

· 综述 ·

体外脂解模型在脂质制剂评价中的研究进展

吴慧仪¹, 龙晓英² (1. 南方医科大学南方医院药剂科, 广东 广州 510515; 2. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006)

[摘要] 体外脂解模型能模拟体内胃肠道生理环境, 较好地反映脂质制剂口服后在人体肠道的性质, 是一种具有应用前景的筛选和评价口服脂质制剂的新方法。综述脂质制剂的特性、胃肠道消化过程、体外脂解模型的应用及脂解液表征方法的研究进展, 为脂解模型在脂质制剂口服吸收机制及体内外相关性研究中的深入应用提供依据。

[关键词] 脂解模型; 脂质制剂; 胃肠道; 体内外相关性

[中图分类号] R943 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)06-0481-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.001

Research progress on *in vitro* lipolysis model for the evaluation of lipid formulations

WU Huiyi¹, LONG Xiaoying² (1. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] *In vitro* lipolysis model has become a new and promising technique to screen and evaluate oral lipid formulations. This model mimics the gastrointestinal tract environment and well reflects the fate of lipid formulations in GI tract after oral administration. This review summarizes the characteristics of lipid formulations, process of gastrointestinal digestion, applications of *in vitro* lipolysis model and methods for the characterization of the lipolysis process, which provides the basis for the research of oral absorption mechanism and *in vivo-in vitro* correlations of lipid formulations with lipolysis model.

[Key words] lipolysis model; lipid formulation; gastrointestinal; *in vivo-in vitro* correlation

脂质制剂为提高水难溶性药物的口服吸收提供了一个安全、可靠的制剂解决方案, 它通过提高药物溶解度改善溶出、增加细胞渗透性等提高药物的生物利用度, 促进药物吸收。

然而, 至今对脂质制剂提高药物口服吸收的机制尚未完全清楚。脂质制剂的胃肠道转运具有特殊性, 需经历乳化分散、胰酶消化等一系列过程, 目前常规的体外筛选和评价方法难以反映脂质制剂的体内性质。脂质制剂的胃肠道行为也在不断的深入研究中。研究^[1,2]表明, 在脂质的消化过程中, 外源性的脂质消化产物与肠道分泌的胆盐、磷脂等内源性表面活性剂形成混合胶束, 共同对水难溶性药物起体内增溶作用, 提高其生物利用度。体外脂解模型是目前筛选、评价脂质制剂的一种新方法, 能够模拟

体内肠道环境, 反映脂质制剂在体内经肠道消化的特性, 引起研究者的兴趣。

本文将从脂质制剂的特性、胃肠道消化过程及体外脂解模型在脂质制剂评价中的应用等方面进行综述, 以进一步推动体外脂解模型在脂质制剂吸收机制及体内外相关性研究中的深入应用。

1 脂质制剂的分类

脂质制剂分类系统 (lipid formulation classification system, LFCS) 于 2000 年由 Pouton 等提出, 并于 2006 年被更新和完善^[1,3]。脂质制剂通常由一系列不同性质的辅料组成, 如三酰甘油 (TG)、二酰甘油、单酰甘油、亲油性表面活性剂、亲水性表面活性剂及助乳剂等, Pouton 主要根据脂质制剂的组成及对药物溶解性能的影响等关键特征对脂质制剂进行分类。简而言之, 通过 LFCS 可将脂质制剂分为 4 类, 包括: I 型是纯油处方, 需要被消化; II 型含水不溶性表面活性剂, 可形成自乳化给药系统 (self-emulsion drug delivery system, SEDDS); III 型含水溶性表面活性剂或助乳剂, 可形成自乳化或自微乳化给药系统 (SEDDS 或 self-microemulsion drug delivery system,

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81373361); 广东省自然科学基金资助项目 (S2013020012980)

[作者简介] 吴慧仪, 硕士, 研究方向: 药物新剂型, Tel: 13430328968, Email: huiyi0214@yeah.net

[通讯作者] 龙晓英, 硕士生导师, 研究方向: 药物制剂新技术, Tel: (020)39352559, Email: longxy3156@163.com

SMEDDS),可根据处方中油相及表面活性剂的比例分为ⅢA型和ⅢB型;Ⅳ型不含油,仅含强亲水性的

表面活性剂或助乳剂,可形成胶束溶液。LFCS 各类脂质制剂的组成及特性见表1、表2^[1,3]。

表1 脂质制剂的分类

处方辅料	处方辅料组成(% , w/w)				
	I型	II型	III A型	III B型	IV型
TG 或混合脂肪酸甘油酯	100	40~80	40~80	<20	—
水不溶性表面活性剂(HLB<12)	—	20~60	—	—	0~20
水溶性表面活性剂(HLB>12)	—	—	20~40	20~50	30~80
亲水性助乳剂	—	—	0~40	20~50	0~50

注:HLB 为表面活性剂的亲水亲油平衡值

表2 脂质制剂的特性及优缺点

脂质制剂类型	特性	优点	缺点
I型	无分散特性;需要消化脂解	处方安全简单;与胶囊壳相容性较好	除脂溶性高的药物外,药物溶解性能不佳
II型	形成不含水溶性成分的 SEDDS	分散过程中,药物溶解性能不受影响	形成混浊的 o/w 乳剂(粒径为 0.25~2 μm)
III A型	形成含水溶性成分的 SEDDS/SMEDDS	澄清或近似澄清的乳剂,受消化酶影响小	分散过程中,药物的溶解性能可能会降低,导致药物沉淀;不易被消化脂解
III B型	形成含水溶性成分的 SEDDS/SMEDDS,且含油量低	澄清的乳剂,受消化酶影响小	分散过程中,药物的溶解性能可能会降低
IV型	不含油相,形成胶束	对多数药物具有良好的溶解性能;分散后形成胶束溶液	分散过程中,药物的溶解性能降低,导致药物沉淀;不易被脂解

2 脂质制剂在胃肠道中的脂解消化及药物的增溶过程

脂质制剂在胃肠道中的脂解消化及药物的增溶过程见图1^[4]。食物或制剂中的脂质在体内的脂解消化过程始于胃,脂质中的 TG 在胃消化酶(如舌脂肪酶和胃脂肪酶)的作用下部分水解成二酰甘油和脂肪酸。脂质在胃蠕动及胃排空的共同作用下形成粒径为 1~100 μm 的初乳,并在磷脂、蛋白质、多糖及 TG 部分脂解产生两亲性产物的共同作用下,乳滴油水界面被稳定,从而进一步促进初乳的形成。当脂质进入十二指肠后刺激胆囊和胰脏分泌胆盐、磷脂及胆固醇等,同时富含胰脂肪酶和辅脂酶的胰液分泌进入肠腔^[5]。部分磷脂和胆固醇吸附于乳滴表面,在 TG 部分脂解产物及胆盐的共同作用下,初乳在十二指肠进一步乳化形成粒径更小、更稳定的乳滴。随后胰脂酶/辅脂酶复合物结合在乳滴表面催化启动对 TG 的脂解消化^[6,7],使 1 分子的 TG 水解成 1 分子的 2-单甘酯和 2 分子的游离脂肪酸^[8]。脂质的脂解产物单甘酯和脂肪酸是良好的乳化剂,脂肪酸可促进胰脂酶/辅脂酶复合物结合在乳滴表面,使脂解过程具有自身催化的特点。此外,脂解产物 2-单甘酯无需酶的催化作用即可缓

慢异构化为 1-单甘酯,进一步参与脂解,产生甘油和脂肪酸^[9,10]。

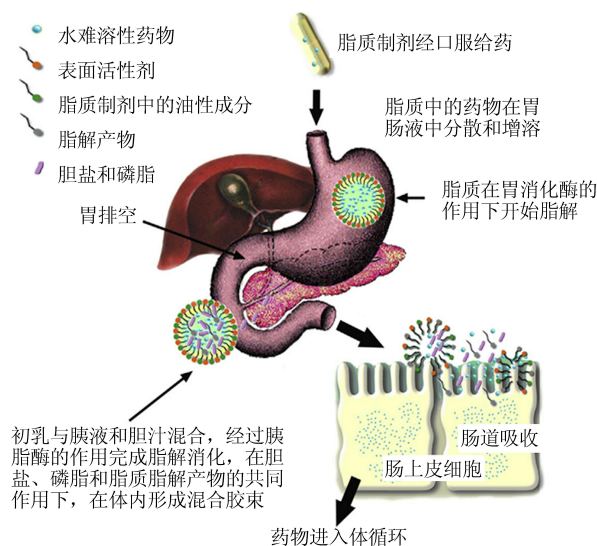


图1 脂质在胃肠道中的脂解消化及药物的增溶过程^[4]

经过上述一系列过程,在胆盐、磷脂、胆固醇、脂质制剂脂解产物及表面活性剂的共同作用下,体内形成一系列的胶体分散体系,如胶束、混合胶束及小囊泡等^[11,12]。难溶性药物被增溶于这些混合胶体分散体系中,使药物在其吸收部位产生一个增溶药

物储存库,形成促进药物吸收的浓度梯度。同时,在小肠细胞的刷状缘膜具有非流动性水层,对水溶性差的脂解产物及脂溶性药物起屏障作用。脂解产物脂肪酸、单甘脂及药物增溶于胶束或混合胶束中,有效提高它们对静水层的透过性,从而促进脂解产物以及难溶性药物的吸收^[13]。

3 体外脂解模型的构建

开发设计脂质制剂的主要目的在于提高药物的溶解度、优化体外自乳化效率、减小分散于水溶液中的粒径,以促进药物的吸收。近年来,一些可反映肠道生理环境的体外试验技术均得到了发展,如:标准化的油胆盐溶解度试验、处方分散/药物沉淀试验以及体外脂解试验等。而体外脂解试验作为一项评估脂质制剂中药物在胃肠道生理环境存在状态的工具,具有更为重要的意义^[14, 15]。目前已报道的体外脂解试验方法略有差别,但基本原理相同,如图2所示。

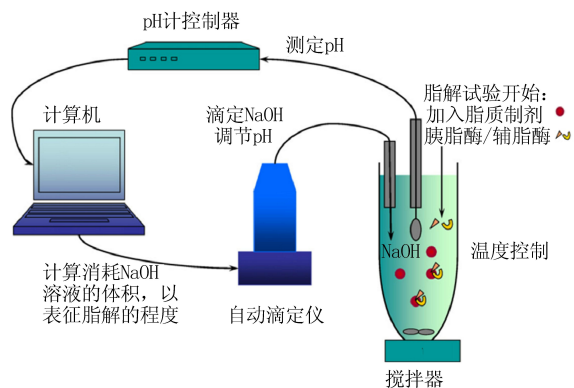


图2 体外脂解模型^[16]

脂解模型主要包括:脂解液(含有消化缓冲液、胰脂酶、胆盐/磷脂及 Ca^{2+} , 温度控制在 $37\text{ }^\circ\text{C}$);自动滴定仪(使用 NaOH 中和脂解产物游离脂肪酸); pH 计(测定脂解过程中脂解液的 pH 值变化);计算机(计算中和脂肪酸所消耗 NaOH 溶液的体积)。向脂解液中加入胰脂酶/辅脂酶,同时加入 Ca^{2+} , 脂解试验开始。脂解起始阶段产生游离脂肪酸,导致脂解液 pH 值下降。通过测定 pH 值,滴加 NaOH 中和游离脂肪酸,使脂解液 pH 值保持在设定值,同时由于 Ca^{2+} 对脂肪酸的转移,促进脂解过程继续进行。计算中和游离脂肪酸所需的 NaOH 溶液的体积,以此表征脂解的程度。

4 体外脂解模型在脂质制剂评价中的应用

体外脂解模型在脂质制剂中的应用一般可达到

2个目的:一是可以用 NaOH 滴定法来定量脂解反应的速度和程度,确定各参数对剂型的影响;二是判定药物在肠道中的存在状态(如药物被增溶或沉淀)。自体外脂解模型发展以来,已越来越被研究者们所接受和使用。曾棋平等^[17]报道了前期体外脂解模型在不同类型脂质制剂及其处方筛选中的应用。近几年,体外脂解模型得到了进一步的应用,如用于新型固体脂质制剂的评价、脂解过程中药物动态分配行为的研究及脂质制剂微观形态与药物在肠道分配相关性的探讨等。

Dening 等^[18]利用体外脂解模型,研究新型固态脂质制剂-蒙脱土脂质复合物对具有不同离子化程度水难溶性药物(包括弱碱性药物布南色林、弱酸性药物布洛芬和中性药物非诺贝特)的增溶作用。与对照的中链脂质溶液(MCT solution)和硅土脂质微粒(SLH)相比,布南色林-蒙脱土脂质复合微粒(MLH)经体外脂解后,在水性分散相中的溶解度显著下降,这可能与蒙脱土表面阴离子和布南色林药物分子阳离子间较强的静电相互作用有关。而布洛芬和非诺贝特在水性分散相中的溶解度无明显变化。该结果表明,MLH对药物的增溶作用与药物的离子化趋势及药物-黏土间相互作用有关。

Kazi 等^[19]以利培酮为模型药物制备固体自乳化脂质制剂(SELFs)。利用体外脂解试验,考察LFCS分类中ⅢB型和Ⅳ型SELFs脂解后,药物在脂解液各相的分布情况。实验表明,ⅢB型和Ⅳ型的SELFs脂解速率快,且大部分药物能被增溶至水性分散相中。提示SELFs可增加利培酮的溶解度,从而促进其在胃肠道的吸收。

林婉婷等^[20]利用体外脂解模型,研究TG的结构及含量对灰黄霉素自纳米乳(GRI-SNEDDS)体外脂解过程中药物在脂解液各相动态分布的影响。结果表明,在相同TG含量下,长链TG自纳米乳(LCT-SNEDDS)脂解后水性分散相中灰黄霉素的含量高于中链TG自纳米乳(MCT-SNEDDS);GRI-SNEDDS中TG含量增加1倍后,LCT-SNEDDS脂解后水性分散相中灰黄霉素的含量提高了32.4%,而MCT-SNEDDS仅提高了5.7%。因此,GRI-SNEDDS脂解过程中,药物在脂解液水性分散相的分布与TG的结构及含量有关,LCT-SNEDDS的增溶作用更为显著。

Xiao 等^[21]以吡啶美辛为模型药物,利用体外脂解试验从微观角度研究脂质制剂中药物释放与液晶相形成的关系。研究结果表明,5种不同类型的脂质制剂在体外脂解过程中形成液晶相所需时间排序

为 I 型 > II 型 > III B 型 > IV 型 > III A 型, 而药物在脂解液水性分散相中的含量排序为 III A 型 > IV 型 > III B 型 > II 型 > I 型。两者排序相反, 提示体外脂解过程中液晶相的形成可能会促使药物沉淀, 不利于对药物的增溶, 影响药物的胃肠道吸收。

Siqueira 等^[22]通过体外脂解模型结合大鼠体内试验, 考察载药量对桂利嗪自纳米乳给药系统(CNI-SNEDDS)的影响。结果体外脂解试验数据与体内药动学数据并不一致, 分析其原因可能为脂质制剂在胃部的消化已导致药物沉淀。另外, 体外脂解模型中使用的是人体空腹状态下小肠液中的胆盐浓度, 而已有研究体内试验所用的是大鼠胃肠道中的胆盐, 其浓度明显高于人体^[23]。因此, 需要模拟大鼠的胃肠道环境, 进一步优化体外脂解模型以获得更好的体内相关性研究结果。

5 体外脂解液的表征

脂质制剂体外脂解后, 脂解液经离心可获得不同相, 如油相、水相、沉淀相。对于不同的脂解相, 可采用不同的方法对其特征进行分析和研究。

5.1 脂解液油相及水相特征 低温透射电镜(cryogenic transmission electron microscopy, Cryo-TEM)和小角度 X 射线散射(small-angle X-ray scattering, SAXS)等方法可用于脂解液中乳滴结构形态变化的研究。Fatouros 等^[24]采用 Cryo-TEM 和 SAXS 对 SNEDDS 不同时间点脂解液样品的胶体结构形态学变化及液晶相的形成进行研究。通过 Cryo-TEM 的观察可了解脂解过程中胶体水相的形成及药物的分配状态。SAXS 分析结果显示, 在脂解的起始阶段形成无液晶相, 随着脂解的进行出现薄层相, 随后薄层相与反相分散晶体相共存。Roshan 等^[25]将流入式脂解槽直接固定于台式 SAXS 仪重复了上述结果, 该装置可及时自动对脂解过程中形成的液晶相进行分析。这将有助于进一步了解处方组成与脂解过程中胶体相产生的关系以及不同胶体相对药物吸收的影响。

5.2 脂解液沉淀相特征 体内脂解过程中, 沉淀相中的药物沉淀需要重新溶解才能被小肠吸收。生物药剂分类系统(BCS)II 类和 IV 类药物在胃肠液中的溶解度低, 脂解过程中容易产生药物沉淀而影响其生物利用度。药物沉淀对其生物利用度的影响取决于该药物沉淀的形态和重新溶出的速率。如果药物是多形态的, 其药物沉淀也可能为多形态结构, 并伴有不同的溶出速率。此外, 药物沉淀也可以无定型

状态存在。采用 X 射线粉末衍射(X-ray powder diffraction, XRPD)和极化光学显微镜(polarized light microscopy, PLM)可对药物沉淀形态进行分析。Sassene 等^[26]采用 XRPD 和 PLM 方法对分别含桂利嗪和达那唑的 SMEDDS 在体外脂解过程中产生的药物沉淀进行分析。两种方法均显示桂利嗪药物沉淀以无定型状态存在, 具有较快的溶出速率, 而达那唑药物沉淀以晶体形态存在, 溶出速率与原药物晶体相似。

6 结语

综上所述, 体外脂解模型是目前评价脂质制剂的新方法, 能预测制剂中药物在肠道的消化行为。但目前大多数的研究只停留在对模型的建立或是对脂质制剂脂解后药物在脂解液各相分配行为的初步探讨阶段。从微观形态、内部结构等微观角度分析脂质制剂经肠道脂解后的变化, 并探讨其微观形态与药物在肠道分配相关性的报道仍较少。此外, 目前大部分的体外脂解模型以胰脂酶作为胃肠道的主要消化酶进行脂解试验, 忽略了其他消化酶的作用。事实上, 脂质的脂解消化过程在胃消化酶的参与下起始于胃。已有研究^[27]报道, 胃脂肪酶对脂质的脂解消化同样具有重要作用。因此, 为了能真实反映脂质制剂脂解过程对药物分配行为、增溶和吸收的影响, 进一步探讨其口服吸收机制, 建立更为合理的体外脂解模型及良好的体内外相关性将会成为未来研究的方向。

【参考文献】

- [1] Pouton CW. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 29(3-4): 278-287.
- [2] Porter CJ, Pouton CW, Cuine JF, *et al.* Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(6): 673-691.
- [3] Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery systems [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2000, 11(Suppl 2): S93-98.
- [4] Carri re F. Impact of gastrointestinal lipolysis on oral lipid-based formulations and bioavailability of lipophilic drugs [J]. *Biochimie*. 2016, 125: 297-305.
- [5] Kalantzi L, Persson E, Polentarutti B, *et al.* Canine intestinal contents *vs.* simulated media for the assessment of solubility of two weak bases in the human small intestinal contents [J]. *Pharm Res*, 2006, 23(6): 1373-1381.

- [20] Hosaka K, Jackson D, Pickrell JE, *et al.* Flumazenil reversal of sublingual triazolam: a randomized controlled clinical trial [J]. J Amer Dent Assoc, 2009, 140(5): 559-566.
- [21] Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Groenwold RH, Schmidt B, *et al.* Single dose efficacy evaluation of two partial benzodiazepine receptor agonists in photosensitive epilepsy patients: A placebo-controlled pilot study [J]. Epilepsy Res, 2016, 122: 30-36.
- [22] Heniff MS, Moore GP, Trout A, *et al.* Comparison of routes of flumazenil administration to reverse midazolam-induced respiratory depression in a canine model [J]. Acad Emerg Med, 1997, 4(12): 1115-1118.
- [收稿日期] 2017-08-18 [修回日期] 2017-09-01
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第 484 页)
- [6] van Tilbeurgh H, Sarda L, Verger R, *et al.* Structure of the pancreatic lipase-procolipase complex [J]. Nature, 1992, 359(6391): 159-162.
- [7] Lowe ME. The triglyceride lipases of the pancreas [J]. J Lipid Res, 2002, 43(12): 2007-2016.
- [8] Shiau YF. Mechanisms of intestinal fat absorption [J]. Am J Physiol, 1981, 240(1): G1-G9.
- [9] Nordskog BK, Phan CT, Nutting DF, *et al.* An examination of the factors affecting intestinal lymphatic transport of dietary lipids [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 50(1-2): 21-44.
- [10] Mattson FH, Benedict JH, Martin JB, *et al.* Intermediates formed during the digestion of triglycerides [J]. J Nutr, 1952, 48(3): 335-344.
- [11] Naylor LJ, Bakatselou V, Dressman JB. Comparison of the mechanism of dissolution of hydrocortisone in simple and mixed micelle systems [J]. Pharm Res, 1993, 10(6): 865-870.
- [12] Humberstone AJ, Porter CJ, Charman WN. A physicochemical basis for the effect of food on the absolute oral bioavailability of halofantrine [J]. J Pharm Sci, 1996, 85(5): 525-529.
- [13] Mu H, Hoy CE. The digestion of dietary triacylglycerols [J]. Prog Lipid Res, 2004, 43(2): 105-133.
- [14] Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, *et al.* A dynamic *in vitro* lipolysis model. II: evaluation of the model [J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 14(3): 237-244.
- [15] Porter CJ, Trevaskis NL, Charman WN. Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs [J]. Nat Rev Drug Discov, 2007, 6(3): 231-248.
- [16] Fatouros DG, Müllertz A. *In vitro* lipid digestion models in design of drug delivery systems for enhancing oral bioavailability [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008, 4(1): 65-76.
- [17] 曾棋平, 张晶, 刘志宏, 等. 脂解模型在脂质给药系统体外评价中的应用研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(2): 85-87.
- [18] Dening TJ, Rao S, Thomas N, *et al.* Montmorillonite-lipid hybrid carriers for ionizable and neutral poorly water-soluble drugs: Formulation, characterization and *in vitro* lipolysis studies [J]. Int J Pharm, 2017, 526(1): 95-105.
- [19] Kazi M, Al-Qarni H, Alanazi FK. Development of oral solid self-emulsifying lipid formulations of risperidone with improved *in vitro* dissolution and digestion [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2017, 114: 239-249.
- [20] 林婉婷, 龙晓英, 吴慧仪, 等. 灰黄霉素纳米乳体外脂解过程中药物动态分布研究 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(6): 512-520.
- [21] Xiao L, Yi T, Liu Y, *et al.* The *in vitro* lipolysis of lipid-based drug delivery systems: A newly identified relationship between drug release and liquid crystalline phase [J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 2364317.
- [22] Siqueira SD, Mullertz A, Gresser K, *et al.* Influence of drug load and physical form of cinnarizine in new SNEDDS dosing regimens: *in vivo* and *in vitro* evaluations [J]. AAPS J, 2017, 19(2): 587-594.
- [23] Tanaka Y, Hara T, Waki R, *et al.* Regional differences in the components of luminal water from rat gastrointestinal tract and comparison with other species [J]. J Pharm Pharm Sci, 2012, 15(4): 510-518.
- [24] Fatouros DG, Bergenstahl B, Mullertz A. Morphological observations on a lipid-based drug delivery system during *in vitro* digestion [J]. Eur J Pharm Sci, 2007, 31(2): 85-94.
- [25] Roshan GD, Aagaard AE, Pedersen JS, *et al.* Experimental Set-up with flow-through cell with SAXS studies of *in-situ* degradation of drug formulations under gastro-intestinal mimicking conditions [R]. 13th International Conference of Small Angle Scattering, Kyoto; 2006.
- [26] Sassene PJ, Knopp MM, Hesselkilde JZ, *et al.* Precipitation of a poorly soluble model drug during *in vitro* lipolysis: characterization and dissolution of the precipitate [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(12): 4982-4991.
- [27] Fernandez S, Jannin V, Chevrier S, *et al.* *In vitro* digestion of the self-emulsifying lipid excipient Labrasol by gastrointestinal lipases and influence of its colloidal structure on lipolysis rate [J]. Pharm Res, 2013, 30(12): 3077-3087.
- [收稿日期] 2017-04-07 [修回日期] 2017-09-04
[本文编辑] 李睿旻