

松果菊苷自微乳化给药系统的制备及在体肠吸收特性研究

郭娅丽^{1,3,4}, 文丽梅^{2,3,4}, 代武^{1,3}, 胡君萍^{1,4*}, 杨建华^{2,3*}

1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830017
2. 新疆医科大学第一附属医院 药学部, 新疆 乌鲁木齐 830011
3. 新疆药物临床研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011
4. 神经与肿瘤药物研发全国重点实验室, 江苏 南京 210042

摘要: 目的 研究松果菊苷自微乳化给药系统 (echinacoside self-microemulsion drug delivery system, Ech-SMEDDS), 进行处方优化、质量表征及大鼠在体肠吸收特性考察。方法 以平衡溶解度、相容性和伪三元相图评价指标对不同辅料 (油相、乳化剂和助乳化剂) 的种类进行筛选; 采用中心复合设计-响应面法 (central composite design-response surface methodology, CCD-RSM), 以乳化时间和平均粒径为评价指标对辅料用量比例进行优化; 对粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 和 ζ 电位进行检测; 通过透射电子显微镜、HPLC 法分别对其超微结构、载药量和包封率进行观察和分析; 以粒径与 PDI 为评价指标对其稳定性进行评价; 通过大鼠在体单向肠灌流实验考察不同肠段处 Ech-SMEDDS 中松果菊苷的吸收水平, 计算速率常数 (K_a) 及表观吸收系数 (P_{app}), 评价其肠吸收特性。结果 确定 Ech-SMEDDS 的最优配方及其质量占比为甘油三月桂酸酯 (glycerol trilaurate, GTL, 15.47%)、聚山梨酯 80 (35.35%)、聚氧乙烯氢化蓖麻油 40 (23.57%) 和聚乙二醇 200 (25.61%)。基于油相和乳化剂的相容性考察, 以微乳等级和粒径为评判指标, 确定质量比为 2:3 的聚山梨酯 80 与聚氧乙烯氢化蓖麻油 40 作为复合乳化剂, 进行 Ech-SMEDDS 制备。Ech-SMEDDS 的外观为淡黄色, 澄清透明, 其分散液呈澄清透明溶液, 经苏丹红-亚甲基蓝染料鉴定为 O/W 型乳液; 平均粒径为 (24.99 ± 0.49) nm, PDI 为 0.19 ± 0.01 ; ζ 电位为 (-5.36 ± 0.08) mV; Ech-SMEDDS 的超微结构呈现类球状结构, 且形态均匀; 载药量为 (26.28 ± 0.49) mg/g, 包封率为 $(97.63 \pm 0.17)\%$, 稳定性检测结果良好; 在体单向肠灌流试验结果计算得到的 K_a 和 P_{app} 在各肠段均大于松果菊苷水溶液, 即松果菊苷的肠吸收均有所提高, 其中在回肠中的吸收最佳, 在十二指肠、空肠、回肠、结肠的 K_a 分别为松果菊苷的 1.48、2.24、2.16、1.86 倍, P_{app} 分别为松果菊苷的 5.05、3.11、1.85、3.48 倍。结论 制得 Ech-SMEDDS 具有载药量大、稳定性高和肠吸收良好的特性, 为松果菊苷的药物开发及临床应用奠定理论基础, 为新疆特色药用资源的产业化升级提供了创新思路。

关键词: 松果菊苷; 自微乳给药系统; 复合乳化剂; 中心复合设计-响应面法; 单向肠灌流; HPLC; 表观吸收系数

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)18-6569-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.007

Preparation of echinacoside self-microemulsifying drug delivery system and *in vivo* intestinal absorption characteristics

GUO Yali^{1,3,4}, WEN Limei^{2,3,4}, DAI Wu^{1,3}, HU Junping^{1,4}, YANG Jianhua^{2,3}

1. School of Pharmaceutical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China
2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
3. Xinjiang Key Laboratory of Drug Clinical Research, Urumqi 830011, China
4. State Key Laboratory of Neurology and Oncology Drug Development, Nanjing 210042, China

Abstract: Objective To study echinacoside self-microemulsion drug delivery system (Ech-SMEDDS) for prescription optimisation, quality characterisations and *in vivo* intestinal absorption in rats. **Methods** The different excipients (oil phase, emulsifier and co-

收稿日期: 2025-04-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960772); 国家自然科学基金项目 (82360795); 新疆维吾尔自治区自然科学基金重点项目 (2022D01D14); 新疆维吾尔自治区 2024 年度“天山英才”医药卫生高层次人才培养计划 (TSYC202401B014); 神经与肿瘤药物研发全国重点实验室开放研究课题 (SKLSIM-F-2024175)

作者简介: 郭娅丽 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物的研究与开发。Tel: 15309442269 E-mail: 3218528937@qq.com

***通信作者:** 杨建华 (1971—), 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为天然产物的研究与开发。Tel: 18119185216 E-mail: yjh_yfy@163.com
胡君萍 (1971—), 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为天然产物的研究与开发。Tel: 13899853561 E-mail: hjp_yxy@163.com

emulsifier) were screened by equilibrium solubility, compatibility and pseudo-ternary phase diagram; the dosage ratio of excipients was optimised by central composite design-response surface methodology (CCD-RSM) using emulsification time and average particle size as the evaluating indexes; particle size, polydispersity index (PDI) and ζ potential were examined; The ultrastructure, drug loading and encapsulation rate were observed and analysed by transmission electron microscopy and HPLC, respectively; the stability of Ech-SMEDDS was evaluated by particle size and PDI; and the absorption level of echinacoside in Ech-SMEDDS at different intestinal segments was investigated by *in vivo* unidirectional intestinal perfusion in rats, and the intestinal absorption properties were evaluated by calculating the rate constants (K_a) and apparent absorption coefficients (P_{app}). **Results** The optimal formulation of Ech-SMEDDS and its mass ratio were determined to be glycerol trilaurate (GTL, 15.47%), Tween 80 (35.35%), polyoxyethylene hydrogenated castor oil 40 (23.57%) and polyethylene glycol 200 (25.61%). Based on the investigation of the compatibility of oil phase and emulsifier, the microemulsion grade and particle size were used as the judging indexes, and Tween 80 and polyoxyethylene hydrogenated castor oil 40 with the mass ratio of 2:3 were determined as the composite emulsifier for the preparation of Ech-SMEDDS. The appearance of the Ech-SMEDDS was light yellow, clarified and transparent, and its dispersion was in the form of clarified and transparent solution, which was identified by the Sudan red-methylene blue dye as the O/W. The average particle size was (24.99 ± 0.49) nm, the PDI was 0.19 ± 0.01 ; the ζ potential was (-5.36 ± 0.08) mV; the ultrastructure of Ech-SMEDDS showed a spherical structure with a homogeneous morphology; the loading capacity was (26.28 ± 0.49) mg/g, and the encapsulation rate was $(97.63 \pm 0.17)\%$. The results of stability test were good; K_a and P_{app} calculated from the results of *in vivo* unidirectional intestinal perfusion test were greater than echinacoside aqueous solution in all intestinal segments, i.e., the intestinal absorption of echinacoside was improved, among which the best absorption was found in the ileum, and the K_a in the duodenum, jejunum, ileum, and colon were 1.48, 2.24, 2.16, and 1.86 times of that in echinacoside, and P_{app} was 5.05, 3.11, 3.11, 3.11, and 1.86 times of that in echinacoside, respectively. **Conclusion** The Ech-SMEDDS produced in this study has the characteristics of high drug loading, high stability and good intestinal absorption, which lays a theoretical foundation for the drug development and clinical application of echinacoside, and provides an innovative idea for the industrial upgrading of Xinjiang's characteristic medicinal resources.

Key words: echinacoside; self-microemulsion drug delivery system; compound emulsifier; central composite design-response surface methodology; unidirectional intestinal perfusion; HPLC; apparent absorption coefficient

肉苁蓉作为新疆特色的优势药用资源之一,为列当科肉苁蓉属荒漠肉苁蓉 *Cistanches deserticola* Y. C. Ma 或管花肉苁蓉 *C. tubulosa* (Schenk) Wight 的干燥带鳞叶的肉质茎,作为著名的补益类中药,被《神农本草经》列为上品,具有补肾阳、润肠通便、益精血等功效^[1]。松果菊苷(echinacoside)作为肉苁蓉中的主要活性物质,《中国药典》2025 年版将其作为肉苁蓉质量控制的指标性成分。松果菊苷作为肉苁蓉的主要活性成分,最初从紫锥菊 *Echinacea purpurea* (L.) Moench 根部组织中分离鉴定^[2]。目前,已有大量基础研究证实松果菊苷具有神经保护作用、肝脏保护作用、心肌保护作用、抗肿瘤和抗衰老等药理活性,是极具开发和利用的潜力的天然产物活性分子^[3]。然而,松果菊苷在药物开发方面存在不足之处,如结构不稳定,脂溶性差,其溶解性仅为 $197.07 \mu\text{g/mL}$ ^[4],属于极微溶解药物,以及肠上皮被动扩散效率低,使其体内吸收不完全,导致生物利用度仅有 0.83%,已成为其新药研究及临床转化亟待解决的科学问题^[5]。

目前,用于促进生物活性物质吸收的药物递送系统主要有化学修饰法、协同给药法、运载体包埋

法等^[6]。其中,自微乳化给药系统(self-microemulsion drug delivery system, SMEDDS)作为运载体包埋法的剂型之一,可包载中药有效成分并能提高其口服生物利用度,具有较高的生物相容性、控释性,提高药物稳定性和降低药物毒性等优势,已成为提高不稳定和难溶性生物活性物质极具开发潜力的新制剂之一^[7-9]。SMEDDS 是由药物、油相、乳化剂和助乳化剂形成的透明均一体系,在胃肠道中形成粒径小于 100 nm 的 O/W 型乳滴以增加药物与肠道的接触表面积,降低表面张力,使药物易于穿透胃肠壁的水化层,最终促进药物的释放和吸收^[10]。

近年来,针对传统乳化剂单硬脂酸甘油酯、羧甲基纤维素等所诱发的脂质代谢紊乱及肠道菌群失调等毒副作用^[11-12],研究者发现基于复合乳化剂体系制备的自微乳给药系统具有更高的物理稳定性,可将乳化剂用量降至处方量的 30%,进而提高临床用药安全性^[13-14]。目前,SMEDDS 在改善中药活性成分小檗碱和胡椒碱^[15]、吴茱萸碱^[16]、二氢杨梅素^[17]等的稳定性和溶解性,提高口服生物利用度方面得到广泛的应用。

为提高松果菊苷的稳定性、水溶性、肠渗透性及其生物利用度,本研究以平衡溶解度、相容性和伪三元相图为评价指标对不同辅料的种类进行筛选,采用中心复合设计-响应面法(central composite design-response surface methodology, CCD-RSM),以乳化时间和平均粒径为评价指标对辅料用量比例进行优化,并对外观进行观察并进行乳液类型鉴定;检测其粒径、PDI、 ζ 电位、乳化时间进行检测;通过透射电子显微镜、HPLC 法分别对其超微结构、载药量和包封率进行观察和分析;以粒径与 PDI 为评价指标对其稳定性进行评价;通过大鼠在体单向肠灌注实验考察 Ech-SMEDDS 在不同肠段处的吸收速率常数(K_a)及表观吸收系数(P_{app}),评价其肠吸收特性。基于本研究的开展以期作为松果菊苷的新药开发及临床应用奠定理论基础,提高肉苁蓉的产品附加值,为新疆特色药用资源的产业化升级提供了创新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;ZEN3690 型激光纳米粒度电位分析仪,英国马尔文仪器有限公司;MYP11-2A 型磁力搅拌仪,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;JEM-1200EX 型透射电子显微镜,日本电子株式会社;JA5003 型电子天平,上海良平仪器仪表有限公司;SLK-O3000-S 型恒温培养摇床,美国赛洛捷克公司;Sorvall ST16R 型通用台式离心机,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;ELGA PURELAB® Chorus 1 型纯水仪,威立雅水处理技术(上海)有限公司;KQ-200VDE 型双频数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;BT100-1L 型蠕动泵,保定兰格恒流泵有限公司。

1.2 材料

松果菊苷对照品,批号 20240322008,质量分数 $\geq 98\%$,江苏永健医药科技有限公司;甘油三月桂酸酯(glycerol trilaurate, GTL, 批号 C16399140)、蓖麻油(批号 C16440911)、聚山梨酯 80(Tween 80, T80, 批号 C15942915)、聚乙二醇 400(PEG400, 批号 25322-68-3)、聚乙二醇 200(PEG200, 批号 C13166858)、二乙二醇单乙基醚(diethylene glycol monoethyl ether, DGME, 批号 11190-0)、泊洛沙姆 188(P188, 批号 C16534480),上海麦克林生化科技股份有限公司;异丙醇,批号 20221201,江西益普生药业有限公司;肉豆蔻酸异丙酯,批号

L24S11P125069,质量分数 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司;聚氧乙烯氢化蓖麻油 40(RH40, 批号 13490375L0)、司盘 80(批号 C15950495),北京凤礼精求医药股份有限公司;其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(200 ± 10) g,购自于自新疆医科大学动物实验中心,合格证号:SCXK(新)2018-0002。动物实验流程均符合动物伦理原则,伦理审批号为 XYDWFYLS-2019-03,均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 自微乳的制备

按照 GTL、T80、RH40 和 PEG200 质量占比为 15.47%、35.35%、23.57%和 25.61%称取各辅料,置于烧杯中,用玻璃棒搅拌均匀,并充分涡旋混匀,即得 Ech-SMEDDS;吸取 50 μ L 自微乳于磁力搅拌器上逐滴滴入 37 $^{\circ}$ C 的 50 mL 超纯水中,使其自微乳,即得 Ech-SMEDDS 分散液。

2.2 自微乳中药物含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Sham-pack GIST® C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液(85:15);检测波长 330 nm;进样量 10 μ L;体积流量 1.0 mL/min;理论塔板数按照松果菊苷计算不低于 5 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取松果菊苷对照品适量,置于 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇适量溶解并定容至刻度,摇匀,即得松果菊苷对照品储备液(250 μ g/mL),待用。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取 Ech-SMEDDS 0.100 g,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经高速离心机 5 000 r/min 离心 10 min,吸取上清,过 0.22 μ m 微孔滤膜,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.4 专属性试验 分别取空白溶剂甲醇、空白自微乳、松果菊苷对照品溶液和 Ech-SMEDDS 各 10 μ L,分别按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定,色谱峰见图 1。结果显示,空白溶剂及空白自微乳对 Ech-SMEDDS 中松果菊苷的定量测定无干扰,该方法专属性良好。

2.2.5 线性关系考察 精密称取松果菊苷对照品适量,置于 5 mL 量瓶中,进行逐级稀释,分别得到 125.00、62.50、31.25、15.63、7.81、3.91 μ g/mL 的系列松果菊苷对照品溶液。在“2.2.1”项色谱条件下,以松果菊苷质量浓度为横坐标(C),峰面积为

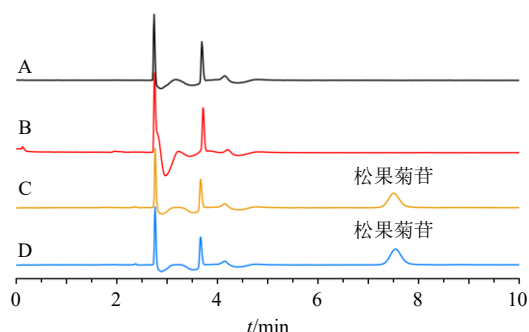


图 1 空白溶剂 (A)、空白自微乳 (B)、松果菊苷对照品 (C) 和 Ech-SMEDDS (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank solvent (A), blank self-microemulsion (B), echinacoside control (C) and Ech-SMEDDS (D)

纵坐标 (A) 进行线性回归。由结果可得, 回归方程为 $A = 14\,022\,C + 306.37$, $R^2 = 0.999\,8$, 结果表明松果菊苷在 $3.91 \sim 125.00\,\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.2.6 精密度试验 精密吸取松果菊苷对照品溶液适量, 在“2.2.1”项色谱条件下连续进样测定 6 次, 测得松果菊苷峰面积的 RSD 为 0.11%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取按照“2.2.3”项下方法制备的 Ech-SMEDDS 供试品溶液, 用甲醇稀释至适宜质量浓度, 置于 HPLC 温控进样盘中, 分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h, 在“2.2.1”项色谱条件下进样检测, 记录松果菊苷峰面积, 计算其峰面积的 RSD 为 0.96%, 结果表明 Ech-SMEDDS 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 平行制备 6 份 Ech-SMEDDS 供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 测得松果菊苷质量分数的 RSD 为 0.19%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密称取含松果菊苷约 0.20 mg 的 Ech-SMEDDS 样品 9 份, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加入适量甲醇超声 15 min 后, 分别加入低、中、高质量浓度 (80%、100%、120%) 的松果菊苷对照品溶液, 制成供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 计算各样品的加样回收率, 结果显示, 松果菊苷的平均加样回收率为 101.13%, RSD 为 1.19%, 表明该方法准确度良好。

2.3 Ech-SMEDDS 辅料筛选

2.3.1 松果菊苷在不同辅料中的平衡溶解度测定 分别在油相、乳化剂和助乳化剂中加入过量的松果菊苷, 涡旋混合均匀, 置于 $37\,^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 的恒

温培养摇床震荡 72 h 后, 按照“2.2.1”项下色谱条件测定松果菊苷的溶解度, 每个样品重复测定 3 次, 结果见表 1。松果菊苷在 GTL 中的溶解度最高, 选择其作为油相; 在 T80、P188 和 RH40 中溶解度较高, 均作为备选乳化剂; 在 PEG200、PEG400 和 DGME 3 种乳化剂中的溶解度较高, 均作为备选助乳化剂。

表 1 松果菊苷在各辅料中的溶解度 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

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

类别	名称	平衡溶解度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$
油相	蓖麻油	6.8 ± 0.8
	GTL	97.1 ± 4.3
	聚乳酸-羟基乙酸共聚物	4.4 ± 0.4
	肉豆蔻酸异丙酯	5.1 ± 0.2
乳化剂	T80	470.4 ± 55.8
	RH40	642.2 ± 61.5
	P188	211.1 ± 11.3
	司盘 80	2.9 ± 0.2
助乳化剂	PEG200	$106\,200.0 \pm 832.7$
	PEG400	$61\,130.0 \pm 1\,094.0$
	DGME	$83\,710.0 \pm 1\,381.0$

2.3.2 乳化剂筛选 为进一步优选乳化剂并考察辅料的相容性, 将 GTL 与上述 3 种备用乳化剂分别按照 1 : 9、2 : 8、3 : 7、4 : 6、5 : 5 的比例混合, 涡旋混合均匀后, 吸取 50 μL 混合物于磁力搅拌器上逐滴滴入 $37\,^{\circ}\text{C}$ 的 50 mL 超纯水中, 使其自微乳化, 按表 2 规定的自微乳制剂等级评判法进行分级, 结果见表 3。油相与乳化剂比值为 2 : 8、3 : 7、4 : 6 和 5 : 5 时, T80 为乳化剂时形成的自微乳等级均小于 III 级, 表明 T80 对油相的乳化效果较好; RH40 乳化能力优于 P188。然而, T80 在处方分散使用中具有凝胶化现象, 受温度影响较大, 导致制剂性质不稳定, 且单独使用并不能将 GTL 乳化至 100 nm 以下。因此, 选择 T80 和 RH40 作为复合乳化剂, 将二者进行配伍以获得最佳自微乳制剂。

表 2 自微乳制剂的等级评判法

Table 2 Rating scale for self-microemulsion formulations

分级	分散状态及外观	自微乳时间/min
I	快速形成澄清透明或者泛微蓝色乳光	<1
II	很快形成蓝白色或者略带浑浊的溶液	<2
III	能够形成乳状液体	<3
IV	溶液呈暗灰白色, 略带油状液滴	>3
V	液体表面有大量油滴	>3

表 3 GTL 与不同乳化剂配伍 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 Compatibility of GTL with different emulsifiers ($\bar{x} \pm s, n=3$)

油相- 乳化剂	等级			粒径/nm		
	T80	RH40	P188	T80	RH40	P188
1:9	I	I	I	145.8	148.8	141.0
2:8	I	II	III	147.7	153.6	153.4
3:7	II	III	V	153.87	161.9	162.5
4:6	III	IV	V	172.9	173.3	176.0
5:5	III	V	V	189.3	190.7	192.0

表 4 GTL 与不同比例复合乳化剂配伍 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Compatibility of GTL with different ratios of complex emulsifiers ($\bar{x} \pm s, n=3$)

油相-复合 乳化剂	T80- RH40	等级	粒径/ nm	PDI	油相-复合 乳化剂	T80- RH40	等级	粒径/ nm	PDI	油相-复合 乳化剂	T80- RH40	等级	粒径/ nm	PDI
1:9	1:4	I	75.23	0.370	3:7	1:4	III	150.67	0.410	5:5	1:4	IV	238.93	0.422
		I	61.20	0.370			II	126.83	0.201			IV	223.03	0.392
		I	25.64	0.240			I	92.73	0.171			III	215.30	0.406
		I	29.87	0.410			II	134.30	0.219			III	278.70	0.476
	1:2	I	33.67	0.330		1:2	II	112.47	0.178		1:2	III	263.30	0.409
		I	35.34	0.390			I	76.11	0.209			III	237.53	0.529
		I	46.54	0.260			I	112.70	0.174			II	209.40	0.396
		I	80.61	0.390			IV	193.30	0.445					
2:8	1:4	II	80.61	0.390	4:6	1:4	IV	193.30	0.445					
		I	66.60	0.340			III	174.10	0.403					
		I	49.73	0.230			I	156.73	0.400					
		I	46.34	0.190			III	228.50	0.449					
	1:2	I	41.77	0.200		1:2	II	211.47	0.447					
		I	53.03	0.190			IV	229.20	0.405					
		I	42.23	0.130			II	216.27	0.410					
		I												

与 RH40 比值由 1:4 增大至 2:3, 所得分散液粒径最低, 降至 25.64 nm; 之后粒径增大至 46.54 nm, 乳化效果较差。故本实验选择质量比为 2:3 的 T80 与 RH40 为复合乳化剂, 用于后续助乳化剂的筛选。

2.3.4 助乳化剂筛选 将复合乳化剂与助乳化剂分别以 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5 比例混合后, 再将 GTL 与上述混合物分别以 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5 比例混合, 旋涡均匀后吸取适量于磁力搅拌下滴加至 50 mL 超纯水中, 记录相变点, 采用 Origin 8.5 软件绘制伪三元相图, 结果见图 2。分别以 PEG200、PEG400 和 DGME 为助乳化剂时, 形成的微乳区域面积分别为 $(22.74 \pm 0.53)\%$ 、 $(18.50 \pm 0.19)\%$ 、 $(14.82 \pm 0.20)\%$, 可见 PEG200 与其余辅料相容性最佳, 形成微乳区域面积最大, 因此选用 PEG200 作为助乳化剂。

2.4 处方优化

2.4.1 试验设计 分别以 GTL 占比 (X_1)、T80 与

2.3.3 复合乳化剂配伍 分别将 T80 与 RH40 按表 4 所示比例进行混合形成复合乳化剂, 再将 GTL 与乳化剂混匀, 依据自微乳制剂分级评判法对各自微乳液进行观察和记录, 并测定其粒径和 PDI, 结果见表 4。与单一乳化剂相比, T80 和 RH40 联用可提高自微乳制剂的质量。当油相占比为 10% 时, 不同比例混合乳化剂参与形成的自微乳均为 I 级, 且所得分散液粒径均小于 100 nm。随着油相比比例升高, 分散液粒径增大; 油相比比例固定不变时, 随着 T80

RH40 的比值 (X_2)、 K_m 值 (X_3) 为影响因素, 粒径 (Y_1) 和乳化时间 (Y_2) 为评价指标, 进行 CCD-RSM 优化处方, 因素水平及实验结果见表 5, 方差分析见表 6。使用 Design Expert V12.0.3.0 软件对表 5 数据进行二次多项式拟合, 得回归方程: $Y_1 = 75.92 + 86.79 X_1 + 1.44 X_2 - 18.29 X_3 + 14.91 X_1 X_2 + 6.14 X_1 X_3 + 4.56 X_2 X_3 + 24.76 X_1^2 + 47.72 X_2^2 - 3.10 X_3^2$, $R^2 = 0.9779$; $Y_2 = 45.86 + 9.02 X_1 + 2.70 X_2 - 3.58 X_3 + 0.244 X_1 X_2 + 3.50 X_1 X_3 - 5.72 X_2 X_3 + 32.41 X_1^2 - 5.61 X_2^2 - 3.59 X_3^2$, $R^2 = 0.9801$, 相关系数均大于 0.9, 失拟项均为 $P > 0.05$, 表明所建立的数学模型可用于预测 X_1 、 X_2 、 X_3 3 种因素的变化对 Y_1 和 Y_2 的趋势。

表 6 结果显示, 对于粒径和乳化时间的共同影响因素有 X_3 、 X_1^2 和 X_2^2 , 均为 $P < 0.05$, 提示 K_m 值对粒径和乳化时间均具有影响, 且存在非线性效应。以粒径为考察指标时, 其特有影响因素为 $X_1 X_2$ ($P <$

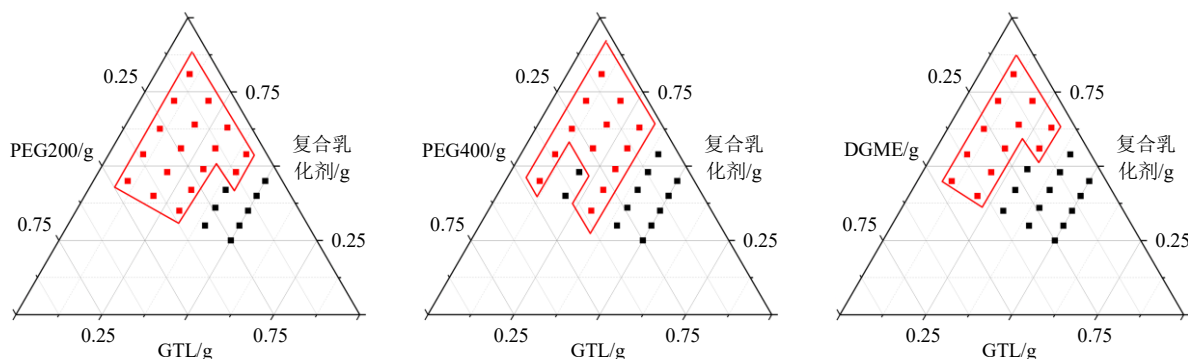


图 2 PEG200、PEG400、DGME 作为助乳化剂制备的自微乳伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram of self-microemulsion prepared with PEG200, PEG400, DGME as co-emulsifier

表 5 CCD-RSM 因素水平、试验设计与结果

Table 5 Factor levels, design and results of CCD-RSM

试验号	$X_1/\%$	X_2	X_3	Y_1/nm	Y_2/s	试验号	$X_1/\%$	X_2	X_3	Y_1/nm	Y_2/s	试验号	$X_1/\%$	X_2	X_3	Y_1/nm	Y_2/s
1	10 (-1)	1 : 2 (-1)	1.00 (-1)	105.80	61	8	30	2 : 1	2.30	231.00	73	15	20	1 : 1	1.65	83.62	42
2	30 (+1)	1 : 2	1.00	226.38	69	9	10	1 : 1 (0)	1.65 (0)	38.70	71	16	20	1 : 1	1.65	89.14	44
3	10	2 : 1 (+1)	1.00	53.59	73	10	30	1 : 1	1.65	189.31	83	17	20	1 : 1	1.65	75.15	46
4	30	2 : 1	1.00	262.13	90	11	20 (0)	1 : 2	1.65	127.40	38	18	20	1 : 1	1.65	70.15	45
5	10	1 : 2	2.30 (+1)	31.20	52	12	20	2 : 1	1.65	136.90	43	19	20	1 : 1	1.65	83.67	41
6	30	1 : 2	2.30	206.83	83	13	20	1 : 1	1.00	103.90	40	20	20	1 : 1	1.65	65.67	47
7	10	2 : 1	2.30	28.40	51	14	20	1 : 1	2.30	68.39	42						

表 6 粒径和乳化时间方差分析

Table 6 ANOVA for particle size and emulsification time

来源	自由度	粒径				乳化时间			
		离均差平方和	均方	F 值	P 值	离均差平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	96 806.02	10 756.22	49.130 0	<0.000 1	5 345.890	593.990	54.840 0	<0.000 1
X_1	1	74 917.78	74 917.78	342.210 0	<0.000 1	808.540	808.540	74.650 0	<0.000 1
X_2	1	20.76	20.76	0.764 4	0.764 4	72.900	72.900	6.730 0	0.026 7
X_3	1	3 328.68	3 328.68	0.003 0	0.003 0	127.580	127.580	11.780 0	0.006 4
X_1X_2	1	1 817.79	1 817.79	0.016 3	0.016 3	0.489	0.489	0.045 2	0.836 0
X_1X_3	1	301.47	301.47	0.267 8	0.267 8	98.000	98.000	9.050 0	0.013 2
X_2X_3	1	169.84	169.84	0.399 1	0.399 1	267.830	267.830	24.730 0	0.000 6
X_1^2	1	1 685.41	1 685.41	0.019 6	0.019 6	2 888.460	2 888.460	266.680 0	<0.000 1
X_2^2	1	4 802.02	4 802.02	0.000 9	0.000 9	66.470	66.470	6.140 0	0.032 7
X_3^2	1	26.49	26.49	0.735 2	0.735 2	35.460	35.460	3.270 0	0.100 5
残差	10	2 189.25	218.93			108.310	10.830		
失拟项	5	1 275.37	255.07	1.400 0	0.361 7	81.480	16.300	3.040 0	0.124 1
纯误差	5	913.88	182.78			26.830	5.370		
总离差	19	98 995.28				5 454.200			

0.05), 结合表 5 实验结果可得, 因素 X_1 与 X_2 存在相互拮抗作用, 即随着油相的比例增加, 粒径增大; 随着 T80 与 RH40 的比值增加, 粒径减小; 以乳化时间为考察指标时, 因素 X_2 、 X_1X_3 和 X_2X_3 对其影响具有显著性差异 ($P<0.05$), 同理可得, 因素 X_1 与 X_3 亦存在相互拮抗作用, 即随着油相的比例增

加, 自微乳乳化时间延长, 随着 K_m 值增加, 自微乳乳化时间缩短; 因素 X_2 与 X_3 对乳化时间的影响存在相互协同作用, T80 与 RH40 的比值、 K_m 值的增加皆能使自微乳快速乳化。

通过绘制三维效应面图, 可直观反映各因素对响应值及其之间交互作用的影响, 结果见图 3、4。

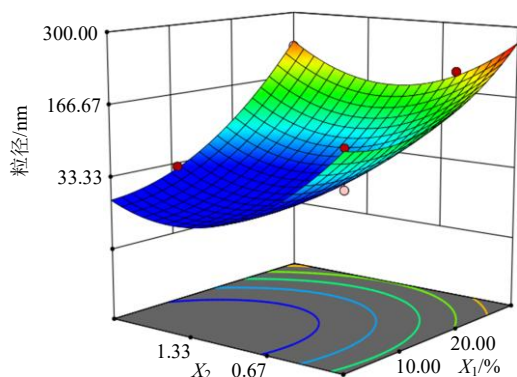


图 3 X_1X_2 交互作用对粒径的影响

Fig. 3 Effect of X_1X_2 interaction on particle size

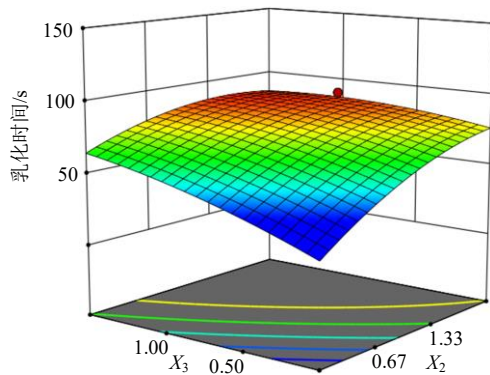
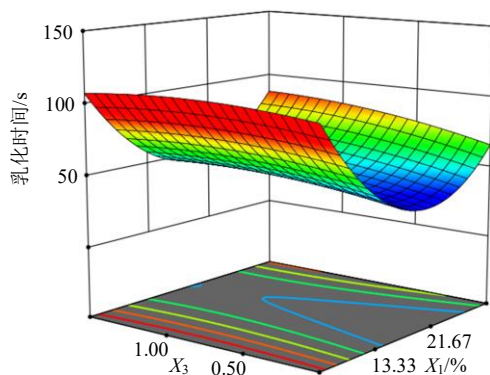


图 4 X_1X_3 、 X_2X_3 交互作用对乳化时间的影响

Fig. 4 Effects of X_1X_3 , X_2X_3 interaction on emulsification time

此外, 综合各因素对粒径和乳化时间的影响, 可得最优处方为油相比例、T80 与 RH40 的比值、 K_m 值分别为 15.47%、35.35%、23.57%和 25.61%, 预测粒径为 22.56 nm, 乳化时间为 38 s。

2.4.2 最优处方的验证 按照“2.4.1”项下所得最优处方, GTL、T80、RH40 和 PEG200 质量占比为 15.47%、35.35%、23.57%和 25.61%称取, 置于烧杯中, 用玻璃棒搅拌均匀, 制备 3 批自微乳样品, 测得平均粒径为 (21.57 ± 0.11) nm, 平均乳化时间为 (35.33 ± 0.25) s, 均与预测值接近, 相对偏差分别为 0.56%和 1.40%, 表明该模型稳定可靠。

2.5 质量评价

2.5.1 自微乳外观及乳液类型检测 按照“2.4.1”项下所得最优处方制备 Ech-SMEDDS, 取其 50 μ L, 于磁力搅拌器上缓慢滴入 37 $^{\circ}$ C 的超纯水中, 使其完全乳化, 制得 Ech-SMEDDS 分散液, 待用。可见 Ech-SMEDDS 呈淡黄色, 澄清透明, 其分散液澄清透明, 为 I 级微乳液; 对该微乳类型进行鉴定, 将适量油性染料苏丹红加入其中, 未见溶解, 颗粒状悬浮其中, 而水溶性染料亚甲基蓝快速分散在溶液中, 立刻形成均一的蓝色溶液, 表明该乳液为 O/W 型, 结果见图 5。

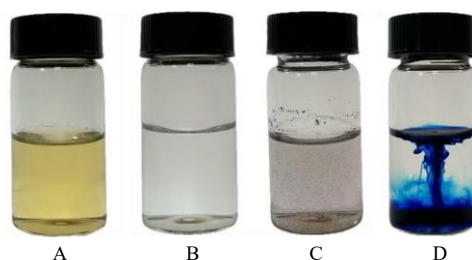


图 5 Ech-SMEDDS 溶液 (A) 和分散液 (B) 外观及分散液中苏丹红 (C)、亚甲基蓝 (D) 溶解情况

Fig. 5 Appearance of Ech-SMEDDS solution (A) and dispersion (B) and dissolution of Sudan red (C) and methylene blue (D) in dispersion

2.5.2 微乳粒径、 ζ 电位测定 取适量分散液, 用激光粒度仪测定其平均粒径。结果显示, 平均粒径为 (24.99 ± 0.49) nm, PDI 为 0.19 ± 0.01 ; ζ 电位为 (-5.36 ± 0.08) mV, 结果见图 6。

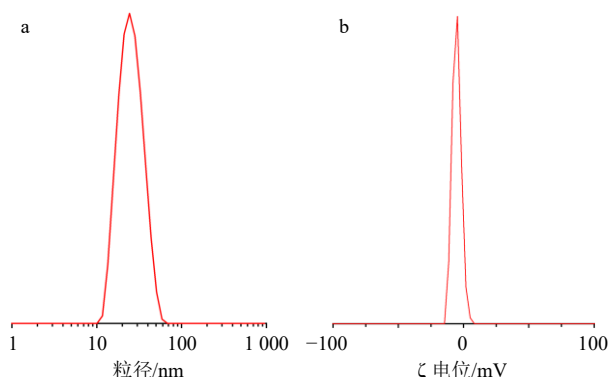


图 6 Ech-SMEDDS 的粒径分布 (a) 和 ζ 电位分布 (b)

Fig. 6 Particle size distribution (a) and ζ potential distribution (b) of Ech-SMEDDS

2.5.3 超微结构表征 将适量微乳液滴加至铜网上, 铺展均匀后滴加 2.0%磷钨酸溶液, 负染 10 min, 从边缘吸去多余微乳液, 室温条件下自然晾干, 于 TEM 下观察微乳的形貌, 结果表明, 自微乳乳化后

形成的微乳为分散均匀,无黏连,大小均一圆球形乳滴,结果见图 7。

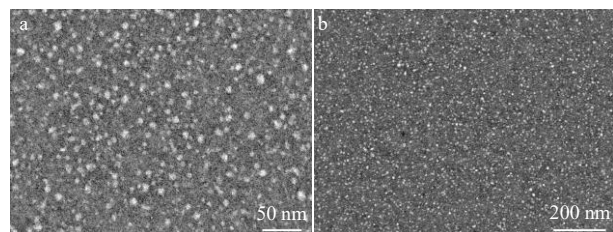


图 7 Ech-SMEDDS 的超微结构图 (TEM; $\times 20\,000$, a; $\times 60\,000$, b)

Fig. 7 Ultrastructure of Ech-SMEDDS (TEM; $\times 20\,000$, a; $\times 60\,000$, b)

2.5.4 载药量和包封率测定 取 Ech-SMEDDS 50 mg (W),精密称定,置于 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇适量,超声至完全溶解,加甲醇稀释至刻度,过微孔滤膜后,按照“2.2.1”项下色谱条件测定松果菊苷含量(W_1)。精密称取 Ech-SMEDDS 50 mg,使用超纯水稀释 100 倍制成微乳液,取 5 mL 置于离心管中,10 000 r/min,高速离心 20 min,精密量取上清液 1 mL,置于 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇适量,并超声助溶 20 min,加甲醇稀释至刻度,摇匀,过微孔滤膜后,测定松果菊苷含量(W_2)。按照下式计算载药量和包封率。结果表明,Ech-SMEDDS 的载药量为 (26.28 ± 0.49) mg/g,包封率为 $(97.63 \pm 0.17)\%$,说明该自微乳处方及制备工艺符合要求。

$$\text{载药量} = W_1/W$$

$$\text{包封率} = W_2/W_1$$

2.5.5 稳定性考察 取所制备的自微乳分散液 3 份,分别于 0、2、4、6、8、10 d 内测定 Ech-SMEDDS 粒径、PDI 及 ζ 电位,结果如表 7 所示,自微乳均匀乳化后在测定时间内粒径 PDI 与 ζ 电位均几无变化,表明微乳的稳定性良好。

表 7 不同储存时间自微乳粒径、PDI 及 ζ 电位 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 7 Self-microemulsion particle size, PDI and ζ potential for different storage time ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

t/d	平均粒径/nm	ζ 电位/mV	PDI
0	20.23 ± 0.45	-5.23 ± 0.09	0.112 ± 0.311
2	22.25 ± 0.31	-6.78 ± 0.24	0.093 ± 0.642
4	23.57 ± 0.13	-7.26 ± 0.49	0.130 ± 0.293
6	21.70 ± 0.34	-5.93 ± 0.33	0.103 ± 0.577
8	22.23 ± 0.56	-6.37 ± 0.16	0.133 ± 0.174
10	19.23 ± 0.67	-5.69 ± 0.11	0.171 ± 0.281

2.6 大鼠在体单向肠灌流实验

2.6.1 K-R 缓冲溶液的配制 称取 NaCl 7.80 g, KCl 0.35 g, NaHCO_3 1.37 g, NaH_2PO_4 0.32 g, CaCl_2 0.37 g, MgCl_2 0.02 g, 葡萄糖 1.40 g, 蒸馏水定容至 1 L, 摇匀, 即得 K-R 溶液。

2.6.2 松果菊苷肠灌流液的配制 精密称取等量松果菊苷 2 份, 分别溶解于超纯水和“2.5.1”项下 Ech-SMEDDS 中, 配制成松果菊苷药物质量浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ 的松果菊苷肠灌流液, 待用。

2.6.3 肠灌流液的收集 大鼠经 ip 3%戊巴比妥钠 (0.2 mL/100 g) 进行麻醉, 沿腹中线剪开腹腔, 选取所需考察的肠段, 分别于各肠段两端插入硅胶管并固定, 进口端连接蠕动泵, 出口端连接已知质量的离心管, 并以生理盐水浸润的纱布覆盖保湿。先用预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水冲洗肠道至洗出物澄清后, 再使用 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 K-R 溶液以 1 mL/min 灌流肠段平衡 15 min, 采用“2.6.2”项下松果菊苷肠灌流液继续平衡 30 min 后, 调节体积流量为 0.2 mL/min 进行恒速灌流, 分别在 0、15、30、45、60、75、90、105、120 min 更换离心管, 收集流出液, 并记录离心管质量。

2.6.4 酶降解 按照“2.6.3”项下方法收集空白肠灌流液, 平行配制 3 份 Ech-SMEDDS 空白肠灌流液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育, 分别于 0、15、120 min 取样, 在“2.2.1”项下色谱条件测定, 记录松果菊苷色谱峰峰面积, 分别以 15、120 min 指标成分的峰面积与 0 min 的峰面积的比值作为剩余百分数, 考察酶降解的影响^[18], 结果见表 8。大鼠肠道酶作用对松果菊苷质量浓度变化小于 2%, 表明酶降解作用对松果菊苷含量测定影响可以忽略不计。

2.6.5 物理吸附 将禁食不禁水 12 h 的 SD 大鼠麻醉后沿腹中线剪开, 摘取小肠段, 冲洗干净置于 Ech-SMEDDS 肠灌流液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h, 分别在 0、15、120 min 时取样, 在“2.2.1”项色谱条件测定孵育前、后松果菊苷峰面积, 以孵育后峰面积与孵育前峰面积的比值作为剩余百分数, 考察物理吸附的影响, 结果见表 8。各指标成分质量浓度变化均小于 2%, 表明肠道对松果菊苷的吸附作用可忽略不计。

2.6.6 Ech-SMEDDS 在不同肠段的吸收 取健康 SD 大鼠 24 只, 实验前禁食不禁水 12 h, 随机分为 2 组, 分别为 Ech-SMEDDS 组和松果菊苷水溶液组, 每组进而分为 4 小组 (十二指肠组、空肠组、回肠

表 8 酶降解和物理吸附对 Ech-SMEDDS 中松果菊苷含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Effect of enzymatic degradation and physical adsorption on echinacoside content in Ech-SMEDDS ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

孵育时间/min	酶降解/%	物理吸附/%
0	100.00±0.00	100.00±0.00
15	99.02±0.37	100.89±0.46
120	99.93±0.08	99.12±0.11

组、结肠组), 每组 3 只大鼠。按照“2.6.3”项下所述进行肠灌流液收集, 吸取 0.5 mL 收集的灌流液, 加甲醇 0.5 mL, 涡旋混匀后于 5 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜后, 按照“2.2.1”项下色谱条件分别测定灌流液中松果菊苷含量。

试验结束后, 剪下灌流肠段并记录直径及长度。按公式计算吸收速率常数 (K_a) 及表观吸收系数 (P_{app})。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Graphpad 9.5 软件进行统计分析, 对数据进行正态分布、方差齐性检验后采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间比较采用 Tukey 检验, $P < 0.05$ 判定为差异具有统计学意义。

$$K_a = (1 - C_{out}V_{out}/C_{in}V_{in})Q/2\pi rl$$

$$P_{app} = Q \ln(C_{in}V_{in}/C_{out}V_{out})/2\pi rl$$

C_{in} 、 C_{out} 分别为肠道进出口灌流液中药物质量浓度, V_{in} 、 V_{out} 分别为肠道灌流进出口灌流液体积, r 为灌流肠段横截面半径, l 为灌流肠段的长度, Q 为灌流体积流量 (0.2 mL/min)

松果菊苷及其自微乳制剂在大鼠各肠段吸收参数见表 9, 结果显示, 松果菊苷在大鼠各肠段均有一定的吸收, 在十二指肠的吸收较差, 结肠次之。制成 Ech-SMEDDS 后, 松果菊苷在各肠段中的吸收

表 9 自微乳中松果菊苷在不同肠段的吸收参数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Absorption parameters of echinacoside from self-microemulsions in different intestinal segments ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

肠段	松果菊苷		Ech-SMEDDS	
	$K_a/(\times 10^{-3} \text{ min}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-3} \text{ min}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1})$
十二指肠	22.9±8.3	4.22±1.34	33.8±1.8*	21.33±0.57**
空肠	51.4±10.7	8.02±1.26	115.1±9.1**	24.95±1.40**
回肠	72.3±17.3	13.85±1.90	156.2±8.1**	25.62±1.04**
结肠	47.7±9.9	6.32±0.61	88.8±9.9**	21.97±1.44**

与松果菊苷灌流液组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs echinacoside perfusion solution group.

均有所增强, 在十二指肠、空肠、回肠、结肠的 K_a 分别为松果菊苷的 1.48、2.24、2.16、1.86 倍, P_{app} 分别为松果菊苷的 5.05、3.11、1.85、3.48 倍, 其中在空肠和回肠的吸收增强较为显著 ($P < 0.05$), 在十二指肠的吸收提高较低, 可能与松果菊苷的理化性质及吸收部位肠黏膜的丰富血管有关。

3 讨论

SMEDDS 是由油相、乳化剂和助乳化剂组成的均匀混合体系, 相较于其他递送体系, 自微乳的优势在于: 1) 自微乳热力学、动力学稳定, 稳定性较好^[19]; 2) 自微乳由于液滴粒径小, 使得药物与胃肠壁接触面积更大, 进而促进生物活性物质的更快释放^[20]; 3) 自微乳所需制造设备简单, 工艺简便, 成本低, 易于大规模生产。SMEDDS 的应用对于水溶性差、毒性反应高发及不稳定的中药有效成分具有得天独厚的优势, 如天然产物紫杉醇作为治疗乳腺癌、非小细胞肺癌及胃癌等恶性肿瘤的一、二药物, 已有第 1 款制剂紫杉醇自微乳释药系统 DHP107 口服液 (Liporaxel®) 上市, 其极大地提高了紫杉醇的生物利用度并降低了注射型紫杉醇带来的毒性、不良反应^[21]。由此可见, 自微乳给药系统促进生物活性物质利用, 在医药方面的应用极具开发潜力。

SMEDDS 的常用油相为植物油和脂肪酸酯类, 后者安全性、流动性、溶解性及自乳化性能均优于植物油, 一般选择中链脂肪酸酯类作为油相^[22]; 乳化剂主要以无毒的高亲水亲油平衡 (hydrophile-lipophile balance, HLB) 值 (11~15) 非离子型表面活性剂为主, 其能使细胞连接变得疏松, 增加小肠上皮细胞的流动性, 促进药物渗透和吸收^[23]; 助乳化剂可辅助溶解药物, 形成复合水化层, 促进微乳形成并增加其稳定性, 如甘油、丙二醇、聚乙二醇等。基于此, 经查阅文献和预实验, 首先, 以平衡溶解度为评价指标对 4 种油相 (蓖麻油、GTL、PLGA、肉豆蔻酸异丙酯)、4 种乳化剂 (T80、RH40、P188、司盘 80) 和 3 种助乳化剂 (PEG200、PEG400、DGME) 进行全面系统的筛选, 确定油相为 GTL, 筛选出 3 种乳化剂和助乳化剂作为备选; 其次, 固定 GLT 为油相, 与乳化剂进行辅料相容性考察, 发现结果并不理想, 之后, 以分散液粒径和 PDI 为评价指标对复合乳化剂用料比例进行考察, 确定复合乳化剂 T80 与 RH40 用料比为 2:3 时, 乳化效果良好, 粒径小于 100 nm, PDI<0.5, 所得自微乳稳定性较优良; 再次, 固定油相和复合乳化剂, 采用

伪三元相图对助乳化剂进行筛选,通过成乳面积确定 PEG200 为最佳乳化剂;最后,通过 CCD-RSM 确定各辅料最佳用料比例,进行质量表征,确定最佳工艺。

传统 SMEDDS 的制剂形态为液体,制备方法简易、易产业化,通常使用涡流混合器将药物、油、表面活性剂与助表面活性剂混合至均一溶液,但其仍存在储存稳定性差,载药量低等短板,致使临床使用受限。近年来,基于制剂技术更新与药物开发需求的提高,根据药物的溶解特性、理化性质等性质对自微乳制备工艺、辅料加入顺序进行调整,可提高制药载药量和稳定性。本研究在开展过程中,发现松果菊苷在水相 PEG200 中有着极大的溶解度(106.2 mg/g),因此,将松果菊苷溶解于 PEG200 中,再将水相与油相(GTL、RH40、T80)混合,即得澄清透明的淡黄色自微乳,极大地改善了 Ech-SMEDDS 的稳定性差和载药量低的缺陷,这也是本研究的特色与创新处之一。此外,新兴的载体材料被广泛应用于自微乳的固体化领域,并取得了较好地促进药物溶出和提高生物利用度的效果^[24]。目前常用的固化方式有喷雾干燥法、固体载体吸附法、挤出滚圆法和球晶造粒技术等,可将液体自微乳制备为胶囊、微丸、片、颗粒等制剂,可实现自微乳给药剂型的多元化^[25-26]。基于此,本研究将继续深入挖掘松果菊苷自微乳的固化技术,以此解决其存在的诸多问题,如液体性质不稳定、携带不便等缺点,为松果菊苷自微乳新剂型的研发提供参考。

目前,口服药物肠道吸收的研究方法主要有外翻肠囊法、人结直肠腺癌细胞(human colorectal adenocarcinoma cells, Caco-2)细胞培养法和在体单向肠灌注法(single-pass intestinal perfusion, SPIP)。其中,外翻肠囊法操作简便、重现性好,但在操作时易造成肠组织形态学损伤,且难以全面模拟人体内肠腔流体动力学环境与神经内分泌调节机制;Caco-2 细胞易培养,能够测定药物的细胞摄取和跨膜转运,但其缺少肠壁的粘液层,可作为小分子药物口服吸收的体外筛选模型。

而 SPIP 模型应用较为广泛,具有保持肠道神经、血管和内分泌系统的完整性的优点,可模拟人体肠道蠕动的生理状态^[27]。因此,本实验选用该模型进行 Ech-SMEDDS 的肠吸收特性研究,但是由于本研究选择的研究对象皆为 SD 雄性大鼠,未能说明性别差异对药物的影响,因此,本研究存在一定

的局限性,还需要进一步深入验证。SPIP 实验结果表明,酶降解和物理吸附对实验结果的影响可忽略不计,松果菊苷和 Ech-SMEDDS 在回肠中的吸收均较强,其次是空肠。有研究报道,回肠中分布着丰富的肠道相关淋巴组织派伊尔结,其表面覆盖的滤泡相关上皮组织含有大量的 M 细胞,其被认为是抗原物质的主要入口,具有特殊的细胞结构和表面特异性受体,有助于快速、高效地激发免疫反应,进而提高免疫活性物质的免疫功能。因此, M 细胞可作为口服免疫活性物质的热点递送靶点^[28-29]。已有诸多生物活性物质递送系统被开发用于靶向 M 细胞,如 Yoo 等^[30]通过相显示技术得到一种 M 细胞导向肽(CKS9),将其复合到壳聚糖纳米颗粒表面,赋予该纳米颗粒 M 细胞靶向功能,免疫荧光结果显示,CKS9 显著增强聚糖纳米颗粒靶向派伊尔结淋巴集结以及胞吞作用。由此可见,Ech-SMEDDS 能够增强松果菊苷在回肠段的吸收,这可能与 M 细胞对纳米乳滴的摄取有关。此外,关于药物的吸收与排泄,需要体内外多种模型综合分析和互相交叉验证,后续将开展 Ech-SMEDDS 在 Caco-2 细胞和口服药代动力学等体内外模型的吸收特性,以期对 Ech-SMEDDS 的体内吸收特性及规律进行更深入地探讨。

本研究基于复合乳化剂所研制的 Ech-SMEDDS 具有粒径小、载药量大、稳定性好的优势,增强肠道对松果菊苷的吸收,且制备工艺简便,易于产业化。本研究通过开发自微乳给药系统优化天然产物的口服肠道吸收特性,有助于推动创新中药制剂的临床转化,为践行质量源于设计理念的中药现代化研究提供了重要参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fu Z F, Fan X, Wang X Y, et al. *Cistanches Herba*: An overview of its chemistry, pharmacology, and pharmacokinetics property [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 233-247.
- [2] 冯茜,董波,杨旭红. 松果菊苷治疗神经系统疾病作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(5): 1654-1662.
- [3] 李洋,洪莉,刘成,等. 松果菊苷药理作用研究进展 [J]. *医药导报*, 2017, 36(1): 56-60.
- [4] Li F, Yang X L, Yang Y N, et al. Phospholipid complex as an approach for bioavailability enhancement of echinacoside [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2015, 41(11): 1777-1784.

- [5] Li Y, Zhou G S, Xing S H, *et al.* Identification of echinacoside metabolites produced by human intestinal bacteria using ultraperformance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(30): 6764-6771.
- [6] 陈雨露, 孙婉秋, 高彦祥, 等. 食品运载体系提高酚类物质生物利用度的研究进展 [J]. *食品科学*, 2020, 41(5): 323-330.
- [7] Tao C, Chen J M, Huang A W, *et al.* Development of solidified self-microemulsifying delivery systems with enhanced stability of sirolimus and extended release [J]. *Int J Pharm*, 2016, 513(1/2): 255-261.
- [8] 樊丽雅, 胡丽, 张璐, 等. 苦杏仁苷自微乳的制备及理化性质的研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(4): 475-479.
- [9] Goo Y T, Song S H, Yeom D W, *et al.* Enhanced oral bioavailability of valsartan in rats using a supersaturable self-microemulsifying drug delivery system with P-glycoprotein inhibitors [J]. *Pharm Dev Technol*, 2020, 25(2): 178-186.
- [10] Kim D W, Kwon M S, Yousaf A M, *et al.* Comparison of a solid SMEDDS and solid dispersion for enhanced stability and bioavailability of clopidogrel napadisilate [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 114: 365-374.
- [11] Raoul P, Cintoni M, Palombaro M, *et al.* Food additives, a key environmental factor in the development of IBD through gut dysbiosis [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(1): 167.
- [12] Viennois E, Merlin D, Gewirtz A T, *et al.* Dietary emulsifier-induced low-grade inflammation promotes colon carcinogenesis [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(1): 27-40.
- [13] Yang F J, Fu C L, Lv L, *et al.* Self-microemulsifying delivery system of WPI-Dai nano complex mixed with nonionic surfactant and its superiority in delivering daidzein [J]. *Food Hydrocoll*, 2020, 108: 105952.
- [14] Li P, Ghosh A, Wagner R F, *et al.* Effect of combined use of nonionic surfactant on formation of oil-in-water microemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2005, 288(1): 27-34.
- [15] 李春梅, 刘佳雯, 张馨元, 等. 共载小檗碱/胡椒碱自微乳给药系统的构建及评价 [J]. *中国药房*, 2024, 35(24): 2990-2997.
- [16] 温健, 刘文, 宋朔尧, 等. 吴茱萸碱磷脂复合物自微乳给药系统的胃溃疡靶向效应及保护作用评价 [J]. *中草药*, 2024, 55(1): 171-180.
- [17] 常大伟, 曹佳怡, 姚芊. 二氢杨梅素自微乳配方的优化及表征 [J]. *中国油脂*, 2025, 50(5): 75-84.
- [18] 邓翔, 朱煜文, 郑冀邢, 等. 波棱甲素-波棱多糖自组装纳米粒的制备及其肠吸收机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(2): 404-412.
- [19] Dokania S, Joshi A K. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS): Challenges and road ahead [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(6): 675-690.
- [20] Sun X X, Lv G S, Xiong J, *et al.* Novel solid self-emulsifying drug delivery system to enhance oral bioavailability of cabazitaxel [J]. *Int J Pharm*, 2024, 654: 123899.
- [21] 喻巧. 紫杉醇口服给药体系的构建及递药特性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [22] 李紫红, 姚力豪, 阮慧妮, 等. 中药口服自微乳释药系统的研究进展与挑战 [J/OL]. *中成药*, (2025-02-19) [2025-05-08]. <https://link.cnki.net/urlid/31.1368.R.20250219.0920.002>.
- [23] 袁海建, 陈彦, 贾晓斌. 中药自微乳药物传递系统的研究与应用 [J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(6): 524-527.
- [24] 仲粒, 李小芳, 刘罗娜, 等. 自微乳技术在中药制剂中的应用及其固化研究进展 [J]. *中药与临床*, 2019, 10(S2): 53-58.
- [25] 杨志欣, 刘天教, 卞士嘉, 等. 叶酸修饰的苦参总黄酮固体自微乳的制备 [J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(2): 256-262.
- [26] 黄雯婷, 刘志宏, 张灵娜, 等. 基于介孔硅固化自微乳的西罗莫司缓释片的制备与评价 [J]. *药学学报*, 2023, 58(4): 1049-1058.
- [27] Zhao Y Y, Fan Y, Wang M, *et al.* Studies on pharmacokinetic properties and absorption mechanism of phloretin: *In vivo* and *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132: 110809.
- [28] Nochi T, Yuki Y, Matsumura A, *et al.* A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(12): 2789-2796.
- [29] 张义平. M 细胞靶向淀粉基层层自组装微囊的设计及其靶向控释递送机制研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [30] Yoo M K, Kang S K, Choi J H, *et al.* Targeted delivery of chitosan nanoparticles to Peyer's patch using M cell-homing peptide selected by phage display technique [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(30): 7738-7747.

[责任编辑 郑礼胜]