

## 蛇床子素发泡微乳剂制备研究

江敏瑜<sup>1</sup>, 闫丹<sup>1</sup>, 陈娇<sup>1</sup>, 王云红<sup>2</sup>, 张琳<sup>1</sup>, 杨荣平<sup>3\*</sup>, 张传辉<sup>2\*</sup>

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065

3. 西南大学药学院, 重庆 400715

**摘要:** 目的 制备蛇床子素发泡微乳剂, 并对其理化性质进行表征。方法 在溶解度试验和伪三元相图的基础上, 以微乳载药量、泡沫半衰期、泡沫形成力的总评归一值(OD)为评价指标, 采用D-最优混料优化设计蛇床子素发泡微乳剂处方。结果 蛇床子素发泡微乳剂的最优处方为油酸乙酯-聚氧乙烯蓖麻油 40-二乙二醇单乙基醚-水(8.13:14.81:6.58:71.44), 平均粒径为 $(43.54 \pm 3.43)$  nm ( $n=3$ ), 平均多分散系数为 $(0.839 \pm 0.092)$  % ( $n=3$ ), 平均 Zeta 电位为 $(-2.32 \pm 0.78)$  mV ( $n=3$ ), 发泡量为 $(8.57 \pm 0.28)$  cm, 半衰期为 $(6.79 \pm 0.32)$  min。37℃时, 发泡微乳的最大载药量为 13.62 mg/g, 在水中的溶解度为 0.42 mg/mL。结论 该发泡微乳制剂稳定, 可大幅提高蛇床子素的溶解度并显著增强其生物利用度。

**关键词:** 蛇床子素; 发泡微乳; D-最优混料优化设计; 伪三元相图; 多分散系数; 发泡量; 半衰期; 溶解度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)07-1562-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.012

## Preparation of osthole foaming microemulsion

JIANG Min-yu<sup>1</sup>, YAN Dan<sup>1</sup>, CHEN Jiao<sup>1</sup>, WANG Yun-hong<sup>2</sup>, ZHANG Lin<sup>1</sup>, YANG Rong-ping<sup>3</sup>, ZHANG Chuan-hui<sup>2</sup>

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

3. College of Pharmacy, Southwest University, Chongqing 400715, China

**Abstract: Objective** To prepare osthole foaming microemulsion and study its foaming force. **Methods** In this paper, the overall desirability of drug loading rate, half foam life period, and foaming force was taken as index. Based on the result of solubility test and pseudo-ternary phase diagram, the formula for the osthole foaming microemulsion was optimized by D-optimal mixture optimization design test. **Results** The optimal ratio of the prescription was as follows: ethyl oleate-Cremophor EL-40-transcutol P-water (8.13:14.81:6.58:71.44); Average particle size was  $(43.54 \pm 3.43)$  nm ( $n=3$ ), average polydispersity factor was  $(0.839 \pm 0.092)$  % ( $n=3$ ), average potential was  $(-2.32 \pm 0.78)$  mV ( $n=3$ ), frothing volume was  $(8.57 \pm 0.28)$  cm, half foam life period was  $(6.79 \pm 0.32)$  min. At 37℃, the maximum drug loading of foaming microemulsion was 13.62 mg/g, and the solubility in water was 0.42 mg/mL. **Conclusion** Osthole foaming microemulsion was stable, which could greatly increase the solubility of osthole and remarkably enhance the bioavailability of osthole.

**Key words:** osthole; foaming microemulsion; D-optimal mixture design; pseudo-ternary phase diagram; polydispersity coefficient; frothing volume; half life period; solubility

阴道炎是妇科常见病和多发病, 是病原微生物 细菌性和念珠菌性阴道炎<sup>[3]</sup>临床最为常见。蛇床子感染引起的多种阴道黏膜疾病的总称<sup>[1-2]</sup>。滴虫性、素是一种香豆素类化合物, 具有抗炎、止痒、抗菌、

收稿日期: 2017-10-12

基金项目: 重庆市科委应用开发重大项目 (cstc2014yykfC10006)

作者简介: 江敏瑜 (1993—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药制剂新剂型、新技术。Tel: 17623088127 E-mail: katty1993@163.com

\*通信作者 杨荣平, 女, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药制剂新剂型、新技术及中药制剂分析研究。

Tel: (023)89029056 E-mail: yangrp@cqacmm.com

张传辉, 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事中药制剂新剂型、新技术及中药制剂分析研究。

Tel: (023)89029056 E-mail: sdutcm20084@cqacmm.com

抗病毒、提高免疫力以及抗过敏的作用,临床外用为主,在治疗滴虫性阴道炎和外阴湿疹方面有独特的疗效<sup>[4-6]</sup>。但由于蛇床子素水溶性差,存在生物体内溶解度低、生物利用度差等问题,限制了其临床应用<sup>[7]</sup>。

发泡微乳剂是一种利用特定装置将微乳在无需推进剂的情况下即可喷出泡沫的新型给药方式。相较于市面上的洗剂和乳膏,发泡微乳剂实用性和顺应性更好,能够有效促使药物到达病灶,给药方便且持续释药时间长,泡沫的生成更能减少对炎症部位的刺激<sup>[8-11]</sup>。相比气雾剂,发泡微乳剂不添加抛射剂,可减小刺激性,降低成本,为阴道炎的治疗带来更优质的产品<sup>[12]</sup>。本实验在前期工作研究的基础上,通过测定蛇床子素在辅料中的溶解度,筛选增溶效果较好的油相、表面活性剂、助表面活性剂,绘制三元相图<sup>[13]</sup>,并结合D-最优混料设计<sup>[14-15]</sup>优化获得最佳发泡微乳处方,并结合理化性质对发泡微乳剂作出初步评价,为制剂开发提供方向。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪,安捷伦 1200 Series, VWD 检测器 190~600 nm,在线脱气,二元泵,安捷伦公司;BS-224S 电子天平,十万分之一,赛多利斯公司;Anke TGL-16C 高速离心机,上海安亭仪器厂;SK-1 快速混匀器,金坛市城东新瑞仪器厂;HZ-881S 台式水浴恒温振荡器,江苏太仓市实验设备厂;DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,郑州市长城科工贸有限公司;2151 型罗氏泡沫仪,郑州科教玻璃仪器厂;HH-501 超级恒温水浴锅,上海特成机械设备有限公司;Zen-3600 型激光散射粒度仪,英国 Malvern 公司。

### 1.2 试药

对照品蛇床子素,阿达玛斯试剂有限公司,批号 P109225,质量分数 98.00%;蛇床子素原料药,西安通泽生物科技有限公司,批号 20170305,质量分数>90%;中链甘油三酸酯(MCT),铁岭北亚药用油有限公司;蓖麻油,成都科龙化工试剂厂;聚山梨酯-80(Tween-80, T80)、聚山梨酯-20(Tween-20, T20)、聚山梨酯-85(Tween-85, T85)、聚乙二醇-200(PEG-200)、聚乙二醇-400(PEG-400)、无水乙醇、丙二醇,成都科龙化工试剂厂;橄榄油,上海宝曼生物科技有限公司;油酸、油酸乙酯、油酸正丁酯、乳化剂-OP(OP)、棕榈酸异丙酯(IPP)、

肉豆蔻酸异丙酯(IPM),国药集团化学试剂有限公司;辛癸酸甘油醇酯(ODO)、聚甘油蓖麻醇酯(PGPR),郑州大河食品科技有限公司;聚氧乙烯蓖麻油 40(Cremophor EL-40, EL-40),上海运宏化工制剂辅料技术有限公司;油酸甘油酯(Peceol)、油酸聚乙二醇甘油酯(Labrafil M1944CS)、二乙二醇单乙基醚(Transcutol P)、辛/癸酸聚乙二醇甘油(Labrasol)、聚甘油油酸酯(Oleique CC497),法国嘉法狮公司;试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 蛇床子素定量测定方法

**2.1.1 对照品溶液的制备** 蛇床子素对照品适量,精密称定,加无水乙醇制成 138.00 μg/mL 的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取蛇床子素发泡微乳 2 g, 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量置于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释定容至刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.1.3 阴性供试品溶液的制备** 按照最佳配比处方制备缺蛇床子素发泡微乳(阴性样品),取 0.2 g,在 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量置于 100 mL 量瓶中,加入无水乙醇稀释置刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.1.4 色谱条件** Sepax BR-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3 μm);流动相为乙腈-水(65:35);检测波长 322 nm;体积流量 1 mL/min;柱温 30 ℃;进样量 10 μL。

**2.1.5 专属性考察** 分别取蛇床子素对照品溶液、供试品溶液、阴性供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,结果见图 1。由图 1 可见,辅料对蛇床子素的测定无干扰。

**2.1.6 线性关系考察** 精密吸取“2.1.1”项对照品溶液适量,用无水乙醇依次逐级稀释成蛇床子素质量浓度为 138.00、69.00、35.00、17.25、8.63、4.31、2.16 μg/mL 的对照品溶液,分别精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪,以进样量(X)对峰面积(Y)进行线性回归,得回归方程为  $Y = 37.703 X + 18.721$ ,  $r = 0.999 9$ 。表明蛇床子素在 21.6~1 380.0 ng 与其峰面积呈良好的线性关系。

**2.1.7 精密度试验** 取“2.1.1”项对照品溶液,连续进样 6 次,按“2.1.4”项下色谱条件测定,结果蛇床子素峰面积的 RSD 为 0.12%,表明仪器精密度良好。

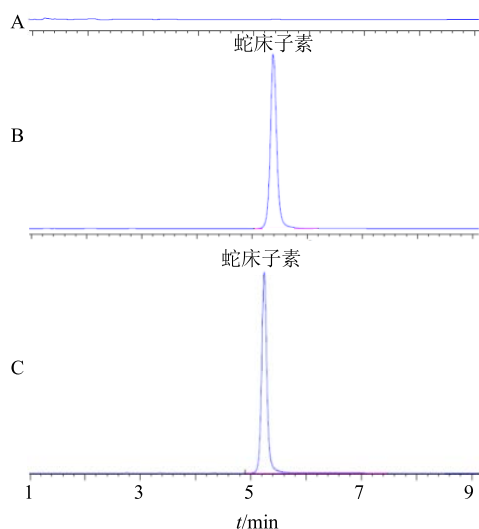


图 1 阴性样品 (A)、蛇床子素对照品 (B) 和供试品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of negative sample (A), osthole reference substance (B), and test sample (C)

**2.1.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 记录峰面积并计算其 RSD, 结果蛇床子素峰面积 RSD 为 0.35%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.9 重复性试验** 取蛇床子素发泡微乳 0.2 g, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 加入无水乙醇稀释定容至刻度, 平行 6 份, 按“2.1.4”项下色谱条件测定峰面积并计算蛇床子素的量, 计算蛇床子素量的 RSD 为 1.73%, 表明重复性良好。

**2.1.10 加样回收率试验** 取蛇床子素发泡微乳 0.1 g, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶, 平行 6 份, 分别加入蛇床子素对照品溶液 (0.34 mg/mL) 10.0 mL, 按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.4”项下色谱条件进样, 测定蛇床子素量并计算回收率。结果平均回收率为 100.64%, RSD 为 0.92%, 表明该方法准确度良好。

## 2.2 发泡量及泡沫半衰期测定方法

采用 GB/T7162-94、ISO696-75 国家标准及 ISO 标准所规定的技术要求方法测定发泡量及泡沫半衰期。

**2.2.1 硬水的制备** 取 0.74 g 无水  $\text{MgSO}_4$ , 1 g 无水  $\text{CaCl}_2$  分别用 300 mL 去离子水溶解, 再混合 2 种溶液并用去离子水定容至 1 000 mL。

**2.2.2 待测液的制备** 称取 10 g 待测发泡微乳样品, 用 100 mL 硬水和 900 mL 去离子水溶解, 水浴加热至 41.5  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.2.3 发泡量及半衰期的测定** 启动恒温水浴器保持管夹套水浴温度 ( $40.0 \pm 0.5$ )  $^{\circ}\text{C}$ 。去离子水冲洗刻度内管后用待测液冲洗干净。关闭刻度管活塞, 用滴液管注入约 50 mL 试液, 静置 1 min, 调节活塞使液面恰在 50 mL 刻度处。将吸满 200 mL 待测液的滴液管安置到与刻度管的断面成垂直状, 使溶液流到刻度管的中心, 并使滴液管的出口在 900 mL 刻度线上。打开滴液管活塞至最大, 当液滴管中的溶液流完时, 立即开始计时, 并测定泡沫高度即为发泡量, 泡沫衰减至一半时记录时间即为泡沫半衰期。重复 3 次取平均值。

## 2.3 蛇床子素发泡微乳剂的制备

### 2.3.1 发泡微乳处方的筛选

(1) 模型药物在各辅料中溶解度测定: 分别取不同的油相 (油酸乙酯、MCT、油酸、IPM、油酸正丁酯、Peceol、IPP、Labrafil M1944CS、蓖麻油、橄榄油、Obleique CC497、大豆卵磷脂)、表面活性剂 (PGPR、OP、ODO、Labrasol、EL-40、T85、T80、RH-40)、助表面活性剂 (PEG-200、Transcutol HP、PEG-400、无水乙醇、丙二醇) 约 2 mL 于具塞刻度试管中, 加入过量的蛇床子素原料药, 涡旋分散, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温振荡箱震荡 48 h, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液用无水乙醇适量稀释, 按照“2.1”项下建立的方法测定蛇床子素在各种辅料中的溶解度, 结果其在油相中的溶解度分别为 49.3、46.5、46.2、43.5、42.2、40.7、37.8、35.1、32.9、28.5、25.1、15.8 mg/mL, 在表面活性剂中的溶解度分别为 63.1、54.3、53.8、41.6、41.3、39.5、37.8、24.1 mg/mL, 在助表面活性剂中的溶解度分别为 54.2、48.1、45.0、35.7、18.0 mg/mL。可见蛇床子素在油酸乙酯、PGPR、OP、ODO、Labrasol、EL-40、PEG-200、Transcutol HP 中的溶解较高, 因而拟选用这些辅料进行进一步筛选。

(2) 三元相图的绘制: 选择表面活性剂和助表面活性剂的质量比 ( $K_m$  值) 分别为 1:1、2:1、3:1、4:1, 按油相和混合表面活性剂质量比为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 精密称取各油相、表面活性剂和助表面活性剂, 混匀, 在室温、磁力搅拌下滴加水, 直至形成澄清透明的微乳。当外观不再澄清时, 记录临界加水量。按油、水、混合表面活性剂在临界点的质量百分比, 在伪三元相图中绘制曲线, 确定微乳区。辅料筛选实验发现, PEG-200 和 ODO、PGPR、Labrasol 为

对蛇床子素溶解性最佳的助表面活性剂和表面活性剂, 但与溶解最佳油相油酸乙酯几乎不成乳。故选取了对蛇床子素溶解性仅次于 PEG-200 的 Transcutol HP 为助表面活性剂, 以及 EL-40 为表面活性剂,

构建伪三元相图 (图 2)。从图中看出  $K_m=3:1$  时, 微乳区最大, 所以本实验选择主表面活性剂与助表面活性剂的比例为 3:1。

**2.3.2 D-最优混料设计优化处方** 在三元相图基础

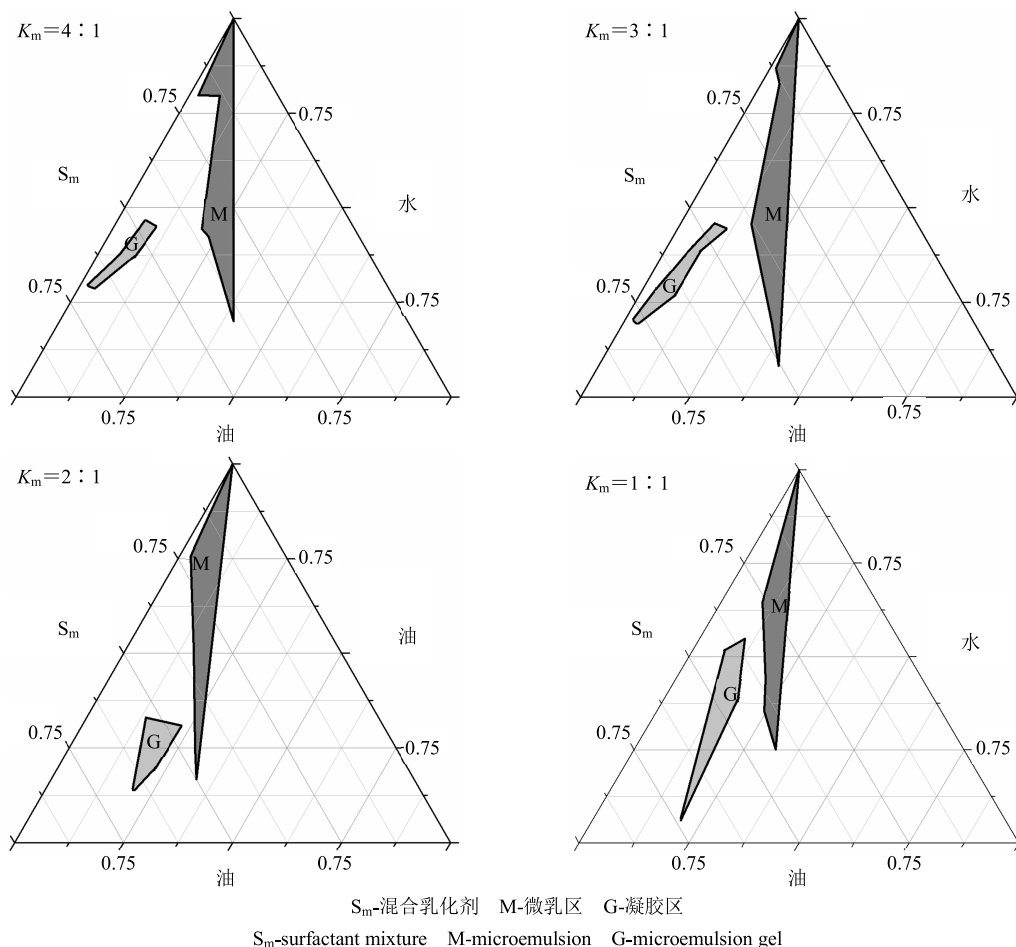


图 2 微乳伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsion

上, 以油相 (油酸乙酯) 质量 ( $X_1$ )、水的质量 ( $X_2$ ) 和混合表面活性剂 (EL-40-Transcutol P) 质量 ( $X_3$ ) 的比例为考察因素, 以蛇床子素的载药量 ( $Y_1$ )、发泡量 ( $Y_2$ )、泡沫半衰期 ( $Y_3$ )、粒径 ( $Y_4$ ) 为评价指标, 用 Design Expert 7.0 统计软件进行 D-最优混料设计优化处方, 见表 1, 并按照表 1 所示比例称取油相、混合表面活性剂、去离子水, 加入过量的蛇床子素原料药涡旋混匀, 置于 37 °C、150 r/min 恒温振荡箱振荡 24 h, 取出, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液适量, 加无水乙醇稀释, 测定载药量。按照表 1 所示比例称取油相、混合表面活性剂、去离子水在“2.2”项下方法指导下测定各个微乳的发泡量及泡沫半衰期。对 4 个响应值分别进行“归一化”处理得 4 个归一值 ( $OD$ ,  $Y_1$ 、 $Y_2$  和  $Y_3$  取  $OD_{max}$ ,

$Y_4$  取  $OD_{min}$ ), 在此基础上, 取每个 OD 值的权重系数均为 0.25 (本实验中 4 个指标处于同等地位, 故权重系数皆为 0.25)。试验设计与结果见表 1。

$$OD_{max} = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min})$$

$$OD_{min} = (Y_{max} - Y_i) / (Y_{max} - Y_{min})$$

$$OD = 0.25 \times (OD_{1max} + OD_{2max} + OD_{3max} + OD_{4min})$$

**2.3.3 数据分析及处方优化** 应用 Design Expert 8.0 实验设计软件以 4 种数学模型进行回归拟合与分析, 以回归模型的  $P$  值、失拟项、复相关系数、调整相关系数和预测复相关系数为综合指标, 判断并选取 4 种数学模型中最佳的回归模型, 结果见表 2。4 个响应值及其 OD 值的复相关系数皆较高, 表明回归模型拟合较好, 回归方程的代表性好, 能准确预测实际情况。拟合模型的回归方程:  $Y_1 = -24.59$

表 1 D-最优混料试验设计及结果

Table 1 Design and results of D-optimal mixture experiment

| 序号 | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | $Y_1/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Y_2/\text{cm}$ | $Y_3/\text{min}$ | $Y_4/\text{nm}$ | OD 值 | 序号 | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | $Y_1/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Y_2/\text{cm}$ | $Y_3/\text{min}$ | $Y_4/\text{nm}$ | OD 值 |
|----|-------|-------|-------|-------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------|----|-------|-------|-------|-------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------|
| 1  | 1.30  | 62.13 | 36.58 | 11.10                               | 7.35            | 5.88             | 39.77           | 0.61 | 9  | 24.45 | 63.76 | 11.79 | 26.64                               | 2.70            | 2.45             | 68.74           | 0.19 |
| 2  | 41.29 | 39.45 | 19.26 | 25.48                               | 6.55            | 5.27             | 59.66           | 0.52 | 10 | 1.30  | 86.91 | 11.79 | 8.63                                | 7.73            | 4.13             | 36.67           | 0.53 |
| 3  | 1.30  | 48.25 | 50.45 | 19.71                               | 9.27            | 6.20             | 43.99           | 0.72 | 11 | 41.29 | 8.26  | 50.45 | 63.70                               | 6.45            | 3.43             | 32.82           | 0.66 |
| 4  | 28.52 | 36.01 | 35.47 | 29.88                               | 2.80            | 3.01             | 56.85           | 0.29 | 12 | 41.29 | 22.30 | 36.41 | 32.32                               | 4.10            | 3.01             | 58.77           | 0.31 |
| 5  | 24.45 | 63.76 | 11.79 | 26.84                               | 2.65            | 2.37             | 90.90           | 0.17 | 13 | 17.69 | 49.94 | 32.37 | 20.52                               | 5.57            | 4.94             | 74.51           | 0.57 |
| 6  | 17.69 | 49.94 | 32.37 | 21.45                               | 6.47            | 4.78             | 74.38           | 0.43 | 14 | 1.30  | 86.91 | 11.79 | 8.15                                | 7.44            | 4.20             | 36.75           | 0.52 |
| 7  | 8.81  | 71.44 | 19.75 | 13.55                               | 8.57            | 6.79             | 43.54           | 0.70 | 15 | 21.90 | 27.64 | 50.45 | 38.53                               | 7.45            | 3.49             | 83.80           | 0.41 |
| 8  | 17.69 | 49.94 | 32.37 | 23.05                               | 7.22            | 4.54             | 74.66           | 0.43 | 16 | 41.29 | 39.45 | 19.26 | 23.34                               | 6.75            | 5.30             | 59.75           | 0.52 |

表 2 回归分析结果

Table 2 Regression analysis

| 指标    | 模型     | $P$         | 失拟项     | 复相关系数   | 调整复相关系数 | 预测复相关系数   |
|-------|--------|-------------|---------|---------|---------|-----------|
| $Y_1$ | 特殊立方模型 | $<0.000\ 1$ | 0.061 3 | 0.995 7 | 0.990 9 | 0.752 3   |
| $Y_2$ | 特殊立方模型 | 0.000 6     | 0.261 9 | 0.970 6 | 0.926 6 | -8.788 2  |
| $Y_3$ | 立方模型   | $<0.000\ 1$ | 0.464 2 | 0.996 3 | 0.990 8 | 0.433 6   |
| $Y_4$ | 立方模型   | 0.002 8     | 0.968 2 | 0.950 5 | 0.876 3 | 0.782 0   |
| OD 值  | 立方模型   | 0.004 0     | 0.107 3 | 0.944 3 | 0.860 9 | -32.204 5 |

$X_1+8.11\ X_2+84.22\ X_3+135.68\ X_1X_2+137.99\ X_1X_3-101.54\ X_2X_3-332.41\ X_1^2X_2X_3-44.57\ X_1X_2^2X_3-600.11\ X_1X_2X_3^2$ ;  $Y_2=147.47\ X_1+7.50\ X_2+92.63\ X_3-287.74\ X_1X_2-454.99\ X_1X_3-162.55\ X_2X_3+569.58\ X_1X_2X_3-161.34\ X_1X_2(X_1-X_2)-125.15\ X_1X_3(X_1-X_3)+103.63\ X_2X_3(X_2-X_3)$ ;  $Y_3=24.25\ X_1+4.16\ X_2+110.86\ X_3-46.37\ X_1X_2-255.87\ X_1X_3-204.33\ X_2X_3+335.99\ X_1X_2X_3-23.19\ X_1X_2(X_1-X_2)+126.42\ X_1X_3(X_1-X_3)+153.22\ X_2X_3(X_2-X_3)$ ;  $Y_4=1\ 642.53\ X_1+36.74\ X_2-1\ 561.40\ X_3-2\ 906.58\ X_1X_2-53.16\ X_1X_3-3\ 211.91\ X_2X_3-6.32\ X_1X_2X_3-2\ 038.03\ X_1X_2(X_1-X_2)-5\ 074.96\ X_1X_3(X_1-X_3)-2\ 338.82\ X_2X_3(X_2-X_3)$ ;  $\text{OD}=1.36\ X_1+0.51\ X_2+15.20\ X_3-3.13\ X_1X_2-30.44\ X_1X_3-28.45\ X_2X_3+39.17\ X_1X_2X_3-0.88\ X_1X_2(X_1-X_2)+19.23\ X_1X_3(X_1-X_3)+20.52\ X_2X_3(X_2-X_3)$ 。根据最佳回归方程,应用 Design Expert 8.0 统计软件绘制  $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $Y_3$  和  $Y_4$  响应值的 OD 值二维等高线图(图 3)。当油酸乙酯所占比例为 1.30%~9.95%,混合乳化剂为 17.69%~27.92%,水为 65.73%~81.01%时,OD 值较大。

最优处方为油酸乙酯-CEL-40-Transcutol P-水-蛇床子素原料药(8.13:14.81:6.58:71.44:1.36)。以此比例称取油相、混合表面活性剂和蛇床

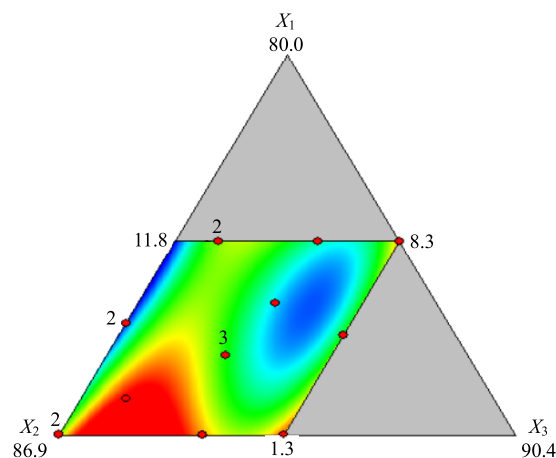


图 3 OD 值二维等高线图

Fig. 3 Two-dimensional contour map of OD value

子素原料药,涡旋混匀,置于 37 ℃、150 r/min 恒温振荡箱振荡 24 h,取出,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得蛇床子素发泡微乳剂。

**2.3.4 优化处方的验证** 按最优处方,制备发泡微乳,重复 3 次,其辅料配比及试验结果见表 3。结果验证处方的各指标实际值均接近预测值,表明 D-最优混料设计对微乳配比具有准确的预测性。

## 2.4 发泡微乳理化性质表征

取“2.3.4”项下制备的微乳对其进行 Zeta 电位、粒径、多分散系数、溶解度和载药量等理化性质进

表 3 优化验证处方的实测值与预测值比较

Table 3 Comparison on predicted and measured values of optimal verification prescription

| 指标                                  | 实测值   |       |       | 预测值   |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                     | 1     | 2     | 3     |       |
| $Y_1/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | 13.62 | 13.53 | 13.60 | 13.55 |
| $Y_2/\text{cm}$                     | 8.46  | 8.66  | 8.57  | 8.57  |
| $Y_3/\text{min}$                    | 6.73  | 6.68  | 6.71  | 6.79  |
| $Y_4/\text{nm}$                     | 43.45 | 43.56 | 43.54 | 43.54 |
| OD 值                                | 0.70  | 0.71  | 0.70  | 0.70  |

行表征。

**2.4.1 外观** 该蛇床子发泡微乳剂外观为澄清透明带有淡蓝色乳光的液体。

**2.4.2 粒径、多分散系数和 Zeta 电位** 该发泡微乳平均粒径为  $(43.54 \pm 3.43) \text{ nm}$  ( $n=3$ ), 平均多分散系数  $(0.839 \pm 0.092) \%$  ( $n=3$ ), 平均电位为  $(-2.32 \pm 0.78) \text{ mV}$  ( $n=3$ ), 分布图见图 4。取适量含药乳置于无推进喷雾装置, 最大程度按压一次至玻璃皿中, 考察泡沫形成力, 见图 5。

**2.4.3 溶解度** 研究中单独测定蛇床子素在水中的溶解度为  $2.14 \mu\text{g/mL}$ 。遂将空白微乳与水按照 1 g : 50 mL 混合, 再加入过量蛇床子素原料药, 离心取适量上清液用无水乙醇稀释, 以“2.1.4”项下色谱条件测定得出蛇床子素含量为  $0.43 \text{ mg/mL}$ , 因此本研究优化的微乳处方将蛇床子素的溶解度至少提高 201 倍。

**2.4.4 载药量** 精密称取含药乳 0.2 g, 置于 100 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻度, 按“2.1.3”项下色谱条件测定。计算得蛇床子素的载药量为  $13.62 \text{ mg/g}$ 。

## 2.5 发泡微乳稳定性试验

精密称取蛇床子素发泡微乳适量, 在 4、25、60 °C 条件下密封保存 10 d, 分别于 0、5、10 d 观察其外观有无改变, 并测定蛇床子素含量、粒径、发泡量、泡沫半衰期, 以考察样品稳定性, 结果见表 4。结果说明蛇床子素发泡微乳保存于 4、25、60 °C 条件下外观均匀, 蛇床子素含量、粒径、发泡量、半衰期均无显著变化。

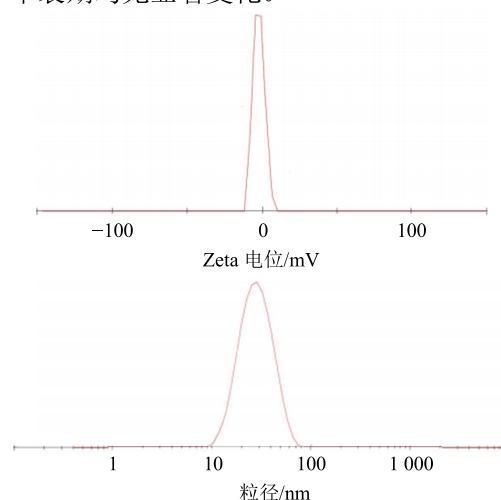


图 4 优选处方的电位 (A) 和粒径 (B) 分布图

Fig. 4 Potential (A) and particle (B) distribution of optimal prescription

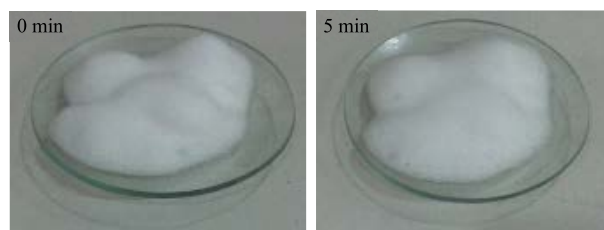


图 5 优选处方泡沫形成能力

Fig. 5 Foaming force of optimal prescription

表 4 蛇床子素发泡微乳温度稳定性考察结果 ( $n=3$ )Table 4 Results of temperature stability for osthole foaming microemulsion ( $n=3$ )

| 温度/°C | $t/\text{d}$ | 外观  | 剩余药物/%           | 粒径/nm            | 发泡量/cm          | 半衰期/min         |
|-------|--------------|-----|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| 4     | 0            | 无改变 | 100              | $43.08 \pm 2.04$ | $8.63 \pm 0.24$ | $6.46 \pm 0.41$ |
|       | 5            | 无改变 | $99.67 \pm 0.12$ | $42.84 \pm 3.13$ | $8.41 \pm 0.61$ | $6.28 \pm 0.24$ |
|       | 10           | 无改变 | $99.73 \pm 0.10$ | $43.14 \pm 2.69$ | $8.50 \pm 0.45$ | $6.06 \pm 0.38$ |
| 25    | 0            | 无改变 | 100              | $42.96 \pm 1.16$ | $8.82 \pm 0.18$ | $6.80 \pm 0.60$ |
|       | 5            | 无改变 | $99.73 \pm 0.14$ | $42.96 \pm 2.23$ | $8.62 \pm 0.37$ | $7.04 \pm 0.82$ |
|       | 10           | 无改变 | $99.69 \pm 0.16$ | $43.34 \pm 3.16$ | $8.36 \pm 0.52$ | $6.61 \pm 0.33$ |
| 60    | 0            | 无改变 | 100              | $43.78 \pm 3.35$ | $8.71 \pm 0.74$ | $6.97 \pm 0.48$ |
|       | 5            | 无改变 | $99.23 \pm 0.15$ | $43.44 \pm 1.32$ | $8.14 \pm 0.38$ | $6.45 \pm 0.46$ |
|       | 10           | 无改变 | $98.87 \pm 0.13$ | $43.59 \pm 2.33$ | $8.25 \pm 0.54$ | $6.29 \pm 0.62$ |

### 3 讨论

难溶性药物的增溶仍旧是目前药剂学研究的重点之一<sup>[15-16]</sup>,微乳作为理想稳定的药物载体,粒径小,性质稳定且渗透性强,能够提高药物的生物利用度,降低毒副作用<sup>[17]</sup>。但微乳中需使用表面活性剂及助表面活性剂,它们一般都对黏膜有刺激性,因此寻找低毒高效的表面活性剂及助表面活性剂,甚至通过工艺优化寻找低含量表面活性剂成为目前微乳研究的重点问题。

利用伪三元相图设计微乳区,在 2%~80%含水量中考察 5 个微乳处方的发泡能力,结果发现表面活性剂/助表面活性剂含量太高反而不易形成优质高质量的泡沫,低水量易导致泡沫间隙大,消泡快。当含有 15%~28%的表面活性剂和至少 70%的水时,微乳处方易形成高质量细腻的泡沫,可维持 5 min。在此基础上,本研究又考察了载药量对于泡沫形成能力的影响,选取 1%、3%、5%载药量的微乳考察发泡能力。结果表明当载药量高于 3%时,泡沫形成松散,大小不均,半衰期短。泡沫的稳定性主要与液膜所保持厚度和表面膜强度有关,表面膜具一定强度,低表面张力有助于泡沫的稳定性,但仅仅低表面张力并不能很好的维持泡沫,只有在形成具有一定强度的液膜,低的表面张力才有利于泡沫的稳定<sup>[18-20]</sup>,由此推测处方中适当的含水量可以提高液膜强度,增加泡沫的表面弹性,使表面张力能随表面积变化而变化,维持泡沫的稳定。

本研究优化出的处方载药量为 13.62 mg/g,发泡微乳系统显著提高了蛇床子素的溶解度,原蛇床子素在水中溶解度为 2.14  $\mu\text{g/mL}$ ,本研究优化的自乳化处方将蛇床子素的溶解度至少提高 201 倍,达到了对其增溶的目的,这为后期蛇床子素发泡微乳进一步制剂成型提供一定指导意义。

### 参考文献

- [1] 吴文湘,廖秦平. 阴道炎的诊治进展 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009(12): 949-952.
- [2] 石一复,李娟清. 阴道炎治疗进展及相关问题 [J]. 国际妇产科学杂志, 2007, 34(5): 295-297.
- [3] 郝敏,高瑜. 几种常见阴道炎的诊治进展 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2005, 21(3): 134-137.
- [4] 刘建新,张文平,周俐,等. 蛇床子素对大鼠的抗炎作用和机制 [J]. 中药材, 2005, 28(11): 1002-1006.
- [5] 刘建新,连其深. 蛇床子素的药理学研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(12): 1235-1237.
- [6] 夏敏玲,段丽芬,许剑涛,等. 蛇床子素对体外阴道毛滴虫的杀灭研究 [J]. 中国热带医学, 2008, 8(3): 388-389.
- [7] 恽菲,徐晓琰,狄留庆,等. 蛇床子素不同环糊精包合物的制备及其生物利用度比较研究 [J]. 中草药, 2014, 45(3): 341-348.
- [8] 李伟泽,赵宁,闫菁华,等. 阴道用苦参柔性脂质体泡沫气雾剂的制备研究 [J]. 中成药, 2012, 34(1): 41-45.
- [9] 田少鹏,赖晓明,梁海清. 3 种中药阴道泡腾片的泡沫量、发泡持续时间和黏附性比较 [J]. 中草药, 2005, 36(8): 1182-1183.
- [10] 崔蕴慧,廖小丹,利奕成,等. 纳米银抗菌微乳泡沫剂的制备及检验方法研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(4): 870-873.
- [11] 张福荣,武余波,罗华菲,等. 二丙酸倍他米松微乳泡沫剂的体外透皮考察 [J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(3): 393-399.
- [12] 王隶书,吕景山. 复方丹参气雾剂的研制 [J]. 中成药, 1995, 17(1): 5-7.
- [13] 岳山岚,梁华,李根,等. 鸢尾苷元自微乳口服释药系统的制备及体外溶出研究 [J]. 中草药, 2016, 47(20): 3618-3625.
- [14] 吴东盼,田雪峰,蔡学军,等. *D*-最优混料设计优化寒痹舒凝胶膏剂的基质组成及其体外评价 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1445-1453.
- [15] 柯秀梅,杨荣平,郭响香,等. 自乳化释药系统 (SEDDS) 对姜黄素类组分增溶作用的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 935-941.
- [16] 李伟泽,赵宁,师湘月,等. 胶束增溶技术在含挥发油中药巴布剂试生产中的应用研究 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2677-2682.
- [17] 刘丹,张露,张振海,等. 银杏黄酮组分自微乳-微丸释药系统的构建 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3377-3383.
- [18] 陈洋,张行荣,尚衍波,等. 起泡剂性能测试方法及影响泡沫稳定性的因素 [J]. 中国矿业, 2014, 23(S2): 230-234.
- [19] 李英,赵国庆,张鹏,等. 影响泡沫稳定性的因素及泡沫稳定机理 [A] // 中国化学会胶体与界面化学会议论文集 [C]. 西安: 中国化学会, 2004.
- [20] 周静,谭永生. 稳定泡沫流体的机理研究 [J]. 钻采工艺, 1999, 22(6): 75-78.