

不同载药量姜黄素自纳米乳体外分散后相行为与稳定性的相关性考察

陈绪龙, 梁新丽, 刘欢, 赵国巍, 温佳豪, 欧阳料淇, 蒋且英*, 廖正根*
(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 实验动物科技中心, 南昌 330004)

[摘要] 目的:研究不同载药量姜黄素自纳米乳(CUR-SNEDDS)在人工胃肠液中分散相行为与纳米乳稳定性的关系。方法:以CUR过饱和度-时间曲线的变化趋势表示CUR-SNEDDS分散后沉淀生长速度,分别采用紫外-可见光谱法和偏振光显微镜考察载药量对晶体成核与生长的影响,利用X射线粉末衍射(XRD)和差示扫描量热法(DSC)分析不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中沉淀存在形式,同时考察载药量对CUR-SNEDDS在人工胃肠液中形成的纳米乳稳定性的影响。结果:在人工胃肠液中,随着载药量的提高,CUR过饱和度-时间曲线下面积越大(100%载药量≈90%载药量>75%载药量),结晶成核与生长速度加快(100%载药量>90%载药量>75%载药量),沉淀组成中无定型比例减小,分散后形成的纳米乳滴黏连且分布不均匀、粒径与分散性增大。结论:高载药量促进了晶体成核与生长,增大了沉淀组成中晶型比例,从而导致形成的纳米乳稳定性下降,建议CUR-SNEDDS载药量控制在90%以下。

[关键词] 姜黄素; 自纳米乳; 载药量; 人工胃肠液; 相行为; 过饱和度; 结晶

[中图分类号] R22;R94;R28;P234.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)01-0154-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201949

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200624.1035.003.html>

[网络出版日期] 2020-6-24 10:59

Investigation on Correlation of Phase Behavior and Stability of Curcumin Self-nanoemulsion with Different Drug Loading After *in Vitro* Dispersion

CHEN Xu-long, LIANG Xin-li, LIU Huan, ZHAO Guo-wei, WEN Jia-hao,
OUYANG Liao-qi, JIANG Qie-ying*, LIAO Zheng-gen*

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Ministry of Education, Experimental Animal Science and Technology Center,
Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between phase behavior of curcumin (CUR) from self-nanoemulsion drug delivery system (SNEDDS) and stability of the formed nanoemulsion in artificial gastrointestinal fluid. **Method:** The growth rate of precipitation after dispersion of CUR-SNEDDS was expressed by the change tendency of CUR supersaturation-time curve. The effect of drug loading on crystal nucleation and growth was investigated by ultraviolet-visible spectrometry and polarized light microscope, respectively. X-ray powder diffraction (XRD) and differential scanning calorimetry (DSC) were used to analyze the precipitation forms of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid. At the same time, the effect of drug loading on the quality stability of nanoemulsion formed by CUR-SNEDDS in

[收稿日期] 20200419(004)

[基金项目] 江西省一流学科建设项目(JXSYLXK-ZHYAO059);江西省卫生计生委科技计划项目(20181140);江西省卫生计生委中医药科研课题(2016A021)

[第一作者] 陈绪龙,在读博士,主管药师,从事中药新剂型与新技术研究,E-mail:cxl_0517@163.com

[通信作者] *蒋且英,副教授,从事中药制剂应用基础研究,Tel:0791-87119190,E-mail:jxxyjqy@163.com;

*廖正根,博士,教授,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:0791-87119011,E-mail:lyzlyg@163.com

artificial gastrointestinal fluid was investigated. **Result:** In the artificial gastrointestinal fluid, with the increase of drug loading, the area under the supersaturation-time curve of CUR was increased (100% drug loading \approx 90% drug loading $>$ 75% drug loading), the crystallization nucleation and growth rate were accelerated (100% drug loading $>$ 90% drug loading $>$ 75% drug loading), the amorphous proportion in the precipitation composition decreased, the nanoemulsion droplets adhered and distributed unevenly, the particle size and dispersivity were increased. **Conclusion:** High drug loading promotes the nucleation and growth of crystals, and increases the proportion of crystal forms in the precipitation composition, which leads to the decrease in the stability of the formed nanoemulsion. Therefore, it is suggested that the drug loading of CUR-SNEDDS needs to be controlled below 90%.

[Key words] curcumin; self-nanoemulsion; drug loading; artificial gastrointestinal fluid; phase behavior; supersaturation; crystal

自纳米乳(SNEDDS)是由油相、表面活性剂和助表面活性剂组成的各向同性且热力学稳定的混合体系,在胃肠道的蠕动下自发形成粒径 <100 nm的水包油(O/W)型微乳^[1]。SNEDDS在胃肠道中形成高于药物平衡溶解度的过饱和溶液,提高了水难溶性药物在体内的活度,从而促进吸收,是一种具有前景的提高水难溶性药物生物利用度的制剂^[1]。

姜黄素(CUR)是从姜黄、郁金和莪术等的根茎中提取出来的一种多酚类化合物^[2-3],具有抗氧化、抗肿瘤和抗炎等药理作用^[4-7]。其属于生物药剂学分类系统(BCS)Ⅳ类化合物^[8],水溶性差^[9]、渗透性低^[10-11]、体内代谢快^[8],已有文献优选了CUR-SNEDDS处方,并证明SNEDDS能显著提高CUR的溶解度和生物利用度^[12-14]。然而,SNEDDS作为一种可过饱和制剂,在胃肠环境中乳化后易形成化学势高于晶体平衡态溶解度的溶液而具有结晶的趋势,常采用降低SNEDDS的载药量来维持药物过饱和状态^[15]。目前,关于不同载药量SNEDDS体外分散后沉淀组成、晶体成核与生长过程与乳化后纳米乳稳定性的关系研究尚未见报道。基于此,本研究选择前期实验筛选出的CUR-SNEDDS为研究对象,考察不同载药量的CUR-SNEDDS在人工胃液环境中分散后相变行为与纳米乳稳定性的关系,以期CUR-SNEDDS选择合适载药量提供实验依据。

1 材料

1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),85-2A型双数显恒温磁力搅拌器(金坛市城东新瑞仪器厂),Nan-ZS型纳米激光粒度仪(英国Malvern公司),VORTEX 3型旋涡混匀器(德国IKA公司),3-18K型高速冷冻离心机(德国Sigma公司),TecnaTM G2 Spirit 120 kV型透射电子显微镜(美国

FEI公司),Mshot MS60型偏振光显微镜(广州市明光电技术有限公司),ZRS-8G型智能溶出仪(天津天大天发科技有限公司),D8 Advance型X射线衍射仪(德国布鲁克AXS公司),Diamond型差示扫描量热分析仪(美国珀金埃尔默公司)。

丙二醇单辛酸酯(Capryol 90),二乙二醇单乙基醚(Transcutol HP)均购于法国嘉法赛公司,批号分别为164511,165896;聚氧乙烯氢化蓖麻油(Kolliphor RH40,巴斯夫股份公司,批号079515002240),姜黄素(CUR,西安昊轩生物科技有限公司,纯度96.18%,批号JHS20180328),CUR对照品(成都埃法生物科技有限公司,批号AF7111708,纯度99.91%),牛黄胆酸钠、蛋黄卵磷脂、马来酸(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为1025F051,1123D021,401J023),十二烷基硫酸钠(SDS,国药集团化学试剂有限公司,批号20170401),水为超纯水,甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 CUR的含量测定^[16]

2.1.1 色谱条件 采用Phenomenex Luna C₁₈色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m),流动相乙腈-0.5%冰乙酸(58:42),流速1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长430 nm,柱温30 $^{\circ}$ C,进样量5 μ L。理论板数按CUR计 >5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取CUR对照品5.64 mg,置25 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得225.6 mg \cdot L⁻¹对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取CUR-SNEDDS 0.1 g(约含CUR原料药6.5 mg),精密称定,置于25 mL棕色量瓶中,加甲醇超声破乳并定容至刻度(功率200 W,时间10 min),经0.22 μ m微孔滤膜过滤,得供试品溶液。

2.1.4 线性范围考察 分别精密吸取 CUR 对照品储备液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 5.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 得回归方程 $Y=42.311X-13.19$ ($R^2=0.9999$), 线性范围 11.28~225.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.1.5 精密度试验 精密吸取 $22.56\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CUR 对照品溶液适量, 按照 2.1.1 项下条件重复进样 6 次, 计算 CUR 峰面积的 RSD 0.3%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同批 CUR-SNEDDS 样品适量, 平行制备 6 份供试品溶液, 按照 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果 CUR-SNEDDS 中 CUR 平均质量分数 $65.08\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 1.1%, 说明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于制备 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 后按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算 CUR 峰面积的 RSD 1.1%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 配制含 CUR 约 25 μg 的 CUR-SNEDDS 甲醇溶液共 9 份, 分别加入含 CUR 20, 25, 30 μg 的对照品溶液 (各质量浓度平行 3 份), 加甲醇稀释得 9 份供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 计算平均加样回收率 96.7%, RSD 1.7%, 表明该方法准确可靠。

2.2 人工胃肠液的制备^[17] 精密称取牛黄胆酸钠 0.043 1 g, 鸡蛋卵磷脂 0.015 2 g, 氯化钠 1.368 3 g, 胃蛋白酶 0.1 g, 加水使溶解并稀释至 1 L, 用盐酸调 pH 1.6, 得人工胃液; 分别精密称取牛黄胆酸钠 1.613 0 g, 鸡蛋卵磷脂 0.151 6 g, 氯化钠 2.604 8 g, 马来酸 2.219 2 g, 加水使溶解并稀释至 1 L, 用氢氧化钠调 pH 6.5, 得人工肠液。

2.3 CUR-SNEDDS 的制备 CUR-SNEDDS 处方组成^[18] 为 Capryol 90-Kolliphor RH40-Transcutol HP (7.93: 66.71: 25.36), 最大载药量 $65\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (等于 CUR 在空白 SNEDDS 中平衡溶解度, 即 100% 载药量)。质量参数^[18] 为乳化时间 (19.64 ± 0.11) s, 平均粒径 (15.06 ± 1.12) nm, 多分散指数 (PDI) 0.18 ± 0.01 , Zeta 电位 (-7.41 ± 0.52) mV; 按处方比例精密称取 Capryol 90, Kolliphor RH40 和 Transcutol HP 适量, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热超声, 摇匀, 得空白 SNEDDS; 精密称取 CUR 原料药适量, 加入一定质量的空白 SNEDDS, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴超声使溶解, 混匀, 得 CUR

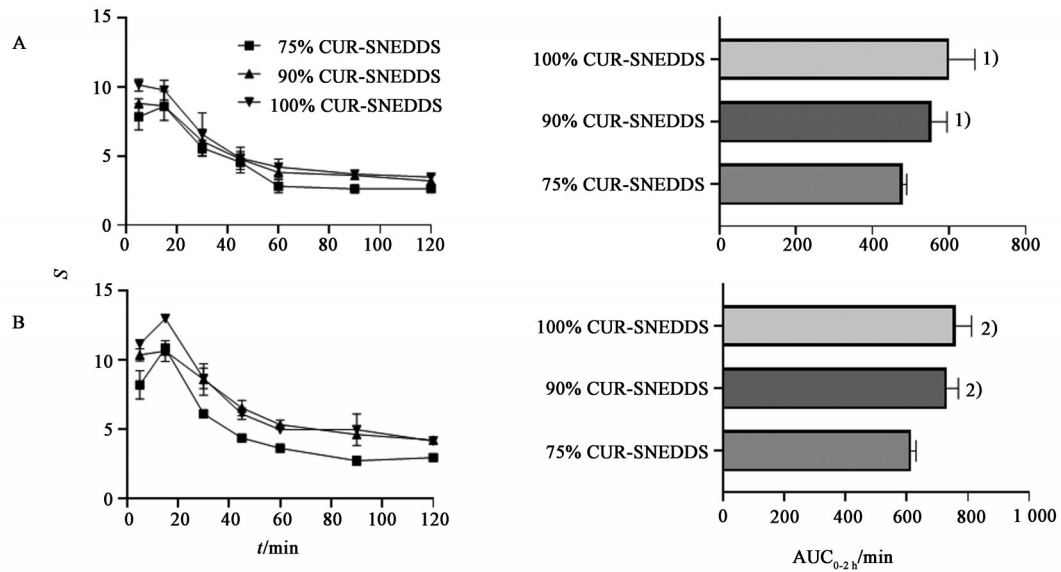
载药量分别为 75%, 90%, 100% 的 CUR-SNEDDS。

2.4 CUR-SNEDDS 体外分散过程分析

2.4.1 过饱和度时间变化-相变过程 将制备好的空白 SNEDDS 分别以 1:100 分散于预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 的人工胃液和人工肠液中, 搅拌浆转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 搅拌至分散均匀, 溶液体系为空白纳米乳溶液, 加入过量的 CUR, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下饱和 24 h, 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 加甲醇稀释适当倍数, 采用 HPLC 测定 CUR 在空白 SNEDDS 中的平衡溶解度 (C_0); 将不同载药量 (75%, 90%, 100%) 的 CUR-SNEDDS 以 1:100 分别分散于预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 的人工胃液和人工肠液中, 搅拌浆转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 于 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min 各取样 1 mL, 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 加甲醇稀释适当倍数, 采用 HPLC 测定 CUR-SNEDDS 中 CUR 的溶解度 (C), 按公式 $S=C/C_0$ 计算过饱和度 (S), 将数据导入 GraphPad Prism 8.0 软件, 得时间-过饱和度曲线以及 2 h 曲线下面积 ($\text{AUC}_{0-2\text{h}}$), 并对 $\text{AUC}_{0-2\text{h}}$ 数据进行单因素方差分析, 见图 1。

由图 1 可知, 75% 载药量 CUR-SNEDDS 在人工胃液和人工肠液中分散后, CUR 过饱和度先增大, 15 min 之后开始显著下降。90% 载药量 CUR-SNEDDS 在人工胃液和人工肠液中分散后, CUR 过饱和度在 15 min 内保持稳定, 之后开始显著下降。100% 载药量 CUR-SNEDDS 在人工胃液中分散后, CUR 过饱和度开始出现缓慢下降, 在 15 min 之后开始显著下降, 而在人工肠液中 CUR 开始出现快速上升, 15 min 后开始显著下降。 $\text{AUC}_{0-2\text{h}}$ 大小顺序为 100% 载药量 \approx 90% 载药量 $>$ 75% 载药量, 即载药量 90%~100% 的 CUR-SNEDDS 分散后 CUR 过饱和度更高且持续更久。

2.4.2 载药量对晶体成核时间的影响 结晶是过饱和溶液中分子聚集的结果, 在达到临界半径后形成原子核, 最终长大为更大的晶体, 这个过程被称为成核^[19]。目前一般通过测量诱导成核时间来衡量成核, 成核时间是由临界成核与晶核生长到可检测的尺寸所需时间之和^[20]。按照文献^[21]中紫外-可见光谱法, 利用 CUR-SNEDDS 体外分散后暴露在 CUR 分子不吸收 (消光增加) 的波长时, CUR 分子丰富的胶体相的存在会导致溶液浑浊度增加, 进而引起光散射。将观测到的散射高于噪声水平的时间点作为成核时间。取不同载药量 (75%, 90%, 100%) 的 CUR-SNEDDS 以比例 1:100 分别分散于预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 的人工胃液和人工肠液中, 设定转速为



A. 人工胃液; B. 人工肠液(图2~6同); 与75% CUR-SNEDDS组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

图1 人工胃肠液中不同载药量CUR-SNEDDS的过饱和度-时间曲线及AUC_{0-2h} ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Supersaturation-time curve and AUC_{0-2h} of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid ($\bar{x} \pm s, n=3$)

100 r·min⁻¹, 使用紫外-可见分光光度计对溶液进行时间监测, 测量非吸收波长($\lambda=700$ nm)光散射的变化, 每隔30 s采样分析1次。运用GraphPad Prism 8.0对吸光度随时间的变化进行分段回归分析, 求得诱导成核时间, 见图2。

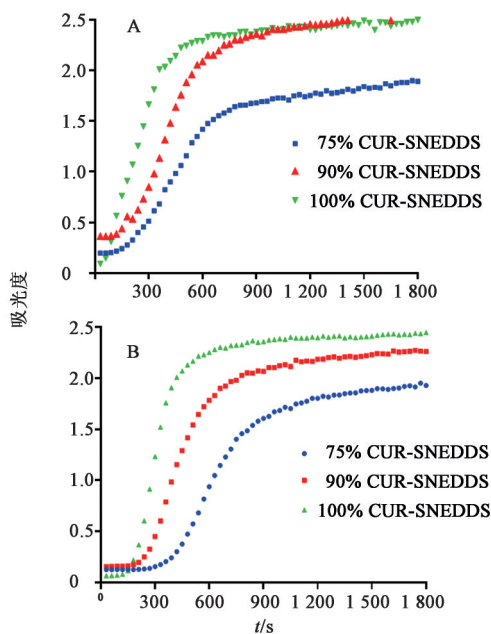


图2 不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中吸光度-时间曲线
Fig. 2 Absorbance-time curves of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid

由图2可知, 随着时间的推移, 分子成核, 吸光度呈指数增长。通过GraphPad Prism 8.0对吸光度-时间曲线进行分段序贯回归分析, 得出实验成核时

间。结果75%, 90%, 100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液中的成核时间分别为223.56, 217.67, 59.17 s; 在人工肠液中成核时间分别为416.54, 283.84, 219.39 s。说明随着载药量的增大, 加快了CUR晶体的成核速度。

2.4.3 载药量对晶体生长变化的影响 不同载药量CUR-SNEDDS以比例1:100分别分散于预热至37℃的人工胃液和人工肠液中(转速100 r·min⁻¹), 分别于15, 30, 45, 60 min取样20 μL, 置于载玻片进行偏振光实验, 见图3。通过CUR-SNEDDS在人工胃液和人工肠液分散过程中沉淀的偏光结果证明了CUR结晶的存在, 从分散15 min到60 min可以观察到晶体的生长变化, 这与过饱和度-时间曲线结果相一致。75%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液和人工肠液中分散后, 15~45 min内观察到的晶体积小且数量少, 60 min时晶体积突然增大且数量增多; 90%载药量CUR-SNEDDS在15~30 min内晶体积小、数量少, 且没有明显变化, 45 min时晶体积明显变大且增多; 100%载药量CUR-SNEDDS在15 min内晶体积大且数量多。因此, 推测75%载药量CUR-SNEDDS在45~60 min内晶体快速生长; 90%载药量CUR-SNEDDS在30~45 min内晶体快速生长; 100%载药量CUR-SNEDDS在15 min内完成晶体成核和生长。表明随着载药量的增大, 加快了CUR晶体的生长速度, 大小排序为100%载药量>90%载药量>75%载药量。

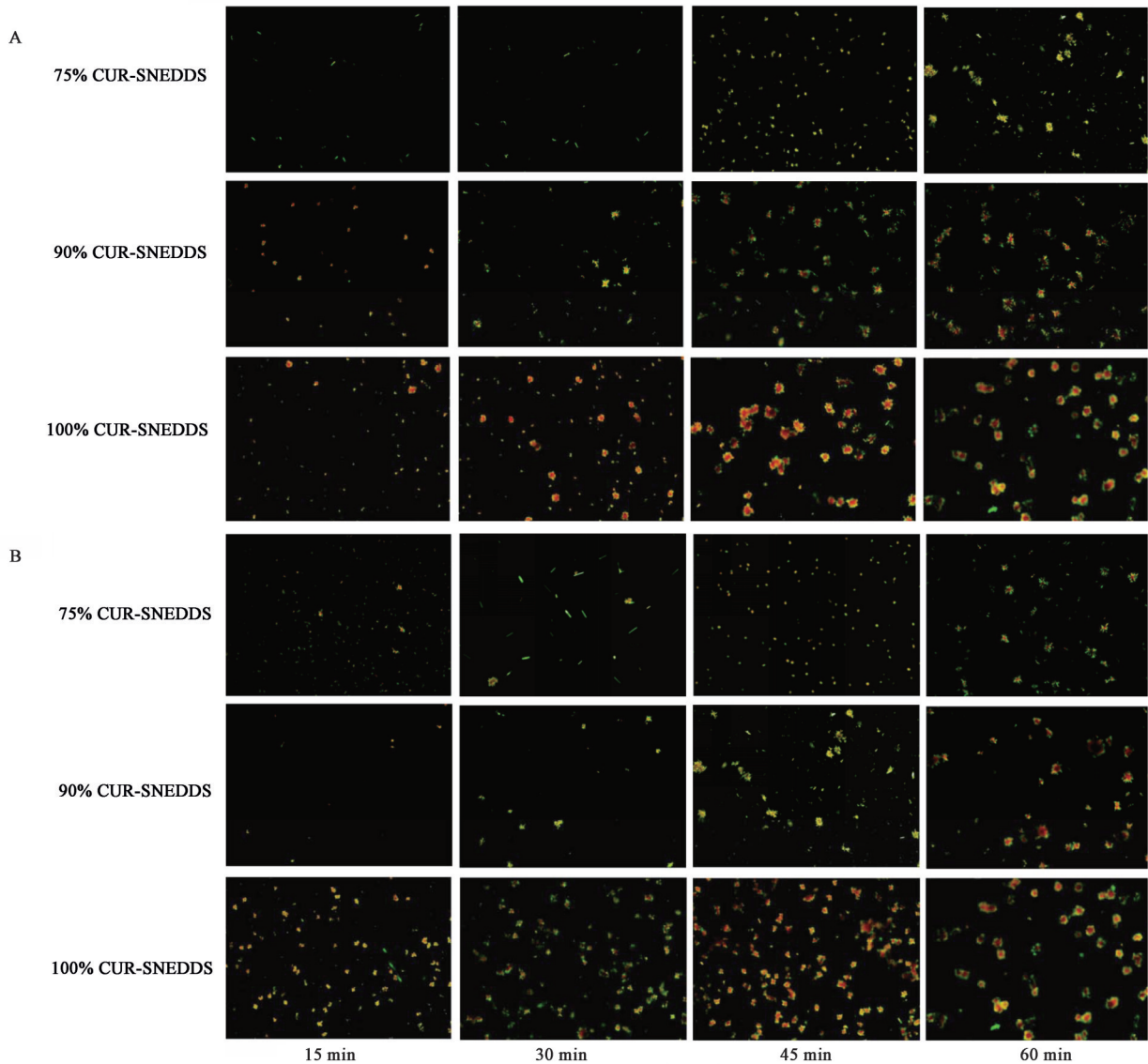


图3 不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中结晶偏光分析($\times 100$)

Fig. 3 Crystal polarization analysis of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid ($\times 100$)

2.5 载药量对CUR-SNEDDS外观形态的影响 将不同载药量CUR-SNEDDS按比例1:100分别分散于预热至 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的人工胃液、人工肠液中,搅拌桨转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,形成黄色均一透明的纳米乳。取乳液 $10\text{ }\mu\text{L}$,滴在覆有碳支持膜的铜网上,静置 10 min 后用滤纸片吸取多余液体,再滴加2%磷酸钨酸溶液,负染 5 min ,自然挥干,于透射电子显微镜(TEM)下观察,见图4。结果发现75%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液与人工肠液中分散后的乳滴呈圆球形,乳滴之间无黏连,分布欠均匀。90%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液中乳滴呈类圆球形,乳滴之间稍有黏连,大小分布欠均匀;在人工肠液中乳滴呈圆球形,乳滴间无黏连,大小分布较均匀。100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液中乳滴呈类圆球

形,乳滴之间黏连,分布欠均匀;在人工肠液中乳滴黏连且分布不均匀。表明随着载药量的提高,形成的纳米乳外观形态稳定性下降。

2.6 沉淀表征

2.6.1 差示扫描量热法(DSC) 分别取CUR原料药和75%,90%,100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液和人工肠液中的沉淀粉末,精密称定后进行DSC测定。升温速率 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,测试温度 $25\sim 200\text{ }^{\circ}\text{C}$,记录各个样品的DSC曲线,见图5。结果发现CUR原料药在 $180.36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 有尖锐熔融峰存在,在熔融过程中单位吸热量为 $181.56\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$,说明CUR为晶型结构;75%,90%,100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液中的沉淀粉末分别在 $175.12, 173.72, 175.54\text{ }^{\circ}\text{C}$ 有明显吸收峰,熔融过程中的单位吸热量

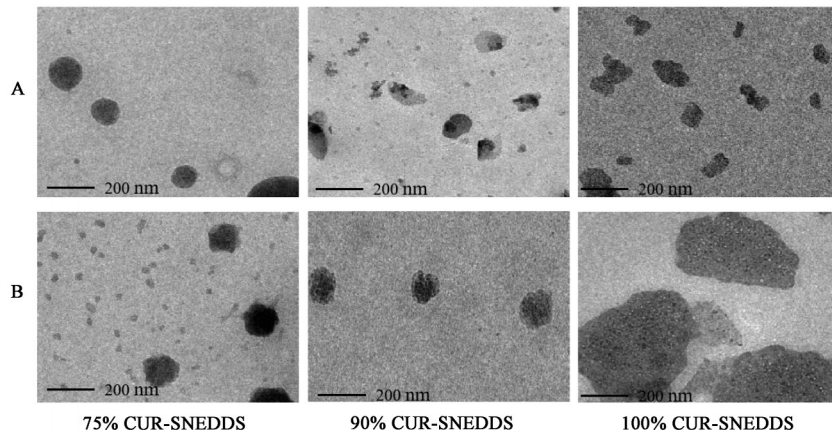


图4 不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中的TEM

Fig. 4 TEM of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid

分别为50.3, 31.43, 131.11 J·g⁻¹, 100%载药量CUR-SNEDDS吸热强度较另外2个载药量显著增大, 75%和90%载药量分别在132.06, 71.53 °C位置出现1个凸起; 75%, 90%, 100%载药量CUR-SNEDDS在人工肠液中的沉淀粉末分别在175.72, 175.38, 178.38 °C有明显吸收峰, 熔融过程中单位吸热量分别为65.14, 78.41, 85.06 J·g⁻¹, 随着载药量提高吸热强度增大, 同时分别在87.88, 83.20, 66.18 °C出现了凸起; 表明CUR-SNEDDS在人工胃肠液中沉淀晶型结构发生了变化, 部分以无定型或分子形式存在, 且随着载药量降低, 无定型沉淀比例有增大趋势。

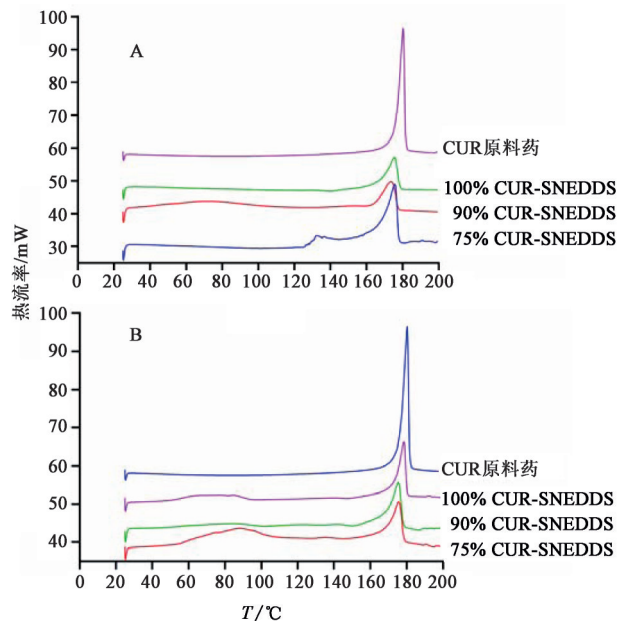


图5 不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中沉淀粉末的DSC曲线

Fig. 5 DSC curves of precipitated powder of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid

2.6.2 X射线粉末衍射(XRD) 分别取CUR原料药和75%, 90%, 100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液和人工肠液中的沉淀粉末, 精密称定后进行XRD分析。测定条件为Cu靶, 高压40 kV, 电流设定40 mA, 扫描2θ角度5~60度, 波长0.154 1 nm, 扫描速度8度/min。记录样品XRD曲线, 见图6。

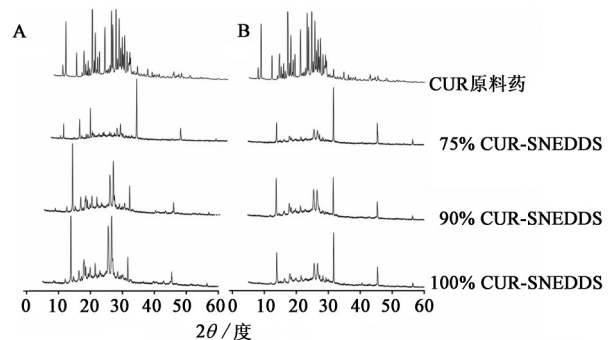


图6 不同载药量CUR-SNEDDS在人工胃肠液中沉淀粉末的XRD分析

Fig. 6 XRD of precipitated powder of CUR-SNEDDS with different drug loading in artificial gastrointestinal fluid

由图6可知, CUR原料药粉末的衍射峰, 在衍射角(2θ)为8.87, 17.22, 21.17, 23.26, 23.70, 24.69, 25.74度等处均出现尖锐的衍射峰, 是典型的晶体衍射图谱, 表明CUR结构为晶型结构。与CUR原料药相比, 75%, 90%, 100%载药量CUR-SNEDDS在人工胃液和人工肠液中的沉淀粉末的衍射峰中, 很多CUR结晶特征衍射峰消失, 同时在衍射角(2θ)为13.87, 31.69, 45.44度处出现新的晶体衍射峰, 且随着载药量降低, 衍射峰的强度进一步减弱。表明CUR-SNEDDS相变过程中沉淀物由晶型与无定型共同组成, 且随着载药量的降低, 无定型比例增大。

2.7 不同载药量CUR-SNEDDS的质量评价 将不同载药量CUR-SNEDDS以比例1:200分别分散于

预热至37℃的人工胃液和人工肠液中,于设定转速100 r·min⁻¹搅拌,分别于5,15,30,45,60 min取样约1 mL,测定上述分散液的粒径和PDI,记录CUR-SNEDDS分散完全的时间,见表1。结果发现在人工胃肠液中,75%载药量CUR-SNEDDS在60 min内,粒径和分散性呈现增大趋势,但仍在检测范围内;90%载药量CUR-SNEDDS在30 min内,粒径在

增大,30 min之后粒径与PDI超出检测限;100%载药量CUR-SNEDDS在15 min后粒径与PDI超出检测限;与75%载药量CUR-SNEDDS的乳化时间相比,90%和100%载药量CUR-SNEDDS的乳化时间明显延长,但乳化时间均<1 min,说明乳化效果仍然较好。表明载药量的提高,CUR-SNEDDS的分散稳定性下降,这与TEM观察纳米乳形态的结果一致。

表1 不同载药量CUR-SNEDDS分散后的粒径,PDI及乳化时间($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Particle size, PDI and emulsifying time of CUR-SNEDDS with different drug loading after dispersion ($\bar{x}\pm s, n=3$)

载药量/%	t/min	人工胃液			人工肠液		
		粒径/nm	PDI	乳化时间/s	粒径/nm	PDI	乳化时间/s
75	5	15.32±0.54	0.18±0.03	18.21±0.09	14.59±0.87	0.11±0.02	19.01±0.13
	15	45.03±0.69	0.19±0.04	-	25.06±0.48	0.15±0.04	-
	30	90.07±0.12	0.35±0.04	-	120.74±1.09	0.25±0.04	-
	60	466.9±2.64	0.54±0.05	-	357.10±3.69	0.62±0.03	-
90	5	21.51±0.89	0.40±0.02	23.05±0.11	16.47±0.48	0.25±0.02	25.27±0.18
	15	13.24±0.35	0.38±0.03	-	17.10±0.14	0.40±0.03	-
	30	150.2±0.68	0.24±0.03	-	250.84±0.59	0.45±0.03	-
	60	-	-	-	-	-	-
100	5	15.68±0.77	0.45±0.03	24.01±0.22	14.51±0.81	0.47±0.05	26.01±0.33
	15	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-

注:“-”表示该数据无法检测。

3 讨论

载药量与处方的分散稳定性密切相关,一般载药量越大,分散稳定性越差,载药量一般为平衡溶解度的50%~90%^[15,17],但因载药量是SNEDDS广泛应用的一个限制因素,因此本研究考察了3个载药水平(75%,90%,100%)CUR-SNEDDS分散后相行为与纳米乳稳定性的关系。通过紫外-可见光谱法和偏振光显微镜研究载药量对CUR-SNEDDS体外分散后晶体成核与生长的影响,发现随着载药量的提高,晶体成核与生长速度明显加快,同时纳米乳的粒径、分散性以及乳滴外观形态稳定性下降。提示载药量的提高,加快了CUR相变过程,降低了CUR-SNEDDS的质量稳定性。

通过XRD和DSC研究发现,与CUR原料药相比,CUR-SNEDDS在人工胃肠液中产生的沉淀以结晶型和无定型形式存在,且随着载药量的提高,晶型沉淀比例增大,形成的纳米乳稳定性下降。提示无定型沉淀可能有利于CUR-SNEDDS分散稳定性,可能是因为无定型沉淀在分散过程中快速溶

解,减小了沉淀对纳米乳稳定性的影响。无定型沉淀的产生可能与胃肠液中的胆酸盐及蛋磷脂等物质、药物形成复合物有关,此外,药物在过饱和状态下快速分散和消化也会产生无定型沉淀^[22]。综合分析,与100%载药量相比,75%和90%载药量的CUR-SNEDDS在人工胃肠液中药物晶体成核和生长速度相对较慢,形成纳米乳的粒径、分散性以及外观形态较为稳定,且90%与100%载药量CUR-SNEDDS的AUC_{0-2h}无显著差异,提示其载药量应控制在<90%。本文基于相行为及纳米乳稳定性角度优选SNEDDS载药量是一种有效途径,但不同模型药物或处方药物分散后相变过程产生的沉淀形式会有所不同,若沉淀完全为无定型,则不影响药物的吸收,后续将重点分析相变过程中沉淀存在形式及其存在机制对药物吸收的影响。

[参考文献]

- [1] FEENEY O M, CRUM M F, MCEVOY C L, et al. 50 Years of oral lipid-based formulations: provenance,

- progress and future perspectives [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 101: 167-194.
- [2] 刘调调, 杨白雪, 郭瑛玉, 等. 表面活性剂的复配对姜黄素的增溶及保护作用[J]. *药学报*, 2019, 54(1): 8-13.
- [3] KUMAR A, KAUR G, KANSAL S K, et al. Enhanced solubilization of curcumin in mixed surfactant vesicles [J]. *Food Chem*, 2016, 199: 660-666.
- [4] PAN M H, HUANG T M, LIN J K. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice[J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(4): 486-494.
- [5] YALLAPU M M, JAGGI M, CHAUHAN S C. Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2012, 17(1/2): 71-80.
- [6] YALLAPU M M, OTHMAN S F, CURIIS E T, et al. Curcumin-loaded magnetic nanoparticles for breast cancer therapeutics and imaging applications[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 1761-1779.
- [7] CUI J, YU B, ZHAO Y, et al. Enhancement of oral absorption of curcumin by self-microemulsifying drug delivery systems [J]. *Int J Pharm*, 2009, 371 (1/2) : 148-155.
- [8] IPAR V S, DSOUZA A, DEVARAJAN P V. Enhancing curcumin oral bioavailability through nanoformulations [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(4) : 459-480.
- [9] TØNNESEN H H, MÁSSON M, LOFTSSON T. Studies of curcumin and curcuminoids. X X VII . Cyclodextrin complexation: solubility, chemical and photochemical stability [J]. *Int J Pharm*, 2002, 244 (1/2): 127-135.
- [10] JOHN M K, XIE H, BELL E C, et al. Development and pharmacokinetic evaluation of a curcumin co-solvent formulation [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(10): 4285-4291.
- [11] HU L D, SHI Y J, LI J H, et al. Enhancement of oral bioavailability of curcumin by a novel solid dispersion system [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2015, 16(6) : 1327-1334.
- [12] PETHSOMRIT A, SERMKAEW N, WIWATTANAPATAPEE R. Self-microemulsifying, reconstituted granules for oral administration of curcumin: development and *in vitro* characterization [J]. *Lat Am J Pharm*, 2018, 37(4) : 740-747.
- [13] LIU Y, HUANG P W, HOU X F, et al. Hybrid curcumin-phospholipid complex-near-infrared dye oral drug delivery system to inhibit lung metastasis of breast cancer [J]. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 3311-3330.
- [14] LI Q P, ZHAI W W, JIANG Q L, et al. Curcumin-piperine mixtures in self-microemulsifying drug delivery system for ulcerative colitis therapy [J]. *Int J Pharm*, 2015, 490(1/2): 22-31.
- [15] THOMAS N, MULLERTZ A, GRAF A, et al. Influence of lipid composition and drug load on the *in vitro* performance of self-nanoemulsifying drug delivery systems [J]. *J Pharm Sci*, 2012, 101(5) : 1721-1731.
- [16] 李翔, 刘亚丽, 张鹏, 等. 姜黄素眼用纳米混悬凝胶剂对大鼠源性白内障的治疗作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(22): 9-13.
- [17] 赖章婷, 丁海波, 蒋且英, 等. 水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统的制备及体外质量评价 [J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4091-4099.
- [18] 陈绪龙, 梁新丽, 丁海波, 等. 姜黄素过饱和自纳米乳的制备与体外质量评价 [J]. *中国中药杂志*, 2020, doi:10.19540/j.cnki.cjcm.20200523.305.
- [19] VEKILOV P G. Nucleation [J]. *Cryst Growth Des*, 2010, 10(12): 5007-5019.
- [20] ILEVBARE G A, LIU H, EDGAR K J, et al. Maintaining supersaturation in aqueous drug solutions: impact of different polymers on induction times [J]. *Cryst Growth Des*, 2013, 13(2): 740-751.
- [21] RATJI S, CHAVAN R B, SHASTRI N R. Classification of the crystallization tendency of active pharmaceutical ingredients (APIs) and nutraceuticals based on their nucleation and crystal growth behaviour in solution state [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, 10(1): 70-82.
- [22] THOMAS N, HOLM R, MÜLLERTZ A, et al. *In vitro* and *in vivo* performance of novel supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS) [J]. *J Control Release*, 2012, 160(1) : 25-32.

[责任编辑 刘德文]