

# 熊果酸自微乳的制备及其生物利用度

欧晓霞<sup>1</sup>, 汪征明<sup>1</sup>, 封亮<sup>2\*</sup>

(1. 佛山市顺德区容桂街道新容奇医院, 广东 佛山 528303; 2. 澳门科技大学, 澳门 999078)

**[摘要]** 目的: 制备熊果酸自微乳给药体系, 建立 HPLC-MS 方法研究熊果酸自微乳的生物利用度和药物动力学。方法: 以 OP 乳化剂、吐温-20、异丙醇和油酸制备熊果酸自微乳给药系统, 并考察其稳定性、粒径和 Zeta 电位。通过口服给药, 研究其体内的生物利用度和药物动力学。结果: 所制备的熊果酸自微乳在 1 个月内稳定, 平均粒径 32.74 nm, Zeta 电位 4.21 mV。自微乳的相对生物利用度 326.5%; 缓释片的相对生物利用度 256.6%; 相对与缓释片, 自微乳的相对生物利用度为 127.2%。结论: 所制备的自微乳给药系统能提高熊果酸的生物利用度。

**[关键词]** 熊果酸; 自微乳; 生物利用度

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0036-04

## Preparation and Bioavailability of Ursolic Acid Self-Microemulsion

OU Xiao-xia<sup>1</sup>, WANG Zheng-ming<sup>1</sup>, FENG Liang<sup>2\*</sup>

(1. New Rongqi Hospital of Ronggui Street Shunde District, Foshan 528303, China; 2. Biotechnology Laboratory of Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare delivery system of ursolic acid self-microemulsion, and establish bioavailability and pharmacokinetics of ursolic acid self-microemulsion by HPLC-MS. **Method:** Ursolic acid self-microemulsion delivery system was prepared with OP emulsifier, Tween-20, isopropyl alcohol and oleic acid, and investigated its stability, particle size and Zeta potential. *In vivo* bioavailability and pharmacokinetics in rats were evaluated by oral administration. **Result:** Ursolic acid self-microemulsion was stable within a month, average particle size and Zeta potential were 32.74 nm and 4.21 mV, respectively. Relative bioavailability of ursolic acid self-microemulsion and sustained-release tablets were 326.5% and 256.6%, respectively; and then relative bioavailability of microemulsion delivery system was 127.2% to sustained-release tablets. **Conclusion:** This prepared self-microemulsion delivery system could enhance bioavailability of ursolic acid.

**[Key words]** ursolic acid; self-microemulsion; bioavailability

熊果酸(ursolic acid, UA)为乌苏烷型五环三萜类酸性化合物, 现代药理学研究表明其具有多种生物活性, 包括抗炎、抗菌、抗肿瘤、免疫调节、抗病毒、降血脂、保护胰岛 $\beta$ 细胞功能、调节血糖等<sup>[1]</sup>。在临床研究中, 熊果酸能显著而迅速降低谷丙转氨酶、消除黄疸、增进食欲和恢复肝功能作用, 具有见效快、疗程短、效果稳定等特点<sup>[2]</sup>。但熊果酸的水溶

性差, 膜透过性差, 口服效果不好, 生物利用度低, 在临床使用上受到限制<sup>[3]</sup>。本研究将熊果酸制备成自微乳, 建立其体内的 HPLC-MS 分析方法, 研究其自微乳制剂的药动学和生物利用度。

### 1 仪器与试剂

San JoseCA 型质谱仪(美国 Thermo), Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦), UV-2802 型紫外-可见分光光度计(上海尤尼克仪器有限公司), 85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂), AL204 型 1/10 万分析天平(瑞士 METLER TOLEDO), 3000HSA 型激光粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司)。

甲醇、冰醋酸为色谱纯, 熊果酸对照品购自中国

**[收稿日期]** 20110907(010)

**[第一作者]** 欧晓霞, 主管药师, E-mail: ouxiaoxia512327@126.com

**[通讯作者]** \*封亮, 博士, 从事中药新药研发工作, E-mail: wenmoxiushi@163.com

药品生物制品检定所(批号 080420,含量  $\geq 98\%$ ),熊果酸原料药(武汉同兴生物科技有限公司,批号 100280-201002),内标格列喹酮对照品(中国药品生物制品检定所,含量  $\geq 98\%$ ),表面活性剂聚山梨醇酯(Tween)-20(天津科密欧化学试剂有限公司),聚氧乙烯辛基苯基醚(OP乳化剂,上海玖意化学试剂有限公司),异丙醇(国药集团化学试剂有限公司),油酸(国药集团化学试剂有限公司),聚乙烯吡咯烷酮(天津市光复精细化工研究所),羟丙甲纤维素,淀粉和乳糖均买自河北兴泰纤维素有限公司。其他试剂为分析纯。

Wistar 大鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司,鼠龄 8~10 周,体重 180~200 g,合格证号 SCXK(沪)2009-0005。

## 2 方法与结果

**2.1 熊果酸自微乳与缓释片的制备** 熊果酸自微乳的处方 熊果酸 40 mg,OP 乳化剂 55 mg,Tween-20 200 mg,异丙醇 600 mg,油酸 40 mg。

熊果酸缓释片按照文献介绍的方法制备<sup>[4]</sup> 熊果酸 20 mg,羟丙甲纤维素 20 mg,淀粉与乳糖(2:1) 60 mg,3% 聚乙烯吡咯烷酮水溶液为黏合剂,片质量约 100 mg。

熊果酸混悬液 取熊果酸,以双蒸水调匀,即得。

**2.2 熊果酸自微乳的稳定性、粒径、Zeta 电位评价**

**2.2.1 熊果酸自微乳的稳定性** 按 2.1 项下的方法制备熊果酸自微乳,将其于 37 °C,75% 湿度条件下放置 1 个月,结果显示所制备的微乳在 1 个月时间内未出现分层现象,呈均一的淡蓝色。说明所制备的自微乳在本考察条件下稳定。

**2.2.2 熊果酸自微乳的粒度分析** 取制备好的熊果酸自微乳 10 mL,用双蒸馏稀释 10 倍,激光粒度测定仪测定自微乳粒径大小及分布状况。研究结果表明熊果酸自微乳平均粒径为 32.74 nm。粒度分析表明 >10 nm 的粒子占 92.6%,粒度在 10~40 nm 占 93.5%,结果见图 1。

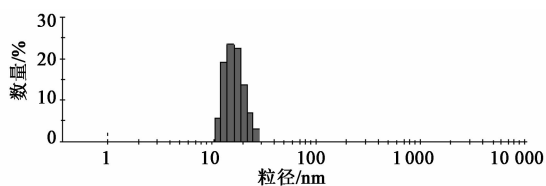


图 1 熊果酸自微乳粒径分布

**2.2.3 熊果酸自微乳 Zeta 电位的测定** 激光粒度测定稀释 10 倍后的熊果酸自微乳 Zeta 电位的状

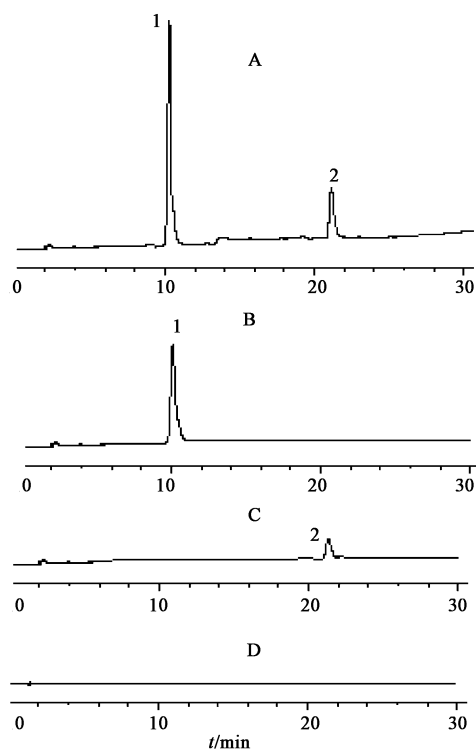
况,结果表明,本实验条件下的熊果酸自微乳的 Zeta 电位为 4.21 mV。

**2.3 色谱和质谱条件** Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),柱温箱 30 °C,流动相乙腈-0.1% 冰醋酸(85:15),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 215 nm,分析时间 30 min。

LC-MS 分析 MS 测定在 Thermo Quest 质谱仪上进行。离子化条件为喷雾电压 4.5 kV,毛细管温度 300 °C,氮气为雾化气体和辅助气体,氩气(Ar)作为碰撞气体,30V(3mTorr)。

**2.4 熊果酸对照品溶液及内标的配制** 精密称取熊果酸对照品 5.788 mg,内标格列喹酮 10.424 mg,分别加入 10 mL 流动相溶解,制备成 0.578 8,1.042 4 g·L<sup>-1</sup> 的储备液备用。

**2.5 大鼠给药及样品处理** 按 10 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量口服给予大鼠熊果酸自微乳、熊果酸缓释片、熊果酸混悬液。分别于 0,0.25,0.5,0.75,1,1.5,2,3,4,6,8,12,24 h 时间点采血,血浆以 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心后,取上清液 0.5 mL,然后加入 1.042 4 g·L<sup>-1</sup> 内标液 0.5 mL,旋涡振荡 30 s,加入 1 mL 乙酸乙酯提取,提取液以 N<sub>2</sub> 吹干除去乙酸乙酯。残留物加甲醇定容,离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>),进行 HPLC 和 LC-MS 分析。



A. 样品;B. 空白血浆加内标;C. 空白血浆加对照品;D. 空白血浆;  
1. 内标格列喹酮;2. 熊果酸

图 2 熊果酸自微乳 HPLC

内标的色谱保留时间为 10.83 min, 熊果酸的保留时间为 21.22 min。熊果酸在电喷雾电离正离子模

式下  $m/z = 455.9$ 。色谱和质谱图见图 2~3。

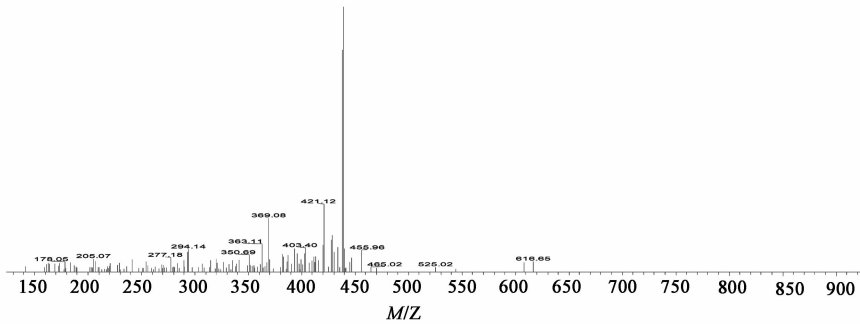


图 3 熊果酸自微乳样品中熊果酸的质谱

**2.6 线性关系考察** 取熊果酸对照品储备液,用空白血浆稀释为 57.88, 28.94, 14.47, 7.235, 3.617 5, 1.808 8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,按 2.5 项样品处理,以内标法定量。以齐墩果酸质量浓度 ( $X$ ) 对齐墩果酸与内标峰面积比 ( $Y$ ) 进行线性回归,得回归方程:  $Y = 0.372\ 294X + 0.072\ 933$  ( $r = 0.999\ 2$ )。结果表明在 57.88 ~ 1.808 8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  具有良好的线性关系。

**2.7 精密度试验** 取同一样品,在色谱条件下,连续进样 6 次,记录熊果酸色谱峰峰面积,按回归方程计算样品质量浓度, RSD 5.3%。结果表明仪器精密度良好。

**2.8 稳定性试验** 将 6 份样品于  $-20\ ^\circ\text{C}$  条件下冻存过夜,第 2 天在室温条件下自然融解,分别测定冻融前和冻融后样品的熊果酸的浓度。结果显示 6 个样本的 RSD 8.7%, < 10%,结果表明样品在冻融条件下稳定。

**2.9 回收率试验** 配制高、中、低 3 个质量浓度 14.47, 7.235, 3.617 5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  血样,按样品处理项下步骤操作。样品以 HPLC 分析。计算加样回收率,按结果显示高、中、低 3 个质量浓度的回收率分别为 88.6%, 85.3%, 86.1%, RSD 分别为 7.4%, 6.2%, 7.7%。内标的萃取回收率为 84.1% ( $n = 3$ ), RSD 4.9%。

**2.10 药动学及其相对生物利用度研究** 将 18 只雄性 Wistar 大鼠随机分成 3 组,每组 6 只,按 2.5 项下给药及处理血样。进样测定血中的药物浓度,构建药-时曲线,结果见图 4。并采用 3P 97 药动学软件计算主要药动学参数,结果见表 1。结果可以计算出熊果酸自微乳的相对生物利用度为 326.5%;缓释片的相对生物利用度为 256.6%;相对与缓释片,自微乳的相对生物利用度为 127.2%。

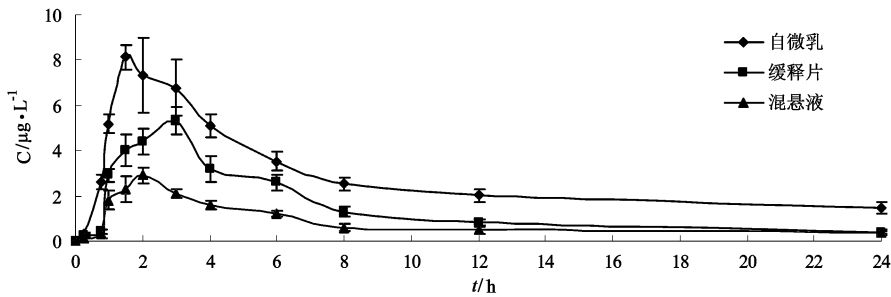


图 4 大鼠口服熊果酸自微乳、释片和混悬液后血药浓度-时间曲线 ( $\bar{x} \pm s$ )

表 1 熊果酸自微乳、熊果酸缓释片和熊果酸混悬液药代动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

参数	自微乳	缓释片	混悬液
$C_{\max}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	8.17 ± 0.54	5.32 ± 0.62	2.91 ± 0.34
$t_{\max}/\text{h}$	1.5 ± 0.2	3.0 ± 0.4	2.0 ± 0.2
$T_{1/2}/\text{h}$	5.26 ± 0.21	5.81 ± 0.40	5.22 ± 0.37
$\text{AUC}_{0-24}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	83.27 ± 26.74	65.44 ± 18.65	25.50 ± 10.32
$\text{AUC}_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	95.03 ± 30.45	77.64 ± 18.05	31.69 ± 9.51

### 3 讨论

熊果酸的溶解性差,生物体内的生物利用度低,不能达到理想的治疗效果。这限制了熊果酸在临床上使用。有研究表明熊果酸在 Caco-2 细胞模型的吸收转运机制以被动转运为主,而 P 糖蛋白 (P-gp) 参与主动转运<sup>[5]</sup>。在 0.1 ~ 1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时熊果酸对 P-gp 的功能有抑制作用,这可能是其体内生物利用度低的原因<sup>[6]</sup>。

# 川乌微波炮制工艺优选

区炳雄\*, 龚又明, 林华, 邓广海  
(广东省中医院药学部, 广州 510120)

**[摘要]** 目的: 研究川乌的微波炮制工艺。方法: 采用 HPLC 测定川乌不同微波炮制品中 6 种生物碱和总生物碱的含量, 并以其为指标与传统炮制工艺进行比较, 全面评价川乌微波炮制工艺。结果: 最佳的微波炮制工艺为川乌经润透法处理后, 于 60% 微波火力下炮制 18~20 min, 与传统炮制法比较, 其总生物碱含量较高, 且 6 种单、双型生物碱的含量均符合 2010 年版《中国药典》的要求。结论: 该方法简单、可行而且易于控制, 可作为川乌炮制的新方法。

**[关键词]** 川乌; 微波炮制; 单酯型生物碱; 双酯型生物碱; 总生物碱; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0039-04

## Microwave Processing Technology of Radix Aconiti

OU Bing-xiong\*, GONG You-ming, LIN Hua, DENG Guang-hai  
(Pharmaceutical Department, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on microwave processing technology of Radix Aconite. **Method:** The content of six kinds of alkaloids and total alkaloids from different microwave processed products of Radix Aconite were determined by HPLC, and used them as index to compare with traditional processing technology, comprehensive evaluated microwave processing technology of Radix Aconite. **Result:** Optimum microwave process technology was as follows: after treated by moistening, processed 18-20 min under microwave heating with 60%, and the content of total alkaloids was higher than processed with traditional technology, the content of six kinds of single and double type alkaloids met requirements of 2010 "China Pharmacopoeia". **Conclusion:** This method was

**[收稿日期]** 20110728(017)

**[通讯作者]** \* 区炳雄, 副主任药师, 从事医院药学及中药质量鉴定研究, Tel: 13543441848, E-mail: obx1848@163.com

目前, 通过剂型改变提高熊果酸体内生物利用度成为主要的途径之一。现有的报道中, 已制备成缓释片、脂微球等剂型<sup>[4,7]</sup>, 但其生物利用度依然不高。自微乳化给药系统是药物在油相、表面活性剂和助表面活性剂作用下形成的均一透明的溶液, 目前多用于疏水性、难吸收或易水解药物的载体<sup>[8]</sup>。因此本研究将其制备成自微乳, 以提高其体内的生物利用度。从药动学及生物利用度结果可看出, 所制备的自微乳的生物利用度高于缓释片。

### [参考文献]

- [1] 孟艳秋, 陈瑜, 王赓, 等. 熊果酸的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 25.
- [2] 陈武, 熊筱娟, 李开泉, 等. 乌索酸治疗急性病毒性

肝炎的临床研究[J]. 宜春医专学报, 2001, 13(1): 1.

- [3] 赖玲, 杨光, 杨昕. 熊果酸固体分散体的制备与体外溶出度测定[J]. 医药导报, 2005, 24(6): 517.
- [4] 詹琳, 刘亚妮. 熊果酸缓释片的质量控制与稳定性考察[J]. 医药导报, 2011, 30(5): 658.
- [5] 程晓华, 熊玉卿. Caco-2 细胞单层模型中熊果酸摄取转运机制的研究[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1935.
- [6] 任华益. 熊果酸抑制 P-糖蛋白外排功能[J]. 中草药, 2009, 40(7): 493.
- [7] 欧苏, 尹爱梅. 一种熊果酸脂微球制剂及其制备方法中国: CN200610020604.8[P]. 2006-11-08.
- [8] 杨蕊, 苏乐群, 黄欣. 齐墩果酸自微乳的制备及质量评价[J]. 食品与药品, 2008, 10(01): 40.

[责任编辑 仝燕]