

穿心莲内酯自纳米乳处方优选及沉淀抑制剂对其分散相行为的影响

丁海波, 赖章婷, 陈绪龙, 袁其里, 欧阳料淇, 刘欢, 廖正根*

江西中医药大学, 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究羟丙基甲基纤维素 (hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC)、聚乙烯吡咯烷酮 k30 (polyvinylpyrrolidone k30, PVP k30)、聚乙二醇 4000 (polyethylene glycol 4000, PEG 4000) 对穿心莲内酯自纳米乳 (AG-SNEDDS) 在人工肠液中分散相行为的影响。方法 采用星点设计优选 AG-SNEDDS 处方; 以过饱和度为指标, 考察 PVP k30、HPMC、PEG 4000 3 类沉淀抑制剂 (PPI) 对 AG-SNEDDS 在人工肠液中分散后过饱和行为的影响, 并用偏振光显微镜考察沉淀类型。结果 AG-SNEDDS 处方为丙二醇单辛酸酯 (propylene glycol caprylate, Capryol 90) - [聚氧乙烯蓖麻油 (polyoxyethylene castor oil, Cremophor EL) - 聚山梨酯-20 (polysorbate 20, Tween-20) (1:1)] - 二乙二醇单乙基醚 (diethylene glycol monoethyl ether, Transcutol HP) 质量比为 12.9:40.5:46.6; 形成的乳剂均一透明, 载药量为 (6.93±0.04) mg/mL, 乳化时间为 (22.33±0.33) s, 平均粒径为 (14.25±0.65) nm。HPMC、PEG 4000 能维持 AG-SNEDDS 的肠液分散后的过饱和, 且作用效果与用量呈正相关; PVP k30 低浓度时降低 AG-SNEDDS 的肠液分散后的过饱和, 中、高浓度时可维持过饱和。3 种沉淀抑制剂均使沉淀颗粒粒径减小。结论 沉淀抑制剂能维持穿心莲内酯自纳米乳在人工肠液中分散时的过饱和, 维持过饱和的能力因沉淀抑制剂的类型和用量而不同。

关键词: 穿心莲内酯; 星点设计; 自纳米乳药物递送系统; 过饱和; 沉淀抑制剂

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)16-4160-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.16.008

Formulation optimization of andrographolide self-nanoemulsifying drug delivery system and effect of precipitation inhibitor on its phase behavior

DING Hai-bo, LAI Zhang-ting, CHEN Xu-long, YUAN Qi-li, OU YANG Liao-qi, LIU Huan, LIAO Zheng-gen
Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To investigate the effect of HPMC, PVP k30 and PEG 4000 on the phase behavior of andrographolide self-nanoemulsifying drug delivery system (AG-SNEDDS) dispersed in Fasted-state simulated intestinal fluid (FaSSIF). **Methods** The preparation technology of andrographolide AG-SNEDDS was optimized by central composite design. The effect of three types of precipitation inhibitors (PVP-k30, HPMC, PEG 4000) on the supersaturation behavior of AG-SNEDDS dispersed in FaSSIF was investigated with the degree of supersaturation as an evaluation index. The precipitated phase was evaluated by polarized light microscopy (PLM). **Results** The results showed that the best prescription of AG-SNEDDS was Capryol 90-Cremophor EL:Tween-20 (1:1)-Transcutol HP (12.9:40.5:46.6). The self-microemulsion was uniform, the drug loading was (6.93 ± 0.04) mg/g. The emulsification time was (22.33 ± 0.33) s, the average particle size was (14.25 ± 0.65) nm. HPMC and PEG 4000 can maintain the supersaturation of AG-SNEDDS after being dispersed in FaSSIF, and the effect was positively correlated with their concentration. As for PVP k30, it reduced the degree of supersaturation at a low concentration, but can maintain supersaturation at medium and high concentration. Using any of the three precipitation inhibitors can reduce the particle size of the precipitated particles. **Conclusion** Precipitation inhibitors can maintain the supersaturation of AG when disperse AG-SNEDDS in FaSSIF. The ability to maintain supersaturation varies with the types and concentration of precipitation inhibitor.

Key words: andrographolide; central composite design; self-nanoemulsifying drug delivery system; supersaturation; precipitation inhibitors

收稿日期: 2020-04-30

基金项目: 江西省一流学科资助 (JXSYLXK-ZHYA0059)

作者简介: 丁海波 (1995—), 女, 硕士, 主要从事药物制剂及新剂型研究。Tel: 15870782707 E-mail: 1143660823@qq.com

*通信作者 廖正根 (1967—), 教授, 理学博士, 博士生导师, 从事中药制剂及新剂型研究。Tel: (0791)87118658 E-mail: lyzlyg@163.com

自纳米乳药物递送系统 (self-nanoemulsifying drug delivery system, SNEDDS) 是由油相、乳化剂、助乳化剂构成的各向同性, 且热力学稳定的混合体系^[1], 在胃肠道温和的搅拌下可自发形成小于 100 nm 的 O/W 型微乳。近期研究表明 SNEDDS 在胃肠道中可形成过饱和溶液, 通过提高难溶性药物在胃肠道内的活度从而提高增强吸收, 被认为是具有广泛前景的改善难溶性药物生物利用度的技术^[2-3], 但 SNEDDS 作为一种可过饱和制剂, 在胃肠道中易产生沉淀失去过饱和和优势^[1,4]。为了维持制剂在胃肠道转运过程中的过饱和状态, 药剂学工作者对许多沉淀抑制剂 (precipitation inhibitors, PPI) 的抑制作用进行了研究, 发现 PPI 可能通过形成药物-聚合物氢键^[1,5]、疏水相互作用^[6-9]、增加溶液黏度^[10-11]等作用维持药物的过饱和。

穿心莲内酯 (andrographolide, AG) 是从植物穿心莲中提取的一个二萜类化合物, 具有抗心血管疾病、抗骨质疏松、抗肥胖、抗肿瘤、抗疟、抗炎^[12-14]等作用。AG 属于 BCS II 类药物, 水溶性差^[15], 已有文献优选了穿心莲内酯自纳米乳处方并证明纳米乳处方能够显著提高其溶解度和溶出度^[16]。长期以来, 载药量低仍是限制 SNEDDS 广泛应用的一个重要因素^[17], 因此, 本研究首先在不同文献报道的辅料范围内优选 AG 的 SNEDDS 处方, 以期增大其载药量, 随后再研究 PPI 对 AG-SNEDDS 肠液分散相行为的影响。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Malvern Na-S 型纳米激光粒度仪, 英国 Malvern 公司; SIGMA3-18K 高速冷冻离心机, 德国 Sigma 公司; ZRS-8G 智能溶出仪, 天津天大天发科技有限公司; 85-2A 双数显恒温磁力搅拌器, 金坛市城东新瑞仪器厂; 雷磁 PHS-2F-pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; 明美 Mshot MS60 偏振光显微镜, 广州市明美光电技术有限公司。

1.2 材料

穿心莲内酯, 批号 CXLNZ20181230, 质量分数 98%, 西安昊轩生物科技有限公司; 穿心莲内酯对照品, 批号 5508-58-7, 质量分数 98%, 成都埃法生物科技有限公司; 聚山梨酯 20 (Tween 20)、聚山梨酯 80 (Tween 80)、肉豆蔻酸异丙酯 (IPM), 源叶生物科技有限公司; 聚氧乙烯蓖麻油

(Cremophor EL), 巴斯夫中国有限公司; 聚乙二醇 400 (PEG 400), 德国 Sigma 公司; 乙醇, 西陇科学股份有限公司; 1,2-丙二醇, 天津市大茂化学试剂厂; 丙三醇, 中国医药 (集团) 上海化学试剂公司; 油酸乙酯 (EO), 江西高胜动物保健品有限公司; 氯化钠, 西陇科学生物科技有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 k30 (PVP k30)、牛黄胆酸钠、鸡蛋卵磷脂、马来酸, 北京索莱宝科技有限公司; 羟丙基甲基纤维素 (HPMC), 西安天正药用辅料有限公司; 聚乙二醇 4000 (PEG 4000), 西安晶博生物科技有限公司; 丙二醇单辛酸酯 (Capryol 90)、油酸聚乙二醇甘油酯 (Labrafil M 1944 CS)、单亚油酸甘油酯 (Maisine 35-1) 均为嘉法狮贸易公司赠送。

2 方法与结果

2.1 AG 含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS2 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (54:46); 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长 225 nm; 进样量为 10 μL; 柱温 37 °C。

2.1.2 溶液配制 精密称取穿心莲内酯对照品 7.42 mg 于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容, 配制 742 μg/mL 的对照品储备液。对照品储备液稀释 10 倍, 得 74.2 μg/mL 对照品溶液。

取 AG-SNEDDS 0.5 g 置于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇定容, 得供试品溶液。

另取空白 SNEDDS, 按供试品溶液配制方法制备阴性对照溶液。

2.1.3 专属性试验 分别将对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液进样高效液相色谱仪, 记录各进样色谱图, 结果见图 1, AG 在供试品溶液和对照品溶液中的出峰位置一致, 样品中其他成分对 AG 含量测定无影响。

2.1.4 线性关系考察 分别取 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 对照品储备液, 60% 甲醇稀释定容至 10 mL, 摇匀, 得质量浓度为 7.42、14.84、29.68、44.52、59.36、74.20 μg/mL 对照品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y)。得到回归方程为 $Y=23.078 X-23.536$, $r^2=0.9993$, 结果表明穿心莲内酯质量浓度在 7.42~74.2 μg/mL 时峰面积和质量浓度线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 按“2.1.2”项下方法配制 9.95 μg/mL AG 对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录 HPLC

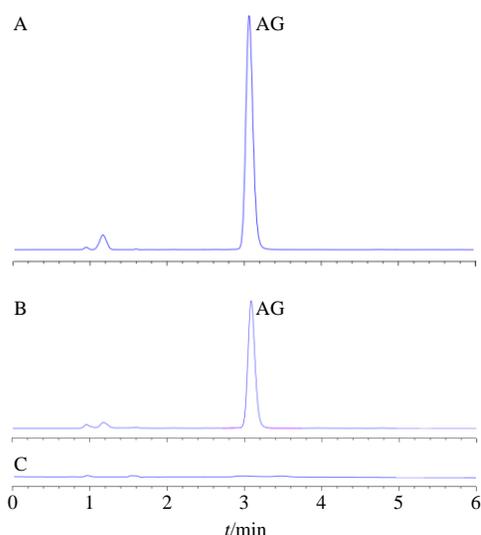


图 1 AG 对照品溶液 (A)、AG-SNEDDS 样品溶液 (B) 和阴性对照溶液 (C)

Fig. 1 HPLC of AG reference substance (A), AG-SNEDD (B) and negative control solution (C)

图谱中 AG 的峰面积, 计算其 RSD 为 0.41%, 说明该方法精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一批制备的 AG-SNEDDS 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 进样测定峰面积, 计算 AG-SNEDDS 中 AG 质量分数的 RSD 为 0.28%, 说明重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取已知质量分数的 AG 供试品溶液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 平行操作 9 份, 分别精密加入 2 mL 质量浓度为 39.8、99.5、199.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 AG 对照品溶液, 各 3 份, 加适量甲醇超声溶解并定容至刻度线, 制得含低、中、高质量浓度 AG 的供试品溶液, 微孔滤膜滤过, 取续滤液按“2.1.1”项下色谱条件进样 10 μL , 记录峰面积, 计算低、中、高不同质量浓度的平均加样回收率分别为 98.75%、99.00%、97.98%, RSD 依次为 0.33%、0.57%、0.41%, 表明该方法准确性良好。

2.2 人工肠液 (fasted-state simulated intestinal fluid, FaSSIF) 的制备

牛黄胆酸钠 1.613 g, 鸡蛋卵磷脂 151.6 mg, 氯化钠 2.744 8 g, 马来酸 2.219 2 g, 置于 1 000 mL 量瓶中, 加水溶解, 定容, 摇匀。浓 HCl 或饱和 NaOH 溶液调至 pH 值为 6.50。

2.3 平衡溶解度的测定

分别在一定量的辅料中加入过量的 AG, 涡旋 5 min 后, 超声 20 min 助溶, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床平衡 24 h, 8 000 r/min 离心 10 min, 上清液用 60% 甲醇稀释适

宜倍数后, 采用 HPLC 法测定 AG 在不同辅料中的平衡溶解度 (表 1)。根据结果, 初步确定油相为 Capryol 90、Labrafil M 1944 CS, 助乳化剂为 Transcutol HP。

表 1 AG 在不同溶剂中的溶解度 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Solubilities of AG in different excipients ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

类别	种类	溶解度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
油相	Capryol 90	1.65 ± 0.13
	Maisine 35-1	0.40 ± 0.01
	Labrafil M 1944 CS	1.65 ± 0.04
	IPM	0.20 ± 0.00
	EO	0.31 ± 0.07
乳化剂	Cremophor EL	0.95 ± 0.17
	Tween 20	2.58 ± 0.74
	Tween 80	1.43 ± 0.15
	Tween 20-Cremophor EL (1:1)	4.00 ± 0.23
	Tween 20-Cremophor EL (1:2)	2.35 ± 0.16
助乳化剂	Transcutol HP	11.96 ± 0.19
	PEG 400	6.21 ± 0.29
	1,2 丙二醇	7.69 ± 0.37
	丙三醇	4.30 ± 0.67
	乙醇	10.36 ± 0.28

2.4 AG 自纳米乳处方筛选

2.4.1 油相的筛选 根据溶解度测定结果, 以乳化剂 Tween 20 和助乳化剂 Transcutol HP 的比例 2:1 为混合乳化剂, 混合乳化剂与油相按质量比 6:1 混合, 考察油相/混合乳化剂组合的乳化性能, 结果以 Capryol 90 为油相的组合的乳化能力最好, 故选择 Capryol 90 为油相。

2.4.2 乳化剂的筛选 乳化剂与助乳化剂的比值 (K_m) 为 1, 油相与混合乳化剂比值为 1:9、2:8、3:7、4:6, 考察油/乳化剂/助乳化剂的乳化性能。结果见表 2, 结合溶解度数据, 选择 Tween 20-Cremophor EL (1:1) 为乳化剂。

2.4.3 伪三元相图的绘制 乳化剂与助乳化剂的比值为 3:1 \rightarrow 1:3, 油相与混合乳化剂按 1:9 \rightarrow 9:1 质量比混合, 1 g 混合物在 100 r/min 磁力搅拌下分散于 100 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 的双蒸水中, 观察自乳化情况, 记录能形成乳剂的各辅料比例。用 Origin 绘制伪三元相图 (图 2), 确定油相 Capryol 90 的用量为 10% \sim 30%, K_m 值范围为 0.5 \sim 3.0。

表 2 不同乳化剂乳化能力考察

Table 2 Emulsifying ability of different emulsifiers

乳化剂	油相与乳化剂质量比			
	1:9	2:8	3:7	4:6
Tween 20	澄清	泛蓝光	乳白色	乳白色
Tween 80	澄清	澄清	乳白色	乳白色
Cremophor EL	澄清	澄清	泛蓝光	蓝白色
Tween 20-Cremophor EL (2:1)	澄清	澄清	乳白色	乳白色
Tween 20-Cremophor EL (1:1)	澄清	澄清	蓝白色	乳白色
Tween 20-Cremophor EL (1:2)	澄清	澄清	蓝白色	乳白色

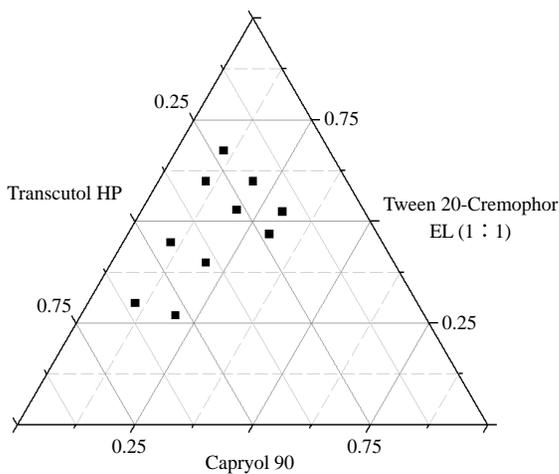


图 2 伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams

2.5 星点设计优化处方

2.5.1 实验设计与结果 根据伪三相图确定的乳化剂、助乳化剂、油相的种类及取值范围。以油相质量分数 (X_1)、 K_m 值 (X_2) 为自变量, 以分散后的平均粒径 (Y_1)、载药量 (Y_2) 为因变量, 采用 Design Expert 软件中的星点设计优化处方, 结果见表 3。

按表 3 中的处方比例精密称取各组分, 混匀, 超声 10 min, 得空白自纳米乳。于空白自纳米乳中加入过量 AG, 混匀, 超声 2 h 助溶, (37.0±0.5) °C 摇床平衡 24 h, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液, 得 AG-SNEDDS。取 AG-SNEDDS 1 g, 加至 37 °C 预热 100 mL 双蒸水中, 100 r/min 恒速磁力搅拌至乳化完全, 采用纳米激光粒度仪测定载药自纳米乳的粒径; 精密称取适量 AG-SNEDDS, 60% 甲醇稀释至适宜倍数, HPLC 测定 AG 含量, 计算 AG-SNEDDS 载药量。

2.5.2 响应面法考察指标 粒径和载药量是自乳化制剂质量评价的重要指标^[18]。乳滴的粒径大小是评价自乳化纳米稳定性的重要特征之一, 也是影响药

表 3 星点设计试验安排及结果

Table 3 Central composite design and results

序号	X_1 /%	X_2	Y_1 /nm	Y_2 /(mg·mL ⁻¹)
1	12.93	0.87	14.20	6.89
2	27.07	0.87	139.50	5.66
3	12.93	2.63	11.04	5.18
4	27.07	2.63	14.95	4.65
5	10.00	1.75	9.75	5.81
6	30.00	1.75	93.94	4.80
7	20.00	0.50	96.97	7.02
8	20.00	3.00	11.04	4.76
9	20.00	1.75	12.54	5.17
10	20.00	1.75	12.33	5.32
11	20.00	1.75	12.28	5.13
12	20.00	1.75	12.56	5.19
13	20.00	1.75	11.34	5.25

物在体内释放和人体吸收的关键因素。制剂的载药量直接影响临床使用时制剂的给药量, 为减少给药量, 载药量高具有一定的优势。故本实验选择粒径作为考察指标。精密称取 1 g AG-SNEDDS, 加入 100 mL 双蒸水中, 分散均匀后, 采用激光粒度仪测量平均粒径。精密称取 AG-SNEDDS 适量, 加 60% 甲醇稀释适当倍数。采用 HPLC 法, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 计算载药量。

2.5.3 数据拟合分析与最优处方确定 采用 Design Expert 软件进行模型拟合, 得到响应方程为 $Y_1 = 31.787 23 - 1.287 32 X_1 - 22.344 92 X_2 - 4.855 60 X_1 X_2 + 0.354 34 X_1^2 + 24.06 X_2^2$, $r^2 = 0.955 7$, $P < 0.000 1$; $Y_2 = 10.476 85 - 0.142 06 X_1 - 2.912 59 X_2 + 0.028 X_1 X_2 + 9.575 00 \times 10^{-4} X_1^2 + 0.433 12 X_2^2$, $r^2 = 0.949 6$, $P < 0.000 1$ 。

两个二项式拟合方程的相关系数都大于 0.9, 显著性水平 (P) 均小于 0.01, 失拟项 (P) 均大于 0.05 表明此模型拟合程度良好, 可以用此模型对穿心莲内酯自纳米乳进行预测和分析。软件预测油相比例为 12.93%, K_m 值为 0.87; 粒径理论值为 18.69 nm; 载药量理论值为 6.91 mg/mL。按最优处方平行制备 3 批空白自纳米乳, 加入过量 AG, 平衡后离心, 制得 AG-SNEDDS, 测定粒径和载药量。结果显示平均粒径为 (14.25±0.65) nm, 载药量为 (6.93±0.04) mg/mL, 与预测结果一致性良好。

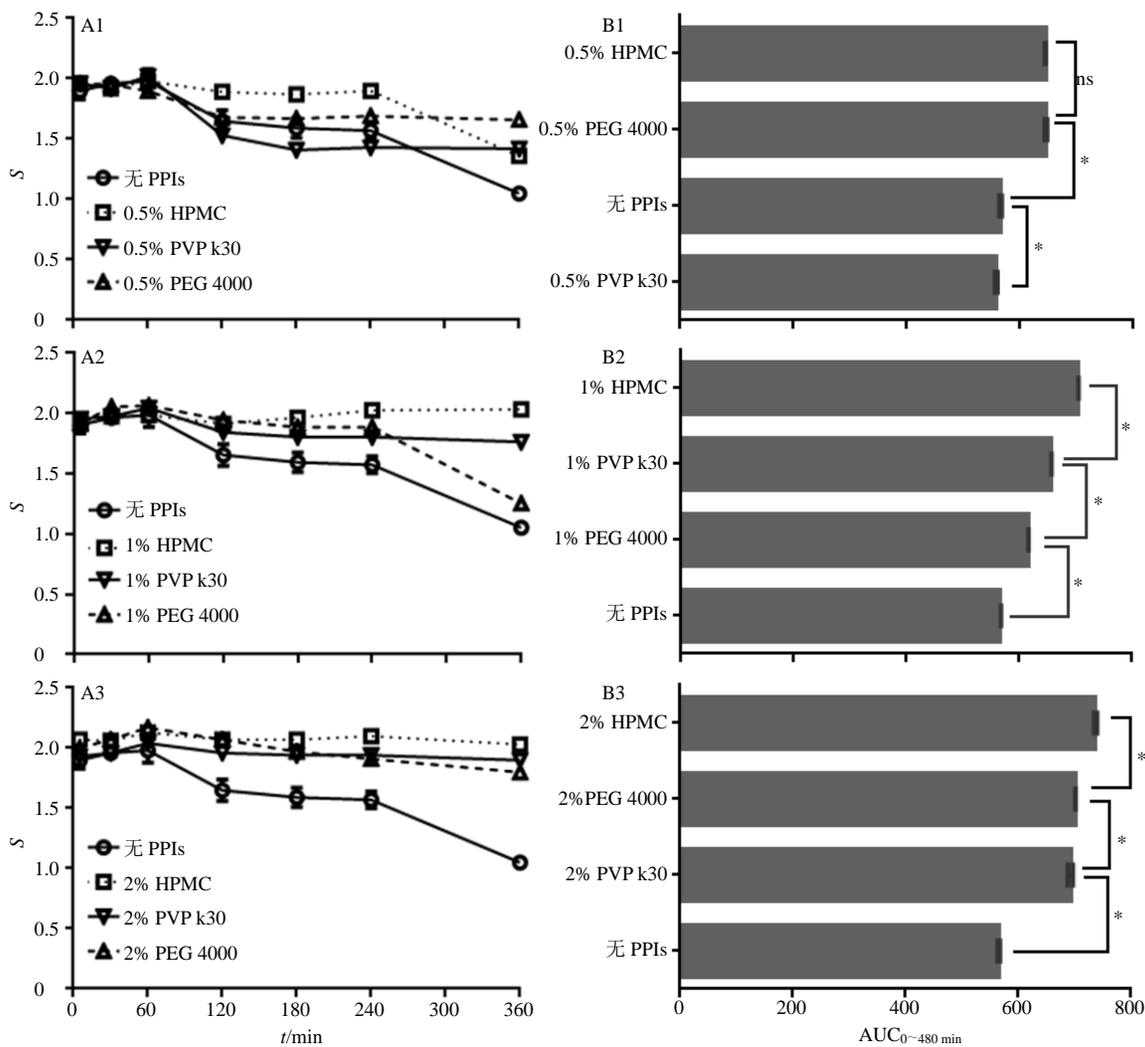
2.6 PPI 对 AG-SNEDDS 肠液分散相行为的影响

2.6.1 AG 过饱和度的测定 取空白自纳米乳 1 g,

分别加入不同种类、不同量的 PPI，超声 1 h 助溶，混合均匀，加入至 100 mL 37 °C 的 FaSSIF 溶液中，恒温磁力搅拌器 100 r/min 搅拌，分别于 5、30、60、120、180、240、360 min 取样 1 mL，加入过量穿心莲内酯 37 °C 条件下平衡溶解 24 h，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液稀释适当倍数，HPLC 测含量，计算平衡溶解度为 C_0 。取 AG-SNEDDS 1 g，分别加入不同种类和不同量的 PPI，超声 1 h 助溶，混合均匀。加至 100 mL 37 °C 的 FaSSIF 中，磁力搅拌器 100 r/min 37 °C 恒温搅拌，相同时间点取样、滤过、续滤液稀释适当倍数，HPLC 测定含量，计算各时间点药物浓度为 C 。按 $S=C/C_0$ 计算不同时间点的过饱和度。

2.6.2 AG-SNEDDS 在肠液中分散后的相行为 按“2.6.1”项下方法测定 AG 在加与不加 PPI 条件下的

过饱和度。将数据导入 Graphpad Prism 6 软件，得到时间-过饱和度曲线图（图 3-A、图 4-A）及时间-曲线下面积（AUC，图 3-B、图 4-B）。图 3-B 显示单因素方差分析不同 PPI 在整个时间段内维持过饱和状态的总结果，除低浓度时，含有 PVP k30 制剂的 AUC 显著低于无 PPI 的制剂外，含有 PPI 的 3 种制剂的 AUC 均显著高于无 PPI 的制剂，显示 3 种 PPI 在一定的浓度条件下可以延缓制剂在 FaSSIF 中的沉淀；同时显示，同样浓度下，HPMC 抑制沉淀的效果更为优良。图 3-A 显示了同一浓度下不同 PPI 维持过饱和程度的动态状况，整体维持更高过饱和程度的 PPI 并非在每个时间点维持的过饱和程度均更高，而是可能出现交叉，如图 3-A-3，提示不同 PPI 维持高饱和度的时间不同。图 4-B 显示同一 PPI 在不同浓度时、在整个时间段内维持过饱和

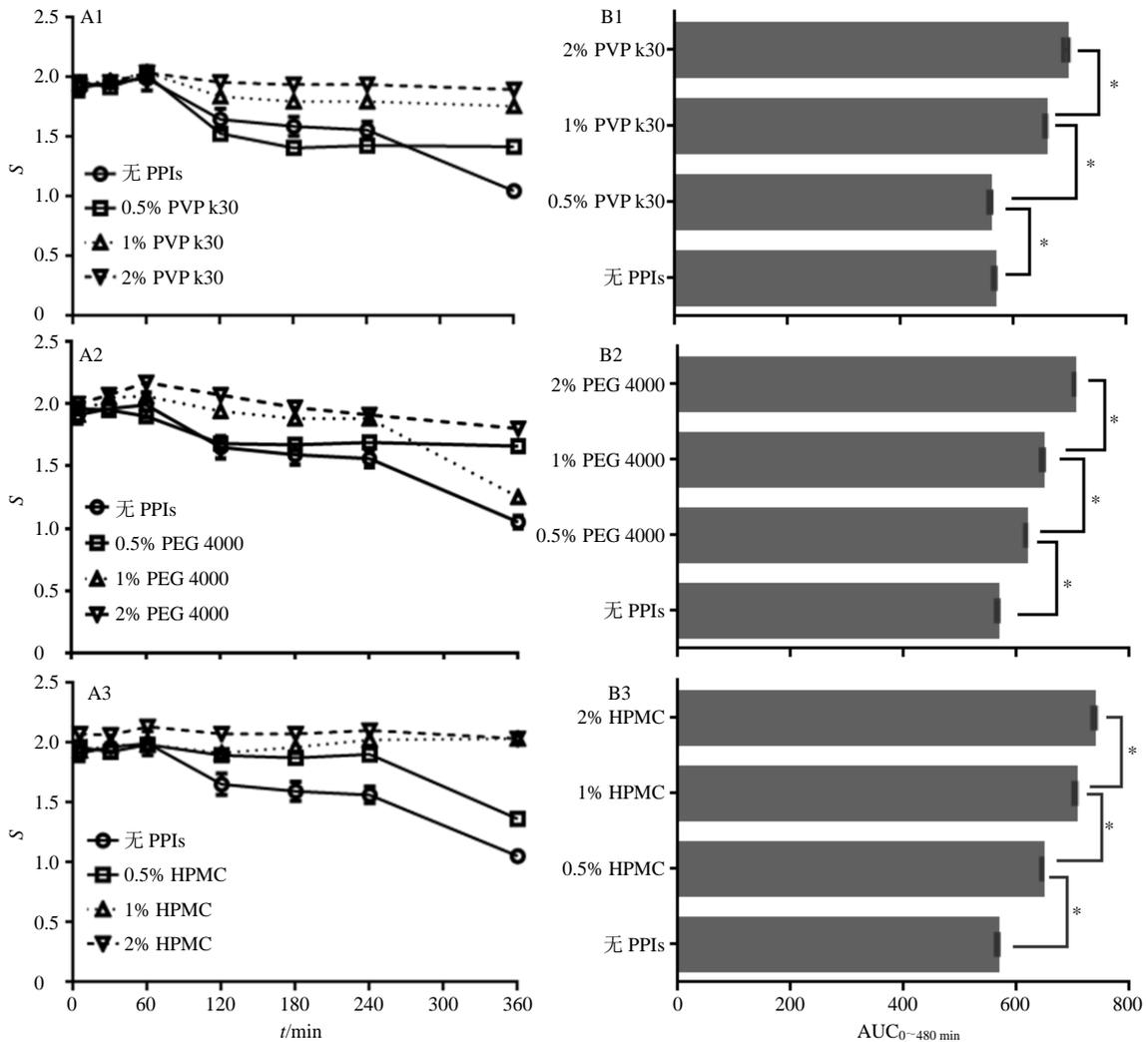


“*” 为有显著性差异 $P < 0.05$ ；“ns” 为无显著性差异

“*” means significant difference ($P < 0.05$); “ns” means no significant difference

图 3 FaSSIF 中不同 PPIs 的 AG-SNEDDS 时间-过饱和度曲线及 AUC

Fig. 3 AG-SNEDDS time-supersaturation curve and AUC of different PPIs in FaSSIF



“*” 为有显著性差异 $P < 0.05$

“***” means compared with AG-SNEDDS, there was significant difference ($P < 0.05$)

图 4 FaSSiF 中不同浓度 PPIs 的 AG-SNEDDS 时间-过饱和度曲线及 AUC

Fig. 4 AG-SNEDDS time-supersaturation curve and AUC of different concentrations of PPI in FaSSiF

状态的总结果，结果显示 3 种沉淀抑制效果均与其浓度成正比，每种 PPI 的沉淀抑制效果均随浓度增大而增强。图 4-A 显示了同 PPI 在不同浓度时维持过饱和程度的动态状况，整体维持更高过饱和程度的浓度并非在每个时间点维持的过饱和程度均更高，而是可能出现交叉。

2.6.3 偏振光显微镜观察沉淀 取 1 g 加或不加 1% PPIs 的 AG-SNEDDS 分散至 100 mL 预热至 37 °C 的 FaSSiF 中，于 360 min 取样 2 mL 于 EP 管内，12 000 r/min 离心 3 min，倒出上清液，沉淀加入 200 μ L FaSSiF，混合均匀，10 μ L 滴于载玻片上，盖上盖玻片，置于显微镜下观察，沉淀在 10 min 内检测完全，结果见图 5。由图 5 可知，不加 PPIs 时产生较为规则的片状结晶，且结晶颗粒较大。HPMC、

PEG 4000、PVP k30 3 种 PPI 作用后均有结晶沉淀产生，但沉淀颗粒粒径明显减小。

2.7 HPMC 对 AG-SNEDDS 乳化性能的影响

取含或不含 2% HPMC 的 AG-SNEDDS 各 1 g 分散在 100 mL 37 °C 的双蒸水中，每个样品重复 3 次，观察外观，秒表记录乳化时间，纳米激光粒度仪测粒径和电位。结果（表 4）显示，HPMC 对 SNEDDS 的外观、粒径和外观没有明显影响，但对乳化时间有显著影响。

2.8 HPMC 对 AG-SNEDDS 溶出度的影响

以 200 mL FaSSiF 为溶出介质，温度为 (37.0 \pm 0.5) °C，搅拌桨转速为 (100 \pm 1) r/min。精密称取 3 mg AG 原料药、0.4 g AG-SNEDDS (约含 AG 20 mg) 及 AG-SNEDDS-2% HPMC 加入到 0 号胶囊壳

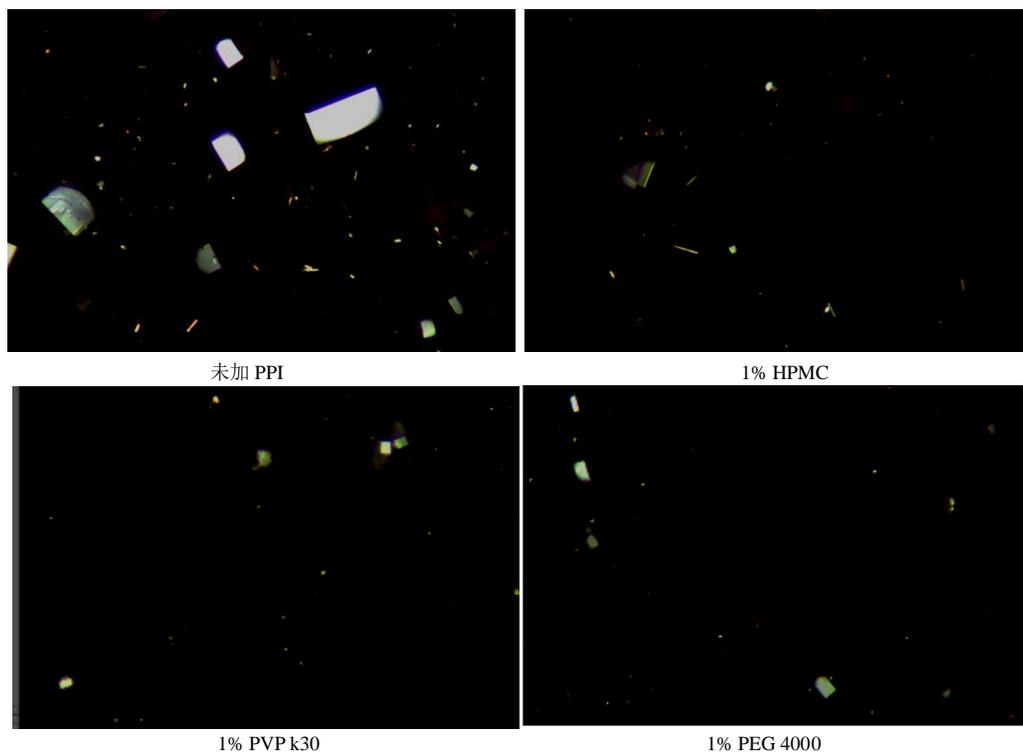


图 5 FaSSIF 中 360 min 时不同沉淀抑制剂 1%用量偏光显微结果 (10 × 10)
 Fig. 5 PLM imaging (10 × 10) with different PPIs in FaSSIF at 1% at 360 min

表 4 2 种 AG-SNEDDS 的外观、粒径、Zeta 电位、乳化时间 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Appearance, particle size, Zeta potential and emulsification time of AG-SNEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

处方	外观	粒径/nm	Zeta 电位/mV	乳化时间/s
AG-SNEDDS	澄清	14.42 ± 0.81	-6.65 ± 1.13	22.33 ± 0.33
AG-SNEDDS-2% HPMC	澄清	13.85 ± 0.54	-6.02 ± 1.84	25.67 ± 1.15*

“*” 与 AG-SNEDDS 组比较具有显著性差异 $P < 0.05$

“*” means compared with AG-SNEDDS, there was significant difference ($P < 0.05$)

中, 开启溶出仪, 将胶囊加入到溶出杯中, 开始计时, 在不同时间点取样 2 mL, 同时补加等温、等体积空白介质, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, HPLC 测定药物含量, 计算药物累积溶出率。结果见图 6, 溶出介质中 AG-SNEDDS/AG-SNEDDS-2% HPMC 均可显著提高药物的溶出速率, 15 min 药物已完全溶出, 未见明显差异; 原料药 FaSSIF 体系 30 min 分别溶出仅 13.32%, 结果表明 SNEDDS 可显著提高药物的溶出速率, 且 HPMC 的加入对 AG 溶出度无明显影响。

3 讨论

成功设计 SNEDDS 的重要标准之一是药物在制剂中有足够的溶解度^[19]; 一般认为, SNEDDS 在分散或后生成小的、均匀的乳状液可以减少口服给药后受试者之间和受试者内部的可变性^[3], 故进行处方优选时, 通常首先进行单个辅料的溶解度实验,

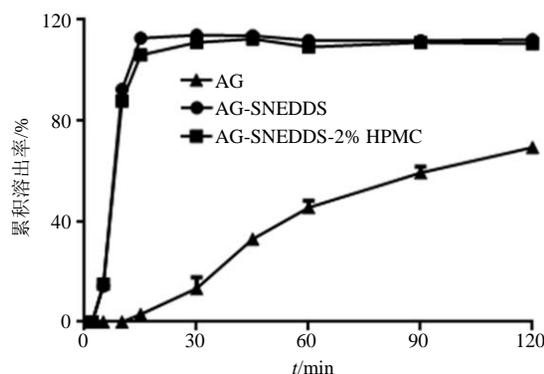


图 6 AG-SNEDDS 和 AG-SNEDDS-2%HPMC 在 FaSSIF 中的溶出曲线

Fig. 6 Dissolution curves of AG-SNEDDS and AG-SNEDDS-2% HPMC in FaSSIF

再用粒径大小等优选油/乳化剂组合, 由于溶解度实验时使用的辅料范围不同, 常导致优选的处方不同。尽管 AG-SNEDDS 处方研究已有报道^[20-21], 但本研

究预选的处方具有更高的载药量、分散后乳滴具有更小的粒径,显示本研究优选的处方更为优良。

AG-SNEDDS 中药物浓度远高于分散后的平衡溶解度,是一种可过饱和制剂,在稀释分散后不稳定,易导致浓度下降而失去过饱和和优势^[4]。制剂学研究中常常加入高分子材料作为 PPI 以维持 SNEDDS 分散后的浓度。已有研究表明,PPI 主要作用机制为形成氢键、疏水相互作用、吸附作用、改变溶液黏度等。Oliveira 等^[22]、Ashish 等^[23]、Kirubakaran 等^[24]研究表明,HPMC、PVP k30 和 PEG 4000 能够在固体分散体,自微乳,共晶等系统中抑制沉淀维持过饱和和状态。本研究考察 HPMC、PVP k30 和 PEG 4000 等 PPI 对 AG-SNEDDS 在肠液分散中的相行为的影响,结果表明 3 种不同的用量时,HPMC 的作用效果均高于其余 2 种 PPI。从分子间相互作用考虑 AG 具有 5 个氢键受体,3 个氢键供体。HPMC 富含羟基(氢键供体)可能与 AG 分子中 5 个氢键受体形成氢键而抑制沉淀效果最佳。PVP k30 只含有 1 个羰基(氢键受体),PEG 4000 含有 2 个氢键受体,2 个氢键供体,故 HPMC 作用效果优于 PVP k30 和 PEG 4000。研究 PPI 浓度对肠液分散中的相行为的影响,HPMC、PVP k30 和 PEG 4000 沉淀抑制效果均与浓度正相关,与 Oliveira 等^[22]研究中 Soluplus 沉淀抑制效果与浓度呈正相关的结论一致。

SNEDDS 的乳化性能可通过外观、粒径、Zeta 电位、乳化时间等指标反映。SNEDDS 粒径越小,比表面积越大,药物溶出与吸收越快^[25],Zeta 电位绝对值越大,乳剂越稳定,乳化时间越短,乳化效率越高。Bannow 等^[26]研究表明 PPI 对辛伐他丁 SNEDDS 分散后粒径无影响。本研究对比有无 2% HPMC 的 2 个 AG-SNEDDS 的乳化性能,结果显示 HPMC 的加入对 AG-SNEDDS 外观、粒径、Zeta 电位无影响,对乳化时间存在影响。

偏振光显微镜借助偏振光及晶体各向异性的特点而产生双折射现象而分辨晶体与非晶体^[27]。已有研究采用偏振光显微镜观察药物沉淀形态^[22,28],本研究借助偏振光显微镜观察 AG-SNEDDS 在 FaSSIF 中的结晶形态。HPMC、PVP k30 和 PEG 4000 3 种不同 PPI 在 FaSSIF 中分散后,3 种 PPI 作用后均有结晶型沉淀产生,且 PPI 的使用明显减小沉淀粒径。

已有研究表明,PPI 能够提高自乳化给药系统

的生物利用度^[29-30]。药物以游离状态存在是药物吸收的前提,游离药物浓度越高,吸收越好。过饱和和药物递送系统是热力学不稳定系统,在药物胃肠道易沉淀降低游离药物浓度而影响难溶性药物生物利用度。PPI 用于过饱和和药物递送系统,一方面可通过维持药物过饱和和度而获得较高的游离药物浓度,另一方面,可使药物产生非晶态沉淀^[31],非晶药物沉淀能够快速溶出,达到较高游离浓度。因此 PPI 能够较好的提高生物利用度。

参考文献

- [1] Dokania S, Joshi A K. Self-microemulsifying drug delivery system (SNEDDS)-challenges and road ahead [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(6): 675-690.
- [2] Callender S P, Mathews J A, Kobernyk K, et al. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2017, 526(1/2): 425-442.
- [3] Feeney O M, Crum M F, Mcevoy C L, et al. 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives [J]. *Adv Drug Delivery Rev*, 2016, 101: 167-194.
- [4] 赖章婷, 丁海波, 蒋且英, 等. 水飞蓟宾过饱和和自微乳给药系统的制备及体外质量评价 [J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4091-4099.
- [5] Kalepu S, Nekkanti V. Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(5): 442-453.
- [6] Seto Y, Morizane C, Ueno K, et al. Supersaturable self-emulsifying drug delivery system of krill oil with improved oral absorption and hypotriglyceridemic function [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(21): 5352-5358.
- [7] Ilevbare G A, Liu H, Edgar K J, et al. Maintaining supersaturation in aqueous drug solutions: Impact of different polymers on induction times [J]. *Cryst Growth Des*, 2013, 13(2): 740-751.
- [8] Joo K M, Ro L D, Jun J H, et al. Enhanced dissolution and oral absorption of tacrolimus by supersaturable self-emulsifying drug delivery system [J]. *Int J Nanomed*, 2016: 1109-1117.
- [9] Gao P, Akrami A, Alvarez F, et al. Characterization and optimization of AMG 517 super saturatable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) for improved oral absorption [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(2): 516-528.
- [10] Raghavan S L, Trividic A, Davis A F, et al. Crystallization

- of hydrocortisone acetate: Influence of polymers [J]. *Int J Pharm*, 2001, 212(2): 213-221.
- [11] Raut S, Atef E. Characterization of self-emulsifying drug delivery systems using in situ Raman spectroscopy to study the precipitation inhibition mechanism of poorly water-soluble drugs [J]. *J Pharm Innov*, 2018, 1: 1-11.
- [12] Islam M T, Ali E S, Uddin S J, *et al.* Andrographolide, a diterpene lactone from *Andrographis paniculata* and its therapeutic promises in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2018, 420: 129-145.
- [13] Chen C C, Chuang W T, Lin A H, *et al.* Andrographolide inhibits adipogenesis of 3T3-L1 cells by suppressing C/EBP β expression and activation [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2016, 307: 115-122.
- [14] Hua Z, Frohlich K M, Zhang Y, *et al.* Andrographolide inhibits intracellular *Chlamydia trachomatis* multiplication and reduces secretion of proinflammatory mediators produced by human epithelial cells [J]. *Pathog Dis*, 2015, 73: 1-11.
- [15] 肖传学, 高展, 苏娟, 等. 基于质量源于设计(QbD)理念的穿心莲内酯结肠靶向微丸研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(22): 5462-5469.
- [16] Sermkaew N, Ketjinda W, Boonme P, *et al.* Liquid and solid self-microemulsifying drug delivery systems for improving the oral bioavailability of andrographolide from a crude extract of *Andrographis paniculata* [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(3/4): 459-466.
- [17] Sacchetti M, Nejati E. Prediction of drug solubility in lipid mixtures from the individual ingredients [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2012, 13(4): 1103-1109.
- [18] 张南生, 郭虹, 孙卫军, 等. 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 [J]. *中草药*, 2015, 46(23): 3500-3506.
- [19] Shruti V Patel, Sarsvatkumar Patel. Prediction of the solubility in lipidic solvent mixture: Investigation of the modeling approach and thermodynamic analysis of solubility [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, 77: 161-169.
- [20] 龙凯花, 王春柳, 李晔, 等. Box-Behnken 响应面法优化穿心莲内酯自微乳的制备工艺 [J]. *中国药房*, 2018, 29(24): 3372-3375.
- [21] 严敏嘉, 李小芳, 吴超群, 等. 穿心莲内酯过饱和自微乳释药系统的制备及体外评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(10): 8-14.
- [22] Pinto J M O, Leão A F, Riekes M K, *et al.* HPMCAS as an effective precipitation inhibitor in amorphous solid dispersions of the poorly soluble drug candesartan cilexetil [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 184: 199-206.
- [23] Sarode A L, Peng W, Sakae O, *et al.* Supersaturation, nucleation, and crystal growth during single- and biphasic dissolution of amorphous solid dispersions: Polymer effects and implications for oral bioavailability enhancement of poorly water soluble drugs [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2014, 86(3): 351-360.
- [24] Kirubakaran P, Wang K, Rosbottom I, *et al.* Understanding the effects of a polymer on the surface dissolution of pharmaceutical cocrystals using combined experimental and molecular dynamics simulation approaches [J]. *Mol Pharm*, 2020, 17(2): 517-529.
- [25] 赵惠茹, 石大玉, 靖会, 等. 金银花总黄酮自微乳处方的优化 [J]. *中成药*, 2019, 41(10): 2302-2306.
- [26] Bannow J, Yorulmaz Y, Löbmann K, *et al.* Improving the drug load and *in vitro* performance of supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS) using polymeric precipitation inhibitors [J]. *Int J Pharm*, 2020, 575: 118960.
- [27] 曾庆云, 祝婧云, 赵国巍, 等. 固体分散体中药物分散状态测定方法的研究进展 [J]. *中成药*, 2019, 41(1): 146-150.
- [28] Gan Y X, Zhang X, Xu D Q, *et al.* Evaluating supersaturation *in vitro* and predicting its performance *in vivo* with Biphasic gastrointestinal Simulator: A case study of a BCS II B drug [J]. *Int J Pharm*, 2020, 578: 119043.
- [29] Chen Y, Chen C, Zheng J, *et al.* Development of a solid supersaturatable self-emulsifying drug delivery system of docetaxel with improved dissolution and bioavailability [J]. *Biol & Pharm J Bull*, 2011, 34(2): 278-286.
- [30] Han H, Li Y, Peng Z, *et al.* A Soluplus/Poloxamer 407-based self-nanoemulsifying drug delivery system for the weakly basic drug carvedilol to improve its bioavailability [J]. *Nanomedicine*, 2020, 27: 102199.
- [31] Bannow J, Yorulmaz Y, Löbmann K, *et al.* Improving the drug load and *in vitro* performance of supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS) using polymeric precipitation inhibitors [J]. *Int J Pharm*, 2020, 575: 118960.