

鸦胆子油自微乳的体外释放度考察

孔繁晟*, 严春艳, 贲永光, 李淡霞, 邵阿丽
(广东药学院药科学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立鸦胆子油自微乳溶出度的测定方法。方法: 采用气相色谱法测定鸦胆子油中油酸的含量, 以确定鸦胆子油自微乳化制剂溶出度测定的最佳条件。色谱条件为 DB-FFAP 毛细管柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), 进样口温度 220 °C, 检测器温度 220 °C, 柱温 205 °C, 进样量 1 μL。以 0.1 mol·L⁻¹ HCl 为溶出介质, 硬胶囊壳为载体, 转篮法测定鸦胆子油自微乳化给药系统的体外溶出度。结果: 鸦胆子油自微乳累积溶出度在 15 min 达 90%。结论: 该测定方法准确可靠, 可用于鸦胆子油自微乳的质量控制。

[关键词] 鸦胆子油; 自微乳化给药系统; 溶出度; 气相色谱法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0021-03

Investigation of *in vitro* Release Rate of *Brucea javanica* Oil Self-microemulsion

KONG Fan-sheng*, YAN Chun-yan, BEN Yong-guang, LI Dan-xia, SHAO A-li
(College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish determination method of *in vitro* release of *Brucea javanica* oil self-microemulsion. **Method:** The content of oleic acid from *B. javanica* oil was determined by GC method, to determine optimum conditions of dissolution determination of *B. javanica* oil self-microemulsion. Chromatographic conditions were: DB-FFAP capillary column (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), column temperature of 205 °C, temperature of inlet and detector were 220 °C, sample volume 1 μL. 0.1 mol·L⁻¹ HCl as dissolution medium, hard capsule shell as a carrier, *in vitro* release of *B. javanica* oil self-microemulsion drug delivery system was determined by rotating basket method. **Result:** Cumulative dissolution of *B. javanica* oil self-microemulsion was 90% in 15 min. **Conclusion:** This determination method was accurate and reliable, and it could be used for quality control of *B. javanica* oil self-microemulsion.

[Key words] *Brucea javanica* oil; self-microemulsion drug delivery system; dissolution; gas chromatography (GC)

鸦胆子又名老鸭胆、苦参子, 始载于《本草纲目拾遗》, 鸦胆子油是其主要植物油成分, 主要由棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸构成, 其中油酸含量达 63.3%^[1]。药理研究表明, 鸦胆子油具有广泛的抗肿瘤活性, 可抑制多种癌细胞增殖, 且具有降压

降脂等功效^[2-3], 但由于其对皮肤及黏膜有刺激性, 故无法直接口服。自微乳化药物传递系统是由油相、非离子表面活性剂和助表面活性剂组成的固体或液体制剂, 其基本特征是可在胃肠道内或环境温度适宜 (通常指体温 37 °C) 及温和搅拌的条件下, 自发乳化成粒径在 10 ~ 100 nm 的乳剂, 该系统能有效增大油相中药物与胃肠道的接触面积, 大大提高药物的生物利用度^[4-6], 同时可减少药物对胃肠道的刺激作用^[7], 掩盖药物的不良气味, 具有较好的发展前景。本试验以油酸含量为指标, 建立鸦胆子油自微乳化给药系统溶出度的测定方法。

[收稿日期] 20120102(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102779); 广东省自然科学基金项目(9451022401003453)

[通讯作者] * 孔繁晟, 硕士, 主管药师、实验师, 从事中药药剂、制药工程研究, E-mail: kmkfs@163.com

1 材料

Agilent 6820 型气相色谱仪(美国安捷伦公司),JA2003 型电子天平(上海恒华科学仪器有限公司),2RS-8G 型智能溶出实验仪(天大天发科技有限公司),ZETASIZER 3000HSA 型纳米粒度及电位分析仪(英国 Malvern 公司),ZH-2 型涡旋混合机(天津药典标准仪器厂),TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

鸦胆子油(江西省吉水中南天然香料油厂,批号 20100623,经作者鉴定为苦木科植物鸦胆子 *Brucea javanica* L. Merr 的成熟果实中所含的植物油),鸦胆子油自微乳(自制),油酸对照品(sigma 公司,含量 $\geq 99\%$,批号 75090),聚氧乙烯氢化蓖麻油(RH-40,德国 BASF 公司),聚乙二醇 400(PEG 400,天津市大茂化学试剂),辛酸癸酸三甘油酯(GTCC,法国嘉法狮公司),正己烷(天津市百世化工有限公司),其余试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 鸦胆子油自微乳的制备 称取乳化剂 RH-40 3.02 g,助乳化剂 PEG 400 0.53 g 置于 100 mL 玻璃烧杯中,磁力搅拌器搅拌均匀,加入油相 GTCC 0.54 g,搅拌均匀,加入鸦胆子油 0.57 g,搅拌均匀,即得。

2.2 自微乳处方中粒径的测定 分别取自微乳处方 6 份,3 份约 0.04 g,另 3 份约 0.08 g,分别加水 4 mL,超声 5 min,用纳米粒度及电位分析仪测定其粒径。结果平均粒径分别为 31.39, 30.47 nm ($n=3$)。

2.3 对照品溶液的配制 根据 2010 年版《中国药典》方法^[8]取油酸、亚油酸对照品适量,精密称定,加正己烷制成每 1 mL 含油酸、亚油酸各 3 mg 的溶液,精密量取 5 mL,置 10 mL 具塞试管中,氮气吹干,参照《中国药典》2010 年版中方法进行酯化^[8],加 0.5 mol·L⁻¹氢氧化钾甲醇溶液 2 mL,置 60 °C 水浴中皂化 25 min,至油珠全部消失,放冷,加 15% 三氟化硼乙醚溶液 2 mL,置 60 °C 水浴中甲酯化 2 min,放冷;精密加入正己烷 2 mL,涡旋混匀,加饱和氯化钠溶液 1 mL,涡旋混匀,静置,取上层溶液。精密称取苯甲酸苯酯适量,加正己烷制成每 1 mL 含 8 mg 的溶液作为内标溶液,精密量取供试品溶液和内标溶液各 1 mL,涡旋混匀,经 0.22 μm 滤膜过滤,进行气相检测。

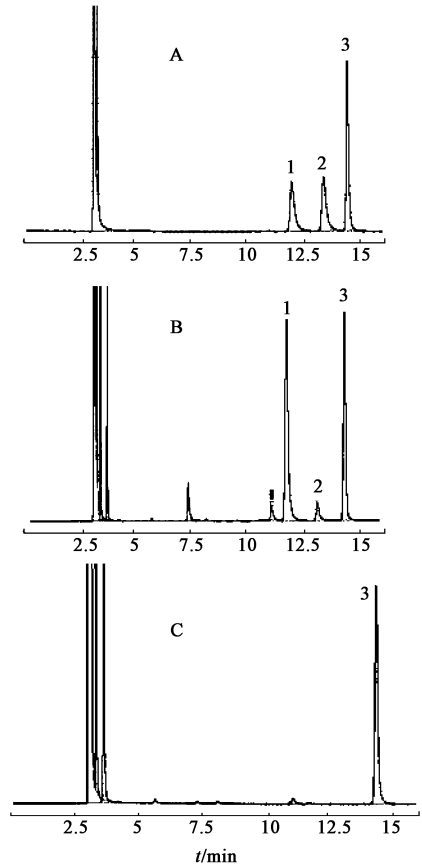
2.4 供试品溶液的配制 取鸦胆子油自微乳样品约 0.4 g 于 10 mL 量瓶中,用正己烷定容至刻度,摇匀,精密量取 5 mL 于 10 mL 具塞玻璃试管中,氮气

吹干,同对照品溶液处理方法制备,即得。

2.5 阴性对照溶液制备 取空白样品约 0.4 g,同供试品处理方法制备,即得。

2.6 方法学考察

2.6.1 色谱条件 DB-FFAP 毛细管柱(0.25 mm \times 30 m, 0.25 μm),进样口温度 220 °C,检测器温度 220 °C,柱温 205 °C,载气为氮气,分流比 20:1,进样量 1 μL 。在上述色谱条件下,各脂肪酸衍生物都达到基线分离。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品;
1. 油酸; 2. 亚油酸; 3. 内标物(苯甲酸苯酯)

图 1 鸦胆子油自微乳 GC

2.6.2 标准曲线的制备 精密移取 2.985 1 g·L⁻¹ 油酸对照品溶液 0.04, 0.2, 0.4, 1, 1.5, 2, 3 mL 于 10 mL 量瓶中,正己烷稀释并定容,各取 5 mL 同对照品溶液处理方法操作,以样品和内标物的峰面积比值对样品质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y=7.136X-0.0583$ ($R^2=0.9997$),油酸在 0.012 ~ 0.900 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.6.3 稳定性试验 将供试品溶液于室温条件下放置,于 1, 6, 12, 18, 24 h 对其进行含量测定,计算

日内稳定性 RSD 0.5%; 于 1, 2, 3, 4, 5 d 连续测定, 计算日间稳定性 RSD 1.0%。说明该自微乳样品在 5 d 内稳定。

2.6.4 重复性试验 取同一油酸对照品溶液 6 份, 按供试品溶液的制备方法处理, 平行测定, 计算 RSD 2.35%, 表明重复性良好。

2.6.5 回收率试验 分别精密量取油酸对照品溶液 1.2, 1.5, 1.8 mL 置于 10 mL 量瓶中, 各加入正己烷溶解的空白自微乳剂 0.2 mL, 用正己烷定容至刻度, 涡旋振荡 5 min, 摇匀, 分别移取 5 mL 于 10 mL 具塞玻璃试管中, 氮气吹干, 同对照品溶液的处理方法进行, 将样品和内标物的峰面积比值代入标准曲线, 计算。结果得高, 中, 低样品溶液的回收率分别为 99.6%, 100.7%, 96.9%。结果见表 3。

表 3 鸦胆子油自微乳加样回收率试验

No.	加入量 /g·L ⁻¹	测得量 /g·L ⁻¹	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.358	0.354	98.9		
2	0.358	0.356	99.4	99.6	0.856
3	0.358	0.360	100.6		
4	0.448	0.446	99.6		
5	0.448	0.454	101.3	100.7	0.982
6	0.448	0.453	101.1		
7	0.537	0.523	97.4		
8	0.537	0.518	96.5	96.9	0.486
9	0.537	0.520	96.8		

2.7 累积溶出度测定 取自微乳约 0.5 g, 装入硬胶囊壳中, 按照《中国药典》2010 年版二部附录 X C 第二法进行^[9], 迅速放入 0.1 mol·L⁻¹ HCl 900 mL 的溶出介质中, 转速 100 r·min⁻¹, 温度 37 °C, 分别于 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60 min 等时间点取出 5 mL 溶液, 加入 5 mL 空白介质补足体积。将取出的 5 mL 溶液放入 100 mL 蒸发皿中, 60 °C 水浴蒸干, 正己烷超声萃取 4 次, 每次用 1 mL 正己烷, 超声 1 min, 将每次的萃取液移置 10 mL 具塞试管中, 氮气吹干, 计算药物累积溶出度, 结果鸦胆子油自微乳在 15 min 内的累积溶出度达 90% (图 2)。

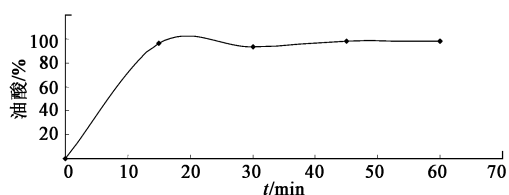


图 2 鸦胆子油自微乳累积溶出曲线

3 讨论

因透析袋能阻隔油进入介质, 使药物扩散出来; 自微乳遇水形成微乳, 乳化剂、助乳化剂使其在水中溶解度增大, 鸦胆子油为脂肪油, 会被透析袋阻隔, 本研究采用透析袋进行试验, 结果在各取样点均测不到油酸含量, 故最终确定选取硬胶囊壳为载药介质。在含量测定方面, 本实验曾采取外标法进行测定, 但结果发现引起的误差较大, 故最终选用内标对比法, 且简便操作。

[参考文献]

- [1] 乔飞, 蔡冰, 余小红, 等. GC 测定鸦胆子油 O/W 型微乳中油酸的含量测定 [J]. 江西中医药, 2010, 41 (3): 72.
- [2] 林宏英, 吴建梅, 张文生. 鸦胆子油的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12 (4): 65.
- [3] Li Pan, Young-Won Chin, Hee-Byung Chai, et al. Bioactivity-guided isolation of cytotoxic constituents of *Brucea javanica* collected in Vietnam [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17 (6): 2219.
- [4] 袁海建, 陈彦, 贾晓斌, 等. 自微乳药物传递系统及其在中药制剂研究中的应用 [J]. 中国药房, 2008, 19 (6): 456.
- [5] LI D C, ZHONG X K, ZENG Z P, et al. Application of targeted drug delivery system in Chinese medicine [J]. J Control Rel, 2009, 138 (2): 103.
- [6] TANG B, CHENG G, GU J C, et al. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms [J]. Drug Discov Today, 2008, 13 (13/14): 606.
- [7] 钦富华. 自微乳化给药系统的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [8] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 238.
- [9] 中国药典. 二部 [S]. 2010: 附录 X C.

[责任编辑 全燕]