

共聚维酮-Soluplus 喷雾干燥微球包合肉桂油研究

张焕焕^{1,3}, 王 云^{2,3#}, 张振海^{2,3}, 何丹丹^{2,3*}, 鞠建明^{2,3*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230031

2. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

3. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

摘要: 目的 考察共聚维酮-Soluplus (聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物) 喷雾干燥微球包合肉桂油的适用性, 并传统 β -环糊精包合技术进行比较研究。方法 采用 HPLC 法测定包合物的包封率; 采用透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)、差示扫描量热法(DSC)、X 射线粉末衍射法(XRD) 对包合物进行表征; 采用体外释放试验和加速稳定性试验考察包合物的溶出度和稳定性; 采用药动学和镇痛药效试验考察包合物的生物利用度和药效。结果 空白微球的包封率为 $(98.38 \pm 0.30)\%$, β -CD 的包封率为 $(86.51 \pm 0.52)\%$; TEM 下观察包合物呈现均匀的类球状结构, 分散均匀; SEM 下观察, 包合物为表面有内凹的球形; DSC 图中肉桂油的吸热峰和 XRD 图中衍射峰均消失, 肉桂油以非聚集的形式分散包合于包合物中; 体外溶出实验肉桂油、微球包合物和 β -环糊精包合物累积释放率分别为 97.05%、93.36%、80.26%; 60 °C 加速稳定性显示, 微球包合物挥发油损失率明显低于肉桂油和 β -环糊精包合物; 药动学显示, 肉桂油、微球包合物及 β -环糊精包合物 $AUC_{0-\infty}$ 基本一致; 药效学显示, 3 组肉桂油镇痛率分别为 53.0%、47.5%、21.1%。结论 肉桂油经共聚维酮-Soluplus 喷雾干燥微球包合后增强了其稳定性, 体外释药、生物利用度和镇痛药效与肉桂油基本保持一致, 优于 β -环糊精包合物, 且聚维酮-Soluplus 微球包合物具有较好的水溶性, 为挥发油的包合提供了新方法。

关键词: 肉桂油; 共聚维酮; Soluplus; 微球; β -环糊精; 表征; 生物利用度; 镇痛药效

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)22-5723-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.008

Including preparation of cinnamon oil by vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64-Soluplus spray-dried microspheres

ZHANG Huan-huan^{1,3}, WANG Yun^{2,3}, ZHANG Zhen-hai^{2,3}, HE Dan-dan^{2,3}, JU Jian-ming^{2,3}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China

2. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: Objective To investigate the applicability of the spray-dried microspheres of vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64-Soluplus for inclusion of cinnamon oil (CO) and compare with traditional inclusion technology of β -cyclodextrin. **Methods** HPLC was used to determine the encapsulation rate of inclusion complex. Transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), and X-ray powder diffraction (XRD) were used to characterize the inclusion complex; The dissolution and stability of the inclusion complex was investigated by *in vitro* release test and accelerated stability test; The pharmacokinetic and analgesic efficacy tests were used to examine the bioavailability and efficacy of the inclusion

收稿日期: 2020-07-09

基金项目: 江苏省中医药管理局科技项目 (FY201707); 江苏省药学会奥赛康临床药学科研项目 (A201709); 江苏省研究生培养创新工程研究生科研与实践创新计划项目 (SJCX20_0571)

作者简介: 张焕焕 (1995—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药新剂型新工艺研究。Tel: 18226205402 E-mail: 18226205402@163.com

***通信作者** 鞠建明 (1975—), 男, 研究员, 博士, 主要从事中药新剂型新工艺及中药质量控制研究。

Tel: (025)85639640 E-mail: jjm405@sina.com

何丹丹 (1984—), 女, 副主任中药师, 主要从事中药新剂型新工艺及中药质量控制研究。

Tel: (025)85639640 E-mail: happydandan007@163.com

#共同第一作者 王 云 (1987—), 女, 主管中药师, 主要从事中药药效物质基础研究。Tel: (025)85639640 E-mail: 20190737@njucm.edu.cn

complex. **Results** The encapsulation rate of microsphere inclusion complex and β -cyclodextrin inclusion complex was $(98.38 \pm 0.30)\%$ and $(86.51 \pm 0.52)\%$, respectively. Observation of the inclusion complex under TEM showed a uniform spherical-like structure with uniform dispersion; Observation under SEM showed that the inclusion complex was spherical with a concave surface; The endothermic peak of volatile oil of cinnamon in DSC and the diffraction peak in XRD disappeared. The cinnamon volatile oil was dispersed in the inclusion complex in the form of non-aggregation; The cumulative release rates of cinnamon volatile oil, microsphere inclusion complex and β -cyclodextrin inclusion complex in *in vitro* dissolution experiments were 97.05%, 93.36% and 80.26%, respectively; Accelerated stability test at 60 °C showed that the loss rate of volatile oil of microsphere inclusion complex was significantly lower than that of cinnamon volatile oil and β -cyclodextrin inclusion complex; Pharmacokinetics showed that the $AUC_{0-\infty}$ of cinnamon essential oil, microsphere inclusion complex and β -cyclodextrin inclusion complex were basically the same; Pharmacodynamics showed that the analgesic rates of cinnamon volatile oil in the three groups were 53.0%, 47.5% and 21.1%, respectively. **Conclusion** The stability of cinnamon volatile oil was enhanced by the combination of spray-dried microspheres of vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64-Soluplus. The *in vitro* release, bioavailability and analgesic efficacy of microsphere were basically consistent with the volatile oil of cinnamon volatile oil, and it was superior to the inclusion compound of β -cyclodextrin. The vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64-Soluplus microsphere inclusion compound had better water solubility. This study provides a new method for the inclusion of volatile oil.

Keywords: cinnamon oil; vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64; Soluplus; microspheres; β -cyclodextrin; characterization; bioavailability; analgesic effect

肉桂油 (cinnamon oil) 是从干燥的肉桂皮中提取得到的具有浓郁芳香及特殊香气的挥发油, 外观呈黄色或黄棕色, 其主要成分是桂皮醛^[1]。肉桂油具有解热、镇痛、抗癌、抗菌等多种作用, 同时具有使用后无残留、安全性高等优点。然而, 肉桂油的水溶性较差, 且具有易氧化挥发等挥发油类成分的共性问题, 极大地限制了其在医药、食品等领域的应用发展。目前, 一般采用环糊精包合、多孔材料吸附等方法将挥发油包合固化解决上述问题^[2-4]。但这些方法存在包合工艺复杂、辅料用量大、一些成分在体内释放缓慢、稳定性差、水不溶等不足^[5-6]。

微球是利用高分子天然或合成材料形成骨架型微小球形或类球形微粒, 将药物溶解或分散在微球中^[7]。微球包裹药物后具有掩埋刺激气味, 提高药物稳定性, 增强水溶性等优点^[8-9]。本实验选取共聚维酮 (PVP VA64) 和 Soluplus (聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物) 制备成辅料水溶液, 共聚维酮中的吡咯烷酮结构在水中具有良好的溶解性, 能为难溶性药物提供增溶效果, Soluplus

是一种具有两亲性化学结构的新型固体增溶剂。按照一定比例将二者溶解于水中形成胶束溶液, 采用喷雾干燥方法将其制成固体微球, 其内核为疏水性的, 外表为亲水性的。因此, 用该微球包合挥发油, 既能有效地将挥发油包封于内核中, 又具有较好的水溶性, 见图 1。

本研究采用喷雾干燥技术将胶束溶液制成空白微球 (PSM), 将肉桂油喷入 PSM, 拌匀, 密闭, 肉桂油通过空隙进入微球疏水区域, 制备成微球包合物 (PSM-CO), 并对其进行物相表征、体外溶出度、加速稳定性、药效学和药动学研究, 并与传统 β -环糊精 (β -CD) 包合技术^[10]进行比较研究, 以确定共聚维酮-Soluplus 喷雾干燥微球包合肉桂油的适用性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

JEM-2100F 型透射电子显微镜 (TEM)、JSM-7500F 型扫描电子显微镜 (SEM), 日本 JEOL 公司; TA dsc250 型差示扫描量热 (DSC) 仪, 美国 TA 公

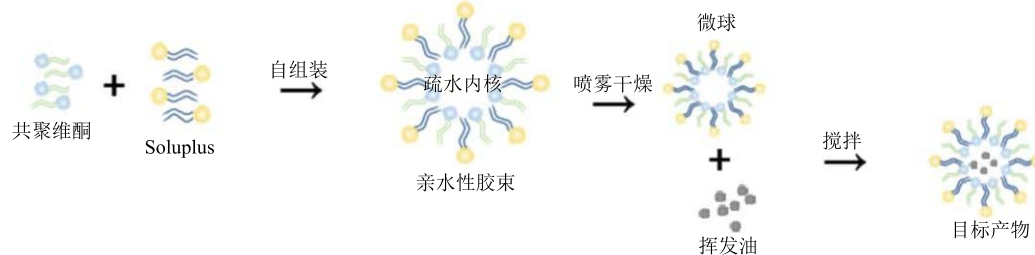


图 1 具有疏水内核的水溶性微球包合挥发油设计图

Fig. 1 Design drawing of water-soluble microsphere inclusion volatile oil with hydrophobic core

司; D/max 2500/PC 转靶 X 射线粉末衍射 (XRD) 仪, 日本理学公司; Waters 高效液相色谱仪, Alliance 2695 四元泵及自动进样系统, 2489 紫外可见光检测器, Empower 色谱工作站, 美国 Waters 公司; AT201 十万分之一天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; SD-1500 喷雾干燥机, 上海沃迪科技有限公司; HH-4 数显恒温搅拌水浴锅, 金坛区西城新瑞仪器厂; KQ-250E 型超声波清洗仪, 昆山超声仪器有限公司; Microfuge-16 离心机, 美国 Beckman Coulter 公司; KS 3000i 控制性恒温摇床, 德国 IKA 公司; Sorvall Legend Micro21R 冷冻离心机, 美国 Thermo 公司; WH-3 微型涡旋混合仪, 上海沪西分析仪器厂; Millipore 纯水仪, 美国 Millipore 公司。

1.2 试剂与药物

对照品桂皮醛 (质量分数 $\geq 99.6\%$, 批号 110710201821)、肉桂酸 (质量分数 $\geq 98.8\%$, 批号 110786-201604)、水杨酸 (质量分数 $\geq 99.3\%$, 批号 110106-201605), 中国食品药品检定研究院; 肉桂油, 质量分数 $\geq 98.4\%$, 批号 170610887X, 南京化学试剂股份有限公司; β -环糊精 (批号 F20050603)、羧甲基纤维素钠, 国药集团化学试剂有限公司; 生理盐水, 江苏亚邦生缘药业有限公司; 共聚维酮 (批号 31842216KO)、Soluplus (批号 20747936WO), 德国 BASF 集团; 水为超纯水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 200~220 g, 动物许可证号: SCXK (沪) 2017-0005, 上海斯莱克实验动物有限责任公司。昆明种雄性小鼠, 体质量 18~22 g, 购自常州卡文斯实验动物有限公司, 动物许可证号: SCXK (苏) 2016-0010。

2 方法

2.1 样品的制备

2.1.1 微球包合物的制备^[11] 微球包合物的制备工艺是在课题组前期优化的基础上确定的, 即取共聚维酮与 Soluplus 质量比为 12:1, 置烧杯中, 加入适量的水, 使辅料水溶液的质量浓度为 0.08 g/mL, 于 70 °C 恒温水浴中搅拌 2.5 h, 制成辅料水溶液, 喷雾干燥 (进风温度 160 °C, 出风温 80 °C, 蠕动泵转速 400 mL/h) 制备空白微球; 将肉桂油喷入空白微球中 (质量比 1:8), 边喷入边搅拌, 密封, 避光放置过夜 (12 h), 即得微球包合物。

2.1.2 β -CD 包合物的制备 称取适量 β -CD 置烧杯

中, 加入一定量的水, 置 60 °C 恒温搅拌水浴锅中搅拌, 制备成饱和水溶液, 按照 β -CD 与肉桂油以质量比 8:1 的比例加入挥发油, 搅拌 1.5 h, 放冷, 置 4 °C 冰箱放置 24 h, 滤过, 取适量石油醚洗涤游离的挥发油, 置 40 °C 烘箱内干燥, 得 β -CD 包合物 (β -CD-CO)^[12]。

2.2 桂皮醛的含量测定

2.2.1 色谱条件^[13] 色谱柱为 Alltima C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水 (65:35); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 290 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μ L; 理论塔板数不低于 6 000。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取桂皮醛对照品 5.79 mg, 置于 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得 231.6 μ g/mL 桂皮醛对照品储备液。精密吸取对照品储备液 2 mL, 置 5 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 依次稀释, 制得质量浓度分别为 4.632、11.58、23.16、46.32、69.48、92.64 μ g/mL 的桂皮醛对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的配制 取微球包合物 10 mg, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至近刻度, 超声 15 min, 取出, 冷却至室温, 再用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 13 000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液, 进样分析。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取上述桂皮醛对照品系列溶液各 10 μ L, 注入 HPLC 色谱仪, 按上述色谱条件进行测定。以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 求得回归方程为 $Y=1.03 \times 10^7 X-3.63 \times 10^3$, $r=0.9999$, 结果表明桂皮醛在 4.632~92.640 μ g/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 包封率测定

取适量微球包合物及 β -CD 包合物, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。按照公式计算微球包合物及 β -CD 包合物的包合率及载药量, 所有样品平行制备 3 份。

包合率 = 包合物中挥发油的含量/挥发油的投料量

载药量 = 包合物中挥发油的含量/(辅料投料量 + 挥发油投料量)

实验结果表明, 空白微球对肉桂油的包封率为 (98.38±0.30)%, 而 β -CD 对肉桂油的包封率为 (86.51±0.52)%, 前者明显高于后者 ($P<0.05$); 微球的载药量为 (10.21±0.04)%, 而 β -CD 的载药量为 (8.92±0.06)%, 前者优于后者 ($P<0.05$)。

2.4 样品表征

2.4.1 TEM 观察 取适量的空白微球粉末和微球包合物溶于水中, 滴于载样铜网上, 在红外光灯下干燥后, 再转移至 TEM 观察其形态。结果(图 2)发现, 微球包合肉桂油前后均呈现均匀的一类球状结构。空白微球的粒径约 3 μm , 包合后粒径变化不大, 二者都是均匀分散的状态。

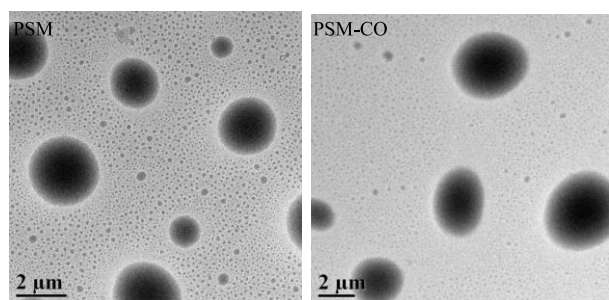


图 2 空白微球与微球包合物的 TEM 图

Fig. 2 TEM of blank microsphere and microsphere inclusion complex

2.4.2 SEM 观察 称取一定量的空白微球、微球包合物、 β -CD 粉末和 β -CD 包合物置于盖玻片上, 在其表面真空镀金 70 s, 固定于铜板上, 再通过 SEM 观察各样品的表面和晶体结构。结果(图 3)发现, 空白微球为表面有内凹的球形, 分散均匀, 与空白微球相比, 微球包合物的形态并无明显差别, 这可能与肉桂油渗透至空白微球内部有关; β -CD 粉末与 β -CD 包合物前后呈现明显差异, β -CD 包合物体积较大, 可能是包合挥发油结块所致。结果表明肉桂油以非聚集状态分散在微球中。

2.4.3 DSC 法分析 分别称取肉桂油、空白微球、

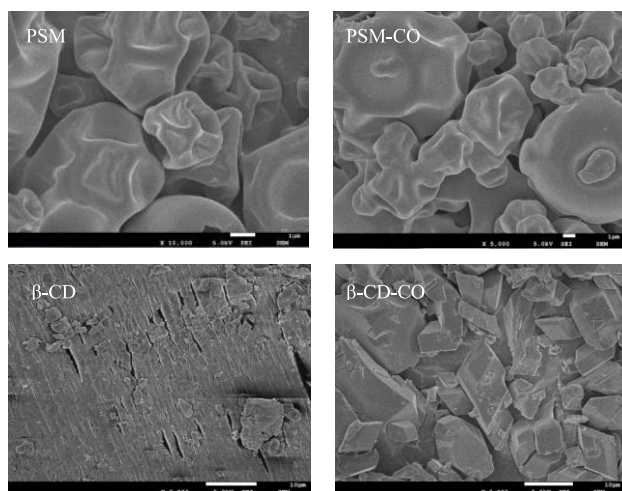


图 3 微球与 β -CD 的 SEM 图

Fig. 3 SEM images of microspheres and β -CD

微球包合物、 β -CD 粉末、 β -CD 包合物和挥发油与 β -CD 物理混合物(1:8) 6 组样品, 每组样品置于铝钳锅中, 以另 1 个空铝钳锅为参比物, 在氮气氛围下, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温, 升温范围 0~250 $^{\circ}\text{C}$, 对上述 6 组样品进行 DSC 分析。

由图 4 可知, 肉桂油在 134.04 $^{\circ}\text{C}$ 有个明显的吸热峰, 可能是挥发油的气化峰。空白微球和微球包合物中, 未见肉桂油的吸热峰, 说明肉桂油以非聚集态的形式分散于微球中, β -CD 的吸热峰在 115 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 而在 β -CD 和肉桂油的物理混合物图中可以看到肉桂油的吸热峰, 肉桂油仍以液态聚集的形式存在。而在 β -CD 包合物中肉桂油的吸热峰消失, 说明肉桂油以非聚集态的形式分散在 β -CD 中。

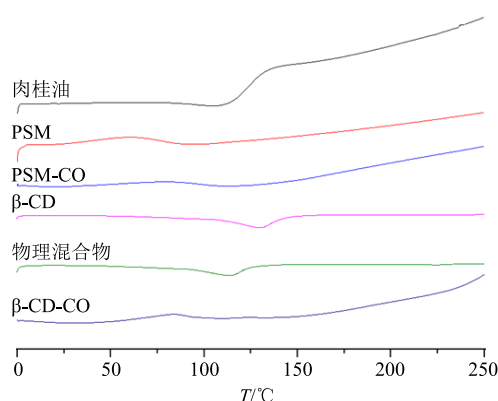


图 4 DSC 图

Fig. 4 Diagrams of DSC

2.4.4 XRD 法分析 测试条件为 Cu 靶(40 kV, 40 mV); 步进扫描: 0.02 $^{\circ}$ /步; 扫描范围: 5 $^{\circ}$ ~90 $^{\circ}$; 扫描速度: 4 $^{\circ}$ /min。分别对空白微球、微球包合物、 β -CD 粉末、 β -CD 包合物和挥发油与 β -CD 物理混合物(1:8) 5 组样品进行 XRD 分析。

由图 5 可知, 空白微球在 13 $^{\circ}$ 左右有强的结晶特征衍射峰, 包合肉桂油后, 其衍射峰消失, 推测是组成的微球辅料的结晶区消失; β -CD 在 5 $^{\circ}$ ~30 $^{\circ}$ 有多个强的结晶特征衍射峰; 物理混合物中仍存在 β -CD 的结晶衍射峰, 说明 β -CD 主要仍以结晶形式存在于物理混合物中; 而在 β -CD 包合物中, β -CD 的晶体衍射峰消失, 说明环糊精包合肉桂油后, 环糊精以非晶形式存在。

2.5 体外释放研究

采用摇床法, 取 pH 7.4 磷酸盐缓冲液加 10%乙醇作为释放介质, 取适量肉桂油、微球包合物和 β -CD 包合物分别放入处理过的透析袋(截留相对分子质量 10 000)中, 透析袋两端用透析夹夹紧至不

渗漏,精密量取释放介质 200 mL 于 250 mL 锥形瓶中,将装药的透析袋移入锥形瓶中,控制温度在 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,转速为 140 r/min,分别于 5、15、30、45、60、120、180 min 取样 3 mL 并补充等量透析介质,13 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,进样,测定桂皮醛的质量浓度,以时间为横坐标,累积释放率为纵坐标,做释放曲线。所有样品平行 3 份。

结果见图 6。肉桂油原料药在 120 min 内累积释放率就已经达到 95.42%,而微球包合物和 β -CD 包合物的累积释放率分别为 86.03%和 76.55%,到 180 min 时微球包合物和 β -CD 包合物累积释放率分别为 93.36%和 80.26%,组间有显著性差异 ($P < 0.05$)。从图 6 中可以直出,肉桂油被包合后释药速度减缓,有一定的缓释作用。到 180 min 时,微球包合物累积释放率与包合前基本一致,但明显高于 β -CD 包合物。

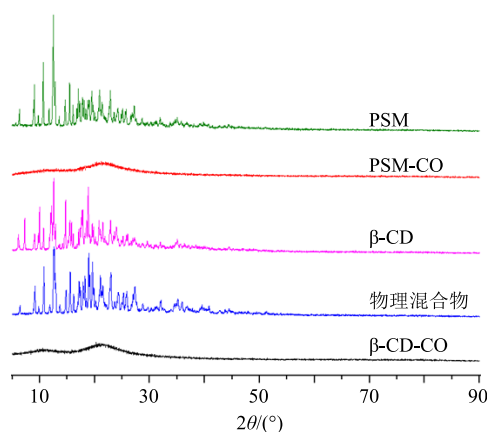


图 5 XRD 图

Fig. 5 Diagrams of XRD

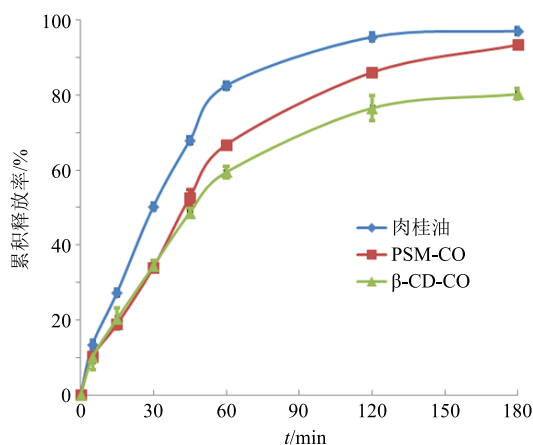


图 6 肉桂油及包合物累积释放曲线

Fig. 6 Cumulative dissolution curve of cinnamon volatile oil and its inclusion complex

2.6 稳定性研究

2.6.1 加速稳定性研究 取适量肉桂油、微球包合物、 β -CD 包合物,置于 60°C 烘箱内加热,于 4、8 h 分别定时取样,按“2.2.4”项下条件测定桂皮醛含量,计算挥发油损失率。 60°C 加速稳定性试验结果表明,肉桂油在 4、8 h 的桂皮醛的损失率分别为 73.35%、78.07%;微球包合物在 4、8 h 的桂皮醛的损失率分别为 4.23%、9.99%; β -CD 包合物在 4、8 h 的桂皮醛的损失率分别为 34.47%、40.54%。肉桂油经微球和 β -CD 包合后,稳定性显著性提高了,且微球包合物的稳定性远远高于 β -CD 包合物。

2.6.2 长期稳定性研究 采用室温留样法考察放置稳定性,取适量肉桂油、微球包合物、 β -CD 包合物,置于室温下避光保存,于 0、1、2、3 个月分别取样,按“2.2.4”项下条件测定桂皮醛含量,计算挥发油损失率。长期稳定性试验结果表明,肉桂油在放置 1 个月后,挥发油已经自由挥发散尽;微球包合物桂皮醛 1、2、3 个月的损失率分别为 33.22%、68.26%、72.33%; β -CD 包合物在 1、2、3 个月的损失率分别为 62.55%、77.67%、88.72%;肉桂油经微球和 β -CD 包合后,放置稳定性得到提高,且微球包合物的放置稳定性高于 β -CD 包合物。

2.7 体内药动学研究

2.7.1 血浆样品的制备 取 SPF 级雄性 SD 大鼠 18 只,随机分为 A、B、C 3 组,每组 6 只。实验前 12 h 禁食,自由饮水。A、B、C 组分别 ig 给予肉桂油原料药、微球包合物和 β -CD 包合物,3 组均混悬于 0.5% CMC-Na 中。实验前大鼠称定质量,按照 50 mg/kg 肉桂油的剂量 ig 给予上述 3 组样品,分别在给药后预定的时间 2、5、15、30、45 min 及 1、2、4、6、8、10 h 在大鼠眼眶静脉丛穿刺采集血液,置 EDTA-K2 抗凝离心管中,在 4°C 下以 4 000 r/min 转速离心 10 min,分离后取上清,置于 -20°C 冰箱中保存备用。

2.7.2 血浆样品中肉桂酸含量测定方法的建立

(1) 色谱条件^[14]: 色谱柱为 AlltimaC₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (62:38); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 278 nm; 柱温 35°C ; 进样量 20 μL ; 理论塔板数不低于 6 000。

(2) 对照品溶液的配制: 精密称取肉桂酸对照品 3.03 mg 于 10 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解,稀释至刻度,制成质量浓度为 0.303 mg/mL 的肉桂

酸母液, 取适量依次稀释成 3.03、30.30、75.80、151.50、303.00 $\mu\text{g/mL}$ 的系列质量浓度对照品溶液。

(3) 内标溶液的配制: 精密称取 5.01 mg 的水杨酸对照品, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇适量使溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 制成 1.002 mg/mL 的内标溶液。

(4) 血浆样品的处理: 精密吸取血浆样品 100 μL , 置于 1.5 mL 离心管中, 加入水杨酸内标溶液 35 μL , 再加入 365 μL 甲醇使样品总体积达 500 μL , 涡旋沉淀蛋白, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 20 μL 进样分析。

(5) 数据分析: 将测得的数据代入线性回归方程, 计算出 3 组样品在不同的时间点血浆中肉桂酸的浓度, 绘制药-时曲线图, 结果见图 7。采用 DAS 2.0 药动学处理软件对各组样品血药浓度-时间数据进行非房室拟合分析, 计算药动学参数。采用 SPSS 26.0 数据处理软件, 对 3 组样品的主要药代动力学参数进行独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 的值显示统计学差异。

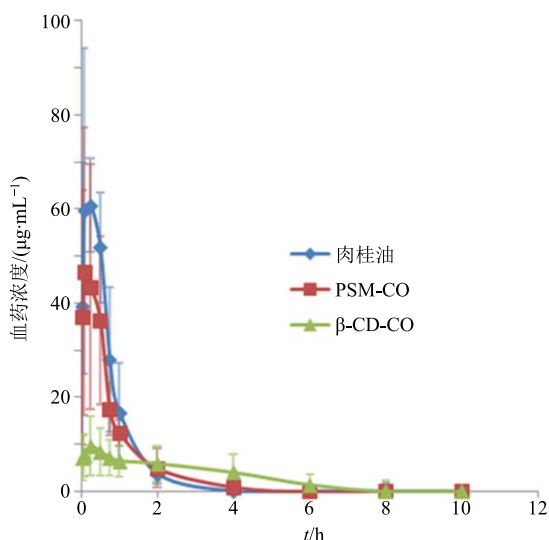


图 7 大鼠血浆中肉桂酸的药-时浓度-时间曲线图

Fig. 7 Plasma concentration-time curve of cinnamic acid in rat plasma

2.7.3 生物利用度研究 肉桂油经微球或 β -环糊精包合后, 达峰时间($T_{\max}$)增加, 消除半衰期($t_{1/2z}$)延长, 延缓了体内的消除速度, $AUC_{0-\infty}$ 值没有发生显著的变化, 表明肉桂油包合后释药延缓, 生物利用度基本不受影响。见表 1。

2.9 镇痛药效比较研究

取昆明种小鼠 50 只, 随机分成 5 组, 每组 10 只, 即空白组(生理盐水组)、阿司匹林组(阳性对

表 1 肉桂油及其包合物主要药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Main pharmacokinetic parameters of cinnamon essential oil and its inclusion complex ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	原料药	微球包合物	β -CD 包合物
$t_{1/2z}$	h	0.361 ± 0.048	$0.883 \pm 0.270^*$	$3.676 \pm 1.004^*$
$T_{\max}$	h	0.278 ± 0.077	0.222 ± 0.088	0.186 ± 0.041
$C_{\max}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	73.84 ± 9.195	51.44 ± 11.66	$12.91 \pm 1.616^*$
AUC_{0-t}	$\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	48.79 ± 5.914	40.31 ± 7.367	32.83 ± 2.851
$AUC_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	51.45 ± 6.012	49.19 ± 7.157	53.14 ± 8.999
$MRT_{0-\infty}$	h	0.588 ± 0.055	$1.225 \pm 0.354^*$	$5.304 \pm 1.463^*$

与原料药组比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs bulk drug group

照组)、微球包合物组、肉桂油组、 β -CD 包合物组, 上述制剂均混悬于 0.5% CMC-Na 中。实验前小鼠称定质量, 分别按照相当于原料药 50 mg/kg 的给药量 ig 给予各组制剂, 空白组以同等体积生理盐水 ig, 每天给药 1 次, 连续给药 7 d。在末次给药后 30 min, 腹腔注射 0.8% 的醋酸溶液 10 mL/kg, 立即计时, 记录小鼠第 1 次发生扭体的时间(即扭体潜伏期)和 15 min 内小鼠发生扭体反应的次数, 并计算镇痛率。扭体反应的典型症状表现为腹部内凹, 躯干与后肢伸张, 臀部高起^[15-16]。

镇痛率 = (对照组平均扭体次数 - 给药组平均扭体次数) / 对照组平均扭体次数

结果见表 3。肉桂油、微球包合物和 β -环糊精包合物均有明显的镇痛作用($P < 0.05$)。微球包合物镇痛率为 47.5%, 与包合前药效基本一致, 但 β -CD 包合物镇痛率仅为 21.1%, 说明肉桂油经微球包合后, 不影响药效的发挥, 经 β -CD 包合后药效影响较大。

4 讨论

研究表明, 挥发油具有易挥发、易氧化、水溶

表 3 肉桂油及其包合物镇痛作用比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Comparison of analgesic effect of cinnamon volatile oil and its inclusion complex ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s	扭体次数	镇痛率/%
空白	—	197.6 ± 8.6	38.3 ± 3.3	—
肉桂油	0.05	$285.4 \pm 10.2^{**}$	$18.0 \pm 0.8^{**}$	53.0
微球包合物	0.05	$289.2 \pm 23.8^{**}$	$20.1 \pm 0.9^{**}$	47.5
β -CD 包合物	0.05	$270.3 \pm 10.6^{**}$	$30.2 \pm 1.3^*$	21.1
阿司匹林	0.05	$303.7 \pm 15.4^{**}$	$6.0 \pm 1.2^{**}$	84.3

与空白组比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs blank group

性差等特点^[17], 传统中药制剂一般采用 β -CD 包合技术来增加其稳定性, 但 β -CD 包合工艺复杂, 包合物水溶性较差, 在口服液或合剂中添加容易产生沉淀^[3,10-11]。多孔材料吸附是增强挥发油稳定性的另外一种技术, 常见的包封材料有多孔材料介孔碳、多孔淀粉、多孔二氧化硅等^[4,12,18], 应用多孔材料固化挥发油虽然包封率高 (接近 100%), 但由于挥发油主要被吸附在多孔材料的表面或孔隙内表面, 容易与空气和水分接触, 长期放置仍可能大幅度降解, 同样存在包合物微粒水溶性不好现象。因此, 研究能够增强挥发油稳定性、包合方法简单、挥发油收率高、包合粉末能溶于水的包合技术及其材料具有较好的应用前景。

本实验创新性地选用高分子材料共聚维酮和 Soluplus 制备骨架型微球, 用来包封肉桂油。该微球内核为疏水性的, 外表为亲水性的, 能有效地将挥发油包封于内核中。与传统 β -CD 包合技术相比, 具有操作简单 (直接喷入挥发油, 搅匀, 密闭即可), 包合物水溶性好的优点, 可以广泛应用到液体制剂中。TEM、SEM、DSC、XRD 等物相表征显示, 肉桂油以非聚集状态分散包封于微球中。加速稳定性结果表明, 微球包合技术能有效地提高肉桂油的稳定性, 其稳定性明显好于 β -CD 包合物。体外释药实验表明, 肉桂油经微球包合后, 释药速度减缓, 但 180 min 时的释药量与包合前基本一直, 明显高于 β -CD 包合物。体内药动学和药效学研究表明, 肉桂油经微球包合后, 生物利用度和药效基本不受影响, 且优于 β -CD 包合物。总之, 共聚维酮-Soluplus 制得的微球能较好地包合肉桂油, 包合物具有较好的水溶性, 包合工艺操作简单, 包封率高, 包合后体外释药量基本不受影响, 体内生物利用度和药效基本一致, 是一种有前景的中药挥发油包合技术。

参考文献

- [1] 赫光中, 果秋婷, 李 昱, 等. 肉桂挥发油提取工艺优化研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(4): 5-8
- [2] Asbahani A E, Miladi K, Badri W, *et al.* Essential oils: From extraction to encapsulation [J]. *Int J Pharm*, 2015, 483(1/2): 220-243
- [3] 李 娜, 刘德旺, 赵红梅, 等. 四味土木香散挥发油的 β -环糊精包合工艺 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 558-563.
- [4] 宁 青, 蒋艳荣, 张振海, 等. 多孔淀粉固化肉桂挥发油的考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 29-32.
- [5] Phunpee S, Ruktanonchai U R, Yoshii H, *et al.* Encapsulation of lemongrass oil with cyclodextrins by spray drying and its controlled release characteristics [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, 81(4): 718-723.
- [6] Shrestha M, Ho T M, Bhandari B R. Encapsulation of tea tree oil by amorphous beta-cyclodextrin powder [J]. *Food Chem*, 2017, 221: 1474-1483.
- [7] 陆新月, 吕慧侠. 微球给药系统载体材料的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(5): 528-536.
- [8] Shi N Q, Zhou J, Walker J, *et al.* Microencapsulation of luteinizing hormone-releasing hormone agonist in poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres by spray drying [J]. *J Control Release*, 2020, 321: 756-772.
- [9] 姚清艳, 王燕清, 朱建华, 等. 微球制剂的研究进展 [J]. 食品与药品, 2018, 20(5): 382-386.
- [10] 韦小翠, 杨书婷, 张 焱, 等. 都梁方中挥发油 β -环糊精包合物的制备 [J]. 中成药, 2019, 41(4): 721-726.
- [11] 张焕焕. 共聚维酮-Soluplus 喷雾干燥微球包合肉桂挥发油的研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [12] 刘 胜, 何丹丹, 刘 艺, 等. 胶态二氧化硅与 β -环糊精固化丁香油比较研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(1): 77-80.
- [13] 刘 威, 李红娟, 张 帅, 等. HPLC 测定不同商品规格桂枝中香豆素、肉桂醇、肉桂酸桂皮醛的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 134-138.
- [14] 陈 瑞, 许 杉, 律立红, 等. 颈舒颗粒中肉桂酸在大鼠体内的药代动力学研究 [J]. 世界临床药物, 2019, 40(3): 170-177.
- [15] 张 洪, 周 月, 李得新. 维吾尔药唇香草挥发油抗炎、止咳、祛痰和镇痛的药效学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(8): 2010-2012.
- [16] 蒋征奎, 李 晓, 罗 彬. 野菊花挥发油抗炎镇痛作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 124-127.
- [17] 焦姣姣, 王雅琪, 熊 优, 等. 2015 年版《中国药典》一部含挥发油类中药的分类及其质量影响因素分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(9): 197-206.
- [18] 严红梅, 贾晓斌, 张振海, 等. 介孔碳吸附挥发油的研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4340-4344.