

· 论著 ·

西罗莫司自乳化给药系统及其固体化研究

刘志宏, 胡雄伟, 陶 春, 张 晶, 宋洪涛 (南京军区福州总医院药学科, 福建 福州 350025)

[摘要] 目的 筛选西罗莫司自微乳给药系统处方,并制备微丸。方法 通过溶解度试验确定助乳化剂、油相和乳化剂的选择范围;采用三元相图法、星点设计和效应面法对该体系优化制备工艺及处方。采用挤出-滚圆法制备不同处方的西罗莫司自微乳微丸。结果 西罗莫司自微乳微丸的最终处方为:西罗莫司 0.4%、油酸聚乙二醇甘油酯 9.3%、聚氧乙烯-35-蓖麻油 15.9%、二乙二醇单乙基醚 8.0%、微晶纤维素 49.8%、乳糖 13.3%、羧甲基淀粉钠 3.3%。溶出度试验显示,西罗莫司固体自微乳微丸在水中的溶出度远大于市售西罗莫司片,在 0.4% SDS 溶液中,两制剂的溶出度相当。结论 自微乳给药系统可用于提高西罗莫司的体外溶出度。

[关键词] 西罗莫司;自微乳给药系统;固体化;星点设计;微丸

[中图分类号] R944.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)02-0142-07

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.012

Studies on sirolimus self-microemulsifying drug delivery system and its solidification

LIU Zhihong, HU Xiongwei, TAO Chun, ZHANG Jing, SONG Hongtao (Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command PLA, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To screen the formulation of self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) for sirolimus (SRL) and prepare the SRL-SMEDDS pellets. **Methods** Co-emulsifier, oil phase and emulsifier were chosen by solubility test and ternary phase diagrams, central composite design and response surface method were adopted to screen and optimize the preparation and formulation of liquid SRL-SMEDDS. The selected liquid SRL-SMEDDS formulations were prepared into pellets by extrusion-spheronization method. **Results** The final pellets from liquid SRL-SMEDDS formulation: SRL 0.4%, Labrafil M1944CS 9.3%, Cremophor EL 15.9%, Transcutol P 8.0%, MCC 49.8%, lactose 13.3%, CMS-Na 3.3%. Dissolution test showed superphosphate (SSP) in the dissolution water is much greater than the commercially available sirolimus tablets; while in 0.4% SDS solution, the two formulations showed similar dissolution. **Conclusion** SMEDDS can improve the dissolution of SRL *in vitro*.

[Key words] sirolimus; self-microemulsifying drug delivery system; solidification; central composite design; pellets

西罗莫司 (sirolimus, SRL) 又称雷帕霉素 (rapamycin), 是新型强效免疫抑制剂, 正成为肝、肾和角膜移植患者长期免疫抑制治疗的基本药物^[1-3]。但 SRL 极微溶于水, 属于生物药剂学分类系统 (biopharmaceutics classification system, BCS) 的 II 类药物, 口服生物利用度较低。近年来, 自微乳给药系统 (self micro-emulsifying drug delivery system, SMEDDS) 作为一种提高难溶性药物溶解度的新型传递体系, 已引起制药界的广泛关注, 并已有环孢素 A (Sandimmun Neoral)、利托纳韦 (Norvir) 和

沙奎那韦 (Fortovase) 等数个成功的制剂产品上市^[4-6]。本研究采用三元相图法、星点设计和效应面法优选了 SRL-SMEDDS 处方, 并将其固化, 制备 SRL-SMEDDS 微丸, 提高了 SRL 的溶解度。

1 仪器与材料

1.1 仪器 AL204 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; Agilent1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Nicomp380 型纳米激光粒度及电位仪 (Particle Sizing Systems, Inc); SH2-88A 型往复式水浴恒温振荡器 (太仓市实验设备厂); TGL-16C 型离心机 (上海安亭科学仪器厂); DK-S24 型电热恒温水浴器 (上海精密试验设备有限公司); HJ-8 型集热式磁力搅拌器 (常州国华电器有限公司); SK-1 型快速混匀器 (常州国华电器有限公司)。

1.2 材料 SRL 对照品 (福建科瑞药业有限公司),

[基金项目] 福建省科技计划重点项目 (2013Y0074); 福建省自然科学基金 (2010J01218)

[作者简介] 刘志宏, 硕士, 药师, 研究方向: 药物新剂型与制剂新技术. Tel: (0591) 22859169; E-mail: liu-zhihong@hotmail.com

[通讯作者] 宋洪涛, 博士, 主任药师, 博士生导师, 研究方向: 药物新剂型与制剂新技术. Tel: (0591) 22859459

批号:060425,含量99.9%);SRL原料药(福建科瑞药业有限公司,批号:060702,含量99.5%);SRL片[美国惠氏药厂(中国)有限公司];油酸聚乙二醇甘油酯(Labrafil M1944CS,法国GATTEFOSSE公司);聚氧乙烯-35-蓖麻油(Cremophor EL,德国BASF公司);二乙二醇单乙基醚(Transcutol P,法国GATTEFOSSE公司);微晶纤维素(Avicel PH-101,美国FMC公司);乳糖(美国Foremost公司);羧甲基纤维素钠(浙江菱湖食品化工公司);乙腈、甲醇(美国Sigma-Aldrich公司);叔丁基甲醚(上海阿拉丁试剂公司);所用试剂均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 SRL含量测定方法^[7] 采用HPLC法建立SRL体外含量测定法,色谱条件:Agilent 1200高效液相色谱系统(UV检测器,美国Agilent公司),色谱柱:Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm,美国Agilent公司),流动相:乙腈-甲醇-水(45:34:21),流速:1 ml/min,检测波长:278 nm;柱温:50℃;进样量:20 μl。结果见图1,理论塔板数为1998,分离度为2.11。该方法具专属性、灵敏、简便,可满足SRL制剂质量控制的需要。

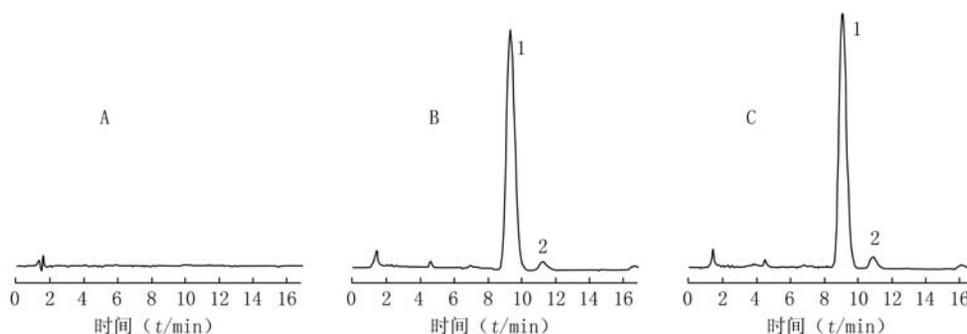


图1 SRL的HPLC图

A.空白溶剂;B.对照品溶液;C.供试品溶液;1.SRL;2.SRL异构体

2.2 SRL溶解度的测定 将足量SRL加入含有1 ml溶媒的具塞试管中,密封后置25℃水浴中震荡72 h,然后将混合物以12 000 r/min离心10 min,取上清液用无水乙醇稀释到合适的浓度后,用0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,按“2.1”项下方法测定,计算溶解度。结果见表1。

表1 SRL在油性溶媒中的溶解度

类别	溶媒	溶解度(mg/ml)
油相	亚油酸单甘油酯	5.415
	油酸聚乙二醇甘油酯	4.405
	油酸乙酯	3.419
	辛酸葵酸三甘油酯	1.790
	油酸	1.186
乳化剂	辛酸葵酸聚乙二醇甘油酯	22.220
	吐温-80	5.577
	聚乙二醇15羟硬脂酸酯	4.601
	聚氧乙烯-35-蓖麻油	4.067
	聚乙二醇40氢化蓖麻油	1.487
助乳化剂	二乙二醇单乙基醚	88.530
	丙二醇	9.751
	聚乙二醇400	2.754
	甘油	0.536

根据溶解度测定结果,选择亚油酸单甘油酯、油酸聚乙二醇甘油酯和油酸乙酯作为备选油相;辛酸

葵酸聚乙二醇甘油酯、吐温-80、聚乙二醇15羟硬脂酸酯和聚氧乙烯-35-蓖麻油作为备选乳化剂;由于SRL在二乙二醇单乙基醚中的溶解度明显高于其他助乳化剂,因此,选择其作为助乳化剂。

2.3 自微乳的分级 分别按油相:乳化剂:助乳化剂(2:6:2,2:5:3,2:4:4,W/W/W)精密称取各组分,使空白处方总量为1 g,涡旋混匀,室温静置24 h后观察,将能形成均一、透明溶液的处方继续进行以下试验。取0.5 ml处方液,加入到50 ml蒸馏水中,37℃恒温50 r/min磁力搅拌至乳化完全,观察形成的乳液外观,并分级。

结果显示,亚油酸单甘油酯与各种乳化剂配伍的乳化效果均较差,辛酸葵酸聚乙二醇甘油酯对各种油相的乳化能力均较弱,而油酸聚乙二醇甘油酯和油酸乙酯作为油相时,与除辛酸葵酸聚乙二醇甘油酯之外的其他3种乳化剂配伍效果均较好,相比之下,油酸聚乙二醇甘油酯除了对SRL的溶解能力更强外,它还是一种生物利用度促进剂,因此,选择其作为油相。

2.4 三元相图的研究 分别以油相(油酸聚乙二醇甘油酯)、乳化剂(吐温-80、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯-35-蓖麻油)和助乳化剂(二乙二醇单乙基醚)作为三角形图的3个顶点,按照相图内各点比例

配制空白 SMEDDS 处方,涡旋使其充分混匀成为均一透明的溶液,按“2.3”项下乳化完全,外观为透明或略带淡蓝色乳光的澄清溶液,即视为微乳。将能形成微乳的点连接起来,其所覆盖的区域即为微乳区。

由图 2 可见,聚氧乙烯-35-蓖麻油作为乳化剂时的微乳区面积最大,因此,选其作为最终处方的乳

化剂。

在图 2A 中,微乳区各边界点处方中加入相当于空白处方量 0.5% 的 SRL,并与空白处方作对比,结果发现,SRL 加入后的自微乳化效果与空白处方无明显差异,即处方量药物的加入基本不改变该体系的微乳区面积。

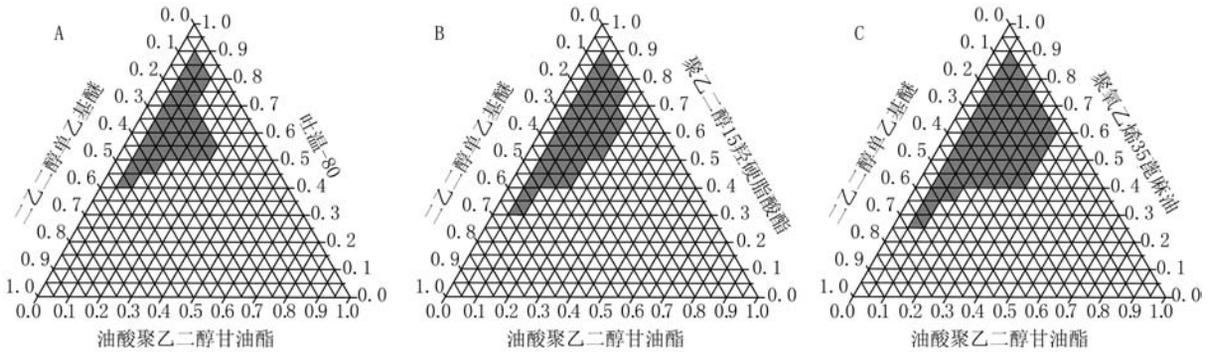


图 2 不同乳化剂的三元相图

A.油相:油酸聚乙二醇甘油酯、乳化剂:吐温-80、助乳化剂:二乙二醇单乙基醚;B.油相:油酸聚乙二醇甘油酯、乳化剂:聚乙二醇 15 羟硬脂酸酯、助乳化剂:二乙二醇单乙基醚;C.油相:油酸聚乙二醇甘油酯、乳化剂:聚氧乙烯 35 蓖麻油、助乳化剂:二乙二醇单乙基醚

2.5 SRL 自微乳处方优化 以油相质量浓度 (X_1) 和 K_m 值 (X_2) 作为自变量,以平均粒径 (Y_1)、粒径分布 (Y_2) 和平均自微乳化时间 (Y_3) 为因变量,采用两因素、五水平的星点设计,其代码及水平设计见表 2,因素的极大值和极小值参考三元相图确定。按照星点设计安排 13 次试验,每个样品做 3 份,结果见表 3。

表 2 各因素水平代码及试验操作值

因素	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1	20.00	22.93	30.00	37.07	40.00
X_2	1.00	1.59	3.00	4.41	5.00

表 3 试验设计及各指标测定结果 ($n=3$)

No.	X_1	X_2	Y_1	Y_2	Y_3
1	37.07	4.41	21.6	0.100	15.33
2	37.07	1.59	25.0	0.134	1.03
3	22.93	4.41	17.4	0.052	3.50
4	22.93	1.59	19.2	0.082	0.40
5	40.00	3.00	32.0	0.193	5.25
6	20.00	3.00	16.8	0.048	0.83
7	30.00	5.00	18.9	0.068	10.50
8	30.00	1.00	31.1	0.279	0.27
9	30.00	3.00	21.1	0.057	3.75
10	30.00	3.00	20.0	0.066	3.50
11	30.00	3.00	19.5	0.064	3.72
12	30.00	3.00	19.6	0.059	3.87
13	30.00	3.00	20.9	0.061	4.10

对试验结果进行多元线性和非线性拟合,模型如下:

多元线性方程: $Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2$

二次多项式: $Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_1^2 + b_4 X_2^2 + b_5 X_1 X_2$

三次多项式: $Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_1^2 + b_4 X_2^2 + b_5 X_1 X_2 + b_6 X_1^2 X_2 + b_7 X_1 X_2^2$

用 Curve Expert 2.0 软件进行拟合,以方程的回归系数 r 最大且 F 检验合格为原则,结果三次多项式拟合最好,得回归方程如下:

$$Y_1 = -30.263 2 + 5.361 7 X_1 - 4.596 5 X_2 - 0.105 4 X_1^2 + 6.844 3 X_2^2 - 1.368 0 X_1 X_2 + 0.042 6 X_1^2 X_2 - 0.204 4 X_1 X_2^2 (r = 0.939 1, P < 0.05)$$

$$Y_2 = -1.262 1 + 0.120 8 X_1 + 0.232 1 X_2 - 0.002 2 X_1^2 + 0.077 3 X_2^2 - 0.038 6 X_1 X_2 + 0.000 8 X_1^2 X_2 - 0.001 9 X_1 X_2^2 (r = 0.944 1, P < 0.05)$$

$$Y_3 = -41.877 6 + 2.464 0 X_1 + 20.477 8 X_2 - 0.034 9 X_1^2 - 2.807 8 X_2^2 - 1.015 2 X_1 X_2 + 0.010 6 X_1^2 X_2 + 0.110 5 X_1 X_2^2 (r = 0.996 2, P < 0.005)$$

采用 Origin Pro 8 软件绘制以上拟合方程的效应面和等高线,结果见图 3。由图 3 可见,在试验范围内,所形成的微乳粒径均在 50 nm 以下,属于粒径较小的微乳,都能满足应用需要。当油相的质量

分数在 20%~28% 时,随着 K_m 值的增大,粒径先减小后增大,而当油相的质量分数 > 33% 时,随着 K_m 值的增大,粒径逐渐减小;当油相的质量分数在 20%~32% 时, K_m 值的增大,粒径分布先减小后增大,而当油相的质量分数 > 36% 时,粒径分布均 >

0.1;当油相的质量分数在 20%~25% 时,随着 K_m 值的增大,自微乳化时间先减少后增加;而当油相的质量分数 > 28% 时,随着 K_m 值的增大,自微乳化时间逐渐增加。

根据文献报道,体内吸收良好的 SMEDDS 应

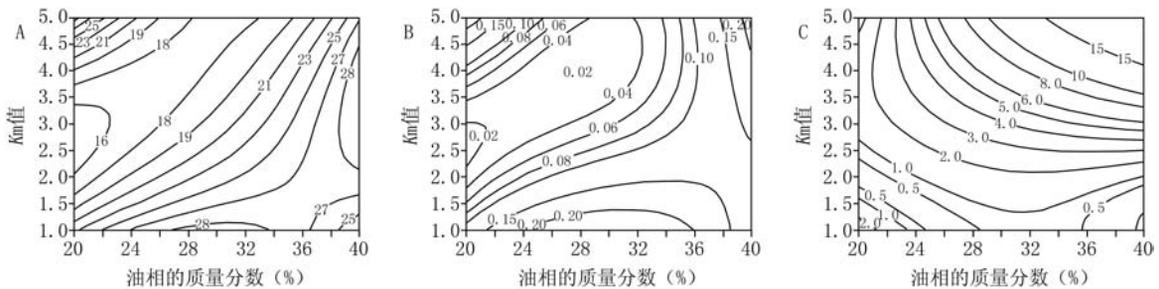


图3 平均粒径(A)、粒径分布(B)及自微乳化时间(C)的等高线图

该能在较短的时间内形成粒径小、粒径分布窄的微乳^[7]。因此,本研究规定优选处方应满足粒径 < 50 nm,粒径分布 < 0.1,自微乳化时间为 3 min 左右或更短的条件,结合上述结果,得出预测的各因素的最佳范围,见图 4。

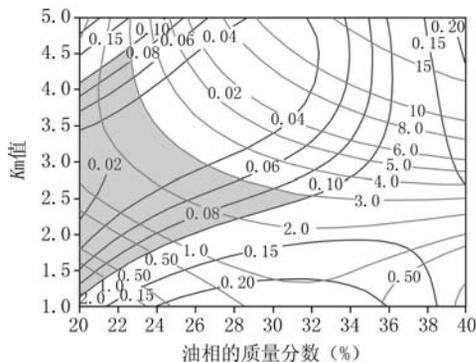


图4 粒径分布及自微乳化时间的最佳范围等高线

根据图 4 中的最佳范围,以自微乳化时间短 (K_m 值小)为原则,拟定 3 个油相不同含量的基本处方,具体如下:处方 A: $X_1=32, X_2=2.5$;处方 B: $X_1=28, X_2=2.0$;处方 C: $X_1=22, X_2=1.5$;按照以上处方配制 SMEDDS,并测定、比较各参数的实测值与预测值,对模型的准确性进行验证,结果见表 4。

2.6 SRL 固体自微乳微丸的研究

2.6.1 SRL 固体自微乳微丸的制备 按处方量称取各辅料,先将 SRL 加入二乙二醇单乙基醚中溶解,然后加入聚氧乙烯-35-蓖麻油和油酸聚乙二醇甘油酯,搅拌混合至澄清透明,即得 SRL-SMEDDS。按处方量分别称取经粉碎并过 80 目筛的微晶纤维素、乳糖和羧甲基淀粉钠,置 YM-500 型

药物搅拌机中,开机混合 30 min,取下混合桶,边加入 SRL-SMEDDS,边用玻璃棒快速搅匀,将混合桶装回搅拌机继续搅拌 10 min,即得外观略有潮湿的粉末混合物。加入适量蒸馏水(约处方总量的 0.3%~0.5%)制软材,采用挤出-滚圆法制备微丸。设定挤出筛板规格 0.8 mm,挤出速率 22 Hz,滚圆速率 20 Hz,滚圆时间 5 min,微丸于 40 °C 恒温干燥 2 h 后填充胶囊。

2.6.2 SRL 固体自微乳微丸溶出度测定方法 取 SRL-SMEDDS 微丸适量填充胶囊,使每粒约含 SRL 1.0 mg,然后分别将每粒胶囊装入沉降篮中,采用《中华人民共和国药典》(2010 年版)附录 XC 溶出度测定法第三法(小杯法)装置,以 0.4% SDS 溶液^[7](或其他缓冲液)250 ml 为溶出介质,转速为 100 r/min 进行试验,在 5、10、20、30、45、60 min 分别取溶液 5 ml,并即时在操作容器中补充空白介质溶液 5 ml,样品溶液置离心管中 3 000 r/min 离心 2 min,取上清液 20 μ l 按“2.1”项下方法测定,计算 SRL-SMEDDS 微丸在不同时间的累积释放量。

2.6.3 SRL 固体自微乳微丸处方优化 载体种

表4 预测值与实测值比较

指标	处方	预测值	实测值	误差(%)
平均粒径	A	23.400	24.500	-4.70
	B	21.700	20.900	3.69
	C	20.500	19.700	3.90
粒径分布	A	0.102	0.099	2.94
	B	0.101	0.105	-3.96
	C	0.093	0.089	4.30
自微乳化时间	A	2.820	2.940	-4.26
	B	1.880	1.910	-1.60
	C	1.140	1.110	2.63

类、用量及配比,崩解剂种类、用量等都会影响微丸的溶出度。因此,按照表5中的11个处方制备不同

微丸,以溶出度为指标对SRL固体自微乳微丸的处方进行优化。结果见图5。

表5 SRL-SMEDDS微丸处方

组分	处方及用量(mg/粒胶囊)										
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
西罗莫司	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
油酸聚乙二醇甘油酯	22.4	22.4	22.4	22.4	22.4	22.4	22.4	22.4	22.4	25.6	17.6
聚氧乙烯-35-蓖麻油	38.4	38.4	38.4	38.4	38.4	38.4	38.4	38.4	38.4	38.86	37.44
二乙二醇单乙醚	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	19.2	15.54	24.96
微晶纤维素	160	144	128	112	121.6	121.6	121.6	125.44	117.76	121.6	121.6
乳糖	—	16	32	48	30.4	30.4	30.4	31.36	29.44	30.4	30.4
低取代羟丙基纤维素	—	—	—	—	8	—	—	—	—	—	—
羧甲基淀粉钠	—	—	—	—	—	8	—	3.2	12.8	8	8
交联聚乙烯吡咯烷酮	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—	—

注:“—”表示未加入该辅料

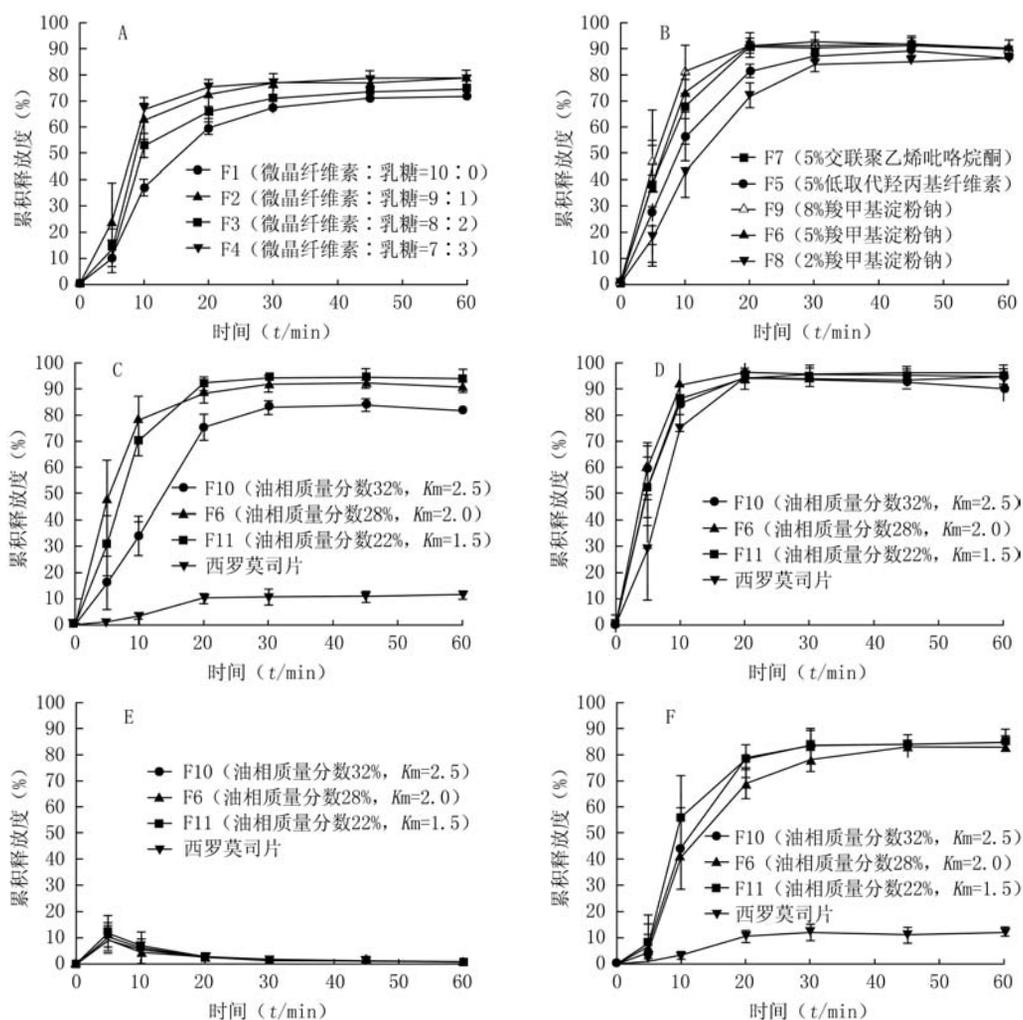


图5 SRL-SMEDDS微丸或片剂在蒸馏水(A、B、C)、0.4% SDS溶液(D)、pH值1.0盐酸水溶液(E)、pH值6.8磷酸盐缓冲液(F)中的溶出曲线

由图5A可以看出,随着乳糖用量的增加,微丸的溶出度增大;当乳糖在载体中的用量超过20%时,随着乳糖用量增加,溶出度变化较小,使软材变

得更黏,导致微丸在滚圆操作时容易通过相互粘连而合并成过大的丸粒。因此,最终确定载体中微晶纤维素与乳糖的比例为8:2。

由图 5B 可以看出,羧甲基淀粉钠和交联聚乙烯吡咯烷酮的崩解效果较好,能较大程度地提高 SRL 的溶出速率,低取代羟丙基纤维素相对较差;与羧甲基淀粉钠相比,交联聚乙烯吡咯烷酮作为崩解剂制备微丸时成形性较差,微丸不易滚实,硬度较小;在溶出过程中,羧甲基淀粉钠作为崩解剂时,随着水分浸入微丸,可以观察到微丸表面迅速产生絮状微小粉团并以放射状飞速弹开,使制剂很快在溶出介质中分散成均匀的混悬液,而交联聚乙烯吡咯烷酮崩解现象相对柔和,微丸骨架随着水分渗入而不断坍塌,最后在搅拌桨的作用下悬浮起来。综合考虑以上结果与溶出现象,最终选择羧甲基淀粉钠作为崩解剂。随着羧甲基淀粉钠用量增加,药物的溶出速率随之增加,而 5% 和 8% 的羧甲基淀粉钠对药物溶出行为的影响较为相似。因此,采用载体用量 5% 的羧甲基淀粉钠作为崩解剂。

由图 5C 可知,各处方 SRL-SMEDDS 微丸在水中的溶出度显著高于 SRL 片(纳米结晶工艺制备),溶出速率:处方 F10>处方 F6>处方 F11,溶出程度:处方 F6>处方 F10>处方 F11;由图 5D 可知,

在 0.4% SDS 溶液中,各处方 SRL-SMEDDS 微丸与市售片剂的溶出度较为相似,符合普通速释制剂的溶出度要求;由图 5E 可知,SRL 各处方与市售片在 pH 值 1.0 的盐酸溶液中溶出度均很低,根据处方前研究结果可知,这是由于 SRL 在该酸性溶液中不稳定所致;由图 5F 可知,各处方 SRL-SMEDDS 微丸在 pH 值 6.8 的 PBS 中溶出度显著高于 SRL 片,溶出速率:处方 F6>处方 F10>处方 F11,溶出程度基本相等。综上所述,兼顾溶出速率和溶出程度,最终选定处方 F6 制备 SRL-SMEDDS 微丸。

2.7 SRL 固体自微乳微丸的表征

2.7.1 扫描电镜图 将部分微丸用刀片做过球心纵切,以获得横截面。取圆柱形铜质标本台,在其表面粘贴一段导电双面胶带,然后将待观察微丸用眼科镊子小心夹起,并黏附于该胶带上(切开的微丸截面向上),黏好的微丸于真空中进行喷雾镀金,然后置扫描电镜下观察,图片拍摄激发电压为 10 kV。结果见图 6,所制备微丸表面较为光滑,内部载体多以扁片状密集存在,微丸圆整度好。

2.7.2 微丸粒径分布及脆碎度 采用筛分法测定

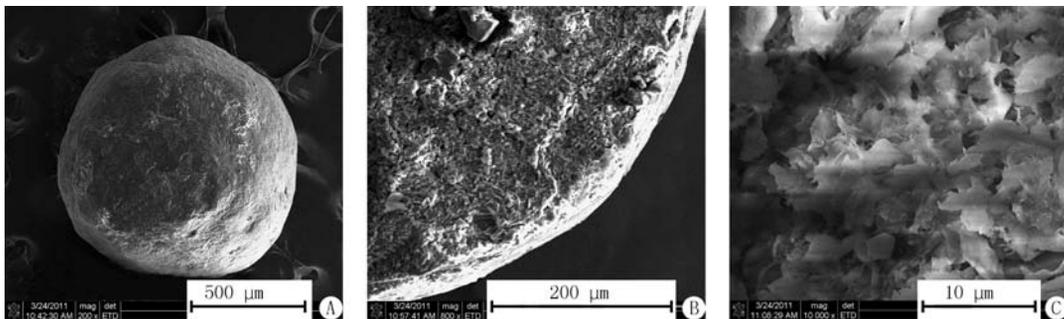


图 6 微丸表面(A)、截面(B、C)扫描电镜图

微丸的粒径分布。结果显示,未见直径>2.0 mm 者,直径 1.2~2.0 mm 的微丸占 9.6%,直径 1.0~1.2 mm 的占 57.4%,直径 0.8~1.0 mm 的占 22.8%,直径<0.8 mm 的占 10.2%,粒径较均匀。脆碎度实验减失重量为 (0.64±0.12)%,符合规定。

3 讨论

本研究将水难溶性药物 SRL 制备成 SMEDDS,显著提高了其溶出度。SMEDDS 作为一种新型药物载体,其剂型优势在于,给药后形成的载药微乳粒积极小,具有巨大的比表面积,从而促进了药物的溶解和溶出;易于通过胃肠壁的水化层,增加药物的穿透性,促进吸收;处方中的脂质参与机体脂肪代谢,促进药物经淋巴吸收,从而可使部分药物避

免首过效应。传统的 SMEDDS 处方多呈液态,常被封装于软胶囊中使用,也有产品封装于硬胶囊中,但对硬胶囊进行封口的生产工艺复杂;另一方面,由于处方成分复杂,醇和其他助溶剂易迁移入胶囊壳中,造成囊壳机械性质的改变,而这些溶剂的减少可降低难溶性药物在处方中的溶解度,导致药物析出。而固体化的 SMEDDS 由于同时具备自微乳制剂和固体制剂的双重优点,又能克服传统液态自微乳制剂的缺点,因此,制备 SRL-SMEDDS 将更具前景。

【参考文献】

- [1] Rial MC, Abbud-Filho M, Goncalves RT, et al. Individualizing early use of sirolimus in renal transplantation [J]. Transplant Proc. 2010, 42(10):4518-4525.

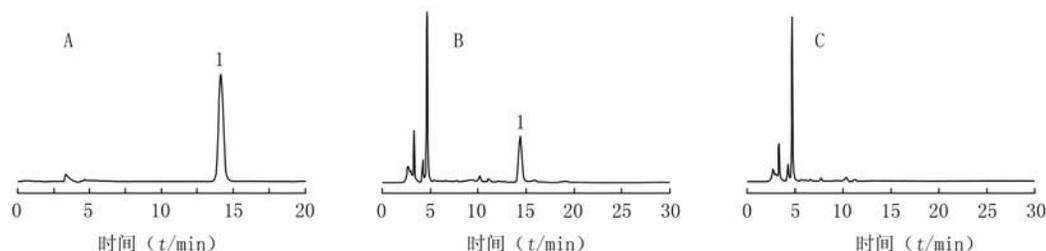


图6 胃纳欣颗粒的HPLC图

A. 柚皮苷对照品; B. 样品溶液; C. 阴性对照液; 1. 柚皮苷

表1 加样回收率试验

No.	取样量 (m/g)	样品中 含柚皮 苷的量 (m/mg)	对照品 加入量 (m/mg)	实测值 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	2.944 7	1.163 5	0.857 6	2.008 1	98.49		
2	3.029 7	1.197 1	0.857 6	2.040 6	98.36		
3	3.017 9	1.192 4	0.857 6	2.039 0	98.72	98.74	1.20
4	2.769 2	1.094 1	0.857 6	1.926 7	97.09		
5	3.019 7	1.193 1	0.857 6	2.042 8	99.08		
6	3.198 0	1.263 5	0.857 6	2.127 4	100.73		

表2 胃纳欣颗粒样品含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=2$)

批号	柚皮苷的含量(mg/g)
20141015	0.356 3
20141016	0.225 6
20141017	0.219 1

重,加入95%乙醇至原有的重量,摇匀,滤过,即得样品溶液。分别吸取对照品溶液与上述溶液各10 μ l,测定峰面积,以外标法计算,即得^[3],结果见表2。本品每1g含枳实以柚皮苷计(C₁₆H₁₈O₉),不得少于0.18mg。

3 讨论

3.1 实验方法的选择 采用TLC鉴别白芷的过程中,曾尝试以《中华人民共和国药典》(2010年版)所列方法^[4],以石油醚(30~60℃)-乙醚(3:2)为展开剂,但分离效果不佳。后取3批样品进行实验,经考察,选定石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(5:5)为展开剂,其结果斑点显示清晰、重现性好、稳定性高,阴性液对照无干扰。

3.2 提取溶剂的选择 测定样品中柚皮苷含量时,用甲醇、95%乙醇为提取溶剂,分别超声提取20、40min,制备样品溶液,进样,结果表明,两者提取率基本无差别。考虑毒性及时间因素,选取95%乙醇超声提取20min作为样品溶液的制备方法。

3.3 HPLC测定条件的确定 参考文献[2-4]条件,通过实验对其加以改进,使柚皮苷达到基线分离,且阴性液对照无干扰。

【参考文献】

- [1] 李雪婷,王沛,崔晓立.紫外分光光度法测定痛风宁微丸中柚皮苷的含量[J].中国卫生工程学,2011,3:38-39.
- [2] 李慧.高效液相色谱法测定橘红痰咳液中柚皮苷的含量[J].药品检验,2012,9(5):110-111.
- [3] 邓秋丽,徐文升,李胜.RP-HPLC法测定祛痰散胶囊中柚皮苷的含量[J].中国医药指南,2010,8(30):13-14.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:542-543.

[收稿日期] 2014-12-17 [修回日期] 2015-08-31

[本文编辑] 李睿旻

(上接第147页)

- [2] Toso C, Merani S, Bigam DL, et al. Sirolimus-based immunosuppression is associated with increased survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2010, 51(4):1237-1243.
- [3] Chatel MA, Larkin DF. Sirolimus and mycophenolate as combination prophylaxis in corneal transplant recipients at high rejection risk [J]. Am J Ophthalmol, 2010, 150(2):179-184.
- [4] Chen Y, Li G, Wu X, et al. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of vinpocetine: formulation development and in vivo assessment [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(1):118-125.

- [5] Patel AR, Vavia PR. Preparation and in vivo evaluation of SMEDDS (self-microemulsifying drug delivery system) containing fenofibrate [J]. AAPS J, 2007, 9(3):344-352.
- [6] Woo JS, Song YK, Hong JY, et al. Reduced food-effect and enhanced bioavailability of a self-microemulsifying formulation of itraconazole in healthy volunteers [J]. Eur J Pharm Sci, 2008, 33(2):159-165.
- [7] 温许,黄爱文,张敏新,等.西罗莫司固体自微乳口服缓释微丸的制备与体外释药考察[J].中国医院药学杂志,2014,34(23):1998-2003

[收稿日期] 2016-01-01 [修回日期] 2016-01-31

[本文编辑] 李睿旻