

## 甘草次酸拼合物 TOGA-X4 微粒的制备工艺及其体外释药特性研究

田娟, 赵蕊, 王鹏龙, 范文硕, 王之洋, 马宏瑞, 雷海民, 蔡程科\*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

**摘要:**目的 制备粒径均一、复水性良好的甘草次酸拼合物 TOGA-X4 微粒, 得到稳定可靠的制剂工艺, 评价其体外释药特性。方法 以平均粒径、多分散指数和复水性为指标, 通过单因素分析法对不锈钢膜乳化法制备抗肿瘤活性物质 TOGA-X4 微粒的工艺进行考察及优化, 同时通过扫描电子显微镜观察微粒外观形态; 采用直接释药法测定 TOGA-X4 微粒和原粉的累积释放率, 并采用不同释放模型拟合体外释药曲线, 对比评价其体外释药特性。结果 优选的最佳制剂工艺为油相含 TOGA-X4 质量浓度 5 mg/mL, 水相 PVA 质量浓度 30 mg/mL, 油水比 1:1, 过膜压力 0.4 MPa, 冻干保护剂为质量浓度 50 mg/mL 蔗糖水溶液, 固化温度为 70 °C。TOGA-X4 微粒中 TOGA-X4 的释放曲线符合 Logistic 动力学方程, TOGA-X4 原粉的释放曲线符合零级动力学方程。结论 不锈钢膜乳化法制备微粒工艺简单、稳定、可靠, 提高了难溶性药物的溶出速率, 在难溶性药物微粒的制备中具有优越性。

**关键词:** 不锈钢膜乳化法; 甘草次酸; 拼合物; 微粒; 体外释放; 复水性; TOGA-X4; 抗肿瘤; 累积释放率; 释药特性  
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)08-1802-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.010

## Preparation of microparticles of glycyrrhetic acid complex TOGA-X4 and *in vitro* release characteristics

TIAN Juan, ZHAO Rui, WANG Peng-long, FAN Wen-shuo, WANG Zhi-yang, MA Hong-rui, LEI Hai-min, CAI Cheng-ke

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

**Abstract: Objective** To prepare TOGA-X4 microparticles with uniform size and good rehydration property and to obtain the stable and reliable preparation process, and evaluate the *in vitro* release characteristics. **Methods** With the average particle size, polydispersity index and rehydration as indexes, optimizing the process of antitumor active substance TOGA-X4 microparticles by stainless steel rapid film emulsification method through single factor investigation to investigate the factors influencing the size and dispersion of the drug microparticles and observe the morphology of the particles by scanning electron microscopy. With the cumulative release degree of TOGA-X4 as index, direct drug release method was adopted to determine the cumulative release rate of TOGA-X4 and the size of TOGA-X4 microparticles. The curve of *in vitro* drug release was fitted with different release model to estimate the *in vitro* release characteristics of TOGA-X4 raw powders and TOGA-X4 microparticles. **Results** The optimized preparation technology contained TOGA-X4 mass concentration of 5 mg/mL in oil phase, PVA mass concentration of 30 mg/mL in for aqueous phase, the ratio of oil to water was 1:1, transmembrane pressure at 0.4 MPa, sucrose aqueous solution of 50 mg/mL as freeze-drying protective agent, curing temperature at 70 °C; Compared with other *in vitro* release models, the logistic equation was the fittest model to TOGA-X4 microparticles, zero order equation was the fittest model to TOGA-X4. **Conclusion** The preparation of microparticles by stainless steel rapid film emulsification is simple, stable and reliable, which can improve the dissolution rate of insoluble drugs and has advantages in the preparation of microparticles of poorly water-soluble drugs.

**Key words:** stainless steel film emulsification method; glycyrrhetic acid; complex; microparticles; *in vitro* release; rehydration property; TOGA-X4; antitumor; cumulative release rate; release characteristics

收稿日期: 2017-11-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81173562)

作者简介: 田娟 (1993—), 女, 在读硕士, 研究方向为微粒给药系统。Tel: 18810614404 E-mail: tianjuan0626@126.com

\*通信作者 蔡程科 (1971—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为中药新剂型与新制剂。Tel: 13910219990 E-mail: cck98@126.com

甘草次酸 (glycyrrhetic acid, GA) 是一种齐墩果烷型五环三萜类化合物, 为白色结晶型粉末, 具有抗炎、抗免疫、抗肝纤维化及抗肿瘤等药理活性<sup>[1-2]</sup>。文献报道 GA 对于肝癌、肺癌、宫颈癌、胃癌及结肠癌等疾病具有广泛的抑制作用, 并且副作用较小<sup>[3-6]</sup>。目前许多国内外学者以 GA 为先导化合物, 进行结构拼合来增强其抗肿瘤活性<sup>[7-8]</sup>。TOGA-X4 是一种新型 GA 拼合物, 由 GA 与氨基酸和碱性基团拼合而成, 已通过药效等相关实验证明其具有强的抗肝肿瘤活性, 但在水中极难溶解, 因此本实验拟通过制备 GA 拼合物 TOGA-X4 的微粒, 以期加快 TOGA-X4 溶出速率, 提高其生物利用度。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

快速膜乳化器, 中国科学院过程工程研究所自制; 孔径 0.5  $\mu\text{m}$  不锈钢膜, 自制; 3-18N 高速离心机, 湖南恒诺仪器设备有限公司; LGJ-12 冷冻干燥机, 北京松原华兴科技发展有限公司; ZetaSizer Nano-ZS 90 激光粒度测量仪, 英国马尔文仪器有限公司; Quanta-250 扫描电子显微镜, 美国 FEI 公司; Supra55 场发射扫描电子显微镜, 德国 Carl Zeiss Jena 公司; SHA-CA 水浴恒温振荡器, 常州澳华仪器有限公司; Thermo HPLC UltiMate 3000, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。

### 1.2 材料

TOGA-X4, 北京中医药大学自制, 质量分数 > 95%; 聚乙烯醇 088-20 (polyvinyl alcohol 088-20, PVA), 山西三维集团股份有限公司; 甲醇、醋酸乙酯, 色谱纯, Fisher 公司; NaCl, 北京化工厂; 普鲁兰, 日本林原生化公司; 葡萄糖、乳糖、甘露醇、蔗糖、氢氧化钠, 上海麦克林生化科技有限公司; 十二烷基硫酸钠, 天津市光复精细化工研究所。

## 2 方法与结果

### 2.1 微粒的制备

本研究选用不锈钢膜乳化法<sup>[9-10]</sup>制备, 以 PVA 水溶液为水相, 含 TOGA-X4 醋酸乙酯溶液为油相, 过膜乳化、离心洗涤, 制备不含辅料的 TOGA-X4 微粒。

**2.1.1 水相的制备** 精密称定 6 g PVA 加入 200 mL 纯水中, 磁力搅拌加热溶解至无明显颗粒, 停止搅拌。保温, 真空抽滤, 常温放置, 待用, 质量浓度为 30 mg/mL。

**2.1.2 油相的制备** 精密称取 0.5 g TOGA-X4 原粉

于具塞三角瓶中, 加入 100 mL 醋酸乙酯, 超声至无明显颗粒, 真空抽滤, 常温放置, 待用, 质量浓度为 5 mg/mL。

**2.1.3 微粒的制备** 精密量取 100 mL 含 TOGA-X4 油相, 加入 100 mL PVA 溶液中, 振摇至分散均匀, 迅速倒入快速膜乳化器中, 氮气加压, 收集乳液, 过膜 3 次。

**2.1.4 固化洗涤** 将制得乳液缓慢加入 1 倍量 30 mg/mL PVA 溶液中, 搅拌固化至无醋酸乙酯味。纯水稀释, 离心洗涤 4 次, 合并收集沉淀, 冷冻干燥成粉末, 干燥器中保存。

## 2.2 微粒的评价

**2.2.1 复水性** 取适量 TOGA-X4 微粒冻干粉末加水溶解, 振摇后观察是否分散完全; 若未完全分散, 超声后再观察, 对复水性进行评价。

**2.2.2 平均粒径及多分散指数 (PDI)** 取微粒冻干粉适量, 加入 2 mL 纯水, 超声分散均匀, 用粒度测量仪进行检测。平均粒径越小, 说明该工艺制备的微粒粒径越小; PDI 值越小, 说明微粒的粒径分布均匀。

## 2.3 单因素考察结果

不锈钢快速膜乳化法制备微粒影响因素较多, 据前期研究经验, 对药物质量浓度、水相浓度、油水比、过膜压力、固化温度和骨架支撑剂, 以平均粒径、多分散指数 PDI 和复水性为指标进行单因素考察, 考察结果如下。

**2.3.1 药物质量浓度考察** TOGA-X4 在醋酸乙酯中具有一定溶解度, 药物质量浓度是决定微粒粒径大小的重要因素之一。对药物质量浓度的考察结果如表 1 所示。药物质量浓度增大, 微粒粒径增大, 但粒径均小于 2  $\mu\text{m}$ , 综合考虑制备效率及避免原料浪费, 优选药物质量浓度为 5 mg/mL。

**2.3.2 水相 PVA 质量浓度考察** PVA 作为乳化剂和分散剂, 可降低表面张力, 阻止乳滴聚合, 增强

表 1 药物质量浓度考察

Table 1 Results of mass concentration of drug

药物质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )	平均粒径/nm	PDI
1	1 028	0.187
3	1 255	0.246
5	1 273	0.219
7	1 413	0.125
9	1 594	0.112

稳定性。因此对 PVA 质量浓度进行考察,结果见表 2。在一定质量浓度范围内, PVA 质量浓度升高,微粒粒径减小,且粒径均小于 1 μm, PDI 小于 0.3,粒径分布均一,符合制剂要求,优选质量浓度 30 mg/mL PVA 溶液为水相。

**2.3.3 油水相体积比考察** 油水相体积比会影响微粒的粒径及其稳定性,因此对油水比进行考察,考察结果如表 3 所示。水相体积增大,粒径增大。油水比 1:1 时,所得微粒平均粒径最小, PDI 最优,因此优选油水比为 1:1。

表 2 水相 PVA 质量浓度考察

Table 2 Results of PVA mass concentration in aqueous phase

水相 PVA 质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )	平均粒径/nm	PDI
20	780.9	0.273
25	686.6	0.219
30	680.7	0.180
35	646.0	0.268
40	572.3	0.175

表 3 油水相体积比考察

Table 3 Results of oil-water ratio

油水比	平均粒径/nm	PDI
1:1	461.3	0.235
1:2	506.1	0.248
1:3	720.6	0.259

**2.3.4 过膜压力考察** 微粒制备中,过膜压力对微粒粒径的大小、分布及形态等亦有重要的影响,对过膜压力进行考察,考察结果如表 4 所示。在一定范围内,压力越小,粒径越小,因此选择 0.4 MPa 压力过膜。

**2.3.5 固化温度考察** 温度会影响微粒的固化过程,考察发现(表 5),室温下固化,乳滴的运动较慢,液滴合并减少,因此乳液较稳定,粒径相对较

表 4 过膜压力考察

Table 4 Results of transmembrane pressure

过膜压力/MPa	平均粒径/nm	PDI
0.2	—	—
0.4	926.3	0.223
0.6	981.4	0.269
0.8	1 168.0	0.283
1.0	1 173.0	0.254

表 5 固化温度考察

Table 5 Results of curing temperature

固化温度	平均粒径/nm	PDI
室温	820.4	0.249
70 °C	1 042.0	0.169

小。但在离心洗涤收集中, PVA 残留增多,因此选择在 70 °C 下进行固化。

**2.3.6 骨架支撑剂考察** 前期考察中, TOGA-X4 微粒复水性差,超声难以分散均匀,因此加入骨架支撑剂增强复水性,骨架剂种类的考察结果见表 6。蔗糖和葡萄糖作为骨架剂的冻干微粒粒径较小,复水性良好,但在放置过程中,葡萄糖吸湿严重,因此选择蔗糖为骨架剂,对其质量浓度进行进一步考察,考察结果如表 7 所示。当蔗糖质量浓度为 50 mg/mL 时,粒径最小, PDI 合格,复水性优良,因此骨架支撑剂优选 50 mg/mL 蔗糖溶液。

**2.4 工艺验证**

综上所述,通过单因素考察优选方案:含 TOGA-X4 油相质量浓度 5 mg/mL,水相 PVA 质量浓度 30 mg/mL,油水比 1:1,过膜压力 0.4 MPa,冻干保

表 6 骨架支撑剂考察 (用量均为 40 mg/mL)

Table 6 Results of framework protective additive (dosages were 40 mg/mL)

骨架支撑剂	平均粒径/nm	PDI	复水性
葡萄糖	819.7	0.412	振摇即分散均匀
蔗糖	854.2	0.448	加水即分散均匀
乳糖	1 058.0	0.499	振摇即分散均匀
甘露醇	1 896.0	0.937	超声后仍部分未分散均匀
普鲁兰	2 786.0	0.291	超声后分散均匀
右旋糖酐	1 190.0	0.783	超声后仍大量未分散均匀
无保护剂	1 795.0	0.686	超声后仍大量未分散均匀
不冻干	3 824.0	0.005	—

表 7 蔗糖用量考察结果

Table 7 Results of sucrose dosage

蔗糖用量/(mg·mL <sup>-1</sup> )	平均粒径/nm	PDI	复水性
10	1 105	0.411	加水即分散均匀
30	773.3	0.227	加水即分散均匀
40	746.4	0.292	加水即分散均匀
50	704.2	0.244	加水即分散均匀
70	869.7	0.010	加水即分散均匀
90	890.8	0.252	加水即分散均匀

护剂为 50 mg/mL 蔗糖水溶液，固化温度为 70 ℃。  
**2.4.1 平均粒径及 PDI 考察结果** 根据优选条件进行工艺验证，结果见表 8，平均粒径为(944.3±81.3) nm，PDI 为 0.29±0.06。

**2.4.2 复水性考察结果** TOGA-X4 微粒复水性考察结果如图 1 所示，西林瓶内均为制备的 TOGA-X4 微粒，加水适量，振摇后即分散均匀，呈白色乳液状，该制剂复水性优良。

表 8 工艺验证结果

Table 8 Results of process validation

序号	平均粒径/nm	PDI
1	892.5	0.228
2	902.4	0.352
3	1 038.0	0.286



图 1 TOGA-X4 微粒复水性

Fig. 1 Rehydration of TOGA-X4 microparticles

**2.4.3 表观形态考察结果** 取少量粉末，平铺于导电胶上，氮气吹去多余粉末。高真空镀膜仪喷金 120 s，用扫描电镜观察微粒表观形态，TOGA-X4 原粉与微粒表观形态见图 2。

**2.5 HPLC 检测方法建立**

**2.5.1 色谱条件** 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-水 (90 : 10)；体积流量 1 mL/min；柱温 35 ℃；检测波长 254 nm；进样量 10 μL。专属性考察结果如图 3 所示，可知在此色谱条件下，TOGA-X4 峰与其他峰达到基线分离，峰形对称。

**2.5.2 线性关系考察** 取 TOGA-X4 原粉，精密称量配制 263.600 0、210.880 0、168.704 0、84.352 0、33.740 8、6.748 2、1.349 6 μg/mL 的系列标准溶液，在“2.5.1”项色谱条件下分别测定 TOGA-X4 峰面积。以 TOGA-X4 质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，得回归方程为 Y=0.167 6 X+0.359 3, R<sup>2</sup>=0.999 5, 说明 TOGA-X4 在 1.349 6~263.600 0 μg/mL 梯度质量浓度内线性关系良好。

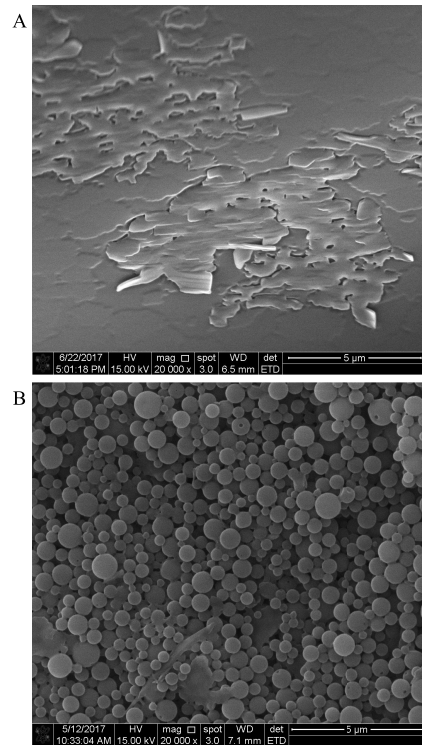


图 2 TOGA-X4 原药粉 (A) 及 TOGA-X4 微粒 (B) 的 SEM 图 (×20 000)

Fig. 2 SEM map of TOGA-X4 drug substance and microparticles (×20 000)

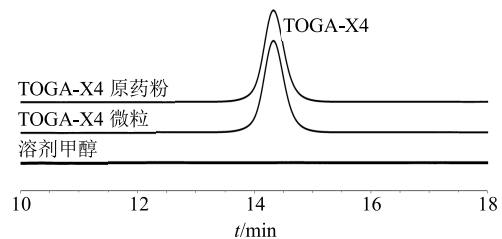


图 3 HPLC 专属性检测结果

Fig. 3 HPLC results of specific test

**2.5.3 精密度考察** 精密称量 TOGA-X4 原粉适量于 10 mL 量瓶，加甲醇超声溶解完全后定容，0.22 μm 微孔滤膜滤过，连续进样 6 次。结果显示各色谱峰的保留时间的 RSD 值为 0.23%，峰面积的 RSD 值为 1.28%，说明仪器的精密度良好。

**2.5.4 重复性考察** 精密称取 TOGA-X4 微粒冻干粉 10.04 mg，超声定容至 50 mL 量瓶中，稀释 1 倍后，0.22 μm 微孔滤膜滤过，平行制备 6 份样品溶液，依次进样检测，结果显示各色谱峰的保留时间的 RSD 值为 0.12%，峰面积的 RSD 值为 1.97%，说明该方法重复性良好。

**2.5.5 稳定性考察** 精密称取 TOGA-X4 微粒冻干粉适量于量瓶中，超声定容，0.22 μm 微孔滤膜滤

过, 于 0、2、4、6、8、10、12、14、24 h 进样检测, 结果显示各色谱峰的保留时间的 RSD 值为 0.55%, 峰面积的 RSD 值为 1.55%, 说明该方法稳定性较好。

**2.5.6 加样回收率考察** 取 TOGA-X4 微粒 6 份, 加入一定量的 TOGA-X4 原粉, 超声定容, 制得供试品溶液, 在“2.5.1”项色谱条件下测得峰面积, 计算回收率, TOGA-X4 平均回收率为 98.95%, 其 RSD 为 1.04%。

## 2.6 体外释放的测定

**2.6.1 释放介质配制方法** 参照《中国药典》2015 年版四部通则 8004 的方法<sup>[11]</sup>配制释放介质。

1%十二烷基硫酸钠的磷酸盐缓冲液(释放介质 I, pH 6.5): 磷酸二氢钠 3.45 g, 氢氧化钠 0.45 g, 十二烷基硫酸钠 5 g, 加水 400 mL, 超声 30 min, 用磷酸溶液调节 pH 值至 6.5, 用水稀释至 500 mL。

1%十二烷基硫酸钠的磷酸盐缓冲液(释放介质 II, pH 7.4): 磷酸二氢钠 3.45 g, 氢氧化钠 0.45 g, 十二烷基硫酸钠 5 g, 加水 400 mL, 超声 30 min, 用 2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.4, 用水稀释至 500 mL。

**2.6.2 平衡溶解度测定** 将过量 TOGA-X4 原粉置于释放介质中, 平行操作 3 份, 超声使溶解, 再于恒温水浴中 ( $37.0 \pm 0.5$ ) °C, 100 r/min 振荡 72 h, 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜滤过, 取续滤液 1 mL, 按“2.5.1”项色谱条件测定含量, 计算平衡溶解度<sup>[12]</sup>, 结果 TOGA-X4 原粉在释放介质 I 中的平衡溶解度为 ( $32.05 \pm 0.38$ )  $\mu\text{g/mL}$ , 在释放介质 II 中的平衡溶解度为 ( $31.39 \pm 0.89$ )  $\mu\text{g/mL}$  ( $n=3$ )。

**2.6.3 体外释放度曲线** 应用直接释药法<sup>[13]</sup>, 精密称取 TOGA-X4 原粉 3.00 mg 和同等含量的 TOGA-X4 微粒冻干粉于三角瓶中, 平行操作 3 份, 加入 500 mL 释放介质。置于水浴恒温振荡器中, 于 ( $37.0 \pm 0.5$ ) °C, 100 r/min 振荡, 于 0.5、1、2、4、6、8、10、12、16、24、48、72 h 取上清液 1 mL, 并立即补充 1 mL 新鲜的释放介质。取出的样品经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 置于 37 °C 水浴保温, HPLC 测定含量, 计算累积释放率, 绘制释放曲线, 释放曲线如图 4 所示。

**2.6.4 释药特征评价** 应用 Origin 9.0 软件<sup>[14]</sup>对 2 种释放介质里 TOGA-X4 微粒和原粉中 TOGA-X4 的释放曲线进行零级动力学、一级动力学、Logistic 动力学和 Higuchi 方程拟合。

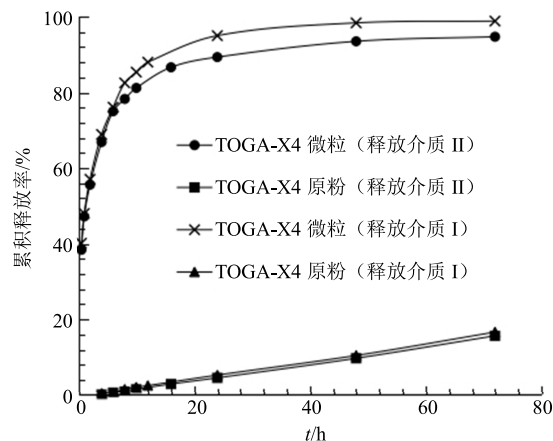


图 4 TOGA-X4 原粉和微粒在释放介质中释放曲线

Fig. 4 Accumulation releasing curve of TOGA-X4 drug substance and TOGA-X4 microparticles in dissolve medium

TOGA-X4 原粉和微粒中 TOGA-X4 在 2 种释放介质中的释放曲线数学模型拟合结果如表 9 所示。由相关系数  $R^2$  可知, TOGA-X4 微粒在释放介质 I 中体外释放模型拟合接近程度依次为 Logistic 方程 > 一级方程 > Higuchi 方程 > 零级方程, 在释放介质 II 中体外释放模型拟合接近程度依次为 Logistic 方程 > 一级方程 > Higuchi 方程 > 零级方程; TOGA-X4 原粉在释放介质 I 中体外释放模型拟合接近程度依次为 零级方程 > Logistic 方程 > Higuchi 方程 > 一级方程, 在释放介质 II 中体外释放模型拟合接近程度依次为 零级方程 > Logistic 方程 > 一级方程 > Higuchi 方程。

## 3 讨论

### 3.1 不锈钢膜乳化法

膜乳化技术是制备均匀粒径单分散乳液最简单有效且实用的方法<sup>[15]</sup>, 本实验应用不锈钢膜乳化法制备了粒径均一, 复水性优良, 加水振摇即分散均匀的球状 GA 拼合物 TOGA-X4 微粒, 药效实验亦证明此微粒具有显著抗肝肿瘤活性。该方法所制备的乳液粒径均匀、单分散性好, 不锈钢膜造价低廉、膜通量大、机械强度大、重复利用率高, 具有良好的应用前景<sup>[16]</sup>。

### 3.2 微粒的制剂工艺考察

通过单因素考察, 优选药物质量浓度为 5 mg/mL, 避免了药物浓度过大引起过膜时不锈钢膜对乳滴剪切的不充分, 形成微粒的粒径增大, 防止因药物浓度过低而增大微粒制备成本。PVA 质量浓度为 30 mg/mL 时, 电镜下 PVA 残留减少, 粒径也符合制剂要求。油水比为 1:1 时, 减少了药物的损

表 9 释放曲线数学模型拟合方程

Table 9 Results of mathematical model fitting of releasing curve

拟合方程	释放曲线数学模型拟合方程 (pH 6.5)	
	微粒	原粉
零级方程	$Q=0.633\ 6\ t+65.430\ 7, R^2=0.452\ 8$	$Q=0.235\ 4\ t-0.471\ 0, R^2=0.998\ 0$
一级方程	$Q=88.359\ 7(1-e^{-0.636\ 0\ t}), R^2=0.759\ 2$	$Q=-2.601\ 9\times 10^{-31}(1-e^{1.017\ 2\ t}), R^2=0.242\ 9$
Higuchi 方程	$Q=7.074\ 5\ t^{1/2}+52.216\ 5, R^2=0.705\ 2$	$Q=2.455\ 4\ t^{1/2}-5.558\ 1, R^2=0.971\ 3$
Logstic 方程	$Q=(34.599\ 3-101.786\ 6)/[1+(t/3.720\ 1)^{1.132\ 6}]+101.786\ 6, R^2=0.998\ 6$	$Q=(-0.427\ 6-1.427\ 1\times 10^7)/[(1+t/5.364\ 2\times 10^7)^{1.009\ 2}]+1.427\ 1\times 10^7, R^2=0.997\ 0$
拟合方程	释放曲线数学模型拟合方程 (pH 7.4)	
	微粒	原粉
零级方程	$Q=0.600\ 7\ t+62.908\ 3, R^2=0.461\ 0$	$Q=0.225\ 9\ t-0.800\ 7, R^2=0.999\ 0$
一级方程	$Q=84.482\ 9(1-e^{-0.677\ 6\ t}), R^2=0.772\ 2$	$Q=-21.973\ 5(1-e^{0.007\ 5\ t}), R^2=0.995\ 7$
Higuchi 方程	$Q=6.658\ 4\ t^{1/2}+50.440\ 0, R^2=0.713\ 7$	$Q=2.345\ 6\ t^{1/2}-5.681\ 0, R^2=0.963\ 2$
Logstic 方程	$Q=(28.974\ 5-97.880\ 0)/[1+(t/3.097\ 2)^{0.977\ 5}]+97.880\ 0, R^2=0.998\ 7$	$Q=(-0.545\ 6-1.946\ 0\times 10^6)/[(1+t/4.573\ 8\times 10^6)^{1.058\ 0}]+1.946\ 0\times 10^6, R^2=0.998\ 9$

失，提高了回收率。过膜压力为 0.4 MPa 时，过膜速度较缓慢，不锈钢膜对乳滴的剪切较充分，粒径大小与分布较优。骨架剂 50 mg/mL 蔗糖的加入可有效减小微粒粒径，增强复水性。该实验讨论了不锈钢快速膜乳化法的影响因素，但并未考虑因素间的交互作用，后期可通过正交设计等进行考察，优化工艺，以期得到粒径更加均一、可控的 TOGA-X4 微粒。

### 3.3 释放介质的选择

肿瘤组织代谢旺盛，使其 pH 值低于正常组织。大多数实体瘤的 pH 值 (pH < 6.5) 都低于周围正常组织 (pH 7.4) [17]。为较好地对比研究制剂在人体的吸收、释放情况，选择 pH 值分别为 6.5 和 7.4 的 2 种磷酸缓冲盐溶液作为释放介质 [18-19]。在水、pH 6.5 和 pH 7.4 的磷酸缓冲盐溶液中测定 TOGA-X4 平衡溶液度时，均未检测到。通过预实验发现加入 1% 十二烷基硫酸钠，加入 500 mL 释放介质，可达漏槽条件，因此选择释放介质为含 1% 十二烷基硫酸钠的磷酸缓冲盐溶液。

### 3.4 TOGA-X4 微粒及原粉的体外释放特性比较

由表 9 可知，TOGA-X4 微粒在 2 种释放介质中的药物释放曲线符合 Logistic 动力学方程，TOGA-X4 原粉在 2 种释放介质中的药物释放曲线符合零级动力学方程。由图 4 的释放曲线可知，TOGA-X4 原粉经不锈钢膜乳化法制成微粒后，释放速率明显高于原粉，累积释放率也显著提高。TOGA-X4 微

粒在释放介质 I 中的释放速率及释放度也高于释放介质 II，推测其在肿瘤组织中的释放速率及释放度高于正常组织，具有 pH 敏感性，对肿瘤组织具有一定的靶向性，但后期仍需对其在肿瘤组织与正常组织的分布进行大量验证，以得出可靠结论。

此外，据文献报道，纳米制剂的靶向作用与制剂粒径具有很大的相关性 [20]，因此在后期研究中，可通过体内分布研究，考察微粒粒径与其靶向性的关系，为抗肿瘤靶向制剂的研发提供思路。

### 参考文献

- [1] 李玉山. 甘草次酸的药理作用及制备工艺研究进展 [J]. 化学与黏合, 2015, 37(6): 458-463.
- [2] 朱世超, 郑学敏, 张 玥, 等. 甘草次酸衍生物抗肝纤维化的实验研究 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3554-3559.
- [3] 常明向, 吴梅梅, 李瀚旻. 姜黄素与甘草次酸联用对肝癌 HepG-2 细胞增殖的抑制作用 [J]. 药物评价研究, 2017, 41(1): 42-47.
- [4] Yamaguchi H, Noshita T, Yu T, *et al.* Novel effects of glycyrrhetic acid on the central nervous system tumorigenic progenitor cells: Induction of actin disruption and tumor cell-selective toxicity [J]. *Eur J Med Chem*, 2010, 45(7): 2943-2948.
- [5] 张 娜, 赵秀梅, 李冬冬, 等. 美法仑-甘草次酸复合物的合成及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(7): 929-933.
- [6] Yamaguchi H, Yu T, Kidachi Y, *et al.* Selective toxicity of glycyrrhetic acid against tumorigenic r/m HM-SFME-1 cells is potentially attributed to downregulation of

- glutathione [J]. *Biochimie*, 2011, 93(7): 1172-1178.
- [7] 金健民, 刘秀芳, 徐汉生. 甘草次酸衍生物的合成及其抗癌活性 [J]. *应用化学*, 2001, 18(11): 869-872.
- [8] Lai Y, Shen L, Zhang Z, *et al.* Synthesis and biological evaluation of furoxan-based nitric oxide-releasing derivatives of glycyrrhetic acid as anti-hepatocellular carcinoma agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(22): 6416-6420.
- [9] 吴晨悦, 范文硕, 田娟, 等. 快速膜乳化法制备齐墩果酸微粒的工艺研究 [J]. *中医药信息*, 2017, 34(1): 29-33.
- [10] 伊辛, 许凉凉, 尹雪雁, 等. 不锈钢膜乳化法制备水飞蓟宾微粒的工艺优化 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2015, 17(1): 243-248.
- [11] 中国药典 [S]. 四部. 2015.
- [12] 杨群, 徐英楠, 张锴, 等. 基于相似性分析山楂叶总黄酮组分平衡溶解度和油水分配系数的研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(14): 2883-2888.
- [13] 王恺源. G2407-5 缓释微球注射剂的研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2011.
- [14] 叶玉杰, 李芳, 任德全, 等. Origin 软件拟合制剂体外释药规律的应用 [J]. *数理医药学杂志*, 2014, 27(1): 93-94.
- [15] Vladislavljevic G T, Shimizu M, Nakashima T. Preparation of monodisperse multiple emulsions at high production rates by multi-stage premix membrane emulsification [J]. *J Membrane Sci*, 2004, 244(1/2): 97-106.
- [16] 吴晨悦. 齐墩果酸微粒的制备工艺及对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤的预防作用研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [17] Schmaljohann D. Thermo-and pH-responsive polymers in drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(15): 1655-1670.
- [18] 刘妍曦, 黄园, 周洲. pH 敏感的肿瘤靶向聚合物胶束的体外性质 [J]. *华西药学杂志*, 2017, 32(5): 459-463.
- [19] 李秋. 抗肿瘤药物 pH 敏感聚合物纳米载体 [D]. 北京: 北京工业大学, 2013.
- [20] Gaumet M, Vargas A, Gurny R, *et al.* Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 69(1): 1-9.