

# 穿心莲内酯过饱和自微乳化释药系统的制备及体外评价

严敏嘉, 李小芳\*, 吴超群, 赵甜甜, 马祖兵, 孙强

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** 目的: 优选穿心莲内酯过饱和自微乳化释药系统的处方工艺, 以提高穿心莲内酯的溶解度及生物利用度。方法: 通过溶解度试验及伪三元相图的工艺初步筛选后, 采用单纯形网格法, 以粒径、多分散指数和乳化时间为指标, 确定穿心莲内酯自微乳的处方; 以析晶情况、粒径、多分散指数、乳化时间以及穿心莲内酯的溶出度为考察指标筛选最佳促过饱和抑制剂。结果: 穿心莲内酯过饱和自微乳处方为油酸乙酯-(聚山梨酯-80)-聚乙二醇 400-羟丙基甲基纤维素 K4M (20:35:45:1)。穿心莲过饱和自微乳乳化后的平均粒径( $29.26 \pm 0.56$ ) nm, 多分散指数  $0.19 \pm 0.02$ , Zeta 电位 ( $-10.23 \pm 2.34$ ) mV, 乳化时间 ( $62.39 \pm 2.03$ ) s, 1 h 累积溶出度高达 91%。结论: 加入羟丙基甲基纤维素 K4M 后可明显抑制穿心莲内酯自微乳液的析晶时间, 增加自微乳的稳定性; 相较于普通自微乳可明显提高穿心莲内酯的体外溶出度, 进而提高该成分的生物利用度。

**[关键词]** 穿心莲内酯; 痢疾; 过饱和自微乳; 单纯形网格法; 体外溶出度; 多分散指数; 自微乳化给药系统

**[中图分类号]** R22; R24; R289; R283.6; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)10-0008-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181003

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180309.1320.052.html>

**[网络出版时间]** 2018-03-09 14:41

## Preparation and *in Vitro* Evaluation of Andrographolide Supersaturatable Self-microemulsifying Drug Delivery System

YAN Min-jia, LI Xiao-fang\*, WU Chao-qun, ZHAO Tian-tian, MA Zu-bing, SUN Qiang

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare supersaturatable self-microemulsifying drug delivery system of andrographolide for increasing its solubility and bioavailability. **Method:** Based on results of solubility test and pseudo-ternary phase diagrams, the formulation of self-microemulsifying drug delivery system was optimized by simplex lattice method with degree of average particle size, polydispersity index and emulsifying time as indexes; and the best supersaturated inhibitor was screened out by means of crystallization, particle size, polydispersity index, self-emulsifying time and dissolution rate of andrographolide. **Result:** The optimum formulation of andrographolide supersaturated self-microemulsion was ethyl oleate, polysorbate-80, polyethylene glycol 400 and hydroxypropyl methylcellulose K4M in the ration of 20:35:45:1. After emulsification, average particle size, polydispersity index, Zeta potential, emulsifying time and the cumulative dissolution rate at 1 hour of

**[收稿日期]** 20170903(013)

**[基金项目]** 四川省科技厅科技创新苗子工程重点项目(2016RZ0037); 四川省教育厅项目(16ZB0118)

**[第一作者]** 严敏嘉, 在读硕士, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, E-mail: 1053537449@qq.com

**[通信作者]** \* 李小芳, 教授, 博士生导师, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, E-mail: lixiaofang918@163.com

andrographolide supersaturatable drug delivery system were  $(29.26 \pm 0.56)$  nm,  $0.19 \pm 0.02$ ,  $(-10.23 \pm 2.34)$  mV,  $(62.39 \pm 2.03)$  s and 91%, respectively. **Conclusion:** The hydroxypropyl methylcellulose K4M can obviously inhibit the crystallization time and increase the stability of the self-microemulsion; compared with the ordinary self-microemulsion, supersaturated self-microemulsion can improve the dissolution of andrographolide obviously, and the bioavailability of andrographolide is improved.

**[Key words]** andrographolide; dysentery; supersaturated self-microemulsion; simplex lattice method; *in vitro* dissolution; polydispersity index; self-microemulsifying drug delivery system

自微乳化给药系统(SMEDDS)是药物溶解于油相、乳化剂和助乳化剂后形成的制剂<sup>[1]</sup>。口服后在胃肠道中与体液混合伴随蠕动自发分散成水包油型乳滴,药物粒径  $< 100$  nm<sup>[2]</sup>,可明显提高难溶性药物的溶解度,提高药物吸收率。但自微乳进入胃肠道后在体液中易出现析出药物结晶的现象,导致生物利用率降低,阻碍了自微乳的应用<sup>[3]</sup>。过饱和自微乳化给药系统(S-SMEDDS)是在 SMEDDS 的基础上加入促过饱和类物质而形成的一种新剂型。近年来有研究报道在依托泊苷、尼莫地平、水飞蓟宾等难溶性药物自微乳中添加沉淀抑制剂如聚乙烯吡咯烷酮类、羟丙甲纤维素等,可明显改善 SMEDDS 的不足,比如减少表面活性剂的用量、防止药物在释放后沉淀、增加以上难溶性制剂的稳定性及溶出度<sup>[4-7]</sup>。

穿心莲内酯为爵床科植物穿心莲的主要有效成分,具有祛热解毒、消炎止痛之功效,对细菌性与病毒性上呼吸道感染及痢疾有特殊疗效,开发前景良好<sup>[8]</sup>。由于穿心莲内酯化学结构为二萜内酯类化合物,难溶于水,导致其口服利用度低,临床应用受到限制。已有研究表明<sup>[9]</sup>自微乳系统可使穿心莲内酯在 Caco-2 细胞模型中的表观渗透系数( $P_{app}$ )较原料药增加了约 5 倍,促进了跨膜转运,并改善了该成分的细胞吸收效果,具有较好的开发利用价值。刘丹霞等<sup>[10]</sup>报道发现穿心莲自微乳中采用较大比例的 1,2-丙二醇作为助乳化剂时,稀释过程中穿心莲内酯会在短时间内大量析出,减弱吸收效果,所以有必要加入沉淀抑制剂,减少穿心莲内酯在体内的析晶量并延长结晶时间,提高其在体内的稳定性,制备穿心莲内酯过饱和自微乳。本实验拟通过单纯形网格法优选穿心莲内酯自微乳的处方<sup>[11]</sup>,考察最佳促过饱和物质及其用量,最终得到穿心莲内酯过饱和自微乳处方,为提高穿心莲内酯自微乳在体内的稳定性及生物利用度提供实验依据,也为过饱和自微乳系统的研究提供参考。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),

BP61 型 1/10 万电子天平(德国 Satorius 公司), Nicomp 380 ZLS 型激光粒度仪(美国 PSS 粒度仪公司),85-2 型恒温磁力搅拌器(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂),80-1 型离心沉淀器(江苏正基仪器有限公司)。

穿心莲内酯(西安小草植物科技有限公司,批号 150501,纯度  $> 98\%$ ),穿心莲内酯对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号 MUST-16041511,纯度 99.55%),橄榄油(北京化工厂),中链甘油三酸酯(MCT,铁岭北亚药用油有限公司),油酸乙酯(EO,上海飞祥化工厂),二乙二醇单乙基醚(Transcutol HP,淮安和元化工有限公司);聚山梨酯-80(tween-80),辛酸/癸酸聚乙二醇甘油酯(labrasol),乳化剂 OP-10,tween-20,油酸,聚乙二醇 400(PEG400),1,2-丙二醇,丙三醇,羟丙甲基纤维素 K4M(HPMC K4M),HPMC E6,羧甲基纤维素钠(CMC-Na),聚乙烯吡咯烷酮 K30(PVP K30),PVP K90 均购自成都市科龙化工试剂厂;水为纯化水,试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 穿心莲内酯的含量测定<sup>[12]</sup>

**2.1.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(60:40),流速设定 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 225 nm,柱温 37 °C。理论板数按穿心莲内酯峰计算  $> 5000$ 。

**2.1.2 溶液的制备** 精密称取穿心莲内酯对照品 11.2 mg 于 100 mL 量瓶中,加甲醇定容并配成 112 mg·L<sup>-1</sup> 对照品溶液。精密称取穿心莲内酯自微乳 0.1 g,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇超声破乳并定容,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

**2.1.3 线性范围考察** 取穿心莲内酯对照品溶液 1,2,4,6,8,10 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 2425.9X + 8.9933$  ( $R^2 = 0.9998$ ),线性范围 0.112 ~ 1.12 μg。

**2.1.4 精密度试验** 精密吸取 84 mg·L<sup>-1</sup> 穿心莲

内酯对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次,每次进样 10  $\mu\text{L}$ ,结果穿心莲内酯峰面积的 RSD 0.4%,表明仪器精密度高。

**2.1.5 重复性试验** 平行制备同一批供试品溶液 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果样品中穿心莲内酯的平均质量分数 12.2  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 1.0%,说明该方法重复性良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,6,8,10,12 h 后按 2.1.1 项下色谱条件测定,每次进样 10  $\mu\text{L}$ ,计算穿心莲内酯峰面积的 RSD 1.1%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.1.7 加样回收试验** 配制含穿心莲内酯 52.3, 52.1,52.4,52.5,53.3,53.7  $\mu\text{g}$  的样品共 6 份,分别加入含穿心莲内酯 56  $\mu\text{g}$  的对照品溶液,加甲醇稀释得 6 份供试品溶液,计算平均加样回收率 98.8%,RSD 1.2%。

**2.2 穿心莲内酯的溶解度测定**<sup>[11]</sup> 将过量的穿心莲内酯加入到油相(EO, MCT, 大豆油, 油酸),乳化剂(tween-20, tween-80, RH-40)和助乳化剂(Transcutol HP, 1,2-丙二醇, PEG400, 丙三醇)中,每种试剂 5 mL,使用磁力搅拌器搅拌均匀,超声 2 h 助溶,于(37  $\pm$  0.5)  $^{\circ}\text{C}$  水浴静置 24 h,于 4 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 1 h,取上清液用甲醇稀释适宜倍数,按 2.1 项下方法测定,计算穿心莲内酯在各试剂中的溶解度分别为 1.196,0.040,0.016,0.020,12.090,10.133,4.984,61.023,31.225,31.424,35.412  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在油相中溶解度的排序为 EO > MCT > 油酸 > 大豆油,乳化剂中溶解度的排序为 tween-20 > tween-80 > RH-40,助乳化剂中的溶解度排序为 Transcutol HP > 丙三醇 > PEG400 > 1,2-丙二醇。实验过程中发现乳化剂 labrasol 溶于甲醇后会出现液滴一直存在、分散不均匀的分层现象,故不建议将其作为乳化剂。

**2.3 自微乳处方的筛选**

**2.3.1 油相与乳化剂相容性考察** 选取溶解度较高的油相和乳化剂进行配伍对比试验,油相选用 EO, MCT; 乳化剂选用 tween-20, tween-80, RH-40。将油相和乳化剂分别按 1:9, 2:8, 3:7, 4:6 比例搅拌均匀,取无相分离的混合物 1 g 滴入 37  $^{\circ}\text{C}$  的 100 倍量水中,于 100  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  恒速磁力搅拌,观测乳化情况。目测等级按参考文献[13]设定为 A:乳化时间 < 1 min,溶液呈澄清或略泛蓝光; 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。

结果表明 EO 和 tween-80 的相容性较好,与 tween-20 乳化困难,与 RH-40 形成凝胶状物; MCT 与 tween-20, tween-80 均形成凝胶状物,与 RH-40 乳化效果较差。所以选取油相为 EO, 乳化剂为 tween-80。

**2.3.2 助乳化剂的筛选** 将 tween-80 与助乳化剂按 1:1 比例混合得混合表面活性剂,再与油相以 9:1, 8:2, 7:3, 6:4 的比例混合,以固定转速 200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  搅拌 15 min,混合均匀。将混合物滴入 37  $^{\circ}\text{C}$  的 100 倍量水中,观察现象,见表 1。结果表明 PEG400 效果较好,可作为助乳化剂。

表 1 油相与混合表面活性剂按不同比例混合后的相容性与目测等级

Table 1 Compatibility and visual grade of oil phase mixed with mixed surfactant in different proportions

助乳化剂	目测等级			
	EO-混合表面活性剂(1:9)	EO-混合表面活性剂(2:8)	EO-混合表面活性剂(3:7)	EO-混合表面活性剂(4:6)
1,2-丙二醇	B	C	C	C
PEG400	A	B	C	C
Transcutol HP	C	D	D	D
甘油	B	C	C	C

注:混合表面活性剂包括助乳化剂和乳化剂(tween-80)。

**2.3.3 伪三元相图的绘制** 确定油相为 EO, 乳化剂为 tween-80, 助乳化剂为 PEG400 后绘制伪三元相图。将乳化剂与助乳化剂按 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 的质量比混合,再与油相按 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 的质量比混合均匀。将混合物滴入固定转速(100  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )和温度 37  $^{\circ}\text{C}$  的 100 倍量水中,观察现象,记录能形成微乳时的点,采用 Origin 8.5 软件绘制伪三元相图,见图 1。结果确定各相(EO, tween-80 和 PEG400)质量分数的取值分别为 10% ~ 40%, 30% ~ 80%, 20% ~ 80%。

**2.4 单纯形网格法优化自微乳处方** 参考伪三元相图所得结果,结合各相自身存在特点,确定各组分的质量比例为 EO 10% ~ 40%, tween-80 30% ~ 60%, PEG400 30% ~ 60%, 以此比例设计单纯形网格法处方。将以上三元相按照处方比例混合后,加入过量穿心莲内酯混合均匀,超声 2 h 助溶后于 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴静置 24 h,制得穿心莲内酯自微乳(AP-SMEDDS)。将制得的自微乳滴入固定转数(100  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )和温度 37  $^{\circ}\text{C}$  的 100 倍量水中,用秒表记录乳化时间,采用激光粒度仪测定乳液粒径及

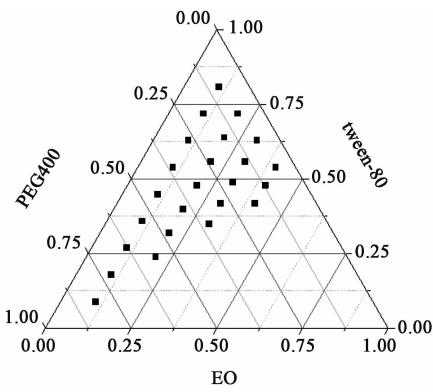


图 1 穿心莲内酯自微乳 (AP-SMEDDS) 中油相、乳化剂、助乳化剂的伪三元相

Fig.1 Pseudo-ternary phase diagram of oil phase, emulsifier and co-emulsifier in andrographolide self-microemulsion (AP-SMEDDS)

多分散指数 (PDI)。以平均粒径、乳化时间和 PDI 为指标优选处方。试验安排及结果见表 2。

表 2 AP-SMEDDS 处方的单纯形网格法优化

Table 2 Optimization of formulation of AP-SMEDDS by simplex lattice method

No.	A EO /%	B tween- 80/%	C PEG400 /%	粒径 ( $Y_1$ ) /nm	PDI ( $Y_2$ )	乳化时间 ( $Y_3$ )/s
1	40	30	30	88.4	0.199	100.14
2	25	45	30	21.5	0.093	62.52
3	20	40	40	20.1	0.103	88.74
4	40	30	30	102.9	0.213	156.44
5	25	45	30	20.3	0.063	59.53
6	30	35	35	47.1	0.289	117.56
7	10	45	45	15.1	0.164	58.98
8	15	50	35	15.5	0.072	35.57
9	10	30	60	20.3	0.259	37.85
10	10	60	30	6.4	0.456	36.73
11	10	60	30	6.2	0.460	47.63
12	25	30	45	48.1	0.235	69.33
13	10	30	60	22.5	0.111	49.11
14	15	35	50	22.6	0.118	43.47

2.4.1 数据模型拟合 运用 Design Expert 8.05 软件,以 EO,tween -80,PEG400 的比例为因变量,通过模型拟合得响应方程分别为  $Y_1 = 95.27A + 7.23B + 21.33C - 121.41AB - 48.8AC + 5.75BC$ , ( $P_1 < 0.0001$ ,  $R_{Adj}^2 = 0.985$ );  $Y_2 = 0.23A + 0.44B + 0.18C - 1.10AB + 0.23AC - 0.79BC$  ( $P_2 = 0.0071$ ,  $R_{Adj}^2 = 0.853$ );  $Y_3 = 131.72A + 38.49B + 40.20C -$

$74.19AB - 18.99AC + 69.11BC$  ( $P_3 = 0.0008$ ,  $R_{Adj}^2 = 0.836$ )。以上响应模型中各因素  $P$  均  $< 0.05$ , 水平非常显著;失拟项  $P$  均  $> 0.05$ , 相对纯误差水平不显著,回归方程调整系数均接近 0.9,说明回归模型拟合较好,能够准确根据自变量值来预测最优处方。

2.4.2 效应面分析 结合二次多项式模型方程和三维相图分析,EO 对平均粒径的影响较大,随着 EO 比例增加,平均粒径增大,趋势明显;其余两相比对粒径的影响相当,tween-80 和 PEG400 比例越大,粒径越小。tween-80 对自微乳的 PDI 影响显著,其比例越大,PDI 越高,分散性越差;EO 和 PEG400 所占比例较小及均匀时,PDI 越小,三者比例都大时分散指数均变大。EO 对乳化时间的影响也显著,其比例越大,乳化时间越长,主要是因为 EO 在乳化过程中易形成凝胶状物质,分散困难,导致乳化时间过长;而 tween-80 与 PEG400 对乳化时间的影响相当,两者所占比例越大,乳化越快。见图 2。

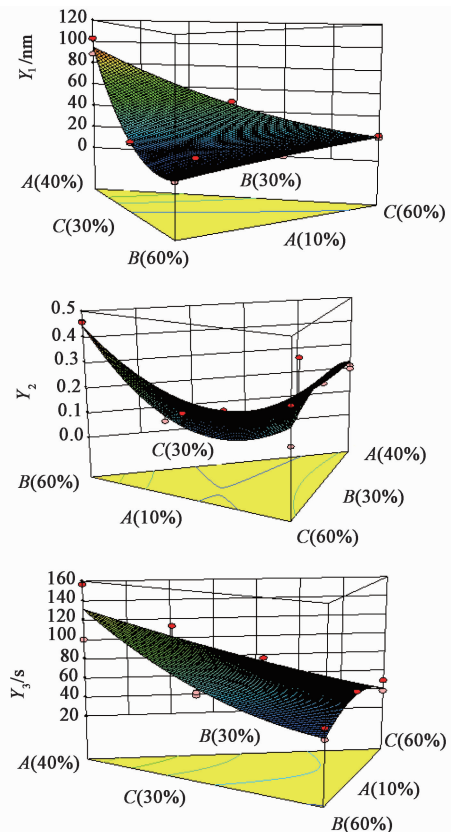


图 2 油相、乳化剂、助乳化剂比例对 AP-SMEDDS 处方影响的三维效应面

Fig.2 Three-dimensional response surfaces of effect of oil phase, emulsifier and co-emulsifier on prescription of AP-SMEDDS

2.5 自微乳最优处方确定与验证 根据自微乳化制剂的特点,粒径越小,药物比表面越大,PDI 越小,

药物粒径的分布也越窄,越利于药物的溶出以及吸收,自微乳化时间越短,乳化效率越高<sup>[14]</sup>。综合考虑 3 个指标,参考文献[13-14]以及单纯形网格法的实验结果,以平均粒径介于 20 ~ 40 nm, PDI < 0.2, 乳化时间 30 ~ 60 s 为最优取值范围,单纯形网格模型预测最优处方为 EO-(tween-80)-PEG400 (20:35:45)。按照优选的处方制备穿心莲内酯自微乳 3 批,平行测定粒径、乳化时间和 PDI,并与预测值进行比较,见表 3。结果发现各指标偏差均较小,均 < 5%。说明单纯形网格法及其数学模型有良好的预测效果。

表 3 AP-SMEDDS 处方优选的验证试验 (n = 3)

Table 3 Verification test of optimal prescription of AP-SMEDDS (n = 3)

指标	预测值	实测值	偏差/%
粒径	24.93 nm	26.02 nm	4.37
PDI	0.128	0.124	-3.13
乳化时间	56.87 s	58.21 s	2.36

**2.6 促过饱和物质种类筛选** 按照优化的处方,固定 EO-(tween-80)-PEG400 (20:35:45),添加适当过量的穿心莲内酯原料药,分别加入不同种类等量的促过饱和和抑晶物质,40 °C 磁力搅拌混合均匀,超声 2 h 助溶,37 °C 水浴静置 24 h,制得穿心莲内酯过饱和自微乳 (AP-S-SMEDDS)。取该过饱和自微乳 0.1 g,加入 10 mL 的 37 °C 水中,采用恒温磁力搅拌器于 100 r·min<sup>-1</sup> 搅拌,形成自微乳液后静置,每隔一定时间段将微乳进行 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,取下层液体,观察析晶现象<sup>[5]</sup>,见表 4。结果表明 HPMC K4M 效果较好,抑晶时间长,且能达到溶解状态。

**2.7 促过饱和物质用量的筛选**

**2.7.1 过饱和自微乳析晶情况** 按自微乳处方加入处方量的油相、乳化剂、助乳化剂与过量的穿心莲内酯,加入不同量促过饱和物质,于 40 °C 磁力搅拌均匀后超声 2 h 助溶,37 °C 水浴静置 24 h,制得 AP-S-SMEDDS,照 2.6 项下操作并记录析晶现象,见表 5。结果发现随着 HPMC K4M 用量的增加,其抑晶时间从 12 h 延长到 16 h,抑晶作用增加。但用量增多会导致其难溶解于自微乳,用量为 2% 时自微乳呈混悬状态。

**2.7.2 AP-S-SMEDDS 的粒径、乳化时间和 PDI 检测** 按照优化处方加入过量的穿心莲内酯和不同含

表 4 穿心莲内酯过饱和自微乳 (AP-S-SMEDDS) 中不同种类促过饱和物质的抑晶效果

Table 4 Crystal inhibiting effect of different kinds of supersaturated substances in andrographolide supersaturated self-microemulsion (AP-S-SMEDDS)

处方	溶解状态	析晶情况				
		4 h	8 h	12 h	16 h	24 h
AP-SMEDDS	-	+	+	++	+++	+++
AP-SMEDDS + 1% HPMC K4M	溶解	-	-	-	-	+
AP-SMEDDS + 1% CMC-Na	稍浊	-	-	+	++	+++
AP-SMEDDS + 1% PVP K30	溶解	-	-	-	+	++
AP-SMEDDS + 1% PVP K90	溶解	-	-	-	+	++
AP-SMEDDS + 1% HPMC E6	未溶	-	+	++	+++	+++

注:“-”表示未析晶;“+”表示极少量析晶;“++”表示少量析晶;“+++”表示大量析晶;“++++”表示析晶严重;0 h 时均无析晶现象(表 5 同)。

表 5 AP-S-SMEDDS 中促过饱和物质的用量考察

Table 5 Investigation of supersaturated substances amount in AP-S-SMEDDS

处方	溶解状态	析晶情况				
		4 h	8 h	12 h	16 h	24 h
AP-SMEDDS		+	+	++	+++	+++
AP-SMEDDS + 0.5% HPMC K4M	溶解	-	-	-	+	++
AP-SMEDDS + 1.0% HPMC K4M	溶解	-	-	-	+	++
AP-SMEDDS + 1.5% HPMC K4M	溶解	-	-	-	-	++
AP-SMEDDS + 2.0% HPMC K4M	混悬	-	-	-	-	++

量的 HPMC K4M 制备 AP-S-SMEDDS,取能形成均一透明的处方,取 AP-S-SMEDDS 0.5 g 加至转速 100 r·min<sup>-1</sup> 和温度 37 °C 的 50 mL 水中,以液滴接触水面开始计时,记录乳化时间。同时测量所得乳液的粒径和 PDI (n = 3),见表 6。结果发现随着 HPMC K4M 用量的增加,AP-S-SMEDDS 的粒径稍微有所增大,但趋势不明显;PDI 则随着用量的增加呈增长趋势;乳化时间也随着用量的增加而增大,HPMC K4M 用量 ≥ 1.5% 时,乳化时间明显增大,且乳化困难。

**2.7.3 体外溶出度比较** 固定载药量为 15 mg,精密称取 AP-SMEDDS 及含不同促过饱和剂用量的 AP-S-SMEDDS 各 0.6 g,装于 0 号胶囊壳。按 2015 年版《中国药典》溶出度测定法第二法(浆法)测定。以水 900 mL 为溶出介质,转速 100 r·min<sup>-1</sup>,温度 (37 ± 0.5) °C。分别于 5,10,20,30,45,60,120 min 取样 5 mL,并及时补入同温度水 5 mL。所取样品用

表 6 不同处方 AP-S-SMEDDS 的粒径、乳化时间及多分散指数 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Particle size, emulsification time and polydispersity index of AP-S-SMEDDS with different prescriptions ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

处方	粒径/nm	PDI	乳化时间/s
AP-SMEDDS	27.93 ± 0.45	0.12 ± 0.03	65.73 ± 2.33
AP-SMEDDS + 0.5% HPMC K4M	28.33 ± 0.17	0.17 ± 0.02	63.28 ± 1.51
AP-SMEDDS + 1.0% HPMC K4M	29.26 ± 0.56	0.19 ± 0.02	63.39 ± 2.03
AP-SMEDDS + 1.5% HPMC K4M	40.59 ± 0.39	0.22 ± 0.05	120.67 ± 1.45
AP-SMEDDS + 2.0% HPMC K4M	45.59 ± 0.39	0.42 ± 0.05	150.67 ± 1.67

甲醇稀释一定倍数,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样检测。按 2.1 项下方法测定样品中穿心莲内酯含量,绘制溶出曲线,见图 3。结果发现随着 HPMC K4M 用量的增加,溶出速率有所增加;相比于其他 HPMC K4M 用量,在用量为 1% 时,AP 累积溶出速率稳定迅速,1 h 内累积溶出度可达 91%。综合考虑,选择 HPMC K4M 用量为 1%。

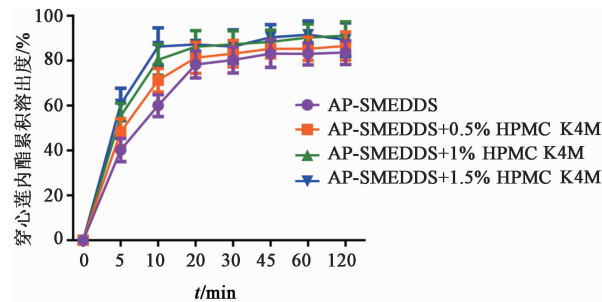


图 3 不同促过饱和物质用量所制 AP-S-SMEDDS 的体外溶出曲线  
Fig. 3 *In vitro* dissolution curves of AP-S-SMEDDS prepared with different amounts of supersaturated substances

## 2.8 AP-S-SMEDDS 的理化性质考察

**2.8.1 外观和粒径分布** AP-S-SMEDDS 的最优处方为 EO-(tween-80)-PEG400-HPMC K4M (20:35:45:1),其无色透明澄清油状液体;经 37 °C 的 100 倍量水稀释后呈无色透明略带蓝光的液体。测得乳化后平均粒径 (29.26 ± 0.56) nm, PDI = 0.19 ± 0.02, Zeta 电位 (-10.23 ± 2.34) mV, 乳化时间 (63.39 ± 2.03) s, 载药量 (15.02 ± 1.05) mg·g<sup>-1</sup>。

**2.8.2 溶出度试验** 精密称取载药量为 15 mg·g<sup>-1</sup> 的 AP-SMEDDS 和 AP-S-SMEDDS 各 0.6 g, 穿心莲内酯原料药 9 mg 装于 0 号胶囊壳,按 2.7.3 项下方法测定穿心莲内酯的溶解度,见图 4。结果发现在 60 min 内,原料药的溶出度不到 20%,而 AP-SMEDDS 中 AP 的累积溶出度在 30 min 时便可达 80% 以上,AP-S-SMEDDS 溶出度相较于 AP-SMEDDS 有明显提升,在 30 min 时溶出度达 90% 以上。说明过饱和自微乳可明显提高穿心莲内酯的溶

出度,且效果较自微乳好。

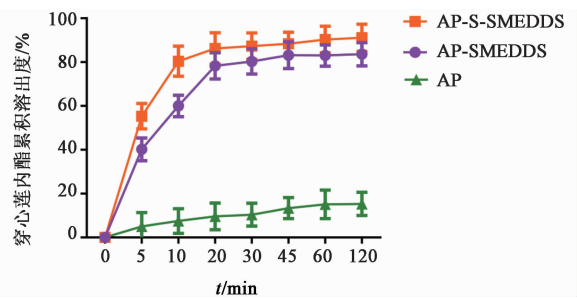


图 4 穿心莲内酯原料药及其自微乳、过饱和自微乳的溶出曲线  
Fig. 4 Dissolution curves of andrographolide and its self-microemulsion, supersaturated self-microemulsion

## 3 讨论

单纯形网格优化法是通过空间图形淘汰法在非线性的条件下进行优化的方法,多用于多个组分之和恒定的体系,具有实验次数少、预测准确的优点<sup>[15-17]</sup>。相较于已有的星点设计-效应面法优化 AP-SMEDDS 处方,本实验采用单纯形网格法的实验次数少,得到的自微乳预测性也良好。所得 AP-SMEDDS 平均粒径 26.02 nm, PDI = 0.124, Zeta 电位 -20.58 mV, 与刘丹霞等<sup>[10]</sup>报道的结果 (PDI = 0.215, Zeta 电位 -14.55 mV) 相比, PDI 更小, 粒径分布窄, 粒径分布更均匀, Zeta 电位绝对值更大, 粒子稳定性更好。与 AP-SMEDDS 比较, 加入 HPMC K4M 后过饱和溶液的析晶时间明显延长了 (约 12 h), 且使得穿心莲内酯 1 h 的累积溶出度约提高了 10%, 进一步增加了药物的溶出度。

研究过程中发现 HPMC K4M 有一定的黏性,且自微乳对其溶解量也有限,加入过多则自微乳会变浑浊;过饱和自微乳在乳化形成溶液后,HPMC K4M 用量增加会导致溶液中药物粒径和 PDI 变大,减弱吸收效果;溶出度考察中发现当 HPMC K4M 用量增加过多时,其溶出速率反而变慢,可能是由于其本身的网状结构及黏度过大阻碍了药物的溶出。有研究发现 HPMC 对 SMEDDS 的脂解速率有明显影响,

HPMC 有利于药物分配进入水性分散相并抑制药物沉淀,其机制与 HPMC 的黏度、相对分子质量及网络空间结构有关<sup>[18]</sup>,由于 HPMC 的种类较多,其具体影响机制有待进一步考察。

S-SMEDDS 是在 SMEDDS 中添加水溶性纤维聚合材料,例如 HPMC, PVP, 羟丙甲纤维素邻苯二甲酸酯类和甲基纤维素类<sup>[19-21]</sup>等,但目前关于促过饱和物质的抑晶机制尚不明确,已知的促过饱和物质品种少,可参考文献也较少,阻碍了过饱和自微乳的开发,目前上市的品种也只有环保霉素 A, 利托那韦和沙奎那韦软胶囊。中药中难溶性成分种类较多,希望能在这类释药系统中加以探索,使中药的难溶性药物得到更好的开发与利用。

[参考文献]

[1] Porter C J, Wasan K M, Constantinides P. Lipid-based systems for the enhanced delivery of poorly water soluble drugs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(6):615-616.

[2] 沈熊, 吴伟. 自乳化和自微乳释药系统[J]. *复旦大学学报:医学版*, 2003, 30(2):180-183.

[3] Iervolino M, Cappello B, Raghavan S L, et al. Penetration enhancement of ibuprofen from supersaturated solutions through human skin[J]. *Int J Pharm*, 2001, 212(1):131-141.

[4] 乔梁, 魏颖慧, 李范珠. 过饱和自微乳释药系统的研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2008, 35(4):279-283.

[5] 赵丹丹, 黄挺, 黄绳武. 依托泊苷过饱和自微乳释药系统的制备工艺及质量评价研究[J]. *中草药*, 2015, 46(6):822-831.

[6] 王姿媛, 唐洪梅, 薛秀清, 等. 尼莫地平过饱和自微乳的研制[J]. *广东药学院学报*, 2014, 30(2):127-131.

[7] 彭璇, 陈莘莘, 包强, 等. 水飞蓟宾过饱和自乳化和给药的制备及性质研究[J]. *中草药*, 2010, 41(1):40-44.

[8] 吕巧莉, 涂国刚, 王嘉琦, 等. 穿心莲内酯的研究进展及临床应用[J]. *南昌大学学报:医学版*, 2013, 53(1):83-86.

[9] 李韶清, 张焕滨, 刘丹霞, 等. 穿心莲内酯自微乳在

Caco-2 细胞模型中的转运机制研究[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(1):12-15.

[10] 刘丹霞, 张焕滨, 廖华卫, 等. 穿心莲内酯自微乳释药系统的处方优化与评价[J]. *广东药学院学报*, 2015, 31(5):561-565.

[11] 杨露, 李小芳, 罗佳, 等. 单纯形网格法优选柿叶总黄酮自微乳处方[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(24):13-17.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:412.

[13] 朱双燕, 尹蓉莉, 崔名全, 等. 穿心莲内酯自微乳制剂的处方优化及质量评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(8):55-59.

[14] 王冰, 浦益琼, 徐本亮, 等. 20(S)-原人参二醇自微乳释药系统的处方优化和有效期预测[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(22):1-6.

[15] 黄庆德, 姚娜, 胡建萍, 等. 单纯形网格法优化灯盏花素微乳处方及其理化性质考察[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(15):1401-1405.

[16] 李华, 潘卫三, 吴振, 等. 长春西汀微乳的优化及其理化性质的考察[J]. *药学学报*, 2004, 39(1):681-685.

[17] 崔颖, 张韵慧, 郭鹏. 四元单纯形网格法优化磷酸川芎嗪微乳处方[J]. *中成药*, 2009, 31(1):43-46.

[18] 肖璐, 易涛. 羟丙甲基纤维素作为过饱和自乳化和给药的沉淀抑制剂的机制研究[J]. *药科学报*, 2013, 48(5):767-772.

[19] GAO P, Guyton M E, HUANG T, et al. Enhanced oral bioavailability of a poorly water soluble drug PNU-91325 by supersaturatable formulations[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2004, 30(2):221-229.

[20] Raghavan S L, Kiepfer B, Davis A F, et al. Membrane transport of hydrocortisone acetate from supersaturated solutions the role of polymers[J]. *Int J Pharm*, 2001, 221(1/2):95-105.

[21] CHEN Y, DU R, ZENG X F, et al. Effect of supersaturated promoter on the dissolution of self-emulsifying drug delivery system of docetaxel[J]. *Chin Pharm J*, 2010, 45(6):444-449.

[责任编辑 刘德文]