

青蒿素自乳化制剂的设计、优化及质量评价

张小梅, 王云红, 杨荣平, 梁旭明*, 林芳
(重庆市中药研究院, 重庆 400065)

[摘要] 目的:设计并优化青蒿素自乳化制剂工艺,并对其进行体外质量评价。方法:通过测定青蒿素在不同油、表面活性剂、助表面活性剂中的溶解度,选择辅料。在三元相图的基础上,利用星点设计法优化青蒿素自乳化处方。以外观、溶解度、乳化时间、乳化后粒径和分散系数为评价指标对青蒿素自乳化制剂进行质量评价。结果:青蒿素自乳化制剂最佳处方为中链甘油三酸酯-聚山梨醇酯-80-无水乙醇质量比 31:37:20,外观透明均一,粒径 234.7 nm,分散系数 0.235,溶解度 2.775 g·L⁻¹,乳化时间 25 s。结论:青蒿素自乳化制剂工艺简单、性质稳定的,各项理化性质良好。

[关键词] 青蒿素;自乳化;质量评价;三元相图;星点设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0059-05

Design, Optimization and Quality Evaluation of Artemisinin Self-emulsifying Preparation

ZHANG Xiao-mei, WANG Yun-hong, YANG Rong-ping, LIANG Xu-ming*, LIN Fang
(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

[Abstract] **Objective:** To design and optimize technology of artemisinin self-emulsifying preparation, and evaluate its *in vitro* quality evaluation. **Method:** Excipients was selected by determining solubility of artemisinin in different oils, surfactants and co-surfactants. Based on ternary phase diagram, artemisinin self-emulsifying prescription was optimized by central composite design method. With appearance, solubility, emulsification time, particle size after emulsified and polydispersity coefficient as indexes to do quality evaluation of artemisinin emulsifying preparation. **Result:** Optimum prescription of this preparation was: MCT-tween-80-ethanol 31:37:20, it had uniform and transparent appearance, particle size was 234.7 nm, polydispersity coefficient 0.235, self-emulsifying time was 25 s, solubility was 2.775 g·L⁻¹. **Conclusion:** Technology of artemisinin self-emulsifying preparation was simple and stable, it had good physical and chemical properties.

[Key words] artemisinin; self-emulsifying; quality evaluation; ternary phase diagram; central composite design-response surface method

自乳化药物传递系统(SEDDS)是包含油相、表面活性剂和助表面活性剂的固体或液体剂型,在胃肠道内、环境温度适宜(通常指体温 37℃)及温和搅拌情况下能自发形成水包油乳剂^[1]。SEDDS能

增加难溶药物的溶解度,提高不稳定药物稳定性,可将药物以微小乳滴分布于胃肠道中,有效增大油相中药物与胃肠道的接触面积,同时增加药物在肠道内经淋巴吸收,使药物避免肝脏首过效应,保持原有活性,提高药物的生物利用度^[2]。

现代药理研究表明,青蒿素还具有免疫调节、抗肿瘤、抗炎、抗登革热、抗血吸虫及其他寄生虫等作用^[3]。由于青蒿素在水中的溶解度低,达不到治疗所需的最低药物浓度而限制了其临床应用及制剂的发展,因此,解决青蒿素的溶解度成为其应用于临床的首要任务。本研究将制备青蒿素的自乳化制剂来

[收稿日期] 20111117(008)

[第一作者] 张小梅,硕士,助理研究员,从事药物化学研究,
Tel: 023-89029068, E-mail: ZX761 @ yahoo.com.cn

[通讯作者] *梁旭明,硕士,助理研究员,从事中药新药研究,
Tel: 023-89029108, E-mail: liangxuming2004 @ yahoo.com.cn

达到增加青蒿素在水中溶解度的目的。

1 材料

BS110 S 型电子天平(德国 Sartorius 公司),UV-2550PC 型紫外分光光度计(日本岛津公司),XK96-A 型快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司),RC806 型溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司),Mastersize 2000 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(英国马尔文公司),HZQ-F 型全温震荡培养箱(哈尔滨东联电子技术有限公司)。

青蒿素原料药(南京泽朗医药科技有限公司,含量 95.35%),青蒿素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100202-200402,),蓖麻油(Castor Oil,天津市大茂化学试剂厂),中链甘油三酸酯(MCT,铁岭北亚药用油有限公司),肉豆蔻酸异丙酯(IPM,国药集团化学试剂有限公司),油酸乙酯(EO,天津市光复精细化工研究所),橄榄油(Olive Oil,国药集团化学试剂有限公司),油酸(oleic acid,天津市博迪化工有限公司),聚山梨醇酯-80(Tween-80,国药集团化学试剂有限公司),Tween-20(中国医药上海化学试剂公司),聚乙二醇 400(PEG-400,天津市博迪化工有限公司),1,2-丙二醇(1,2-dihydroxypropane,天津市大茂化学试剂厂),丙三醇(glycerol,天津市东丽区天大化学试剂厂),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 青蒿素含量测定^[4]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取青蒿素对照品 3.4 mg 于 25 mL 量瓶中,加无水乙醇(Eth)定容至刻度,摇匀,即得质量浓度为 $0.136 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液。

2.1.2 检测波长选择 精密移取青蒿素对照品溶液 0.4 mL 于 10 mL 量瓶中,加 Eth 2 mL,0.2% NaOH 溶液稀释至刻度,摇匀。于 50 °C 水浴上加热 30 min,冷却至室温^[5]。以相应试剂为空白,按紫外-可见分光光度法(《中国药典》2005 年版一部附录 V A),在 200 ~ 400 nm 进行光谱扫描,结果青蒿素的最大吸收波长为 292 nm。

2.1.3 标准曲线绘制 精密移取上述青蒿素对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加 0.2% NaOH 溶液定容至刻度,摇匀。于 50 °C 水浴上加热 30 min,冷却至室温。以相应试剂为空白,于 292 nm 处测定吸光度。以青蒿素的质量浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,进行回归,计算得回归方程为 $A = 0.057C - 0.039 (r = 0.9995)$ 。表明青蒿素在 2.72 ~ 13.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 A 线性关系

良好。

2.2 青蒿素自乳化制剂的制备

2.2.1 辅料的选择 将 2 g 不同种类的油、表面活性剂、助表面活性剂分别加于速冻管中,加入过量青蒿素,快速混匀 3 min,置于 37 °C, $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温振荡箱避光振荡 24 h,取出, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液适量,加 2 mL 乙醇,0.2% NaOH 溶液定容至 10 mL,于 50 °C 水浴上加热 30 min,冷却至室温。以相应试剂为空白,于 292 nm 处测定吸光度,根据回归方程计算溶解度。结果,青蒿素在油中溶解度大小依次为 MCT > EO > IPM > olive oil > oleic acid > castor oil; 在表面活性剂中溶解度大小依次为 Tween-20 > Tween-80; 在助表面活性剂中溶解度大小依次为 Eth > PEG-400 > 1,2-dihydroxypropane > glycerol。

2.2.2 三元相图绘制 以 MCT 为油相,Tween-80 为表面活性剂,Eth 为助表面活性剂,按不同比例漩涡混匀,放置 24 h,取未分层样品加入水中,轻微振荡,观察成乳性。分别以 MCT,Tween-80,Eth 为顶点绘制三元相图,结果见图 1(图中黑点是 MCT,Tween-80,Eth 按不同比例混合时的数据,黑色线内表示成乳区)。结果表明,青蒿素自乳化区域为 MCT 20% ~ 50%, Tween-80 20% ~ 75%, Eth 0 ~ 40%。

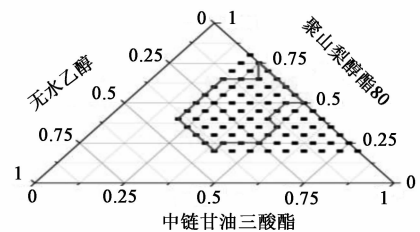


图 1 青蒿素自乳化制剂 MCT-Tween80-Eth 三元相图

2.2.3 星点设计效应面优化 在三元相图基础上进行处方优化,以油相质量(X_1)、表面活性剂质量(X_2)、助表面活性剂质量(X_3)的质量比例为考察因素,以青蒿素载药量(Y_1)、粒径(Y_2)、多分散系数(Y_3)、自乳化时间(Y_4)为评价指标,采用 Design expert 统计软件进行星点设计,见表 1,2。按照表 2 所示比例称取 MCT,Tween-80,Eth,加入过量青蒿素漩涡混匀,置于 37 °C, $160 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温振动培养箱中振荡 24 h,取出, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液按 2.1 项下方法稀释并测定溶解度。取上述上清液 0.2 mL 加至 200 mL 37 °C 去离子水中,浆法以浆转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 轻微搅拌使自乳

化,目测法用秒表测定乳化时间,纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定乳化后粒径及多分散系数。结果见表 2。

表 1 青蒿素自乳化处方优化星点设计因素水平

水平	X_1 MCT	X_2 Tween-80	X_3 Eth
- 1Level	26.081	31.148	8.108
+ 1Level	43.919	63.852	31.892
- alpha	20	20	0
+ alpha	50	75	40

对结果进行多元线性回归拟合,并对拟合方程进行 F 检验,结果回归系数均较高, F 检验合格,回归方程如下:

$$Y_1 = 61.46 - 1.56 X_1 - 11.50 X_2 - 7.00 X_3 + 4.01 X_1 X_2 - 1.72 X_1 X_3 + 4.75 X_2 X_3 + 5.62 X_1^2 + 7.29 X_2^2 + 3.75 X_3^2 - 5.40 X_1 X_2 X_3 - 5.68 X_1^2 X_2 - 4.61 X_1^2 X_3 + 4.93 X_1 X_2^2 (R^2 = 0.9636, P = 0.0029);$$

$$Y_2 = 192.30 + 28.60 X_1 - 36.33 X_2 - 6.54 X_3 + 5.70 X_1 X_2 + 40.43 X_1 X_3 - 1.40 X_2 X_3 + 4.64 X_1^2 + 37.62 X_2^2 + 11.29 X_3^2 + 14.42 X_1 X_2 X_3 + 20.86 X_1^2 X_2 + 49.94 X_1^2 X_3 + 42.90 X_1 X_2^2 (R^2 = 0.9747, P = 0.0010);$$

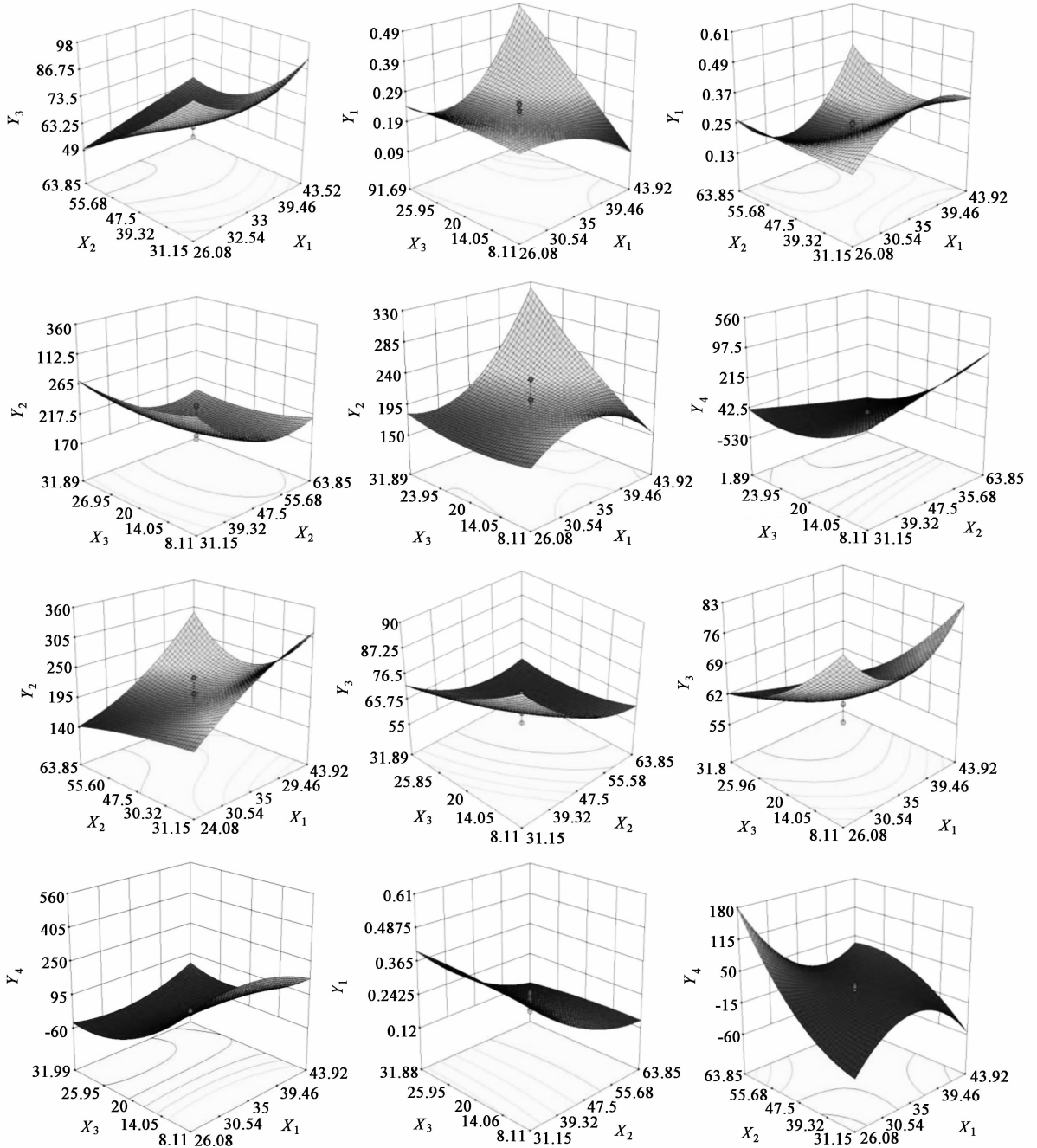


图 2 青蒿素自乳化处方优化星点设计各因素三维效应面

表 2 青蒿素自乳化处方优化星点设计试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	Y_1 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Y_2 / nm	Y_3	Y_4/s
1	26.08	31.15	8.11	118.65	181.2	0.192	40
2	43.92	31.15	8.11	110.00	260.8	0.121	15
3	26.08	63.85	8.11	55.95	170.5	0.256	525
4	43.92	63.85	8.11	84.95	215.2	0.220	240
5	26.08	31.15	31.89	78.56	218.8	0.233	7
6	43.92	31.15	31.89	84.63	402.4	0.531	5
7	26.08	63.85	31.89	56.47	144.8	0.223	6
8	43.92	63.85	31.89	56.98	408.9	0.593	3
9	20.00	47.5	20.00	76.25	151	0.361	17
10	50.00	47.5	20.00	70.99	247.2	0.436	32
11	35.00	20.00	20.00	97.68	353.5	0.608	30
12	35.00	75.00	20.00	58.99	231.3	0.181	50
13	35.00	47.50	0.00	80.10	228.9	0.222	557
14	35.00	47.50	40.00	56.54	206.9	0.227	25
15	35.00	47.50	20.00	63.06	177.5	0.186	25
16	35.00	47.50	20.00	59.82	182.5	0.182	15
17	35.00	47.50	20.00	59.98	183.2	0.254	12
18	35.00	47.50	20.00	62.88	203.0	0.229	9
19	35.00	47.50	20.00	55.48	177.2	0.212	10
20	35.00	47.50	20.00	68.82	232.6	0.249	20

$$Y_3 = 0.22 + 0.022 X_1 - 0.13X_2 + 0.001 49X_3 + 0.013X_1X_2 + 0.097X_1X_3 - 0.014X_2X_3 + 0.053 X_1^2 + 0.052 X_2^2 - 0.085 6X_3^2 + 0.004 62X_1X_2X_3 + 0.15 X_1^2 X_2 + 0.097 X_1^2 X_3 + 0.048 X_1X_2^2 (R^2 = 0.966 7, P = 0.002 2);$$

$$Y_4 = 15.80 + 4.46X_1 + 5.95X_2 - 158.16X_3 - 32.63X_1X_2 + 38.13X_1X_3 - 89.13X_2X_3 - 0.85X_1^2 + 4.63X_2^2 + 93.38X_3^2 + 32.37X_1X_2X_3 + 82.43X_1^2X_2 + 58.29X_1^2X_3 - 43.83 X_1X_2^2 (R^2 = 0.997 2, P = 0.000 1)。$$

根据拟合方程绘制三维效应面图(图 2),结合本试验要求,以载药量 $> 75 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 粒径小于 250 nm, 多分散系数小于 0.3, 乳化时间小于 60 s 为条件进行优化, 绘制各指标的等高线叠加图(图 3)。结

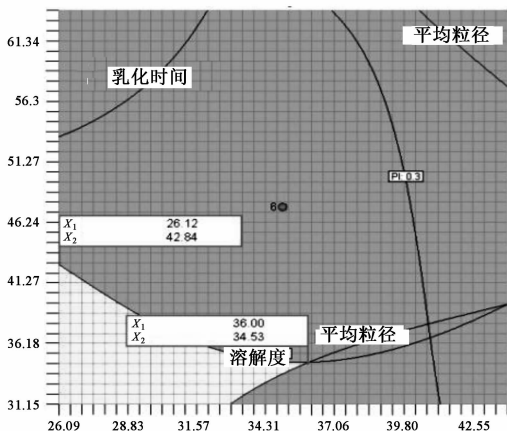


图 3 青蒿素自乳化处方优化星点设计等高线叠加

果优化区域(图中浅色区域)为油质量 26.08 ~ 36, Tween-80 31.15 ~ 42.84, 乙醇质量 20。根据优化区域, 得最佳工艺参数, MCT-Tween-80-ethanol(31:37:20)。

2.3 质量评价

2.3.1 外观 按 2.2 项下制备青蒿素自乳化制剂, 该自乳化制剂外观为澄清透明的油状液体。

2.3.2 乳化时间 按 2.2.3 项下测定乳化时间, 结果平均乳化时间为 23.7 s。

2.3.3 粒径和多分散系数 按 2.2.3 项下测定粒径和多分散系数, 结果平均粒径为 229.4 nm, 平均多分散系数为 0.247。

2.3.4 溶解度 将空白青蒿素自乳化制剂与水按 1:50($\text{g}\cdot\text{mL}$)混合, 加入过量青蒿素, 按 2.1 项下方法测定溶解度, 结果平均溶解度为 $2.775 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 与青蒿素在水中溶解度为 $93.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 相比, 自乳化制剂提高 29.73 倍。

3 讨论

药物溶解度是生物利用度的关键, 许多有较好药用前景的药物由于在水中溶解度低, 不能达到治疗所需的最低有效浓度而被淘汰, 造成资源的极大浪费。自乳化制剂在胃肠道中能自发乳化, 增加溶解度的同时能将药物快速分散在水相中, 使得药物更易通过水化层, 利于吸收, 对于提高脂溶性药物的口服生物利用度具有重要意义。本研究利用青蒿素来探讨自乳化药物传递系统的设计及优化及其评价。

在处方的优化过程中, 通过三元相图初步确定自乳化区域, 在此区域基础上, 采用星点设计法进一步优化。自乳化时间越短、乳化后粒径越小、分布越窄则更有利于药物在体内快速分散和溶出, 有利于体内吸收, 从而提高生物利用度^[6]。故在本试验中, 规定粒径小于 250 nm, 多分散系数小于 0.3, 乳化时间小于 60 s 为条件进行优化, 药物在自乳化系统中的载药量只有在一定范围以上, 才能满足载药量的要求, 本试验中将载药量规定 $> 65 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

通过对优化处方的质量评价显示, 青蒿素自乳化制剂乳化时间快、质量稳定, 能有效提高青蒿素的溶解度, 为青蒿素的临床应用提供良好的剂型基础。但仅是对青蒿素自乳化制剂的一种评价, 其药效还有待于进一步试验考察。

[参考文献]

[1] Kommuru T R, Gurle Y B, Khan M, et al. Self-

内部沸腾法提取叶下珠没食子酸

蓝峻峰^{1*}, 刘琨²

(1. 柳州师范高等专科学校化学与生命科学系, 广西 柳州 545004;
2. 广西大学化学化工学院, 南宁 530004)

[摘要] 目的: 优选内部沸腾法提取叶下珠没食子酸工艺条件。方法: 用少量乙醇溶液为解吸剂润湿叶下珠粉末, 使没食子酸充分解吸, 加一定量热提取剂, 使渗透到叶下珠组织内部的乙醇沸腾, 强化提取过程。选取乙醇体积分数、解吸时间、乙醇用量、提取时间和提取温度等 5 个因素, 4 水平进行正交试验, 采用高效液相色谱法测定没食子酸含量。结果: 内部沸腾法提取叶下珠没食子酸的最佳工艺条件为 1.6 倍量 60% 乙醇解吸 30 min, 80 °C 提取 15 min。结论: 在最佳提取工艺条件下, 叶下珠没食子酸提取得率可达 0.970%, 该法有较好的应用前景。

[关键词] 叶下珠; 内部沸腾; 提取工艺; 没食子酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0063-03

Extraction of Gallic Acid from *Phyllanthus urinaria* by Inner Ebullition Method

LAN Jun-feng^{1*}, LIU Kun²

(1. Department of Chemistry and Life Science, Liuzhou Teachers College, Liuzhou 545004, China;
2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of gallic acid from *Phyllanthus urinaria* by inner ebullition method. **Method:** With a small amount of ethanol as wetting agent to soak power of *P. urinaria*, gallic acid was resolved fully, added a certain amount of heat extraction agent to make ethanol boiling which penetrated into internal organization of *P. Urinaria*, enhanced extraction technology. Orthogonal test was used with the concentration of ethanol, resolution time, the amount of ethanol, extraction time and extraction temperature as factors, the content of gallic acid was determined by HPLC. **Result:** Optimized extraction technology of gallic acid from *P. urinaria* by inner ebullition method was as follows: resolved 30 min with 1.6 times the amount of 60% ethanol, extracted 15 min at 80 °C. **Conclusion:** Under this optimized technology conditions, yield of gallic acid was 0.970%, and it had good application prospect.

[Key words] *Phyllanthus urinaria*; inner ebullition; extraction process; gallic acid

[收稿日期] 20111128(011)

[通讯作者] * 蓝峻峰, 硕士, 副教授, 从事天然产物化学及分析化学研究, Tel: 0772-2726500, E-mail: lzszyf@163.com

- emulsifying drug delivery systems (SEDDS) of coenzyme Q10: formulation development and bioavailability assessment[J]. Int J Pharm, 2001, 212(2): 233.
- [2] 王云红, 杨荣平, 汪圣华. 姜黄素自乳化制剂的设计、优化及质量评价[J]. 中药材, 2010, 33(12): 1933.
- [3] 张彝, 邹婷, 王剑文. 青蒿素检测方法的研究近况[J]. 抗感染药学, 2008, 5(4): 201.
- [4] 余正文, 王伯初, 杨占南, 等. 青蒿素及其类似物提取及分析方法研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 199.
- [5] 元四辉. 不同产地栽培中青蒿素的含量测定[J]. 中药材, 2007, 30(10): 1257.
- [6] Kang B K, Lee J S, Chon S K, et al. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs[J]. Int J Pharm, 2004(274): 65.
- [责任编辑 仝燕]