

Box-Behnken 响应面法优化白藜芦醇 Labrasol/P407 混合胶束处方工艺及体外评价

韩德恩^{1,2}, 申延利¹, 田 萍³, 位恒超¹, 祝侠丽¹, 贾永艳^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南省中药特色炮制技术工程研究中心, 河南 郑州 450046

3. 河南省中医药研究院, 河南 郑州 450004

摘要: 目的 采用 Box-Behnken 响应面法优化白藜芦醇 (resveratrol)-辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (Labrasol)/泊洛沙姆 407 (P407) 混合胶束 (Res-Labrasol/P407-MM) 的处方工艺, 并考察其体外特征。方法 HPLC 法测定白藜芦醇含量。薄膜分散-探头超声法制备 Res-Labrasol/P407-MM。在单因素实验结果的基础上, 以投药量、水化体积和水化温度为考察因素, 胶束样品的质量浓度和药物沉降率为评价指标, 采用 Box-Behnken 响应面法优化处方, 并对最优处方制备的胶束进行外观形态、粒径和体外释放行为评价。结果 最佳处方工艺为白藜芦醇投药量 28 mg, 水化体积 9 mL, 水化温度 40 °C, 在此条件下测得白藜芦醇平均载药量为 (11.62±0.20) %、平均包封率为 (93.96±1.83) %、胶束平均粒径为 (69.00±1.58) nm, 平均 Zeta 电位为 (-21.25±0.18) mV。样品质量浓度和沉降率的实测值与预测值偏差较小, RSD<5.5%。结论 Box-Behnken 响应面法预测性良好, 可以用于优化 Res-Labrasol/P407-MM 的处方工艺。制备的混合胶束包封率高, 粒径小, 分布均匀, 缓释效果明显。

关键词: 白藜芦醇; 混合胶束; 薄膜分散-探头超声法; Box-Behnken 响应面法; 聚合物; Labrasol; P407

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)11-3209-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.11.007

Optimization of resveratrol Labrasol/P407 mixed micelles formulation by Box-Behnken response surface method and its *in vitro* evaluation

HAN De-en^{1,2}, SHEN Yan-li¹, TIAN Ping³, WEI Heng-chao¹, ZHU Xia-li¹, JIA Yong-yan^{1,2}

1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Henan Research Center for Special Processing Technology of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Henan Academy of Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China

Abstract: Objective To optimize the prescription process of resveratrol-Labrasol/P407 mixed micelles (Res-Labrasol/P407-MM) by Box-Behnken response surface method. The characteristics of micelles *in vitro* were investigated. **Methods** The content of resveratrol was determined by HPLC. Res-Labrasol/P407-MM was prepared by thin film dispersion-probe ultrasonic method. Based on the results of single factor experiment, Box-Behnken response surface method was used to optimize the formulation, with the dosage, hydration volume, hydration temperature as the factors, and the concentration of micelles sample and drug sedimentation rate as the evaluation indexes. The morphology, particle size and *in vitro* release behavior of the micelles prepared by the optimal formulation were evaluated. **Results** The optimal formulation process was as follow: the dosage of resveratrol was 28 mg, the hydration volume was 9 mL, and the hydration temperature was 40 °C. Res-Labrasol/P407-MM prepared by the optimum formulation had the average drug loading of (11.62 ± 0.20)%, and the average encapsulation efficiency of (93.96 ± 1.83)%. The average particle size and Zeta potential of micelles was (69.00 ± 1.58) nm and (-21.25 ± 0.18) mV, respectively. RSD of measured and predicted values of sample concentration and settlement rate were less than 5.5%. **Conclusion** Box-Behnken response surface method has good predictability and can be used to optimize the formulation of Res-Labrasol/P407-MM. Mixed micelles have high

收稿日期: 2021-01-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803740); 河南省高等学校重点科研项目 (18A350007)

作者简介: 韩德恩, 男, 博士, 讲师, 主要从事药物代谢动力学和代谢组学。Tel: 13838263583 E-mail: handn@163.com

*通信作者: 贾永艳, 女, 教授, 主要从事药物制剂新剂型、新技术及新药研究。Tel: (0371)65962746 E-mail: hnzyjy@126.com

encapsulation efficiency, small particle size, uniform distribution and obvious slow release effect.

Key words: resveratrol; mixed micelles; thin film dispersion-probe ultrasonic method; Box-Behnken response surface method; polymer; Labrasol; P407

白藜芦醇(resveratrol)是一种天然脂溶性的非黄酮类多酚化合物,广泛存在于葡萄、桑葚、虎杖、决明等多种植物之中^[1]。白藜芦醇具有抗肿瘤^[2-4]、抗氧化^[5]、抗衰老^[6]、保护心血管^[7]等作用,具有很好的药用价值和保健功能。但白藜芦醇在水中的溶解度低、稳定性差、代谢消除快、生物利用度低,严重限制其应用^[8]。研究发现,白藜芦醇是尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(uridine diphosphate glucuronidase transferase, UGT)的底物,在肠道和肝脏发生葡萄糖醛酸化代谢,生成白藜芦醇-葡萄糖苷酸结合物,导致极低的白藜芦醇血药浓度,生物利用度不足 1%^[9-11]。

聚合物胶束具有特殊的“核-壳”结构,可增加药物的溶解度,进一步提高药物的生物利用度,因此被广泛应用于难溶性药物的口服给药系统^[12-14]。然而单一聚合物形成的胶束体系存在载药量低、稳定性差、稀释不稳定等诸多问题^[15-17]。近年来,由不同嵌段聚合物^[18]、聚合物/表面活性剂^[19]或聚离子复合物^[20]组成的混合胶束,发挥多种材料的协同作用,使胶束具有更大的稳定性、更高的载药量和更强的抗稀释能力,引起越来越多的关注。李金凤等^[21]制备的泊洛沙姆 403/407 混合聚合物胶束,提高白藜芦醇溶解度约 197 倍,且具有很强的抗稀释能力和显著的缓释效果,然而目前仍缺乏有效的方法来克服白藜芦醇口服给药的首关代谢效应。辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol)为非离子型表面活性剂,对口服难溶性药物有极强的增溶能力^[22-23]。且已有研究表明,Labrasol 可抑制白藜芦醇葡萄糖醛酸化代谢,提高白藜芦醇的口服生物利用度约 5.6 倍^[24]。泊洛沙姆 407(P407)是一种两亲性的三嵌段共聚物,具有较强的亲水性、良好的生物相容性、低免疫原性等优点,常被用作聚合物胶束或混合胶束的载体材料^[25]。

本实验选用 Labrasol 和 P407 作为载体材料,采用薄膜分散-探头超声法制备 Res-Labrasol/P407 混合胶束(Res-Labrasol/P407-MM),以期望通过胶束增溶与 Labrasol 抑制 UGT 代谢的双重作用提高白藜芦醇的溶解度与生物利用度,从而更好地发挥白藜芦醇的药效作用。采用 Box-Behnken 响应面法优化 Res-Labrasol/P407-MM 的最佳处方,并对其外

观形态、粒径分布、Zeta 电位、体外释放进行评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪,美国沃特世科技(上海)有限公司;MS105DU 十万分之一分析天平,瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司;斜式 N-1100S-W 旋转蒸发仪,埃朗科技国际贸易(上海)有限公司;UPD-II-107 优普系列超纯水机,成都超纯科技有限公司;JY92-IIN 超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;SHA-C 型水浴振荡器,巩义市予华仪器有限公司;HJ-4D 数显恒温测速磁力加热搅拌器,江苏省金坛市友联仪器研究所;VORTEX3 旋涡混匀器,德国 IKA 公司;DZF-6020 型真空干燥箱,宁波江南仪器厂;JW-3021HR 低温高速离心机,安徽嘉文仪器装备有限公司;Nano-ZS90 电位及粒度分析仪,英国马尔文仪器有限公司;Tecna F30 高分辨透射电子显微镜(TEM),荷兰 Philips-FEI 公司;FD-1A50 真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;DSC1 差示扫描量热仪,瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 试剂

Labrasol,批号 N1805070014,南京都莱生物技术有限公司;P407,批号 196801,大连美仑生物技术有限公司;白藜芦醇对照品,批号 wkq180608,质量分数>98%,购自四川省维克奇生物科技有限公司;甲醇、乙腈,美国赛默飞世尔科技有限公司;透析袋 MD25,截留相对分子质量 8000~14 000,北京索莱宝生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 Res-Labrasol/P407-MM 与 Labrasol/P407-MM 的制备

采用薄膜分散-探头超声法制备 Res-Labrasol/P407-MM。精密称取适量白藜芦醇、P407、Labrasol 于 50 mL 圆底烧瓶中,加入 10 mL 甲醇超声使其完全溶解,40 ℃减压旋转蒸发除去甲醇,减压真空干燥 2 h(30 ℃)以除去残留溶剂并形成干燥透明分散薄膜。在 40 ℃水浴条件下水化洗膜 10 min,探头超声(260 W,工作 3 s,间歇 3 s)5 min 使其分散均匀。于 4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液即为蓝色透明

的 Res-Labrasol/P407-MM，同法制备空白胶束 Labrasol/P407-MM (不含白藜芦醇)。按《中国药典》2020 年版甲醇量检测法测定以上样品，甲醇体积分数 < 0.05%。

2.2 白藜芦醇载药量、包封率测定

HPLC 法测定载药胶束中的白藜芦醇含量^[26]。色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长 306 nm; 流动相为甲醇-水 (55:45); 柱温 25 °C; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL。在该条件下理论塔板数大于 3000。

精密量取 Res-Labrasol/P407-MM 溶液 1 mL 于 10 mL 棕色量瓶中，加入甲醇 9 mL，细胞破碎仪超声 2 min (功率 200 W，工作 3 s，间歇 3 s)。吸取超声后甲醇溶液 1 mL 置于低温高速离心机中，15 000 r/min 离心 10 min，取上清液注入 HPLC，测定胶束中白藜芦醇含量，图 1 显示空白胶束对白藜芦醇含量测定无干扰，专属性良好。

取 2 mL 的 Res-Labrasol/P407-MM 溶液置于低温高速离心机中，15 000 r/min 离心 30 min，用蒸馏水超声分散沉淀的胶束，重复离心 3 次，最后用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，分别按如下公式计算包封率和载药量^[27]。

$$\text{包封率} = (W_2 - W_1) / W_2$$

$$\text{载药量} = (W_2 - W_1) / W_3$$

W₁ 为测得的游离白藜芦醇含量，W₂ 为白藜芦醇总投药量，W₃ 为 Res-Labrasol/P407-MM 总量

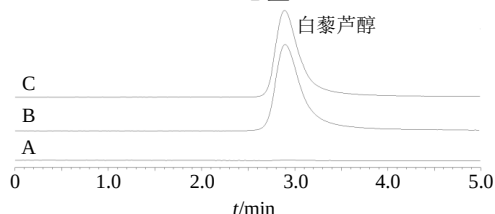


图 1 空白胶束 (A)、白藜芦醇对照品 (B) 和 Res-Labrasol/P407-MM (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank micelle (A), resveratrol (B) and Res-Labrasol/P407-MM (C)

2.3 药物沉降率测定

药物沉降率是指在一定条件下一定时间内从胶束制剂中析出药物的量，用于评价制剂的稳定性^[28]。将所制备的胶束置于 4 °C 下放置 48 h，12 000 r/min 离心 10 min，分离析出的药物，取适量上清液，加甲醇稀释至适当倍数，按“2.2”项下进样测定药物含量，计算药物沉降率。

沉降率 = (新制备胶束中的药物含量 - 放置 48 h 离心后

胶束中的药物含量) / 新制备胶束中的药物含量

2.4 单因素考察

2.4.1 Labrasol 与 P407 的比例考察 载体材料总量为 200 mg，白藜芦醇投药量为 40 mg，甲醇与水化体积均为 10 mL，其他条件同“2.1”项下，考察 P407 占载体材料的质量比分别为 0.25、0.50、0.75 时对粒径、载药量和包封率的影响。结果显示，随着 P407 比例的增大，胶束的粒径逐渐减小但稳定性下降，载药量和包封率均呈现先增加后基本不变的趋势。综合考虑各因素，当 Labrasol 与 P407 比例为 1:1 时，得到的胶束粒径较小，载药量和包封率较高，且样品稳定性良好。因此，确定 Labrasol 与 P407 比例为 1:1 进行后续 Box-Behnken 响应面法实验。

2.4.2 投药量考察 固定载体材料 Labrasol 与 P407 均为 100 mg，甲醇与水化体积均为 10 mL，其他条件同“2.1”项下，考察白藜芦醇投药量为 30、35、40、45 mg 时对粒径、载药量和包封率的影响。结果显示，随着投药量增加，胶束粒径和载药量随投药量的增加而增大，包封率随投药量的增大而减小；当投药量为 45 mg 时，胶束的包封率急剧下降，载药量也有所减小。综合以上考察，将投药量 20~40 mg 设为待优化项进行 Box-Behnken 响应面法实验。

2.4.3 旋蒸温度考察 固定载体材料 Labrasol 与 P407 均为 100 mg，白藜芦醇投药量为 30 mg，甲醇与水化体积均为 10 mL，其他条件同“2.1”项下，考察 30、40、50、60 °C 水浴条件对粒径、载药量和包封率的影响。结果显示，旋蒸温度对胶束粒径、载药量和包封率影响不大；但旋蒸温度为 60 °C 时，载药量和包封率明显减小。综合考虑，确定旋蒸温度为 40 °C 进行后续 Box-Behnken 响应面法实验。

2.4.4 水化洗膜温度考察 固定载体材料 Labrasol 与 P407 均为 100 mg，Res 投药量为 30 mg，甲醇与水化体积均为 10 mL，其他条件同“2.1”项下，考察 30、40、50、60、70 °C 水浴条件对粒径、载药量和包封率的影响。结果显示，随着水化温度的提高，胶束粒径变化不大，载药量和包封率逐渐增大；但到 70 °C 时，载药量和包封率开始下降。因此，将 40~60 °C 设为待优化项进行 Box-Behnken 响应面法实验。

2.4.5 水化体积考察 固定载体材料 Labrasol 与 P407 均为 100 mg，白藜芦醇投药量为 40 mg，甲醇为 10 mL，其他条件同“2.1”项下，考察水化体积分别为 8、10、12 mL 时对粒径、载药量和包封率

的影响。结果显示,水化体积对粒径、载药量和包封率的影响较大;随着水化体积的增加,胶束粒径逐渐减小,载药量和包封率逐渐增加。因此将 8~12 mL 的水化体积作为待优化项进行 Box-Behnken 响应面法实验。

2.5 Box-Behnken 响应面法优化处方

在单因素实验结果的基础上选择投药量 (X_1)、水化体积 (X_2) 和水化温度 (X_3) 为考察因素,低、中、高 3 个水平,以胶束样品的质量浓度 (Y_1) 和药物沉降率 (Y_2) 为评价指标进行 Box-Behnken 响应面法实验设计^[29]。Box-Behnken 试验设计方案和结果见表 1。

表 1 Box-Behnken 响应面法实验设计及结果

Table 1 Design and results of Box-Behnken response surface method

试验号	X_1/mg	X_2/mL	$X_3/^\circ\text{C}$	$Y_1/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$Y_2/\%$
1	30	12	60	2.11	9.66
2	30	12	40	2.23	8.79
3	30	8	40	3.69	15.71
4	20	8	50	2.48	12.43
5	40	8	50	4.50	54.78
6	40	10	40	3.56	50.03
7	20	12	50	1.51	0.38
8	20	10	40	1.84	1.10
9	20	10	60	1.64	19.20
10	30	10	50	2.55	11.05
11	30	8	60	3.47	17.80
12	30	10	50	2.67	3.13
13	40	12	50	3.12	50.10
14	40	10	60	3.41	47.54
15	30	10	50	2.67	11.50

通过 Design-Expert 8.0.6 软件,对表 1 数据进行多元回归拟合,得到 2 项式拟合方程。 F 值与相关系数 (R^2) 结果表明方程的拟合效果准确可靠,使用模拟方程代替真实的实验点进行结果预测是可行的,2 项式拟合方程如下: $Y_1=2.63+0.89 X_1-0.65 X_2-0.086 X_3-0.10 X_1X_2+0.013 X_1X_3+0.025 X_2X_3+5.003 X_1^2+0.27 X_2^2-0.022 X_3^2$, $F=140.79$, $R^2=0.989 0$; $Y_2=8.56+21.17 X_1-3.94 X_2+2.36 X_3+1.84 X_1X_2-5.15 X_1X_3-0.23 X_2X_3+18.63 X_1^2+2.23 X_2^2+2.28 X_3^2$, $F=31.41$, $R^2=0.951 3$ 。

回归模型的方差分析结果见表 2。 $P<0.05$ 表明考察因素对于响应值具有显著性。进一步分析各方

表 2 回归模型方差分析

Table 2 Variance analysis of regression model

方差来源	Y_1	Y_2	方差来源	Y_1	Y_2
X_1	<0.000 1	<0.000 1	X_2X_3	0.598 8	0.918 4
X_2	<0.000 1	0.047 9	X_1^2	0.918 3	0.000 4
X_3	0.040 9	0.179 1	X_2^2	0.002 2	0.361 9
X_1X_2	0.069 7	0.427 8	X_3^2	0.647 9	0.353 1
X_1X_3	0.790 2	0.060 9			

程中的各项, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_2^2 对 Y_1 有显著性影响; X_1 、 X_2 、 X_1^2 对 Y_2 有显著性影响。应用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制不同考察因素对于各响应值的 3D 响应面图。3D 响应面图可用来评价各考察因素之间的交互作用以及确定各因素的最佳范围。不同考察因素对 Y_1 、 Y_2 的影响结果如图 2 所示。综合考虑上述 Box-Behnken 模型拟合与分析结果,期望得到质量浓度较大同时沉降率较小的白藜芦醇混合胶束。通过 Design-Expert 8.0.6 软件的优化模块得到白藜芦醇混合胶束的最优处方为白藜芦醇投药量 28 mg, 水化体积 9 mL, 水化温度 40 $^\circ\text{C}$; 预测样品质量浓度为 2.91 mg/mL, 沉降率为 6.66%, 载药量为 11.58%, 包封率为 93.54%。

2.6 最优处方的验证试验

按照上述最优处方条件制备 3 批 Res-Labrasol/P407-MM, 测定白藜芦醇质量浓度、沉降率、胶束粒径, 根据白藜芦醇浓度计算载药量和包封率。结果见表 3, 平均载药量为 11.62%、平均包封率为 93.96%、胶束平均粒径为 69.00 nm, 样品质量浓度和沉降率的实测值与预测值偏差较小, RSD 在 5.5% 以内, 表明模型预测性良好, 制备工艺稳定。

2.7 Res-Labrasol/P407-MM 胶束的表征

2.7.1 粒径分析 取 Res-Labrasol/P407-MM 胶束溶液 5 mL, 适当稀释, 采用 Nano ZS90 电位及粒度分析仪测定胶束的粒径、聚合物分散性指数 (PDI) 及 Zeta 电位 (图 3)。Res-Labrasol/P407-MM 胶束平均 Zeta 电位为 (-21.25 ± 0.18) mV, 平均粒径为 (69.00 ± 1.58) nm, PDI 为 0.25 ± 0.03 。结果表明, 胶束带负电荷, 且粒径分布均匀。

2.7.2 微观形态观察 胶束外观见图 4-a, 白藜芦醇混悬液 (左) 明显有悬浮药物颗粒和药物沉淀; Res-Labrasol/P407-MM (右) 可见溶液呈蓝色乳光, 澄清透明。TEM 观察胶束粒子形态。将 Res-Labrasol/P407-MM 溶液适当稀释后滴至铜网上, 晾干后用

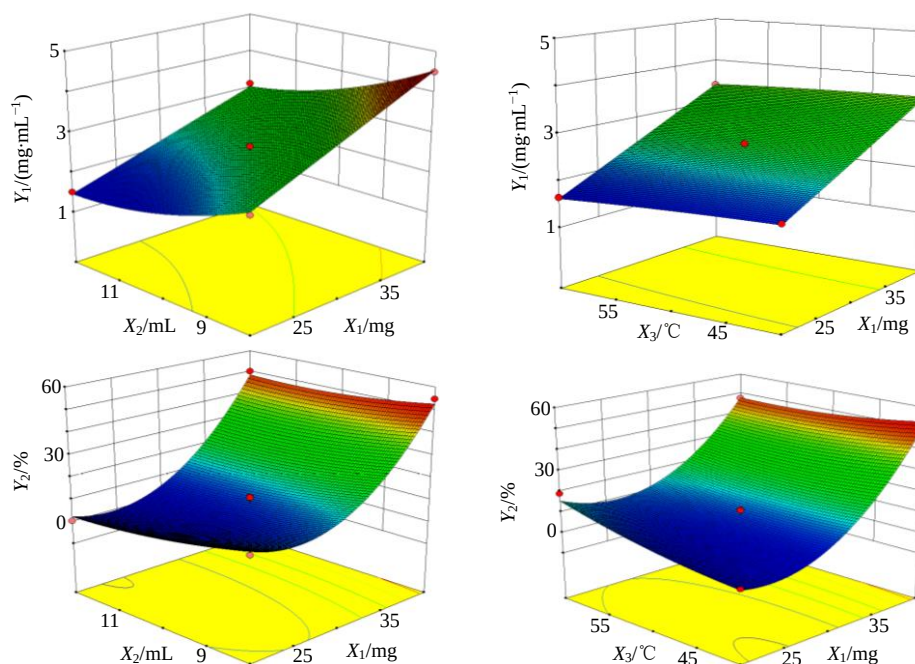


图 2 各因素对考察指标的效应面图

Fig. 2 Effects of factors on response surface

表 3 最优处方的验证试验

Table 3 Three batches samples for verification of optimized formulation

验证样品	样品质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	沉降率/%	粒径/nm	载药量/%	包封率/%
1	2.94	6.20	67.23	11.68	94.50
2	2.86	6.35	70.25	11.40	91.93
3	2.97	6.87	69.53	11.79	95.46
平均值	2.92±0.06	6.47±0.35	69.00±1.58	11.62±0.20	93.96±1.83
RSD/%	1.95	5.43	2.29	1.73	1.94

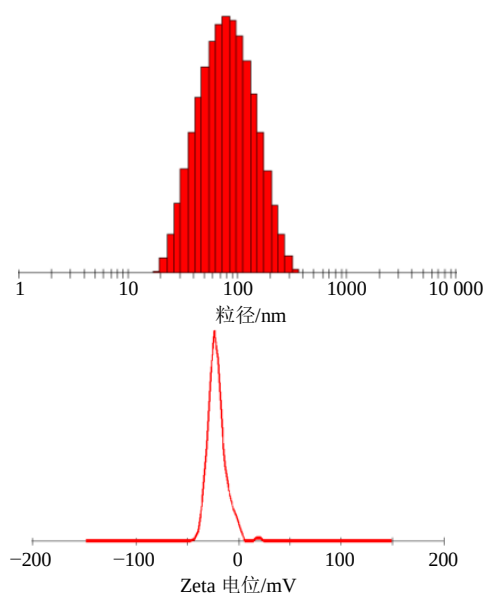


图 3 载药胶束粒径分布 (a) 与 Zeta 电位 (b)

Fig. 3 Particle size distribution (a) and Zeta potential (b) of resveratrol micelles

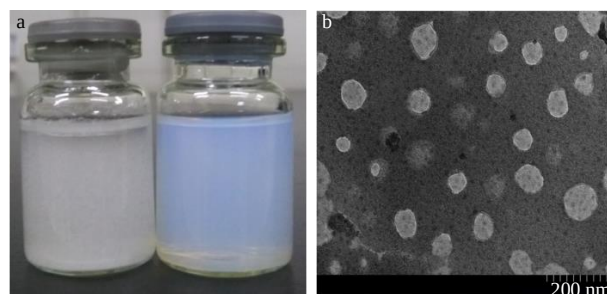


图 4 载药胶束外观 (a) 和透射电镜 (b) 图

Fig. 4 Appearance (a) and TEM image (b) of resveratrol micelles

2%磷钨酸染色, 染色 15 s 后吸取多余的溶液, 自然晾干, TEM 观察, 结果见图 4-b, 载药胶束呈类球形, 大小均匀, 并具有胶束经典的核-壳结构。

2.8 Res-Labrasol/P407-MM 体外释放

采用动态透析法研究 Res-Labrasol/P407-MM 的体外释放行为。取 2 mL 载药胶束溶液置于透析袋中 (截留相对分子质量为 8000~12 000), 将透析

袋密封后分别置于装有 150 mL 人工胃液和人工肠液中的锥形瓶中。白藜芦醇在水中的溶解度极低,为保证释放药物在释放介质中能够被完全溶解,本实验人工胃液和人工肠液含有 0.5%聚山梨酯-80。置于 37 ℃、100 r/min 水浴摇床中震荡,0.5、1、2、4、6、8、10、12、24 h 取样 2 mL,并及时补加等体积等温度的释放介质。用相同的方法测定 3 次,绘制胶束体外累积释药曲线(图 5)。结果显示,白藜芦醇混悬液在 4 h 时释放达到 76%,Res-Labrasol/P407-MM 在 12 h 处释放达到最大 88%,之后释药量略微增加,缓慢释放达到 24 h。表明 Res-Labrasol/P407-MM 具有明显的缓释效应。

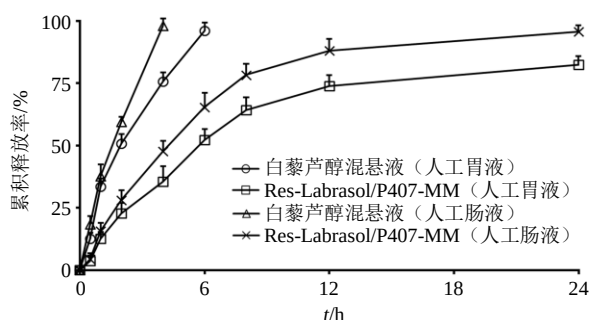


图 5 白藜芦醇体外释放曲线 ($n = 3$)

Fig. 5 *In vitro* release curves of resveratrol ($n = 3$)

3 讨论

制备胶束常用的方法有薄膜分散法、直接溶解法、乳化-溶剂挥发法、透析法、微相分离法等。薄膜分散法制备过程简单易操作,重现性好,所得胶束载药量和包封率较高。将水化液进行探头超声处理,载药通过疏水作用吸附于材料疏水段,将药物包载其中,进一步发生链间纠缠,缔合形成稳固结构的胶束。超声能够极大程度地将水化液分散成较小的纳米粒子,得到粒径小且分布均匀的混合胶束。纳米颗粒的粒径是评价药物制剂的关键指标之一,口服聚合物纳米颗粒粒径通常小于 100 nm。本研究采用薄膜分散-探头超声法制备白藜芦醇聚合物混合胶束,粒径约 69 nm,符合胶束制剂要求。

在制备过程中,首先通过单因素试验考察非连续变量载体材料比例和成膜温度,确定 Labrasol/P407 比例为 1:1,成膜温度为 40 ℃。采用 Box-Behnken 响应面法优化对胶束制备工艺影响较大的因素,投药量、水化体积和水化温度,得到最优的处方制备工艺。在 Box-Behnken 设计处方优化实验中,改用样品浓度、沉降率为评价指标,而未将包封率、载药量、粒径作为指标,原因在于:在单因

素考察实验中发现,制备得到的胶束粒径均较小且分布均匀,包封率及载药量均较高。而本研究的关键是要得到增溶倍数高、稳定性好的胶束体系,因此直接以样品浓度和沉降率为评价指标,更便于筛选出符合要求的最优处方。样品浓度的高低直接反映白藜芦醇溶解度的提高倍数,沉降率则直接反映胶束的稳定性。浓度越大,沉降率越小,则得到的胶束制剂溶解度越大,稳定性越好。

采用动态透析法考察载药胶束的体外释放行为。白藜芦醇是从植物中提取分离出的天然产物,水溶性极差^[30],难以达到释放的漏槽条件,经文献调研^[31]及实验考察,本实验人工胃液和人工肠液含有 0.5%聚山梨酯-80。体外释放曲线可知,Res-Labrasol/P407-MM 具有显著的缓释效果。缓释效果可能是由于白藜芦醇的多羟基与载体材料结构上的羰基形成了氢键,致使药物从胶束的疏水核心扩散到释放介质的过程更加缓慢,保证药物不发生严重渗漏,从而达到持续给药、提高药物吸收量的目的。

综上所述,本研究通过单因素实验与 Box-Behnken 响应面法实验得到 Res-Labrasol/P407 的最优处方,成功制备了载药胶束,与白藜芦醇混悬液相比具有明显缓释特征。后继本课题组采用外翻肠囊法评估 Res-Labrasol/P407-MM 对白藜芦醇葡萄糖醛酸化代谢的影响,并探讨其在大鼠体内的药动学过程。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李先宽,李赫宇,李帅,等. 白藜芦醇研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2568-2578.
- [2] Jang M, Cai L, Udeani G O, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. *Science*, 1997, 275(5297): 218-220.
- [3] Ko J H, Sethi G, Um J Y, et al. The role of resveratrol in cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): E2589.
- [4] 张黎媛. 白藜芦醇及其代谢产物与类似物抗癌转移作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4346-4352.
- [5] Farkhondeh T, Folgado S L, Pourbagher-Shahri A M, et al. The therapeutic effect of resveratrol: Focusing on the Nrf2 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110234.
- [6] Wang N, Luo Z W, Jin M, et al. Exploration of age-related mitochondrial dysfunction and the anti-aging

- effects of resveratrol in zebrafish retina [J]. *Aging*, 2019, 11(10): 3117-3137.
- [7] Cheng C K, Luo J Y, Lau C W, *et al.* Pharmacological basis and new insights of resveratrol action in the cardiovascular system [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(6): 1258-1277.
- [8] Amri A, Chaumeil J C, Sfar S, *et al.* Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations? [J]. *J Control Release*, 2012, 158(2): 182-193.
- [9] 王丽岩, 谭爱萍, 赵姗, 等. 人尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UGT)亚型参与反式-白藜芦醇体外代谢的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 524-528.
- [10] Rotches-Ribalta M, Urpi-Sarda M, Llorach R, *et al.* Gut and microbial resveratrol metabolite profiling after moderate long-term consumption of red wine versus dealcoholized red wine in humans by an optimized ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1265: 105-113.
- [11] Walle T. Bioavailability of resveratrol [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1215: 9-15.
- [12] 李因文, 田润, 王晓红, 等. 聚合物胶束纳米药物的研究进展 [J]. 高分子材料科学与工程, 2020, 36(1): 167-174.
- [13] 梁宇飞, 张欣欣, 许洁, 等. 星点设计-效应面法优化姜黄素-胡椒碱聚合物复方胶束的处方工艺研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 43-50.
- [14] 张壮丽, 王纪芬, 汪婉莹, 等. 鱼腥草挥发油聚合物胶束的制备 [J]. 中成药, 2019, 41(7): 1490-1495.
- [15] Sun C Y, Li W J, Ma P, *et al.* Development of TPGS/F127/F68 mixed polymeric micelles: Enhanced oral bioavailability and hepatoprotection of syringic acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 137: 111126.
- [16] Tasca E, Giudice A D, Galantini L, *et al.* A fluorescence study of the loading and time stability of doxorubicin in sodium cholate/PEO-PPO-PEO triblock copolymer mixed micelles [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 540: 593-601.
- [17] Fares A R, ElMeshad A N, Kassem M A A. Enhancement of dissolution and oral bioavailability of lacidipine via pluronic P123/F127 mixed polymeric micelles: Formulation, optimization using central composite design and *in vivo* bioavailability study [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 132-142.
- [18] 宗蕊, 王翠, 郭童林, 等. 槲皮素 Pluronic P123/Poloxamer 188 混合胶束体外释放和药代动力学研究 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 246-250.
- [19] 朱君君, 沈成英, 王镜, 等. 甘草酸-F127/TPGS 混合纳米胶束的制备及其大鼠在体肠吸收研究 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1845-1851.
- [20] 李忠孝, 金百治. 荷载雷公藤红素的甘氨酸胆酸钠/DSPE-mPEG 2000 仿生混合胶束体内外抗前列腺肿瘤研究 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1423-1429.
- [21] 李金凤, 高明月, 王慧敏, 等. 载白藜芦醇泊洛沙姆 403/407 混合胶束的制备及其体外性质 [J]. 药学学报, 2015, 50(8): 1045-1051.
- [22] Ghassemi S, Haeri A, Shahhosseini S, *et al.* Labrasol-enriched nanoliposomal formulation: Novel approach to improve oral absorption of water-insoluble drug, carvedilol [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2018, 19(7): 2961-2970.
- [23] 龙华丽, 张钧寿, 张瑛. 聚乙二醇脂脂肪酸甘油酯在药理学上的应用 [J]. 药学进展, 2004, 28(6): 262-266.
- [24] Zhou J, Zhou M, Yang F F, *et al.* Involvement of the inhibition of intestinal glucuronidation in enhancing the oral bioavailability of resveratrol by labrasol containing nanoemulsions [J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(4): 1084-1095.
- [25] Akash M S, Rehman K. Recent progress in biomedical applications of Pluronic (PF₁₂₇): Pharmaceutical perspectives [J]. *J Control Release*, 2015, 209: 120-138.
- [26] 王建泽, 颜仁梁, 王兴荣, 等. 白藜芦醇纳米乳的制备及大鼠体内的药动学研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2319-2324.
- [27] 管庆霞, 夏昭睿, 王艳宏, 等. 包载马钱子碱聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒处方工艺优化及其特性研究 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 951-961.
- [28] Duan Y W, Zhang B M, Chu L J, *et al.* Evaluation *in vitro* and *in vivo* of curcumin-loaded mPEG-PLA/TPGS mixed micelles for oral administration [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 141: 345-354.
- [29] 杨凯, 马子豪, 李源, 等. Box-Behnken 响应面法优化白及多糖/聚乙烯醇湿法纺丝工艺及纤维性能评价 [J]. 中草药, 2020, 51(14): 3645-3654.
- [30] Spogli R, Bastianini M, Ragonese F, *et al.* Solid dispersion of resveratrol supported on magnesium Dihydroxide (Resv@MDH) microparticles improves oral bioavailability [J]. *Nutrients*, 2018, 10(12): E1925.
- [31] Dou J F, Zhang H Q, Liu X J, *et al.* Preparation and evaluation *in vitro* and *in vivo* of docetaxel loaded mixed micelles for oral administration [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 114: 20-27.

[责任编辑 郑礼胜]