

芦丁自微乳处方的优化

赵惠茹¹, 史 洋¹, 陈 红^{1,2}, 靖 会¹, 杨 阳¹, 边军昌¹
(1. 西安医学院药学院, 陕西 西安 710021; 2. 沈阳药科大学无涯学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 优化芦丁自微乳处方。方法 伪三元相图筛选乳化剂 (RH40) 与助乳化剂 (1, 2-丙二醇) 比例后, 以载药量、Zeta 电位、粒径的综合评分为评价指标, 均匀设计优化处方。结果 最优处方为油相 (油酸乙酯) 用量 20%, 乳化剂与助乳化剂比例 (K_m) 3 : 1, 载药量 28.38 mg/g, Zeta 电位 -8.86 mV, 粒径 35.56 nm, 综合评分 87.61。结论 该方法重复性好, 合理可行, 可用于制备芦丁自微乳。
关键词: 芦丁; 自微乳; 处方; 均匀设计
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)01-0023-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.005

Formulation optimization for rutin self-microemulsions

ZHAO Hui-ru¹, SHI Yang¹, CHEN Hong^{1,2}, JING Hui¹, YANG Yang¹, BIAN Jun-chang¹
(1. College of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China; 2. Wuya College of Innovation, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

KEY WORDS: rutin; self-microemulsions; formulation; homogeneous design

芦丁具有降低毛细血管通透性和脆性的作用, 能保持及恢复毛细血管正常弹性, 可用于防治高血压脑溢血、糖尿病视网膜出血、出血性紫癜等疾病, 是一种自然界广泛存在的黄酮类化合物^[1-2], 但它在水中的溶解度仅为 125 mg/L, 导致生物利用度不高^[3-5]。因此, 开发芦丁新剂型和适宜给药途径是增加该成分溶解和吸收的有效方法。

自微乳是在没有水相存在时, 由药物、油相、乳化剂、助乳化剂组成的热力学稳定体系, 口服后在水相胃液中自发形成粒径小于 100 nm 的 O/W 型乳剂^[6-7], 这种新型给药系统不仅可提高难溶性药物溶解度, 还能使其快速分布于胃肠道, 减少对胃肠道的刺激。因此, 本实验将芦丁制成自微乳后以载药量、Zeta 电位、粒径为指标, 采用均匀设计法优化处方, 为相关新剂型的研究提供参考。

1 仪器

1.1 仪器 78-1 型磁力加热搅拌器 (上海浦东物

理光学仪器厂); DZF-6020 型真空干燥箱 (上海琅轩实验设备有限公司); KQ5200E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); FA1004B 型电子精密天平 (上海越平科学仪器有限公司); DZKW-D-2 型智能数显恒温水箱 (北京市永光明医疗仪器厂); ZEN3600 型激光粒度仪 (英国 Malvern 公司); Agilent 1260 型高效液相色谱仪 (配置 G1311X 四元输液泵、G1314B 可变波长紫外检测器); KQ-C 型玻璃仪器气流烘干器 (巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 材料 芦丁对照品 (含有量 $\geq 99\%$, 批号 20140331, 中国食品药品检定研究院); 芦丁原料药 (含有量 98%, 批号 150213, 西安应化生物技术有限公司); 聚氧乙烯化蓖麻油 (RH40, 批号 57184468E0, 德国巴斯夫公司); 油酸乙酯 (批号 F20151206, 东莞市乔科化学有限公司); 1, 2-丙二醇 (批号 20160314, 天津市河东区红岩试剂厂)。甲醇为分析纯 (天津市河东区红岩试剂厂); 其他试剂为分析纯; 水为超纯水。

收稿日期: 2017-11-15
基金项目: 陕西省科技厅自然科学基金 (2015JM8449); 陕西省教育厅科研计划项目 (15JK1638); 西安医学院配套基金项目 (2016PT13, 2016PT15); 西安医学院药学院省级重点学科建设项目 (2016YXXK04)
作者简介: 赵惠茹 (1972—), 女, 硕士, 教授, 从事天然药物研究与开发。E-mail: 1119015403@qq.com

2 方法与结果

2.1 油相、乳化剂、助乳化剂选择^[8-9] 前期预实验测定了芦丁在 4 种油相、4 种乳化剂、5 种助乳化剂中的溶解度,选择增溶作用较强的几种溶剂互相配伍,考察该系统乳化能力。最终确定,油酸乙酯、RH40、1,2-丙二醇分别作为油相、乳化剂、助乳化剂。

2.2 乳化剂与助乳化剂比例 (K_m) 初步筛选 参照预实验结果,将 RH40 与 1,2-丙二醇分别按 1:2、1:1、2:1、3:1、4:1 比例混合后,再与油酸乙酯分别按 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 比例混合,在磁力搅拌器搅拌下加水滴定,观察溶液由浑浊变澄清时的相

变点,记录此时加水量,计算每种组分的质量分数。然后,通过 Origin 8.5 软件将临界点时油酸乙酯、RH40、1,2-丙二醇、水各自质量分数绘制成伪三元相图,其 3 个顶点分别为混合乳化剂、油相、水相,将能形成澄清或带有蓝色乳光的实验点定为伪三元相图中可形成自微乳的处方点,连接这些点与水相顶点形成的封闭区域,即为自微乳区,以该区域面积为指标确定 K_m ,结果见图 1。由图可知,随着 K_m 增大,自微乳区面积呈先逐渐增大后略有减小的趋势,当 K_m 为 3:1 和 4:1 时两者面积变化不大,考虑到制备自微乳时处方中各组分不同配比可能会产生交互作用,故进一步采用均匀设计优化处方。

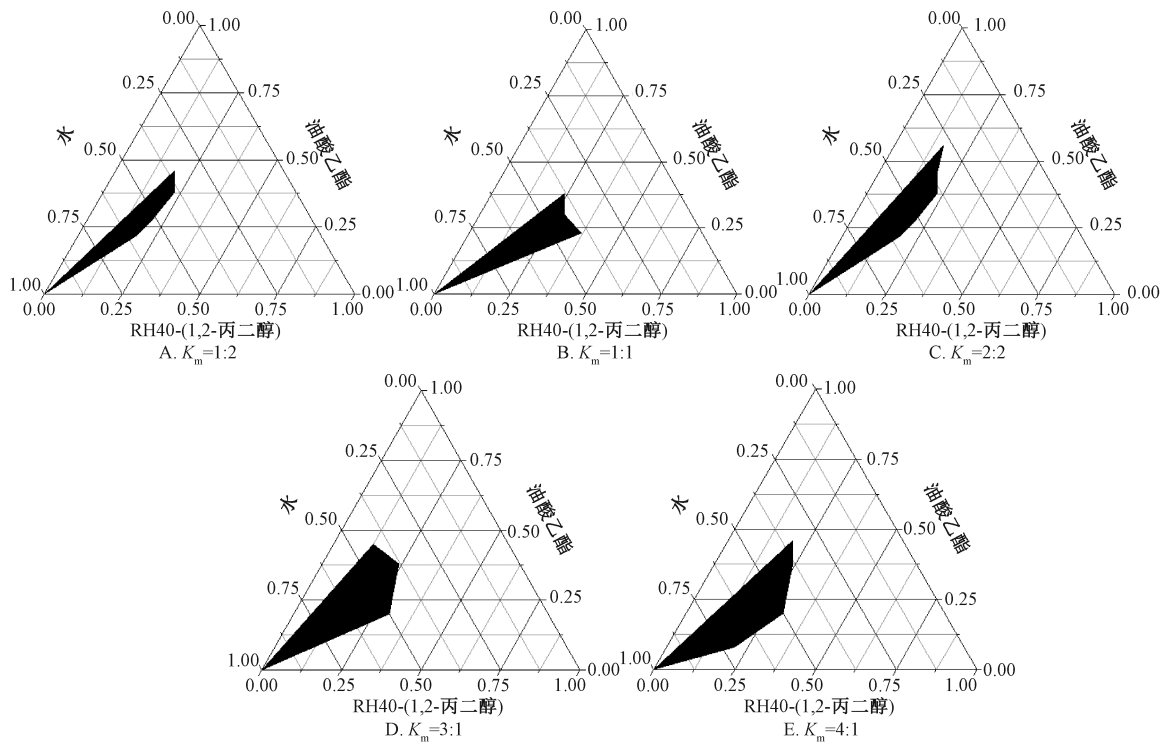


图 1 空白微乳伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagrams for blank microemulsions

2.3 均匀设计优化 选择对自微乳制备工艺有显著影响的油相用量 (X_1)、 K_m (X_2) 作为影响因素,设定前者 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%,后者 1:1、1.5:1、2:1、2.5:1、3:1、3.5:1、4:1 各 7 个水平,选择 U_7 (7^3) 均匀设计表安排试验,再以粒径 (Y_1)、Zeta 电位 (Y_2)、载药量 (Y_3) 为评价指标。预实验发现,自微乳载药量越高,粒径越小,Zeta 电位绝对值越大,处方优化效果越好,故采用多指标综合评分法进行考察,结合本实验特点和工艺要求,以载药量

40%、粒径和 Zeta 电位各 30% 进行加权评分,即载药量满分 40 分,其余各组结果折算后求得相应分数;粒径满分 30 分,其余各组结果取倒数进行折算;Zeta 电位满分 30 分,其余各组结果取绝对值进行折算,将折算后的指标值相加,即为综合评分 (Y)。结果见表 1。

然后,通过 DPS7.05 软件对各因素进行二次多项式逐步非线性拟合,得到回归方程为 $Y = 51.231 + 4.285X_2 - 3.027X_2^2 + 1.016X_1X_2$, $r = 0.985\ 2$, $F = 26.132$, $R_{adj}^2 = 0.896\ 4$, $P = 0.008 < 0.05$,

表 1 试验设计及结果
Tab. 1 Design and results of tests

试验号	X ₁ 油相/%	X ₂ K _m	Y ₁ 粒径/nm	Y ₂ 载药量/(mg·g ⁻¹)	Y ₃ Zeta 电位/mV	Y 综合评分
1	10	3 : 1	30.39	35.58	-7.93	92.22
2	15	1.5 : 1	28.08	18.28	-8.97	78.27
3	20	4 : 1	40.06	23.06	-6.04	65.62
4	25	2.5 : 1	47.07	29.12	-9.71	80.64
5	30	1 : 1	75.12	16.53	-7.48	52.91
6	35	3.5 : 1	56.88	27.18	-8.13	70.49
7	40	2 : 1	98.86	19.26	-5.64	44.60

表明回归方程拟合度较好，在 $\alpha=0.05$ 水平上具有意义，回归分析见表 2。由表可知，各因素对综合评分的影响程度依次为 $X_2>X_2^2>X_1X_2>X_1>X_1^2$ ， K_m 、 K_m 二次项、交互项有显著影响 ($P<0.05$)。应用 DPS7.05 软件优化回归方程，得到最优条件为 $X_1=19.3\%$ ， $X_2=2.9:1$ ，综合评分预测值 93.47，结合实际操作将其修正为油相用量 20%， K_m 3 : 1。

表 2 回归分析
Tab. 2 Analysis of regression

相关因素	偏相关系数	t 值	P 值
$r(Y, X_1)$	-0.984 5	8.346	0.119 2
$r(Y, X_2)$	0.997 3	23.548	0.003 1
$r(Y, X_1^2)$	0.978 0	6.951	0.208 7
$r(Y, X_2^2)$	-0.993 6	19.592	0.004 7
$r(Y, X_1X_2)$	0.991 5	11.135	0.021 6

2.4 验证试验 在“2.3”项最优条件下，精密称取 1，2-丙二醇 2.008 g、RH40 5.997 g，混合后搅拌，加入油酸乙酯 2.012 g、芦丁 0.3 g，37 ℃ 水浴 3 h 至完全溶解后缓慢加入 100 mL37 ℃ 蒸馏水中，100 r/min 下自乳化 1 min，即得淡黄色澄清透明的自微乳，测定其粒径、载药量、Zeta 电位，平行 3 份，取平均值，结果见图 2~3、表 3。由此可知，该工艺相对稳定，合理可行。

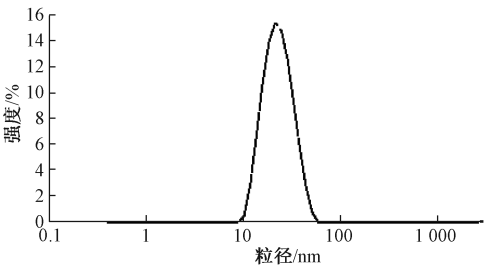


图 2 自微乳粒径分布

Fig. 2 Particle size distribution of self-microemulsions

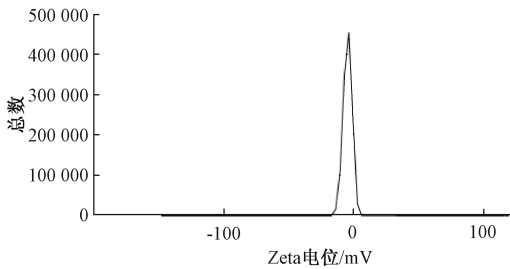


图 3 自微乳 Zeta 电位

Fig. 3 Zeta potential of self-microemulsions

表 3 验证试验结果 (n=3)

Tab. 3 Results of verification tests (n=3)

指标	实测值	综合评分	预测值	相对偏差/%
载药量/(mg·g ⁻¹)	28.38			
粒径/nm	35.56	87.61	93.47	-6.27
Zeta 电位/mV	-8.86			

3 讨论

前期测定了芦丁在不同油相、乳化剂、助乳化剂中的溶解度，选择增溶作用较强的几种溶剂互相配伍以考察该系统乳化能力，并选择油酸、聚氧乙烯氢化蓖麻油 (RH40)、无水乙醇分别作为油相、乳化剂、助乳化剂进行处方筛选^[8]，发现虽然无水乙醇可降低油水界面张力，减少 RH40 用量，提高微乳载药量和自乳化效率，但所得自微乳稳定性较差，在放置 6 个月后出现分层现象，可能与其易挥发性有关。因此，结合预实验结果选择油酸乙酯、RH40、1，2-丙二醇分别作为油相、乳化剂、助乳化剂，得到最优处方为油酸乙酯用量 20%，RH-40 与 1，2-丙二醇比例 (K_m) 3 : 1，验证试验表明该工艺稳定可行。

对于自微乳处方的筛选，一般采用伪三元相图、正交设计、星点设计-效应面法等^[10-12]，各有其优缺点，其中伪三元相图简单易用，但精度不够。本实验在应用该方法时发现，随着 K_m 增大，形成微乳所需的水量逐渐增多，自微乳区域面积逐

渐增加，这是由于 RH40 比例增加时可加强自微乳的乳化作用，但黏度较大的凝胶区搅拌困难，从而延长自乳化时间，故选择粒径、载药量、Zeta 电位作为评价指标，进一步采用均匀设计优化处方。正交设计采用线性数学模型进行拟合，试验次数虽少，但预测性较差；星点设计-效应面法中虽然各因素对效应影响的拟合结果大多是非线性的，但试验次数较多，而且所选择因素不能是非连续变量；均匀设计^[13-15]中实验点在试验范围内均匀分散，有很好的代表性，故可减少试验次数，并能选择非连续变量，适合多因素多水平的处方优化，更具科学性和预测性。

参考文献：

[1] 潘敬芳,刘云涛,简磊. 芦丁对糖尿病小鼠降血糖作用研究[J]. 解放军药学报, 2016, 32(3): 243-245, 268.

[2] 赵一灿,张丽华,赵文,等. 芦丁对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2017, 52(5): 562-566.

[3] 艾凤伟,李诗莹,成效天,等. 芦丁制剂的研究新进展[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1347-1350.

[4] 余泉毅,崔名全,鲍锐,等. 基于流化床技术制备芦丁缓释微丸及质量控制的研究[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2015, 17(1): 267-271.

[5] 罗小燕,吕竹芬,陈燕忠,等. 薄膜-超声法制备芦丁固体脂

质纳米粒的研究[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(3): 267-270.

[6] 李蔚,王春洪. 自微乳及其在中药制剂中的应用[J]. 中国药业, 2012, 21(6): 94-96.

[7] 董文雪,何军,杨亚妮. 自微乳释药系统研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(12): 948-954.

[8] 赵惠茹,张鹏,刘少静,等. 伪三元相图法研究芦丁自微乳化释药系统的制备工艺[J]. 中国药师, 2016, 19(7): 1255-1259.

[9] 赵惠茹,李娜,张鹏,等. 不同配方 O/W 型芸香苷纳米乳的制备及增溶作用[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(14): 1163-1167.

[10] 叶蕾,胡容峰,王晓华,等. 星点设计-效应面法优化葛根素自微乳工艺[J]. 中成药, 2014, 36(3): 514-519.

[11] 张南生,胡卢丰,郭虹,等. 伪三元相图研究人参皂苷 Rg3 自微乳释药系统的处方组成[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(4): 954-957.

[12] 陈笑,富志军. 星点设计-效应面法优化莲心总碱自微乳处方[J]. 中成药, 2016, 38(7): 1490-1495.

[13] 吴玉梅,陈晓兰,魏文珍,等. 均匀设计法优选木芙蓉凝胶膏剂处方及其质量标准研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(5): 77-80.

[14] 朱亚楠,李萍,王满,等. 多指标均匀设计法优选痤疮消凝胶提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(19): 6-9.

[15] 侯小涛,刘鹏,邓家刚,等. 均匀设计优选甘蔗叶多糖颗粒制备工艺[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2636-2639.