

· 综述 ·

脂解模型在脂质给药系统体外评价中的应用研究进展

曾棋平^{1,2}, 张晶¹, 刘志宏¹, 宋洪涛¹ (1. 南京军区福州总医院药学科, 福建福州 350025; 2. 福建医科大学药学院, 福建福州 350108)

[摘要] 目的 综述脂解模型的组成及其在脂质制剂体外评价的应用, 为推动脂质制剂的发展提供参考。方法 通过查阅近年来国内外相关文献, 归纳、分析和总结。结果 体外脂解模型能准确反映脂质制剂在人体内的性质, 建立良好的体内外相关性。结论 脂解模型用于筛选和评价脂质制剂具有良好的应用前景。

[关键词] 脂解模型; 脂质制剂; 体内外相关性; 筛选

[中图分类号] R944.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2014)02-0085-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.02.002

In vitro evaluation of lipid drug delivery system by lipolysis model

ZENG Qiping^{1,2}, ZHANG Jing¹, LIU Zhihong¹, SONG Hongtao¹ (1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China; 2. School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China)

[Abstract] **Objective** To review the composition of lipolysis model and the application in the *in vitro* evaluation of lipid formulations, provide reference for promoting the development of lipid formulations. **Methods** Recent relevant literatures were analyzed and summarized. **Results** *In vitro* lipolysis model could accurately reflect the *in vivo* nature of lipid formulations, and a good correlation between *in vivo* and *in vitro* could be established. **Conclusion** There is a good prospect in using lipolysis model for screening and evaluation of lipid formulations.

[Key words] lipolysis model; lipid formulations; *in vitro-in vivo* correlation; screening

近年来, 脂质给药系统在促进难溶性药物口服吸收方面引起广泛关注^[1,3]。口服脂质制剂进入体内, 由外源性的脂质消化产物和肠道中内源性产生的胆盐、磷脂形成混合胶束, 具有显著的增溶作用而促进药物的吸收, 提高难溶性药物的口服生物利用度^[4,5]。然而, 人体胃肠道环境复杂(关系到体液容积、pH值、离子强度、胆盐浓度), 评价脂质制剂的传统方法, 如经典体外释放法、透析法、室扩散法、流池法等, 存在应用局限及体内外相关性较差等问题。因此, 建立一个准确、可靠的方法来筛选和评价脂质制剂的性质尤为重要。

体外脂解模型通过模拟小肠的生理环境, 能够研究脂质消化动力学和消化产物与内源性物质的相互作用以及脂质制剂在肠道中的变化, 反映脂质制剂在体内的性质, 是一种具有前景的筛选和评价脂质制剂的新方法。

1 脂质给药系统的分类

脂质制剂中包含单酰甘油、二酰甘油、三酰甘油、亲水性表面活性剂、亲油性表面活性剂和助溶剂等不同性质的辅料。常见的剂型有固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)、纳米结构脂质载体(nanostructured lipid carriers, NLC)等。Pouton等^[6-8]根据脂质给药系统体系的关键性质特征提出脂质制剂分类系统(LFCS)。简言之, I型是需要被消化的纯油处方, II型是含水不溶性表面活性剂的自乳化给药系统, III型是含水溶性表面活性剂的自乳化给药系统, IV型是亲水处方, 详见表1。

表1 脂质制剂分类系统

类型	材料	特点	上市产品
I型	三酰甘油、饱和甘油酯	良好的生物相容性; 分散能力差、易沉淀	维生素A、维生素D
II型	中链油、吐温-85	分散后仍然能保持对药物的溶解能力	暂无
III型	丙二醇、聚乙烯乙二醇	分散过程易产生沉淀、不易消化	环孢素A
IV型	纯表面活性剂、助溶剂	沉淀的药物能以无定形态存在	HIV蛋白酶抑制剂

[基金项目] 福建省自然科学基金(2010J01218)。

[作者简介] 曾棋平, 男, 硕士研究生。Tel: (0591) 22859972, E-mail: 850705020@qq.com。

[通讯作者] 宋洪涛。Tel: (0591) 22859459, E-mail: sohoto@vip.163.com。

2 脂质制剂的评价

以往研究者常通过药物的溶解度和自乳化能力等体外参数筛选和评价脂质制剂。事实上,肠道消化行为可能使脂质制剂的增溶能力丧失,导致药物沉淀^[9]。因此,需要建立能准确反映脂质制剂在肠道行为的评价方法。目前,为了更好地预测脂质制剂在胃肠道稀释及消化对药物的影响,建立脂质制剂良好的体内外相关性,一些能够较好地反映肠道生理环境的体外试验技术已日趋成熟。例如,已经发展较为成熟、标准化较高的油胆盐溶解度实验,处方分散和药物沉淀实验以及体外脂解模型实验,其中体外脂解模型在解决问题方面优势尤为突出。在药剂学中应用脂解实验一般可以达到两个目的:①定量脂解反应的速度和程度,确定各参数对剂型的影响;②判定药物在肠道中的存在状态^[10-11]。

3 脂解模型的组成

体外脂解模型包括缓冲系统、 Ca^{2+} 、胆盐胶束及胰脂酶等。其中缓冲系统能在消化滴定过程中保持敏感并稳定指示 pH 值的变化。恒 pH 滴定 (pH-stat) 仪是一个模拟胃肠环境的装置,它由磁力搅拌机、pH 计、热电偶、自动缓冲液滴定管、恒流泵、计算机组成。pH 计用来监测反应池内 pH 值的变化,恒流泵持续释放 CaCl_2 用来激活脂肪酶,有时也会加入一定量的胆盐盐和 NaCl,用来模拟小肠内离子环境^[12]。Zangenberg 等^[13]报道胆盐浓度、 Ca^{2+} 和胰脂酶活性是影响脂解速率的 3 个重要参数,通过持续地加入 Ca^{2+} 可以保证脂解速率的持续进行,且 Ca^{2+} 的加入速率影响脂解反应速率,整个系统由体外模拟脂质制剂在胰液和胆汁存在情况下的脂质消化过程,进而判断药物在胃肠道中析出沉淀的速度、程度以及溶解吸收情况,可以预测脂质制剂处方在胃肠道中维持药物处于溶解状态的能力及药物释放行为。

4 脂解模型的应用

4.1 脂解模型在不同类型制剂中的应用

Kaukonen 等^[14-16]利用体外脂解模型研究长链和中链脂质制剂的消化对系列具有相同油水分配系数的难溶性药物(灰黄霉素、地西泮、达那唑、桂利嗪、氯氟菲醇)增溶行为的影响。相对于长链脂质制剂,中链脂质制剂更易于被快速脂解,但消化后药物的增溶行为更多取决于药物的亲脂性能力。因此,亲脂性弱的药物更易被分配进入水性分散相,如灰黄霉素、地西泮;高亲脂性的药物更易残留于未被消化的油相当中,如达那唑、桂利嗪、氯氟菲醇。研究还

表明,油脂分配系数较低的药物在中链三酰甘油(MCT)混悬液的增溶作用显著强于溶液剂,对于油水分配系数较高的药物,增加载药量并未提高消化后药物在水性分散相的含量,因此 MCT 的增溶作用并不显著。Dahan^[17-18]等利用体外脂解实验探究了维生素 D₃、黄体酮、地塞米松和灰黄霉素的长链、中链三酰甘油脂质制剂,后三者的体外脂解实验数据与体内药动学数据一致,而维生素 D₃ 的体内外数据却不相关,由于其口服以后多经过淋巴转运,所以,对于多数经过淋巴系统转运的药物并不适于体外脂解实验。

Fatouros 等^[19]利用脂解模型模仿难溶性药物普罗布考(丙丁酚)的 3 种不同类型的脂质制剂:油脂制剂、自微乳和纳米乳的吸收过程,监测制剂在水相(胶束)中的释放,使用神经模糊网络系统(NFM)预测其体内外相关性。结果表明,药物在油溶液的释放显著低于在自微乳和纳米乳中的释放,释放速率为自微乳 > 纳米乳 > 油溶液,纳米乳和自微乳制剂具有相同的 t_{max} ,但纳米乳的 C_{max} 和相对生物利用度更高,体外研究发现,油脂制剂 30 min 达到峰浓度, C_{max} 低于纳米乳和自微乳,这与体内生物利用度研究的结果一致,脂解模型联合 NFM 可以成为预测脂质制剂体内行为的有效工具。

4.2 脂解模型在制剂处方筛选的应用 研究表明固体载体对固体自微乳化给药系统的体内外性质有重要影响。宦娣等^[20]采用新型体外脂解-吸收模型评价微粉硅胶对固体自微乳化给药系统离体小肠吸收的影响,实验结果表明,微粉硅胶不仅可以提高脂解速率,增加脂解后水性分散相药物的分配,还能延缓体外释药及药物在小肠的吸收速率,而且影响程度与微粉硅胶的用量相关。这就提示了微粉硅胶作为固体自乳化给药系统的载体,其用量需着重考察。

易涛等^[21]以吡啶美辛为模型药物制备自微乳给药系统(SMEDDS),考察不同规格的羟丙甲基纤维素(HPMC E3、E5、E50、K4M、K15M、K100M)和不同浓度的 HPMC E5 对体外脂解速率以及脂解后药物分配的影响。实验表明,在脂解初期(即快速脂解期),脂解的速率顺序为 E3 > E5 > E50, K15M > K4M > K100M,这与 HPMC 的分子量和黏度由小到大的顺序呈正相关。随着脂解进行(即慢速脂解期),越来越多的脂质成分被水解,产生大量的游离脂肪酸和甘油。这些脂解产物与表面活性剂分子包裹于乳滴与脂肪酶的表面,抑制脂解进行。因此,慢速脂解期的脂解速率顺序为: E50 > E5 > E3, K15M > K100M > K4M。推测 E 类与 K 类 HPMC 脂解速率差异的原因是两种类型形成的网状空间结构的不同,黏度小的 HPMC 更有利于

药物的水相分配,在黏度小的 HPMC 作用下,脂解前的胶束溶液以及脂解后的溶液对药物的溶解度增加程度均更大。同时表明,随着 HPMC 的 E5 浓度增加,自乳化给药系统的载药能力增强,小肠脂解后进入水相的药物浓度也增加。实验提示了 HPMC 有利于自乳化给药系统中药物在胃肠道的吸收,可作为研发固体自乳化给药系统的固体载体。

5 总结与展望

体外脂解模型作为目前筛选和评价脂质制剂的新方法,它利用了恒 pH 滴定(pH-stat)模拟肠道 pH,以含有胆盐的混合胶束溶液和猪胰脂肪酶提取物在体外模拟肠道的消化,以进入水性分散相的药物量作为筛选、评价脂质制剂的指标,能够反映脂质制剂经肠道消化的特性,预测药物在肠道内的消化行为,从而建立制剂的体内外相关性。但模型未考虑药物的分配与吸收机制的关联和差异性,可能由于吸收机制的差异导致模型体内外相关性较差。何吉奎等^[22]在体外脂解模型的基础上,引入肠吸收评价方法,建立了一种用于筛选评价脂质制剂的新型体外动态肠吸收模型,包括肠消化和肠组织培养两大体系。探究模型重要参数(Ca^{2+} 、葡萄糖、 K^{+})的影响。研究发现 Ca^{2+} 浓度的增加能显著增强脂质制剂的肠消化,葡萄糖浓度的递增能显著减慢肠组织活性的衰减, K^{+} 虽能维持肠组织的活性,但其浓度变化对肠组织活性的衰减并无显著影响。最终选择 Ca^{2+} 10 mmol/L、葡萄糖 15 mmol/L 和 K^{+} 5.5 mmol/L 为模型参数。利用该模型评价 I 型脂质制剂得到的体外吸收曲线与大鼠体内吸收曲线呈现极显著的点对点相关性,该模型有望用于脂质制剂的筛选、评价以及预测。

【参考文献】

[1] Stella VJ, Nti-Addae KW. Prodrug strategies to overcome poor water solubility[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(7):677-694.
[2] Yu LX, Amidon GL, Polli JE, et al. Biopharmaceutics classification system; the scientific basis for biowaiver extensions[J]. *Pharm Res*, 2002, 19(7):921-925.
[3] Giliyar C, Fikstad DT, Tyavanagimatt S. Challenges and opportunities in oral delivery of poorly water-soluble drugs[J]. *Drug Deliv Technol*, 2006, 6(1):57-63.
[4] Hauss DJ. Oral lipid-based formulations[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(7):667-676.
[5] Colin WP. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system[J]. *Eur J Pharm*, 2006, 29(3-4):278-287.
[6] Pouton CW. Formulation of poorly water soluble drugs for oral ad-

ministration: physicochemical issues and the lipid formulation classification system[J]. *Eur J Pharm*, 2006(29):278-287.
[7] Hamberstone AJ, Charman WN. Lipid-based vehicles for the oral delivery of poorly water soluble drugs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 25:103-108.
[8] Pouton CW, Porter CJH. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 625-637.
[9] Sethia S, Squillante E. Solid dispersion; revival with greater possibilities and application in oral drug delivery[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2003, 20(2-3):215-247.
[10] 安富荣, 苏德森. 生物技术药物的脂质体给药系统研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2003, 24(4):207-209.
[11] 张宁, 王海学, 钱思源. 浅谈细胞毒类抗肿瘤药物脂质体制剂的研究思路[J]. *中国新药杂志*, 2006, 15(21):1805-1807.
[12] Porter CJH, Pouton CW, Cuine JF, et al. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid based delivery systems[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 673-691.
[13] Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, et al. A dynamic *in vitro* lipolysis model. I: controlling the rate of lipolysis by continuous addition of calcium[J]. *Eur J Pharm*, 2001, 14:115-122.
[14] Kaukonen AM, Boyd BJ, Porter CJH, et al. Drug solubilization behavior during *in vitro* digestion of simple triglyceride lipid solution formulation[J]. *Pharm Res*, 2004, 21:245-253.
[15] Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, et al. A dynamic *in vitro* lipolysis model. II: evaluation of the model[J]. *Eur J Pharm*, 2001, 14:237-244.
[16] Larsen A, Sassene P, Mullertz A. *In vitro* lipolysis models as a tool for the characterization of oral lipid and surfactant based drug delivery systems[J]. *Int J Pharm*, 2011, 417:245-255.
[17] Dahan A, Hoffman A. Use of a dynamic *in vitro* lipolysis model to rationalize of poorly water soluble drugs: correlation with *in vivo* data and the relationship to intra enterocyte processes in rats [J]. *Pharm Res*, 2006, 23(9):2165-2174.
[18] Sek L, Porter CJH, Charman WN, et al. Characterisation and quantification of medium chain and long chain triglycerides and their *in vitro* digestion products, by HPLC coupled with *in situ* densitometric analysis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001, 25(3-4):651-661.
[19] Fatouros DG, Nielsen FS, Douroumis D, et al. *In vitro-in vivo* correlations of self emulsifying drug delivery systems combining the dynamic lipolysis model and neuro fuzzy networks[J]. *Eur J Pharm*, 2008, 69:887-898.
[20] 宦娣, 易涛, 刘颖, 等. 微粉硅胶对固体自微乳化给药系统小肠吸收的影响[J]. *药学报*, 2011, 46(4):466-471.
[21] 刘颖, 肖璐, 何吉奎, 等. 脂质制剂体外动态肠吸收模型的建立及评价[J]. *药学报*, 2011, 46(8):983-989.
[22] 刘颖, 易涛, 宦娣, 等. 利用体外脂解模型评价 I 型脂质制剂[J]. *药学报*, 2010, 45(10):1307-1311.
[收稿日期] 2013-04-25 [修回日期] 2013-11-04
[本文编辑] 李睿昊