有限公司; 泊洛沙姆 188, 德国 BASF 公司; 麦芽糖, 上海惠世生化试剂公司;  $\beta$ -环糊精, 天津市博迪化工公司; 对照品丹参酮 II<sub>A</sub> (批号 110766-201520, 质量分数 98.9%)、龙脑 (批号 111688-201602, 质量分数 99.6%), 均购于中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 复方丹参冻干乳剂的制备

**2.1.1 提取物制备** 丹参加 90%乙醇加热回流 1 h, 提取液滤过, 滤液回收乙醇并浓缩至浸膏, 加水洗涤, 离心倾去上清液, 取沉淀干燥, 研磨, 即得丹参醇提物 (主要成分为以丹参酮 II<sub>A</sub> 为代表的丹参酮类)。丹参经醇提后的药渣加水煎煮 2 h, 煎液滤过, 滤液浓缩至适量, 加乙醇使醇体积分数达 70%, 静置过夜, 滤过, 滤液回收乙醇并浓缩至浸膏, 干燥, 研磨, 即得丹参水提物 (主要成分为丹酚酸类)。三七粗粉加 70%乙醇加热回流 1 h, 滤过, 滤液减压浓缩, 滤过, 过 D101 大孔吸附树脂柱, 加水洗涤, 水洗液弃去, 以 80%乙醇洗脱, 洗脱液减压浓缩至浸膏, 干燥, 即得三七提取物。

**2.1.2 复方丹参冻干乳剂制备** 以 MCT 为油相, 按经典亚微乳处方, 即以蛋黄卵磷脂为乳化剂, 泊洛沙姆 188 为辅助乳化剂制备复方丹参乳剂<sup>[18-19]</sup>。筛选出的液态乳处方为 10%~30% MCT、1.2%蛋黄卵磷脂、0.3%泊洛沙姆 188。制备工艺如下: 称取丹参水提物、三七提取物适量, 加入纯水中, 搅拌溶解后滤过。滤液中加入处方量蛋黄卵磷脂、泊洛沙姆 188 分散、溶解作为水相, 于 70 °C 保温备用; 另取丹参醇提物、冰片适量, 置 MCT 中, 加热搅拌使溶解, 趁热滤过后即得油相, 于 70 °C 保温备用; 将水相置高速剪切机中, 以 10 000 r/min 高速搅拌, 同时缓慢加入油相, 加毕后继续剪切 5 min

制得初乳。将初乳迅速转移至高压均质机,于 100 MPa 压力下均质 3 次,即得液态乳剂。

称取麦芽糖、 $\beta$ -环糊精适量置液态乳中,溶解后于 $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 快速预冻 6 h,抽真空 20 kPa (0.02 MPa),再于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升华干燥 18 h,升温至 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,继续干燥 6 h,即得复方丹参冻干乳剂,整个过程避光操作。所得制剂成品密封、避光贮存。

## 2.2 复方丹参冻干乳处方优化

前期采用单因素实验法对液态乳剂处方中的药物质量浓度、油相比比例、蛋黄卵磷脂和泊洛沙姆 188 的用量、支架剂的种类和用量等因素进行了考察。结果表明,油相比比例、支架剂的种类和用量是影响干乳剂质量的主要因素<sup>[20-21]</sup>。本实验对蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、海藻糖、甘露醇、 $\beta$ -环糊精进行了筛选,确定麦芽糖合用  $\beta$ -环糊精为最佳支架剂。在此基础上,采用均匀设计试验法筛选最佳的液态乳油相比比例( $X_1$ )、麦芽糖浓度( $X_2$ )和  $\beta$ -环糊精浓度( $X_3$ )。将各因素分为 9 个水平,因素与水平安排见表 1。以 DPS 数据处理系统(7.05 版)设计  $U_9(9^3)$  表,依次进行试验,以冻干乳的外观( $Y_1$ )与复溶效果( $Y_2$ )为评价指标。根据冻干乳的干燥程度、鼓泡、空隙、硬度和析油情况按 10 分制进行外观评分( $Y_1$ ): 0~3 分为塌陷、析油或发泡;4~7 分为疏松、有空隙;8~10 分为平整、结实、光滑。取冻干乳适量,加入相当于原液态乳剂等量的水,振摇使冻干乳复溶,根据冻干乳剂的复溶速率和溶解程度按 10 分制进行复溶效果评分( $Y_2$ ): 0~3 分为几乎不溶或部分溶解;4~7 分为溶解缓慢;8~10 分为溶解迅速、复溶后流动性好。综合评分( $Y$ )按公式  $Y=(Y_1+Y_2)/2 \times 10$  进行计算,实验结果见表 2。

表 1 均匀设计试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of uniform design test

| 水平 | $X_1/\%$ | $X_2/\%$ | $X_3/\%$ |
|----|----------|----------|----------|
| 1  | 10.0     | 5.0      | 0.00     |
| 2  | 12.5     | 7.5      | 0.05     |
| 3  | 15.0     | 10.0     | 0.10     |
| 4  | 17.5     | 12.5     | 0.15     |
| 5  | 20.0     | 15.0     | 0.20     |
| 6  | 22.5     | 17.5     | 0.25     |
| 7  | 25.0     | 20.0     | 0.30     |
| 8  | 27.5     | 22.5     | 0.35     |
| 9  | 30.0     | 25.0     | 0.40     |

表 2 均匀设计试验评分结果

Table 2 Experimental design and results of uniform design test

| 试验号 | $X_1/\%$ | $X_2/\%$ | $X_3/\%$ | $Y_1$ | $Y_2$ | $Y$ |
|-----|----------|----------|----------|-------|-------|-----|
| 1   | 1        | 6        | 3        | 9     | 8     | 85  |
| 2   | 2        | 2        | 8        | 8     | 5     | 65  |
| 3   | 3        | 9        | 6        | 6     | 7     | 65  |
| 4   | 4        | 3        | 1        | 6     | 5     | 55  |
| 5   | 5        | 5        | 5        | 5     | 7     | 60  |
| 6   | 6        | 7        | 9        | 5     | 5     | 50  |
| 7   | 7        | 1        | 4        | 2     | 1     | 15  |
| 8   | 8        | 8        | 2        | 2     | 4     | 30  |
| 9   | 9        | 4        | 7        | 1     | 2     | 15  |

对上述数据进行二次多项式回归分析,回归方程为  $Y=45.211-0.570 X_1+5.781 X_2+11.712 X_3-0.066 X_1^2-0.161 X_2^2-23.809 X_3^2$ ,  $r=0.998 2$ ,  $P=0.010 7$ ,  $F=92.444 2$ 。方程经极值分析,最终确定最优处方为液态乳的油相比比例为 10%,以 18%麦芽糖混合 0.25%  $\beta$ -环糊精为支架剂。按优选处方制备复方丹参冻干乳剂(批号 161021、161024、161026)并检查成品的外观与复溶效果。结果显示,自制 3 批冻干乳剂外观平整、结实,复溶迅速且完全,实测 3 批样品  $Y$  的均值为 90,见表 3,与预测值 85.88 仅相差 4.8%。此外,液态乳与冻干乳的平均粒径分别为  $(216.2 \pm 10.4)$ 、 $(389.0 \pm 38.5)$  nm; Zeta 电位分别为  $(-30.7 \pm 4.1)$ 、 $(-28.2 \pm 5.3)$  mV。由于该冻干乳剂为临用前加水冲服,冻干后乳滴粒径虽有所增大,但对其稳定性并无显著影响。上述结果表明,采用均匀设计试验法优化该制剂处方,预测值与实测结果接近,方法较准确、可靠。

表 3 验证试验结果

Table 3 Results of validation design test

| 样品批号   | $Y_1$ | $Y_2$ | $Y$ |
|--------|-------|-------|-----|
| 161021 | 9     | 9     | 90  |
| 161024 | 9     | 9     | 90  |
| 161026 | 9     | 9     | 90  |

## 2.3 指标成分的测定

### 2.3.1 丹参酮 II<sub>A</sub> 定量测定<sup>[22]</sup>

(1)色谱条件:采用 HPLC,色谱柱 Cosmosil C<sub>18</sub> 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相甲醇-水(73:27);检测波长 270 nm;进样量 20  $\mu$ L;柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ;

理论板数按丹参酮 II<sub>A</sub> 峰计算不低于 8 000。

(2) 对照品溶液制备: 精密称取丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品 10 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 甲醇溶解制成 0.4 mg/mL 对照品储备液。精密量取储备液 1 mL 加甲醇逐级稀释至 2 μg/mL 即得。

(3) 供试品溶液制备: 取冻干乳 50 mg, 精密称定, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加乙醇溶解、破乳并稀释至刻度, 摇匀, 过 0.22 μm 滤膜即得。

(4) 专属性试验: 取丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品、丹参阴性对照 (制剂中不含丹参药材)、供试品溶液依法测定, 结果表明方法专属性良好。

(5) 线性关系与范围考察: 以丹参酮 II<sub>A</sub> 色谱峰面积为纵坐标 (Y), 进样质量浓度为横坐标 (X), 得线性回归方程  $Y=197.75 X-2.30$ ,  $r=0.999 4$ , 线性关系良好, 线性范围为 0.1~8 μg/mL。

(6) 稳定性试验: 取供试品溶液分别于 0、4、8、12、16、24 h 测定丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积, RSD 为 0.43%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.3.2 龙脑定量测定<sup>[23]</sup>

(1) 采用 GC, 色谱柱 HP-INNOWax 毛细管柱 (30 m×0.32 mm, 0.5 μm); 检测器为 FID; 进样口温度 180 ℃, 检测器温度 200 ℃, 柱温 135 ℃; 载气体积流量 1.5 mL/min; 进样量 1 μL; 理论板数按龙脑峰计算不低于 20 000。

(2) 对照品溶液的制备: 精密称取水杨酸甲酯适量于量瓶中, 加醋酸乙酯, 制成 1 mg/mL 的内标溶液。另精密称取龙脑对照品 25 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯, 制成 1 mg/mL 的对照品储备液。精密量取储备液 1 mL 至 25 mL 量瓶中, 加内标溶液 1 mL, 加醋酸乙酯至刻度, 摇匀即得。

(3) 供试品溶液制备: 取冻干乳 0.3 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯 20 mL 超声处理 (功率 200 W, 频率 59 kHz) 30 min, 加内标溶液 1 mL, 醋酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 过 0.22 μm 滤膜即得。

(4) 专属性试验: 取对照品溶液、冰片阴性对照 (制剂中不含冰片)、供试品溶液依法测定, 结果表明专属性良好。

(5) 线性关系与范围考察: 以龙脑峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 龙脑质量浓度为横坐标 (X), 得回归方程  $Y=4.751 6 X+0.002 1$ ,  $r=0.999 0$ , 线性关系良好, 线性范围 0.002~0.1 mg/mL。

(6) 稳定性试验: 取供试品溶液分别于 0、4、

8、12、16、24 h 测定龙脑与内标峰面积, 计算其峰面积比值的 RSD 为 1.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.4 冻干乳剂溶出特性研究

2.4.1 参比制剂选择 本实验选用经典的复方丹参片剂作为参比制剂, 对复方丹参冻干乳剂中脂溶性代表成分丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑的体外溶出度进行比较研究。为避免冻干乳剂和片剂中药物质量浓度差异对溶出度测定的影响, 通过调节丹参醇提物、冰片的投料量, 使每克冻干乳剂中丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑的量与每片市售片剂相当 (市售复方丹参片, 批号 H5A019, 每片含丹参酮 II<sub>A</sub> 1.41 mg、龙脑 3.30 mg; 自制冻干乳剂, 批号 161029, 每克含丹参酮 II<sub>A</sub> 1.48 mg、龙脑 3.52 mg)。

2.4.2 溶出度比较研究 取自制冻干乳剂与市售复方丹参片, 按《中国药典》2015 年版四部通则 0931 第三法进行, 每杯放入冻干乳 1 g 或复方丹参片 1 片, 搅拌转速 50 r/min, 温度 (37.0±0.5) ℃。以 250 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液 (pH 1.2, 人工胃液) 和含 0.5% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 的磷酸盐缓冲液 (pH 6.8, 人工肠液) 作为溶出介质, 分别考察供试制剂在 2 种介质中的溶出行为。分别于第 5、10、30、60、90、120 分钟定位吸取溶液 5 mL 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取滤液适量按“2.3.1”项下测定方法进行样分析, 计算丹参酮 II<sub>A</sub> 在 2 种介质中的累积溶出率, 绘制溶出曲线, 结果见图 1、2。另取剩余滤液 3 mL 加入含 1 mg/mL 水杨酸甲酯的内标溶液 1 mL, 振摇约 30 s, 置离心机上以 4 000 r/min 转数离心 5 min, 取上层醋酸乙酯适量按“2.3.2”项下测定方法进行样分析, 计算龙脑在 2 种介质中的累积溶出率, 绘制溶出曲线, 结果见图 1、2。每次定位取样后及时向溶出杯中补加同温介质 5 mL。

2.4.3 结果分析 由图 1 可见, 在人工胃液中, 复方丹参冻干乳剂中的丹参酮 II<sub>A</sub> 和龙脑在 5 min 时累积溶出率分别为 (70.9±3.3)%、(80.7±4.1)%; 在 30 min 时分别为 (94.8±2.8)%、(97.4±2.9)%。此时复方丹参片中的龙脑溶出仅为 (23.3±3.4)%, 丹参酮 II<sub>A</sub> 整个实验过程几乎未溶出。由图 2 可知, 在添加了表面活性剂 SDS 的人工肠液中, 冻干乳剂中丹参酮 II<sub>A</sub> 和龙脑的溶出更为迅速, 10 min 时已基本溶出完全, 累积溶出率分别为 (93.8±4.1)%、(97.9±2.7)%; 相较于人工胃液, 片剂中丹参酮 II<sub>A</sub> 的溶出明显增加, 120 min 时累积溶出率为 (42.5±

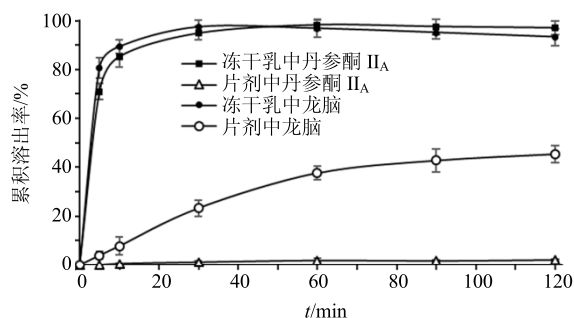


图 1 复方丹参冻干乳剂与市售片剂在 0.1 mol/L 盐酸溶液中的溶出曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 1 Dissolution profile of Compound Danshen freeze-dried emulsion and Compound Danshen Tablet in 0.1 mol/L HCl solution ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

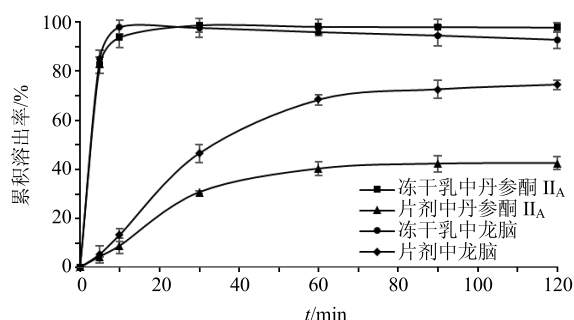


图 2 复方丹参冻干乳剂与市售片剂在 0.5% SDS 磷酸盐缓冲液中的溶出曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Dissolution profile of Compound Danshen freeze-dried emulsion and Compound Danshen Tablet in 0.5% SDS phosphate buffered saline solution ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

2.7) %，但仍显著低于冻干乳剂中丹参酮 II<sub>A</sub> 的累积溶出率 (97.8±1.9) % ( $P < 0.01$ )；片剂中龙脑的累积溶出率亦有所提高，120 min 时其累积溶出率为 (74.4±1.8) %，但仍明显低于其在冻干乳剂中的累积溶出率 (92.7±3.5) % ( $P < 0.01$ )。

上述结果表明，冻干乳剂在 2 种溶出介质中，其脂溶性成分均表现出溶出迅速且完全的特点，与复方丹参片相比，前者可显著提高方剂中脂溶性成分的溶出速率与程度。

## 2.5 冻干乳剂稳定性考察

取 3 批自制冻干乳剂，分别于室温留样放置 0、6、12 个月后，检查其复溶后外观、粒径及 Zeta 电位，结果见表 4。可见，冻干乳剂放置 1 年后，各项指标均无显著变化，表明其物理稳定性良好。

## 3 讨论

前期研究发现，复方丹参液态乳在室温条件下放置 1 个月即出现分层现象，处方中加入油酸钠、

表 4 冻干乳剂稳定性考察结果

| 批号     | 放置时间/月 | 复溶后外观  | 平均粒径/nm | Zeta 电位/mV |
|--------|--------|--------|---------|------------|
| 160510 | 0      | 黄色均匀乳液 | 365     | -28.5      |
|        | 6      | 黄色均匀乳液 | 370     | -30.2      |
|        | 12     | 黄色均匀乳液 | 372     | -29.3      |
| 160513 | 0      | 黄色均匀乳液 | 363     | -27.8      |
|        | 6      | 黄色均匀乳液 | 368     | -29.0      |
|        | 12     | 黄色均匀乳液 | 370     | -28.5      |
| 160516 | 0      | 黄色均匀乳液 | 358     | -28.0      |
|        | 6      | 黄色均匀乳液 | 365     | -30.1      |
|        | 12     | 黄色均匀乳液 | 368     | -28.7      |

甘油等稳定剂后仍无明显改善。分析其原因可能是由于中药复方所含成分较多，各成分之间的分子内聚力会对液态乳的物理稳定性产生不利影响。据此，在前期液态乳剂研究基础上，研制了冻干乳剂以改善其物理稳定性，室温长期留样有效期可达 1 年以上，同时可显著增加原方剂中脂溶性成分的溶出。 $\beta$ -环糊精具有筒状结构，可借助范德华力将一些大小、形状合适的药物分子、挥发油等包含于环状结构中<sup>[17]</sup>。在制备冻干乳剂时， $\beta$ -环糊精可包含乳剂中细小的油滴或游离的药物，进而改善干乳剂的外观性状及复溶效果，并增加其稳定性。自制冻干乳剂理化特性研究结果表明：本品以丹参酮 II<sub>A</sub>、龙脑计，其载药量分别为 0.15% 和 0.35%；包封率均大于 98.0%。

市售复方丹参制剂有片剂、丸剂、胶囊剂、颗粒剂及滴丸剂，除滴丸剂外，各制剂在制法上均对丹参药材的脂溶性和水溶性成分进行了提取，且将丹参酮 II<sub>A</sub> 含量纳入了质控标准。复方丹参滴丸因在制法中未对丹参药材脂溶性成分进行提取，故在物质基础上与前述制剂存在差异，不宜在本研究中作为溶出度比较研究的参比制剂。丹参酮 II<sub>A</sub> 在 0.1 mol/L 盐酸中溶解度实测值约为 2 ng/mL，这也就解释了片剂中丹参酮 II<sub>A</sub> 在人工胃液中几乎不溶出的现象。冰片在 0.1 mol/L 盐酸中的溶解度约 0.3 mg/mL，属于难溶性物质，因此片剂中的龙脑溶出同样较差。另外，冰片具有特殊气味，可加入香蕉香精等矫味剂予以掩蔽<sup>[24]</sup>。中药是多成分的集合，中医上用药注重“配伍增效”及“整体性”原则，这有利于发挥多种化学成分的药效协同作用<sup>[25-26]</sup>。

本研究在中医药理论指导下,将复方丹参片改制成冻干乳剂,较好地解决了原剂型中脂溶性成分溶出差的难题,为复方丹参方剂的剂型改造研究提供了新思路。

# 参考文献

- [1] 张伯礼. 复方丹参方的现代研究 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [2] 陈繁华, 曾玉梅, 郭伟魁, 等. UFLC 法测定复方丹参片中三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 及 Rb<sub>1</sub> [J]. 药物评价研究, 2014, 37(3): 260-262.
- [3] 刘春娟. 复方丹参片质量评价体系研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [4] 郭玉东, 李 丽, 左泽平, 等. 复方丹参片对大鼠急性心肌缺血的保护作用 [J]. 解放军药学报, 2016, 32(6): 497-501.
- [5] 闫 俊, 冯 娟, 杨 雪, 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 的药理作用及疾病治疗的最新进展 [J]. 实用药物与临床, 2015, 18(8): 972-977.
- [6] 张秀荣, 陈芳宁, 王秀丽, 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 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.
- [7] 魏楚蓉, 伍赶球. 冰片的药理作用及其机制研究进展 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2010, 30(5): 447-451.
- [8] 赵海南, 李 琳, 张 锐, 等. 冰片和熊去氧胆酸对黄芩苷角膜透过性的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 153-157.
- [9] 孙静静, 陈俊红, 方光远, 等. 冰片作为涂膜剂促透剂对小鼠经皮给药后皮肤上皮细胞超微结构观察 [J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(5): 77-79.
- [10] 周立运, 朱晓新. 丹参及其化学成分药代动力学研究的进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(3): 66-69.
- [11] 缪菊连, 黄照昌, 李红艳, 等. 正交实验优选羟丙基-β-环糊精对右旋龙脑的增溶条件 [J]. 医药导报, 2015, 34(2): 266-268.
- [12] 王银艳, 李 曦, 赖秀俊, 等. 丹参双相载药乳剂的研制及其质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3748-3752.
- [13] 华海婴, 杨 婷, 赵永星. 乙酰氧基胡椒酚乙酸酯亚微乳的制备及其性质考察 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2424-2429.
- [14] 张 勇. 新型亚微乳与普通亚微乳促进氯硝柳胺口服吸收的对比研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2016.
- [15] Zhang X, Wu B. Submicron lipid emulsions: a versatile platform for drug delivery [J]. *Curr Drug Metab*, 2015, 16(3): 211-220.
- [16] Mehanna M M, Alwattar J K, Elmaradny H A. Optimization, physicochemical characterization and *in vivo* assessment of spray dried emulsion: A step toward bioavailability augmentation and gastric toxicity minimization [J]. *Int J Pharm*, 2015, 496(2): 766-779.
- [17] 刘 美, 程 勤, 闫碧涵, 等. 星点设计-效应面法优化丹参酮 II<sub>A</sub> 冻干乳的处方 [J]. 华西药学杂志, 2015, 30(5): 558-560.
- [18] 郭增军, 李 慧, 龙丽辉, 等. 丹参双相载药亚微乳注射液的研制 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(2): 85-88.
- [19] 李 东, 童家勇, 田永丰, 等. 国内外营养型脂肪乳剂研究进展 [J]. 药学进展, 2016, 40(7): 498-504.
- [20] Christensen K L, Pedersen G P, Kristensen H G. Preparation of redispersible dry emulsions by spray drying [J]. *Int J Pharm*, 2001, 212(2): 187-194.
- [21] do Vale Morais A R, do Nascimento Alencar É, Júnior F H X, *et al.* Freeze-drying of emulsified systems: A review [J]. *Int J Pharm*, 2016, 503(1): 102-114.
- [22] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [23] 黄 捷, 吴桂凡. 气相色谱法测定复方丹参片中冰片的含量及含量均匀度 [J]. 中成药, 2011, 33(5): 907-909.
- [24] 华玉强. 复方丹参喷雾剂及其制备方法: 中国, CN200510104934.0 [P]. 2006-08-09.
- [25] 胡小勤. 中药相须配伍增效机制探讨 [J]. 中华中医杂志, 2012, 27(7): 1896-1898.
- [26] 王 阶, 郭丽丽, 王永炎. 中药方剂有效成 (组) 分配伍研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 5-9.