

山柰挥发油自微乳化颗粒的制备与评价

刘冬榕¹, 吴欣颖¹, 刘锐萍¹, 梁达均¹, 陈求芳¹, 徐万帮^{2*}, 时 军^{1,3*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 广东省药品检验所 广东 广州 510663

3. 广东省局部精准递药制剂工程技术研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 目的 制备山柰 *Kaempferia galanga* 挥发油自微乳化固体颗粒, 优化其工艺, 并对其质量进行评价。方法 通过溶解度考察和伪三元相图优选出制备山柰挥发油自微乳的辅料及其质量比范围; 采用星点设计-响应面法建立模型并验证, 优化自微乳处方; 对自微乳颗粒进行结构表征, 并进行体外溶出度实验, 对其质量进行评价。结果 山柰挥发油自微乳最佳配方为油相占比 29.04%, 乳化剂占比 59.13%, 助乳化剂占比 11.82%, 以甘露醇和蔗糖 3:1 为固体吸附剂, 制备得到的山柰挥发油自微乳颗粒外观圆整, 无黏连, 微乳类型为水包油型 (O/W), 自乳化平均用时 (37.02 ± 2.95) s, 粒径大小分布均匀, 平均粒径为 (89.11 ± 1.74) nm, 分散系数 PDI 值为 0.252 ± 0.090 , ζ 电位为 (-11.71 ± 1.23) mV。颗粒在室温下密封储存 30 d, 粒径和含量无明显变化, 其胶囊在 30 min 可释放 90% 以上药物。结论 所制备的山柰挥发油自微乳化颗粒外观圆整, 自乳化效率高, 微乳粒径分布均匀, 有良好的体外释放性和稳定性。

关键词: 山柰挥发油; 自微乳化颗粒; 伪三元相图; 星点设计-响应面法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)16-5196-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.16.008

Preparation and evaluation of self-microemulsion solids of *Kaempferia galanga* volatile oil

LIU Dong-rong¹, WU Xin-ying¹, LIU Rui-ping¹, LIANG Da-jun¹, CHEN Qiu-fang¹, XU Wan-bang², SHI Jun^{1,3}

1. School of Chinese Material Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510663, China

3. Guangdong Engineering & Technology Research Center of Topical Precise Drug Delivery System, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To prepare *Kaempferia galanga* volatile oil self-microemulsion solids, optimize its process, and evaluate its quality. **Methods** Solubility investigation and pseudo ternary phase diagram were applied to screen the excipients and their mass ratio range for preparing volatile oil self-microemulsion of *K. galanga*. Then, using central composite design-response surface methodology to establish the model and validate it to optimize the formulation of self-microemulsion. Lastly, the structure of the self-microemulsion solids prepared under the optimized formulation was characterized, and *in vitro* dissolution experiments were conducted, in order to evaluate its quality. **Results** The optimum formula of volatile oil self-microemulsion of *K. galanga* was oil phase of 29.04%, emulsifier of 59.13% and co-emulsifier of 11.82%. The volatile oil self-microemulsion solids of *K. galanga* were prepared by using mannitol and sucrose as solid adsorbent with mass ratio of 3:1. The particles were rounded in appearance and non-adhesive, the microemulsion was oil in water (O/W), the average self-emulsifying time was (37.02 ± 2.95) s, the average particle size was (89.11 ± 1.74) nm, the dispersion coefficient of PDI was 0.252 ± 0.090 , and the ζ potential was (-11.71 ± 1.23) mV. The pellets were stored for 30 d at room temperature in a sealed container with no significant change in particle size or content, and the capsules released more than 90% of the drug in 30 min. **Conclusion** The prepared *K. galanga* volatile oil self-microemulsion solids have a round appearance, high self-emulsification efficiency, uniform particle size distribution, and good *in vitro* release and stability.

收稿日期: 2023-04-14

基金项目: 全国中医药创新骨干人才培养项目 (国家中医药管理局) [国中医药人教函 (2019) 128 号]

作者简介: 刘冬榕 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂研究与开发。Tel: 18138108479 E-mail: liudongrong1117@163.com

*通信作者: 时 军 (1980—), 男, 博士, 教授, 研究方向为纳米经皮给药系统及癍痕的中医药防治研究。E-mail: shijun8008@163.com

徐万帮 (1979—), 男, 博士, 副主任中药师, 研究方向为中药外源性污染与中药标准体系研究。E-mail: wbxu@163.com

Key words: *Kaempferia galanga* volatile oil; self-microemulsion solids; pseudo ternary phase diagram; central composite design-response surface methodology

山柰 *Kaempferia galanga* L. 为姜科山柰属植物山柰 *Kaempferia* L. 的根茎, 又名沙姜、三柰、山辣等, 性温热, 味辛辣, 可行气、温中、止痛, 常用于胸腹胀满、腹中冷痛、寒湿吐泻、牙痛及风湿痹痛等证^[1]。山柰不仅是岭南地区常用的食材调味料, 民间还常用其治疗消化不良、胃肠炎、风湿性疾病、关节骨折等^[2-3], 是六味安消胶囊、健胃十味丸、参三七伤药片、伤湿止痛膏等^[1,4-6]中成药的重要组成部分。据《中国药典》2020 年版记载, 山柰的挥发油含量不低于 4.5%, 对甲氧基肉桂酸乙酯是挥发油的主要成分, 此外, 挥发油中还含有桉叶醇、冰片醇、正十三烷、香烯、乙基肉桂酸、乙基对甲氧基肉桂酸等化学成分^[7]。现代药理学研究表明, 山柰挥发油具有抗菌、抗氧化、抗炎、镇痛等药理活性^[3,8-9]。然而, 山柰挥发油易挥发、不稳定, 难溶于水, 直接给药生物利用度低, 不利于药理作用的发挥, 导致其在临床上未能被广泛且高效应用。

自微乳化给药系统 (self-microemulsifying drug delivery systems, SMEDDS) 是油、亲水性乳化剂和助乳化剂的均一液体, 具有热力学稳定性, 在胃肠道和温和搅拌下可自发乳化成粒径小于 100 nm 的液滴^[10-11]。SMEDDS 具有稳定性高、黏度低、制备简单等优点, 可用于提高难溶性药物的溶解度与生物利用度^[12], 如白藜芦醇、葛根异黄酮、鱼腥草精油等^[10,13-14]。本实验通过绘制伪三元相图、星点设计-效应面法 (central composite design-response surface methodology, CCD-RSM) 筛选制备山柰挥发油 SMEDDS 的最佳处方, 并将其制备成固体颗粒进行质量评价与体外溶出度研究, 以评估自微乳化颗粒是否具有良好的稳定性与体外释放性。制成的自微乳颗粒不仅可改善山柰挥发油不稳定的现状, 而且可使其兼具自微乳化的优势, 后续还可制成片剂、丸剂或胶囊等多种剂型, 有利于山柰挥发油的长期储存, 方便其临床应用。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Dionex UltiMate 3000 型高效液相色谱仪, 美国赛默飞世尔科技公司; L420-A 型低速离心机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司; MS-H-pro 型磁力搅拌器, 美国赛洛捷克公司; Vortex Mixer QL-866 型旋涡混合仪, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司;

BSA124S 型万分之一天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; SHA-B 型水浴恒温振荡器, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; Delos Nano C 型激光粒度电位仪, 美国 Beckman Coulter 公司。

1.2 试剂与药品

山柰挥发油, 实验室自制; 对甲氧基肉桂酸乙酯 (ethyl-*p*-methoxycinnamate, EPMC) 对照品, 质量分数 >98%, 批号 PS020197, 成都普思生物科技有限公司; 司盘 60、80 及聚乙二醇 (PEG) 200、400, 天津大茂化学试剂厂; 甘露醇, 聚维酮 K30, 聚山梨酯 40、60、80 (T80), PEG 4000、6000, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 无水乙醇, 天津市致远化学试剂有限公司; 丙三醇, 天津市百世化工有限公司; 1,2-丙二醇, 天津市致远化学试剂有限公司; 甲醇, 色谱纯, 瑞典 Oceanpak 公司。

2 方法与结果

2.1 山柰挥发油自微乳的制备

固定总体系为 1 g, 按油相 29.04%、乳化剂 59.13%、助乳化剂 11.82% 的占比制备山柰挥发油自微乳。将乳化剂与助乳化剂涡旋混合均匀, 得到混合乳化剂。随后, 再将混合乳化剂与山柰挥发油涡旋混匀, 形成黄色均匀的澄清液体, 即得。

2.2 含量测定方法的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 参照《中国药典》2020 年版中山柰挥发油含量检测方法^[1], 以 EPMC 为指标成分, 精密称取 EPMC 对照品 4.20 mg, 加甲醇溶解并定容至 10 mL, 制得质量浓度为 411.60 μg/mL 的对照品储备液, 0~4 °C 贮藏, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取 0.3 g 山柰挥发油自微乳颗粒于 10 mL 量瓶中, 加适量甲醇超声 10 min, 冷却至室温后, 再加甲醇稀释至刻度, 摇匀。精取 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.2.3 色谱条件 采用 Cosmosil 5C₁₈-MS-II 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (60:40); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 309 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL; 每个样品运行时间均为 15 min。理论板数按 EPMC 峰计算不低于 3000。

EPMC 对照品色谱图见图 1-a, 供试品色谱图见图 1-b, 阴性对照 (不含山柰挥发油自微乳颗粒) 见图 1-c。

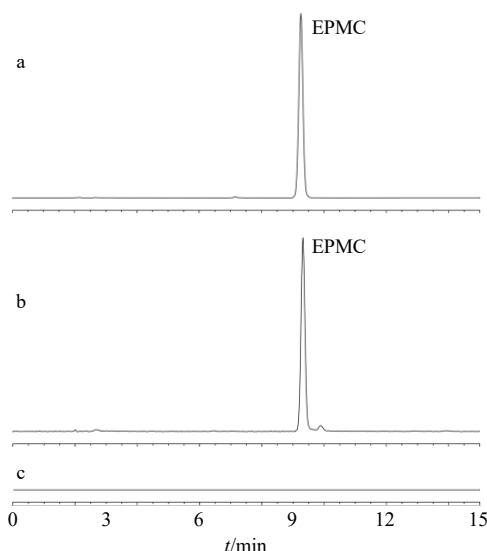


图1 EPMC对照品(a)、山柰挥发油自微乳颗粒样品(b)和阴性对照(c)的HPLC图

Fig. 1 HPLC of EPMC reference substance (a), *K. galanga* volatile oil self-microemulsion solids sample (b) and negative control (c)

2.2.4 线性关系考察 精密吸取EPMC对照品储备液,用甲醇逐步稀释成411.60、329.28、246.96、164.64、82.32 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的工作液,进样分析。以EPMC质量浓度(C)对其峰面积(A)绘制标准曲线,所得线性回归方程为 $A=0.3105C-0.037$, $r^2=0.9999$,可见EPMC质量浓度在82.32~411.60 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.2.5 精密度考察 配制供试品溶液,按“2.2.3”项下HPLC法进样测定,1 d内连续测定6次,并连续测量3 d,记录EPMC的峰面积数值,计算样品日内和日间峰面积的RSD值,其结果分别为0.05%与0.72%,表明仪器具有良好的精密度。

2.2.6 重复性考察 平行制备6份供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件测定峰面积,计算EPMC的质量浓度和RSD。结果显示样品EPMC质量浓度的RSD值为0.22%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性考察 配制供试品溶液,室温储存24 h,期间分别于0、2、4、8、12、24 h取样,测定样品含量,结果显示EPMC供试品溶液在24 h内峰面积的RSD为0.76%,表明该供试品溶液放置24 h仍保持良好的稳定性。

2.2.8 加样回收率考察 取1 mL已测定质量浓度的供试品溶液,加入等量的质量浓度为98 $\mu\text{g/mL}$ 的EPMC对照品溶液,用甲醇溶解至一定体积,同法制备6份,进样分析,结果显示EPMC的平均加样

回收率为99.33%,RSD值为0.96%,小于1%,表明该法准确度高且回收率好。

2.3 山柰挥发油自微乳处方筛选

2.3.1 辅料初步筛选 将山柰挥发油与不同乳化剂或助乳化剂按照1:4的比例涡旋混匀,随后将其以3000 r/min的转速离心2 min,观察两者的互溶情况。静置24 h后,再次观察,以出现分层和浑浊为临界指标评估互溶情况。其中所用乳化剂与助乳化剂及其互溶情况详见表1。根据互溶结果,实验初步选用T80、司盘80-T80(6:4)、司盘80-T80(4:6)、司盘80-T80(2:8)为乳化剂;无水乙醇、PGE 200和PEG 400为助乳化剂。

2.3.2 助乳化剂的筛选 根据油相与辅料的互溶结果,固定体系总质量为1 g,乳化剂为T80,乳化剂与助乳化剂的质量比(K_m)为2:1。将乳化剂和助乳化剂按比例混合均匀得到混合乳化剂,然后将其与油相以不同比例涡旋均匀,逐滴加入蒸馏水,记录体系临变的加水量,以三相的百分质量比作为相图的3个顶点绘制伪三元相图。以相图中自微乳面积大小为指标,考察无水乙醇、PEG 200和PEG 400 3种助乳化剂对自微乳区面积的影响,筛选助乳化剂。绘制的伪三元相图如图2所示,无水乙醇的成乳面积大于另外两者,说明无水乙醇协助形成自微乳的效果更好,因此,选其作为处方中的助乳化剂。

表1 山柰挥发油与各辅料的互溶情况

Table 1 Solubility of volatile oil from *K. galanga* with various excipients

种类	互溶情况	
	涡旋后观察	静置24 h
乳化剂	司盘60	固体物质,不互溶,浑浊
	司盘80	分层,约2/5溶解
	聚山梨酯40	膏状,不互溶
	聚山梨酯60	互溶,但黏度较大
	T80	互溶,不分层
	司盘80-T80(8:2)	分层,约2/5溶解
	司盘80-T80(6:4)	互溶,不分层
	司盘80-T80(4:6)	互溶,不分层
	司盘80-T80(2:8)	互溶,不分层
助乳化剂	无水乙醇	互溶,不分层
	丙三醇	大部分溶解,但黏度较大
	1,2-丙二醇	互溶,呈浑浊状态
	PGE 200	约4/5溶解
	PEG 400	约4/5溶解

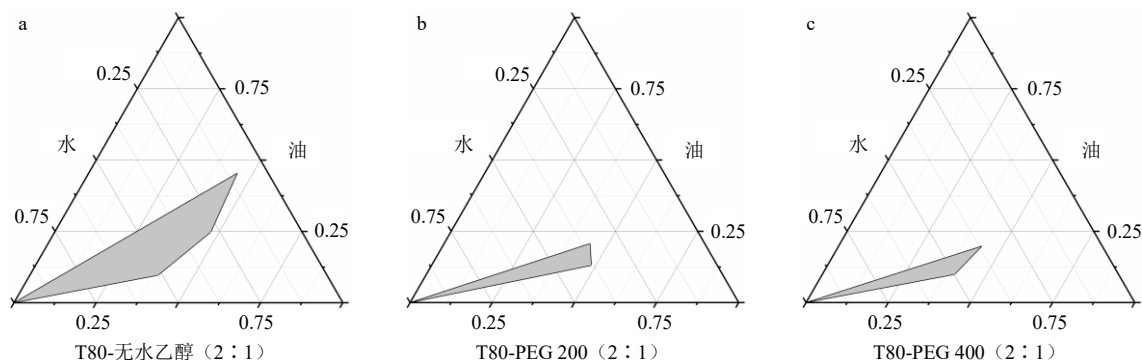


图 2 不同助乳化剂无水乙醇 (a)、PEG 200 (b)、PEG 400 (c) 对自微乳区面积大小的影响

Fig. 2 Effect of different co-emulsifiers absolute ethanol (a), PEG 200 (b) and PEG 400 (c) on area size of self-microemulsion region

2.3.3 乳化剂的筛选 选定助乳化剂为无水乙醇，固定 $K_m=2$ ，根据油相与辅料的互溶结果，制备不同比例的混合乳化剂，将其与山柰挥发油以 9:1~1:9 的质量比涡旋混匀，直至形成黄色均匀的澄清液体。取 0.1 mL 至 100 倍量的 37 °C 蒸馏水中，100 r/min 低速搅拌，观察自乳化情况并按表 2 进行评分。不同乳化剂自乳化的结果见表 3，由此可看出，T80 所获得 A 等级最多，其乳化效果明显好于不同配比的司盘 80-T80，因此，选定 T80 作为自微乳处方的乳化剂。

2.3.4 K_m 值范围和油相用量范围选择 通过实验已初步确定自微乳处方由山柰挥发油（油相）、T80（乳化剂）及无水乙醇（助乳化剂）组成，但最佳比例还需进一步确定。将 T80 与无水乙醇按照 5:1、

4:1、3:1、2:1、1:1、1:2 的 K_m 混匀，后续操作按“2.3.3”项下方法进行。将乳化等级 A 和 B 确定为自微乳的可形成区域，以山柰挥发油（油相）、T80（乳化剂）及无水乙醇（助乳化剂）作为 3 个顶点，采用 Origin 8.0 软件绘制伪三元相图，进一步确定处方中自微乳的可形成区域。不同 K_m 值下乳化情况如表 4 和图 3 所示。 $K_m \geq 3$ 时，其乳化情况较好。根据相图中乳区面积大小并综合考虑乳化效

表 4 K_m 与油相比的等级评分

Table 4 Score of K_m and oil phase ratio

K_m	K_m 与油相的比例									
	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	2:8	1:9	
5:1	A	A	A	B	C	D	D	E	E	
4:1	A	A	A	B	C	D	D	E	E	
3:1	A	A	A	B	C	D	D	E	E	
2:1	A	A	A	C	C	D	E	E	E	
1:1	A	A	A	C	C	D	E	E	E	
1:2	A	B	C	C	C	D	E	E	E	

表 2 自乳化等级评分

Table 2 Self-emulsification rating

等级	评判标准
A	乳化时间 < 1 min，溶液呈澄清或略泛蓝色乳光
B	乳化时间 < 1 min，略浊，呈蓝白色
C	乳化时间 1~2 min，呈亮白色不透明液体
D	乳化时间 > 2 min，色泽暗，呈灰白色，略带油状
E	难乳化，一直有油滴存在

表 3 不同乳化剂等级评分

Table 3 Score of different emulsifiers

乳化剂	K_m 与油相的比例									
	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	2:8	1:9	
T80	A	A	A	B	C	D	E	E	E	
司盘 80-T80（6:4）	D	E	E	E	E	E	E	E	E	
司盘 80-T80（4:6）	D	D	D	E	E	E	E	E	E	
司盘 80-T80（2:8）	C	D	D	E	E	E	E	E	E	

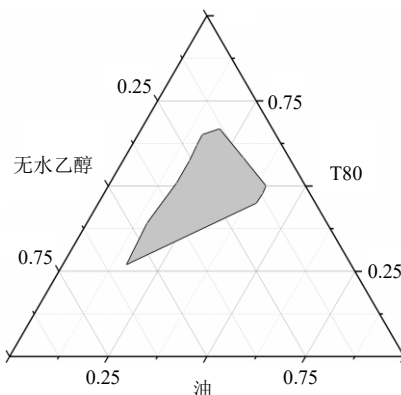


图 3 山柰挥发油自微乳的三元相图

Fig. 3 Ternary phase diagram of *K. galanga* volatile oil self-microemulsion

果, 实验将 K_m 的范围限定为 3~5。油相的百分含量在 10%~40% 时, 可乳化得到均一、透明的自微乳, 且由于油相为药效成分, 需保证一定含量才能发挥其药理作用, 因此, 将处方中油相的使用范围限定为 20%~40%。

2.4 CCD-RSM 优化处方

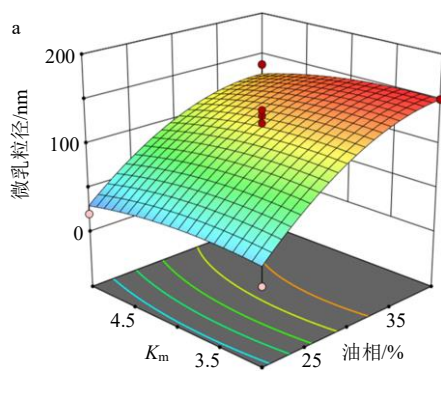
在明确了处方的构成以及比例范围, 即油相的质量分数 (X_1) 为 20%~40%, T80 与无水乙醇的质量比 (K_m , X_2) 为 3~5 之后, 本实验以微乳粒径 (Y) 作为考察指标, 通过 CCD 设计优化处方, 实验设计的因素水平见表 5。

按照软件设计出的方案分别制备自微乳, 取 0.1 mL 加入 100 倍的双蒸水中, 使用磁力搅拌器搅拌均匀, 制得山柰挥发油自微乳水分散溶液, 用激光粒度电位仪分析制剂的粒径, 结果见表 5。

表 5 CCD-RSM 实验设计及结果

Table 5 Design and results of CCD-RSM

实验号	$X_1/\%$	X_2	Y/nm
1	20 (-1)	5 (+1)	19.97
2	30 (0)	5.41 (+1.414)	77.13
3	30	4 (0)	105.67
4	20	3 (-1)	59.23
5	30	4	123.90
6	30	4	132.33
7	30	4	110.54
8	40 (+1)	3	150.43
9	30	4	128.73
10	15.86 (-1.414)	4	20.73
11	40	5	137.27
12	30	2.59 (-1.414)	129.13
13	44.14 (+1.414)	4	147.32



采用 Design-Expert 11 软件, 对表 5 结果进行非线性回归 (二项式公式) 拟合, 拟合方程为 $Y = 120.23 + 48.44 X_1 - 15.74 X_2 + 6.53 X_1 X_2 - 18.57 X_1^2 - 9.02 X_2^2$, $R^2 = 0.9709$, $P < 0.01$, 拟合方程相关系数 $R^2 > 0.9$, 说明采用模型拟合效果较好。对拟合方程进行方差分析, 结果见表 6, 结果表明, 显著性水平 P 值小于 0.01, 模型结果具有统计学意义。

表 6 二次方程模型的方差分析

Table 6 ANOVA for quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	23 631.45	5	4 726.29	46.65	<0.000 1	显著
X_1	184 771.98	1	18 771.98	185.28	<0.000 1	
X_2	1 983.21	1	1 983.21	19.57	0.003 1	
$X_1 X_2$	170.30	1	170.30	1.68	0.235 9	
X_1^2	2 398.31	1	2 398.31	23.67	0.001 8	
X_2^2	565.37	1	565.37	5.58	0.050 2	
残差	709.23	7	101.32			
失拟	171.21	3	57.07	0.42	0.746 4	不显著
纯误差	538.02	4	134.50			
总回归	24 340.67	12				

$R^2 = 0.9709$, $R_{adj}^2 = 0.9500$, $R_{pre}^2 = 0.9154$, $CV = 9.75\%$

CV 为实验的精确度

CV is accuracy of experiment

根据确定的最佳拟合方程, 用 Design-Expert 11 软件绘制三维响应面图。分别固定油相、乳化剂和助乳化剂质量比 K_m 中 1 个变量, 观察粒径的响应面图和等高线图与另 1 个变量的关系。由图 4 可知, 软件分析优化出制备山柰挥发油自微乳的最佳条件为油相占比 29.04%, 乳化剂占比 59.13%, 助乳化剂占比 11.82%, 预测出该最优处方的粒径理论值为 90.00 nm。

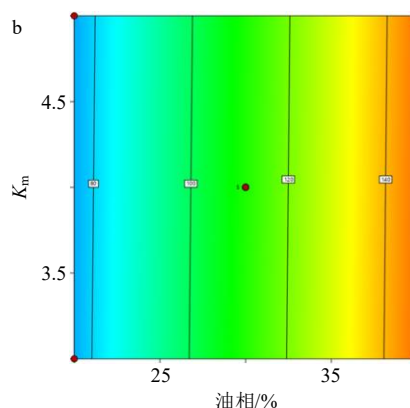


图 4 油相与 K_m 对粒径大小影响的等高线图 (a) 和响应面图 (b)

Fig. 4 Contour map (a) and response surface map (b) of the effect of oil phase and K_m on particle size

按照最优处方平行制备 3 批自微乳样品，并测定其粒径大小，结果如表 7 所示。3 次平行测定的自微乳的粒径结果与模型预测值之间的偏差值 (deviation, DEV) 均小于 5%，说明本实验拟合出的山柰挥发油自微乳处方具有较高的可信度。

2.5 山柰挥发油自微乳化颗粒的制备与质量评价

2.5.1 山柰挥发油自微乳化颗粒的制备 本实验选取了醇类作为助乳化剂，在制成软胶囊内容物时易

表 7 CCD-RSM 处方优化验证结果

Table 7 Validation results of CCD-RSM prescription optimization

样品	序号	微乳粒径/nm	DEV/%
预测值		90.0	—
实测值	1	89.4	4.07
	2	90.6	1.14
	3	91.9	2.85



图 5 山柰挥发油自微乳 (a)、山柰挥发油自微乳颗粒 (b) 和颗粒溶解后的丁达尔现象 (c) 的外观表征

Fig. 5 Appearance characterization of self-microemulsion (a), self-microemulsion particles (b) and Tyndall phenomenon after particle dissolution (c)

2.5.2 微乳类型鉴别与自乳化速率测定 称取 0.5 g 自微乳颗粒 2 份，分别置于透明西林瓶中，加入 5 mL 蒸馏水并用磁力搅拌器搅拌，使其分散均匀。分别向 2 瓶微乳液中加入水溶性染料亚甲蓝粉末 (蓝色) 和油溶性染料苏丹红粉末 (红色)，观察扩散速度，以此判断形成的微乳类型。鉴别结果如图 6 所示，可看到水溶性的亚甲蓝在微乳中迅速扩散，而油溶性的苏丹红在微乳中并无扩散，该结果表明

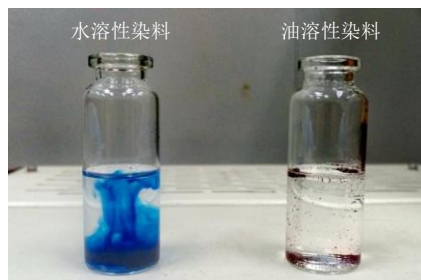


图 6 不同染料的扩散结果

Fig. 6 Diffusion result of different dyes

导致脂溶性药物的沉淀，故需将其制备成固体自微乳 (self-microemulsion solids, S-SMEDDS)。在综合考虑了 PEG 4000、PEG 6000 和甘露醇 3 种吸附材料的性质和最大吸附量之后，发现前两者吸湿性较强，易使粉末吸潮变湿结块，作为胶囊内容物容易软化明胶壳。因此，后续实验采用吸附能力较高且无吸湿性的甘露醇作为可溶性的固体吸附材料。

山柰挥发油 S-SMEDDS 处方为山柰挥发油自微乳 30 g，甘露醇 58 g，蔗糖 19 g。采用湿法制粒法，制软材、过筛 (16 目) 后，于 45 °C 烘箱中干燥 8 h，整粒后，得 100 g 颗粒剂，按 5 g/袋密封包装^[15-16]。

山柰挥发油 SMEDDS (图 5-a) 呈淡黄色，制得的颗粒 (图 5-b) 外观饱满，颜色均一，无黏连。颗粒溶解后，无沉淀，溶液泛有蓝色乳光，可观察到丁达尔现象 (图 5-c)。

微乳类型为水包油型 (O/W)。

本实验采用目测法，以自乳化的用时判断 SMEDDS 自乳化能力。分别称取自微乳颗粒 6 份，每份 1 g，加 20 倍量的水，于 37 °C 水浴中磁力温和搅拌下混匀形成微乳，从自微乳颗粒与水面刚接触时开始计时，当形成澄清透明、无沉淀的乳液后停止计时，记录自乳化的时间。山柰挥发油自微乳颗粒的乳化时间为 (37.02 ± 2.95) s，由此可见山柰挥发油自微乳颗粒乳化速度快，乳化能力好。

2.5.3 粒径及 ζ 电位的测定 取 0.3 g 自微乳颗粒，用水稀释 100 倍并搅拌均匀。使用激光粒度分析仪测定微乳液的粒径、多分散系数 (PDI) 和 ζ 电位。山柰挥发油自微乳颗粒微乳液平均粒径为 (89.11 ± 1.74) nm，总体粒径分布在 10~120 nm，PDI 值为 0.252 ± 0.090，小于 0.30，ζ 电位为 (-11.71 ± 1.23) mV，说明山柰挥发油颗粒微乳液具有良好的分散性能且粒径分布均匀。

2.5.4 初步稳定性考察 取山柰挥发油 S-SMEDDS 装于密封袋中, 于室温条件下保存 30 d, 于 0、1、3、7、10、20、30 d 取样, 观察其外观, 并测定其粒径分布以及 EPMC 含量, 考察其稳定性。由表 8 结果可知, 山柰挥发油 S-SMEDDS 在储存 30 d 内稳定性良好, 粒径和含量变化较小, 均符合要求。

表 8 山柰挥发油颗粒初步稳定性考察

Table 8 Preliminary stability investigation of *K. galanga* volatile oil self-microemulsion solids

t/d	微乳粒径/ nm	EPMC/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	t/d	微乳粒径/ nm	EPMC/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
0	89.61 $\pm$ 1.74	284.32	10	92.02 $\pm$ 1.84	277.23
1	90.13 $\pm$ 1.22	283.05	20	92.45 $\pm$ 1.69	276.68
3	90.26 $\pm$ 2.13	280.37	30	93.18 $\pm$ 2.04	276.25
7	91.71 $\pm$ 2.71	279.85			

2.5.5 体外溶出度测定 将自微乳颗粒装入硬胶囊壳中 (每粒约含 5.90 mg EPMC), 用水浴恒温振荡器, 以蒸馏水, 0.1 mol/L 盐酸溶液, pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (PBS) 各 50 mL 为溶出介质, 振荡频率为 100 r/min, 分别在 0、2、5、10、20、30、45、60 min 时, 取溶液 1 mL, 同时补充等量的介质, 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 取滤液 20 μL , 按“2.2.3”项色谱条件进样分析, 记录峰面积。同样方法测定等量山柰挥发油颗粒的体外释放情况。结果 (图 7) 显示, 山柰挥发油自微乳颗粒胶囊 30 min 内可释放 90% 以上, 而 60 min 内山柰挥发油颗粒胶囊的溶出度仍小于 30%, 说将制成自微乳颗粒有利于山柰挥发油

的溶出, 且溶出介质对二者的溶出度无显著性影响。

3 讨论

山柰挥发油中的许多次生代谢物, 如多酚、黄酮类、酯类、生物碱、萜类等, 被证明具有多种药理作用, 然而, 较差的溶解性是阻碍大多数中药难溶性成分发挥药效的主要问题^[17], 山柰挥发油的难溶性不仅使其生物利用度大大降低, 也限制其在临床上广泛应用。

基于“药辅合一”的理念, 本实验将山柰挥发油作为油相, 制备山柰挥发油 SMEDDS。在自微乳的形成过程中, 油相、乳化剂的种类以及乳化剂和助乳化剂之间的质量比都是关键影响因素, 因此, 选择适宜的辅料是成功制备 SMEDDS 的关键^[18]。药用微乳要求所用辅料乳化效果好, 毒性低、且亲水亲油平衡值较高, 同时尽可能地减少用量^[19]。出于以上考量, 本研究先通过溶解度实验, 考察山柰挥发油与不同乳化剂和助乳化剂的混合状态, 筛选适宜的辅料。初步选用 T80、司盘 80-T80 (6:4)、司盘 80-T80 (4:6)、司盘 80-T80 (2:8) 为乳化剂; 无水乙醇、PGE 200 和 PEG 400 为助乳化剂。

再通过绘制伪三元相图确定了乳化剂 (T80) 和助乳化剂 (无水乙醇), 并得出两者质量比的优化范围为 3:1~5:1, 油相的限定范围为 20%~40%。最后通过星点设计实验, 在综合考虑载药量和自微乳粒径的基础上, 优选最佳处方, 确定自微乳处方为油相 29.04%, 乳化剂占 59.13%, 助乳化剂占 11.82%。为了提高药物的稳定性, 方便携带与贮存, 以甘露醇和蔗糖 (3:1) 为吸附剂, 制备得到山柰挥发油自微乳颗粒。

自微乳体系的体外评价主要包括相图、粒径、电位、自微乳速度、稳定性和体外释放等。粒径和电位等是体系稳定性的指标, 山柰挥发油自微乳颗粒在体内的乳化情况, 关键在于粒径和 ζ 电位, 一般认为, 粒径越小的药物, 越利于药物的释放与吸收^[20], ζ 电位绝对值越高, 乳滴间斥力越大, 体系就越稳定^[21]。此外, 目前多将液体 SMEDDS 作为药物中间载体, 灌封于软胶囊壳中, 但软胶囊剂容易发生壳体老化、药物渗漏和沉淀等问题。而加入适宜的赋形剂, 再经过一定的制剂方法, 将液体自微乳制备成固体自微乳系统, 如片剂、丸剂、颗粒剂等, 既改善药物难溶的现状, 又方便贮存、运输和患者用药^[22-24]。

本实验所制得的山柰挥发油自微乳颗粒外观

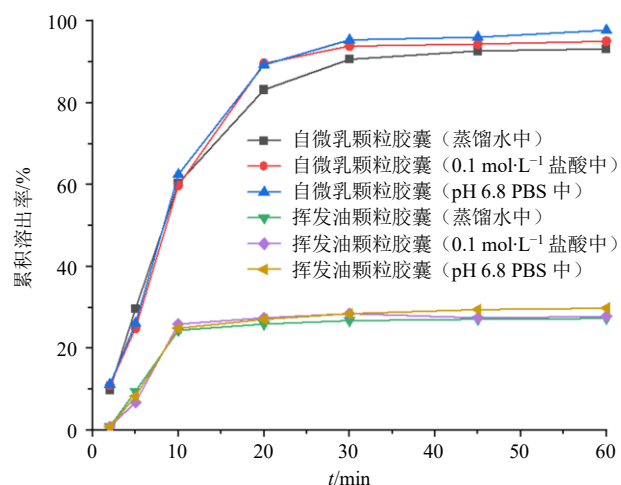


图 7 S-SMEDDS 胶囊与挥发油颗粒胶囊在 3 种介质中的溶出度曲线

Fig. 7 Dissolution curve of S-SMEDDS capsules and volatile oil solids capsules in three kinds of media

圆整,无黏连,溶解乳化后可形成透明均一、略带蓝色乳光的水包油型(O/W)乳液。在室温下密封避光储存 30 d,粒径和含量无明显变化,其胶囊在 30 min 可释放 90%以上药物,而山柰挥发油颗粒 60 min 的溶出度不足 30%,表明该固体自微乳系统具有良好的分散性、稳定性和溶出度,质量良好,可为其开发与临床应用提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 30.
- [2] Kumar A. Phytochemistry, pharmacological activities and uses of traditional medicinal plant *Kaempferia galanga* L.-An overview [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112667.
- [3] Wang S Y, Cai L, Yang N, *et al*. Chemical composition of the *Kaempferia galanga* L. essential oil and its *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities [J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1080487.
- [4] 朱继忠. 一测多评法同时测定六味安消胶囊中 5 种指标性成分的研究 [J]. *中国药师*, 2018, 21(7): 1280-1284.
- [5] 李思琪, 席海灵, 王富文, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的蒙古族药健胃十味丸治疗慢性胃炎的作用机制探讨 [J]. *中国现代中药*, 2022, 24(10): 1902-1915.
- [6] 姚海燕, 谢强, 陈繁华, 等. 参三七伤药片质量标准研究 [J]. *医药导报*, 2010, 29(12): 1641-1643.
- [7] 周奕姝, 吴以禄, 陈忻, 等. 山柰中功能成份的研究进展 [J]. *化学工程与装备*, 2022(9): 246-247.
- [8] Chittasupho C, Ditsri S, Singh S, *et al*. Ultraviolet radiation protective and anti-inflammatory effects of *Kaempferia galanga* L. rhizome oil and microemulsion: Formulation, characterization, and hydrogel preparation [J]. *Gels*, 2022, 8: 639.
- [9] He Z H, Yue G G, Lau C B, *et al*. Antiangiogenic effects and mechanisms of *trans*-ethyl *p*-methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L. [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 11309-11317.
- [10] Cui S M, Zhao C S, Chen D W, *et al*. Self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of *Pueraria lobata* isoflavone [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2005, 31(4/5): 349-356.
- [11] 李鑫, 余玲, 刘霞, 等. 黄连-干姜有效组分自微乳给药系统的制备与评价 [J]. *中草药*, 2023, 54(1): 51-61.
- [12] 李桂华, 赵子晨, 蒋满意, 等. 和厚朴酚自微乳给药系统制备工艺响应面法优化及质量评价研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(2): 362-371.
- [13] Tang H W, Xiang S, Li X Z, *et al*. Preparation and *in vitro* performance evaluation of resveratrol for oral self-microemulsion [J]. *PLoS One*, 2019, 14(4): e0214544.
- [14] Liu Y Y, Jiang Y, Yang Y F, *et al*. *Houttuynia* essential oil and its self-microemulsion preparation protect against LPS-induced murine mastitis by restoring the blood-milk barrier and inhibiting inflammation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 842189.
- [15] 岳国超, 严霞, 赵映波, 等. 湿法制粒工艺参数对颗粒成型性的影响 [J]. *中南药学*, 2015, 13(6): 587-590.
- [16] 胡健力, 吕岩, 张爱娇. 紫花地丁颗粒剂制备工艺的研究 [J]. *山东化工*, 2021, 50(21): 24-26.
- [17] Zong S Y, Pu Y Q, Li S Y, *et al*. Beneficial anti-inflammatory effect of paeonol self-microemulsion-loaded colon-specific capsules on experimental ulcerative colitis rats [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(Sup1): 324-335.
- [18] 王娇, 李葆林, 何晓明, 等. 新型自乳化给药系统研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2016, 33(1): 119-121.
- [19] Kallakunta V R, Bandari S, Jukanti R, *et al*. Oral self emulsifying powder of lercanidipine hydrochloride: Formulation and evaluation [J]. *Powder Technol*, 2012, 221: 375-382.
- [20] 张然, 杨冰, 廖茂梁, 等. 双氢青蒿素自微乳给药系统的制备及其评价 [J]. *中草药*, 2021, 52(5): 1291-1302.
- [21] 王浩, 崔名全, 尹蓉莉, 等. 穿琥宁自乳化给药系统处方筛选及评价 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2015, 17(3): 712-718.
- [22] Dokania S, Joshi A K. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS): Challenges and road ahead [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(6): 675-690.
- [23] Maji I, Mahajan S, Sriram A, *et al*. Solid self emulsifying drug delivery system: Superior mode for oral delivery of hydrophobic cargos [J]. *J Control Release*, 2021, 337: 646-660.
- [24] Rahdar A, Hajinezhad M R, Sargazi S, *et al*. Biochemical, ameliorative and cytotoxic effects of newly synthesized curcumin microemulsions: Evidence from *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(3): 817-829.

[责任编辑 郑礼胜]