

# 玳玳黄酮自微乳化微丸的性能评价及总黄酮含量测定

吴晓青<sup>1</sup>, 陈丹<sup>2\*</sup>, 黄群<sup>2</sup>

(1. 福建生物工程职业技术学院, 福州 350002; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350122)

**[摘要]** **目的:**考察并评价玳玳黄酮自微乳化微丸的性能,建立该制剂中总黄酮的含量测定方法。**方法:**通过考察微丸的外观性状、大小以及成乳后的乳滴粒径分布、自微乳化时间、Zeta 电位、稳定性及影响因素等,评价玳玳黄酮自微乳化微丸的性能;运用紫外分光光度法,以新橙皮苷为指标成分,在 284 nm 波长处,测定其总黄酮的含量。**结果:**研制的玳玳黄酮自微乳化微丸为球形黄褐色小丸,分布在 16~30 目(收率 92.5%);自微乳化成乳后,微乳平均粒径(78.8±12) nm,且在不同 pH 分散介质、不同转速和不同温度下,自微乳粒径无明显变化。总黄酮在 4.44~26.64 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好,  $r=0.9999$ ,平均回收率 99.9% (RSD 1.0%)。**结论:**玳玳黄酮自微乳化微丸具有良好的自微乳化性能,建立的紫外分光光度法简便、准确,可用于玳玳黄酮自微乳化微丸制剂的载药总黄酮的含量测定。

**[关键词]** 玳玳黄酮; 自微乳化药物传递系统; 微丸; 性能评价; 总黄酮

**[中图分类号]** R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0053-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240053

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1456.019.html>

**[网络出版时间]** 2014-11-06 14:56

## Performance Evaluation and Total Flavones Determination of Daidai Flavones Self-microemulsifying Pellets

WU Xiao-qing<sup>1</sup>, CHEN Dan<sup>2\*</sup>, HUANG Qun<sup>2</sup>

(1. Fujian Vocational College of Bioengineering, Fuzhou 350002, China;

2. Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

**[Abstract]** **Objective:** The purpose of this research was to evaluate the performance of Daidai flavones self-microemulsifying pellets, and to establish a method for the determination of Daidai flavones in this preparation. **Method:** The performance was evaluated by appearance, size distribution, droplet size, self-emulsification efficiency, zeta potential, stability and influence factors after forming micro emulsion. The neohesperidin was used as index ingredient, and the content of total flavones was measured by UV-spectrophotometry at 284 nm. **Result:** The size of Daidai flavones SME pellets in this research mainly distributed at 16-30 sieves and the yield reached up to 92.43%, the end product was uniformly spherical yellowish-brown pellets. The droplet sizes after forming micro emulsion were nearly the same as those in different dispersion mediums, at different rotate speeds and at different temperatures. The average diameter of Daidai flavones SME pellets were (78.8±12) nm. The UV method for determination of total flavones content was established. The linear ranges of neohesperidin was 4.44-26.64 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ) with the average recoveries of 99.9% (RSD 1.0%). **Conclusion:** The Daidai flavones self-microemulsifying pellets have good self-microemulsifying performance. The UV method is simple, accurate and reliable, can be well used for the determination of total flavones in Daidai flavones self-microemulsifying pellets.

**[收稿日期]** 20140317(019)

**[基金项目]** 福建省科技计划重点项目(2010Y0030);福建省发展和改革委员会产业技术开发项目(闽发改高技[2011]1598号);福建省自然科学基金项目(2012J01386);福建省科技计划项目(2010Y2004);福建生物工程职业技术学院课题(KJ201305)

**[第一作者]** 吴晓青, 硕士, 助教, 从事药物分析与质量评价研究, Tel:13860683624, E-mail:511959270@qq.com

**[通讯作者]** \* 陈丹, 博士, 教授, 从事中药制剂与质量评价研究, Tel:13515026709, E-mail:gscd2@163.com

[ **Key words** ] daidai flavones; self-microemulsifying drug delivery system; pellet; performance evaluation; total flavones

玳玳黄酮是从芸香科柑橘亚属玳玳中提取的总黄酮有效部位,主要成分为新橙皮苷、柚皮苷、橙皮苷等二氢黄酮类<sup>[1-3]</sup>。研究表明,玳玳黄酮具有良好的抗氧化和降血脂作用,但其水溶性和油溶性较差,口服绝对生物利用度低<sup>[4-7]</sup>。自微乳化微丸系油相、乳化剂和助乳化剂组成的自微乳化体系的基础上与适宜固体制剂辅料混合后制备成的球形或类球形微丸固体制剂。微丸作为一个多单元的剂型,每个给药剂量通常可含几十或几百个微丸,释药行为是各个微丸的总和,可减少药物分解和血浆分布的主体内部和主体之间的变异性,从而改善药物的安全性和提高有效性,并可通过添加各种固体辅料或采用包衣技术方便地制备缓控释制剂。因此与传统的液体自微乳化药物传递系统相比较,自微乳化微丸具有稳定性增加、贮存时间延长、胃肠道刺激减少、服用方便等优点,兼顾微丸和自微乳化制剂的双重特性,遇水能形成巨大的比表面积,可极大提高药物的生物利用度<sup>[6-9]</sup>。本研究选用自微乳化给药系统,制备玳玳黄酮自微乳浓缩液,并将此浓缩液并入固体辅料制成玳玳黄酮自微乳化微丸。通过检测微丸的外观性状、自微乳化成乳后的乳滴粒径大小、自微乳化时间、Zata 电位分布、稳定性以及影响因素等,评价玳玳黄酮自微乳化微丸的性能,并以玳玳总黄酮的特征成分新橙皮苷为代表,建立玳玳黄酮自微乳化微丸中总黄酮的含量测定方法。

## 1 材料

**1.1 仪器** XS 205 型 1/10 万电子天平、AR2140 型 1/1 万电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),RCZ-1A 型溶出试验仪(上海黄海药检仪器厂),NICOMP™ 380ZLS Zeta potential/particle sizer (Santa Barbara, USA),UV-4802 型双光束紫外-可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司)

**1.2 试药** 玳玳果(福建恒馨天然香料有限公司提供,福建中医药大学中药鉴定教研室范世明高级实验师鉴定为芸香科植物酸橙的变种 *Citrus aurantium* var. *daidai*);玳玳黄酮有效部位(自制,总黄酮含量 76.0%),玳玳黄酮自微乳化微丸(自制,平均总黄酮含量 55 μg/粒),柚皮苷(批号 110722-200609)、新橙皮苷对照品(批号 111857-201001)均购自中国食品药品检定研究院,丙二醇月桂酸酯(Lauroglycol FCC,法国 GATTEFOSSE 公

司),二乙二醇单乙基醚(Transcutol HP,法国 GATTEFOSSE 公司),聚山梨酯 80(Tween 80,国药集团化学试剂有限公司),微晶纤维素(microcrystalline cellulose, MCC, Microcel 101®, Faravelli, Milano, Italy),乳糖(批号 20100805,国药集团化学试剂有限公司),甲醇为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 玳玳黄酮自微乳化微丸的制备** 分别称取油相(Lauroglycol FCC)、表面活性剂(Tween 80)、助表面活性剂(Transcutol HP)和玳玳黄酮有效部位配液容器中,超声搅拌至溶解完全,得自微乳化浓缩液<sup>[6-7]</sup>,将自微乳化浓缩液并入含微晶纤维素和乳糖的固体辅料中,采用挤出滚圆法制得玳玳黄酮自微乳化微丸,干燥后取粒径在 16~30 目的微丸,即得成品<sup>[8]</sup>。采用筛分法考察微丸的粒度分布,微丸称重,水平状态过 16,30 目筛,边筛动边轻叩 3 min,收集同一系列筛目下的微丸,称定质量,计算所占百分率,结果表明微丸大小分布在 16~30 目之间,收率 92.5%。

### 2.2 玳玳黄酮自微乳化微丸的性能评价

**2.2.1 微丸的性状** 玳玳黄酮自微乳化微丸为均匀的黄褐色球形小丸;分布在 16~30 目。

**2.2.2 自微乳化时间的测定** 采用溶出度浆法考察玳玳黄酮自微乳化微丸的自微乳化时间。取微丸 1.5 g,加入 200 mL 37 ℃ 水,浆法 50 r·min<sup>-1</sup> 温和搅拌,于 1.0,1.5,2,2.5,3,4 min 定时取液 3 mL,用纳米粒度分析仪测定自微乳粒径,以 4 min 测得的粒径 R<sub>0</sub> 值作为 100%,求出各时间点 R 值的相对比值(R<sub>t</sub>/R<sub>0</sub>),实验结果表明,玳玳黄酮自微乳化微丸的自乳化时间为 2 min。

**2.2.3 自微乳乳滴大小、Zata 电位的测定及稳定性考察** 采用溶出度浆法及纳米粒度分析仪测定乳滴大小及 Zata 电位。取微丸 1.5 g,加入 200 mL 37 ℃ 的蒸馏水中,以 50 r·min<sup>-1</sup> 的速度搅拌 2 min 后,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,分别于 0 h 和 4 h 用 Nicomp 纳米粒度分析仪测定滤液中微乳的平均粒径和 Zata 电位。再分别取空白自微乳浓缩液和含药自微乳浓缩液各 1.0 mL,同法乳化测定。结果微乳粒径和 Zata 电位分别为空白自微乳浓缩液 [(35.0 ± 1.4) nm, 15.26 mV]、含药自微乳浓缩液 [(75.7 ± 10) nm, 18.63 mV]、含药自微乳微丸

$[(78.8 \pm 12 \text{ nm}, 19.10 \text{ mV})]$ ;经考察微丸形成的自微乳液4 h后,乳滴粒径和Zeta电位无明显变化,实验结果表明,玳玳黄酮自微乳化微丸形成的微乳在4 h内稳定。

**2.2.4 自微乳乳滴大小的影响因素** 分别取同一批玳玳黄酮自微乳化微丸1.5 g,测定不同分散介质(pH 1.0 盐酸溶液,pH 4.5 醋酸-醋酸钠缓冲液,pH 6.8 磷酸盐缓冲液,蒸馏水),不同转速(50,75,100  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,蒸馏水为分散介质),不同温度(25,37,50  $^{\circ}\text{C}$ ,蒸馏水为分散介质)下形成微乳乳滴的大小。结果乳滴大小在4种不同的分散介质中RSD 2.3%,在3种不同的转速下RSD 1.9%,在3种不同的温度下RSD 1.8%。实验结果表明,在考察范围内的分散介质,转速和温度对自微乳乳滴的粒径无明显影响。

### 2.3 玳玳黄酮自微乳化微丸总黄酮含量测定

**2.3.1 供试品溶液的制备** 取玳玳黄酮自微乳化微丸适量,研细,取粉末0.1 g,精密称定,置25 mL量瓶中,加甲醇超声溶解,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,以12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度离心5 min,精密量取上清液1 mL置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

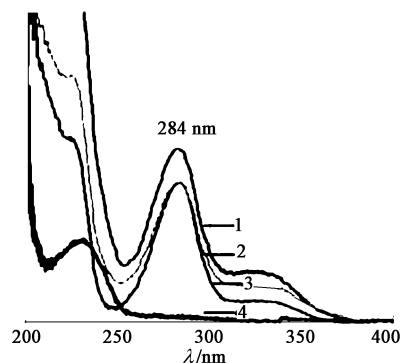
**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取柚皮苷和新橙皮苷对照品适量,分别加甲醇制成每1 mL含柚皮苷0.112 mg的柚皮苷对照品溶液,每1 mL含新橙皮苷0.148 mg的新橙皮苷对照品溶液,即得。

**2.3.3 阴性对照溶液的制备** 取缺玳玳黄酮的空白微丸,按2.2.1项下同法操作,即得。

**2.3.4 测定波长的选择** 分别取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,以甲醇为空白溶剂,在200~400 nm波长范围扫描。结果对照品溶液和供试品溶液最大吸收波长均在283 nm,而阴性对照溶液无干扰,故选择测定波长为284 nm。结果见图1。

**2.3.5 标准曲线的制备与线性关系考察** 分别精密吸取新橙皮苷对照品溶液0.3,0.6,0.9,1.2,1.5,1.8 mL置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。以甲醇为空白,在284 nm波长处测定吸光度。以浓度( $C, \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )为横坐标,吸光度( $A$ )为纵坐标,绘制标准曲线。得回归方程为 $A = 3.305 \times 10^{-2}C + 9.040 \times 10^{-3}$  ( $r = 0.9999$ ),新橙皮苷在4.44~26.64  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

**2.3.6 精密度试验** 分别精密吸取2.3.2项下质量浓度为13.32  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的新橙皮苷对照品溶液6份,在283 nm波长处测定吸光度,计算RSD 0.1%。



1. 样品;2. 新橙皮苷;3. 柚皮苷;4. 阴性溶液  
图1 玳玳黄酮自微乳化微丸紫外吸收光谱

**2.3.7 重复性试验** 分别取同一批的玳玳黄酮自微乳化微丸6份,精密称定,按2.3.1项下方法制备供试品溶液,结果测得总黄酮平均含量为40.84  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 0.8%。

**2.3.8 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别于0,2,6,12,24 h处测定吸光度,结果测得RSD 1.3%。

**2.3.9 加样回收率试验** 取同一批玳玳黄酮自微乳化微丸适量,研细,分别取粉末约0.05 g,共6份,精密称定,添加适量的新橙皮苷对照品,按2.3.1项下同法操作,在284 nm波长处测定吸光度,计算平均回收率。结果见表1。

表1 玳玳黄酮自微乳化微丸中总黄酮加样回收率测定

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
2.27	4.31	99.58	99.9	1.0
2.32	4.37	99.90		
2.15	4.22	101.0		
2.18	4.24	100.5		
2.09	4.10	98.07		
2.14	4.20	100.4		

注:加入量均为2.05 mg。

**2.3.10 样品中总黄酮含量测定** 分别取3批玳玳黄酮自微乳化微丸,按2.3.1项下同法操作,在284 nm波长处测定吸光度,计算总黄酮含量。结果分别为40.84,40.49,40.28  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

自微乳化后的乳滴粒径大小分布是体外评价自微乳化给药系统的关键因素,粒径大小将影响自微乳化给药系统自发形成的微乳在体内的吸收与分布。药物在胃肠道内的滞留时间一般为1~3 h,故所形成的微乳应至少在4 h内稳定就能满足胃肠道

内的吸收要求。本研究制备的玳玳黄酮自微乳化微丸成乳后的平均粒径为 $(78.8 \pm 12)$  nm, Zeta 电位为 19.10 mv, 高于空白和含药自微乳浓缩液, 且形成的纳米微乳在 4 h 内稳定, 能够满足胃肠道内的吸收要求。

含药自微乳粒径大于空白自微乳粒径, 可能是由于大量的药物溶解于乳滴中使粒径增大的缘故。而玳玳黄酮自微乳化微丸与玳玳黄酮自微乳浓缩液比较, 前者形成的微乳粒径稍有增大, 可能是在微丸制备过程处方中各组分比例有微小的变化, 但对微乳的自乳化效率无明显的影响。

制备的玳玳黄酮自微乳化微丸, 粒径分布均匀, 自微乳化性能良好, 使其保留了自微乳化给药系统增加药物溶解度和提高生物利用度等的优点<sup>[9-11]</sup>, 又利用了固体剂型使药物稳定性增加、贮存时间延长、胃肠道刺激性减少、服用方便等的优点, 为黄酮类药物剂型的开发和利用提供了新途径。

玳玳黄酮提取物中新橙皮苷含量最大, 柚皮苷次之, 故采用新橙皮苷为总黄酮含量测定的指标成分, 在 284 nm 处以紫外分光光度法直接测定玳玳总黄酮含量, 与中药总黄酮含量测定常用的和  $Al^{3+}$  形成螯合物后的比色法比较, 本法操作简便, 结果准确, 选择 284 nm UV 测定玳玳黄酮自微乳化微丸中总黄酮的含量, 为今后质量控制及其质量标准的建立奠定基础。

#### [参考文献]

[1] 陈丹, 刘永静, 黄剑钧, 等. 闽产代代果中化学成分的分离分析[J]. 福建中医学院学报, 2007, 17(1): 18.

[2] 刘永静, 陈丹, 于丽丽, 等. 玳玳果及其总黄酮有效部位的 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(9): 1491.

[3] 曾令军, 陈丹, 郑利, 等. 玳玳黄酮提取物的质量标准研究[J]. 中国药品标准, 2013, 14(5): 337.

[4] 邱红鑫, 陈丹, 刘永静, 等. 玳玳果黄酮滴丸对高脂血症大鼠的降血脂作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(7): 597.

[5] 刘永静, 陈丹, 邱红鑫, 等. 玳玳黄酮有效部位提取物降血脂作用的研究[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(6): 622.

[6] Saipin Setthacheewakul, Sirima Mahattanadul, Narubodee Phadoongsombut, et al. Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2010, 76: 475.

[7] Wang Z Y, Sun J, Wang Y J, et al. Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: Preparation and *in vitro/in vivo* evaluation[J]. Int J Pharm, 2010, 383: 1.

[8] 陈丹, 吴晓青, 黄庆德. 玳玳果总黄酮自微乳化微丸及其制备方法: 中国, 201210008449.3 [P]. 2013-12-18.

[9] 吴晓青, 陈丹, 黄庆德, 等. 玳玳黄酮自微乳化微丸在大鼠体内的生物利用度研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(22): 1816.

[10] 黄庆德, 吴晓青, 陈丹, 等. 玳玳黄酮自微乳化微丸的体外溶出性[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(15): 1162.

[11] 吴晓青, 陈丹, 程清, 等. 玳玳黄酮自微乳化微丸在大鼠小肠的吸收特性和机制研究[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2222.

[责任编辑 顾雪竹]