

黄酮多酚类药物自乳化组合物、其制备方法、药物组合物及用途

技术领域

本发明涉及一种黄酮多酚类药物自乳化组合物、其制备方法、药物组合物及用途，
5 属于医药领域。

背景技术

黄酮多酚类化合物目前一般被分为 3 大类：(1)小分子的酚酸类物质，如水杨酸、桂皮酸、对羟基桂皮酸咖啡酸、阿魏酸、绿原酸等；(2)单宁，为多酚的聚合物，分为缩合
10 单宁和水解单宁，前者是由黄烷醇类物质通过 C4-C6 或 C4-C8 键连接而成的不同聚合度的多酚，也称为原花色素，后者由没食子酸或鞣花酸与葡萄糖等糖类上的羟基成酯而形成；(3)多羟基黄酮类，一类为植物色素之一的花色苷(为花色素的糖苷)，另一类则为狭义的黄酮及其糖苷，苷元有黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮、二氢异黄酮、查尔酮、橙酮、黄烷、花色素、双黄酮、类黄酮（文献 1：多酚类化学成分肠道生物
15 转化研究进展[C].中华中医药学会中药化学分会第八届学术年会，2013）。

研究表明，黄酮多酚类药物具有多方面的药理作用，如抗肿瘤、抗凝血、抑菌、调节激素、抗氧化、抗衰老、抗动脉粥样硬化、抗感染、抗骨质疏松、抗病毒、抗微生物、调血脂和降血糖等多方面有着良好的效果。

受理化性质的限制，黄酮多酚类药物口服制剂生物利用度差，使得口服治疗的效果
20 不佳。因此，通过制剂学技术提高口服给药的血药浓度(C_{max})和血液暴露量(AUC)，具有重要临床意义。

自乳化递送系统（SEDDS）是由油相、乳化剂和助乳化剂形成的均一混合物，可用作药物的包载与递送工具，口服给药后，在胃肠道蠕动及胃肠液水性介质环境下，即可快速自发乳化形成水包油型乳滴。

王至秦等报道了以三辛葵酸甘油酯为油相，聚氧乙烯 40 蓖麻油为乳化剂，1，2-丙
25 二醇为助乳化剂，制备了一种包载原花青素原料药的自微乳。三者质量比为 1：3：1 时乳化迅速，载药量 10%。按配比称取聚氧乙烯 40 蓖麻油、1，2-丙二醇和三辛葵酸甘油酯，于 37℃水浴搅拌混匀，再加入处方量的原花青素混合使溶解，37℃平衡 1 h 得到原花青素自微乳液，用水稀释 100 倍后平均粒径为 (63.6 ±0.7) nm（文献 2：中成药，
30 2013，35（12）：2749-2752）。

张伟玲等报道了以油酸聚乙二醇甘油酯为油相，聚氧乙烯 35 蓖麻油为乳化剂，二乙二醇单乙基醚为助乳化剂，三者比例为 27.0: 55.6: 17.4(w: w: w)，并将过量槲皮素原料药与油相、乳化剂和助乳化剂置于 60 °C 恒温水浴中磁力搅拌，制备槲皮素的过饱和溶液。室温下振荡 24 h 平衡后，4 000 r/min 离心 10 min，取上清液，即制备得到了一种包载槲皮素原料药的自微乳。最大药量为 67.87 mg/g，用水稀释 50 倍后平均粒径为 25.26 nm（文献 3：山东大学学报，2016，54（3）：41-49）。

李泽民等报道了以中链脂肪酸(MCT)为油相，聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH40)为乳化剂，聚乙二醇-400（PEG-400）为助乳化剂，三者比例为 MCT: PEG-400: Cremophor RH40=2: 2: 6（w/w），并将过量姜黄素原料药与油相、乳化剂和助乳化剂混匀，涡旋 5 min 后，37 °C 避光震荡 48 h。取出样品 12000 r/min，离心 10 min，精密取上清液，即制备了一种包载姜黄素原料药的自微乳，显著提高了其溶解度。最大载药量为 55.30mg/g，用水稀释 100 倍后平均粒径为 11.8 nm（文献 4：成都医学院学报，2017，12（2）：155-59）。

曹璐等报道了以三乙酸甘油酯为油相，Cremophor EL 和 Cremophor RH40 为乳化剂，异丙醇为助乳化剂，比例为三乙酸甘油酯: Cremophor EL: Cremophor RH40: 异丙醇=22: 27: 13.5: 37.8（w/w）。在 37°C 水浴条件下，磁力搅拌混合均匀，得到空白自微乳。将适量白藜芦醇加入空白自微乳中，超声溶解，即可得白藜芦醇自微乳。载药量为 45mg/g，用水稀释 100 倍后平均粒径为 15nm（文献 5：曹璐.白藜芦醇的研制[D].河北：河北医科大学，2014）。

按文献 2 到 5 所述方法分别制备原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇自微乳，将其在 4°C 和室温分别放置 5 天、1 月及 2 月，观察外观性状的变化，考察其物理稳定性，结果表明，按文献 2-5 处方制备的黄酮多酚类药物自微乳混合物均存在明显稳定性缺陷：在 4°C 放置后易形成半固体或析出，室温放置一段时间后即发生药物析出。

另外，柯学等报道了以 Migly-col812/Maisine35-1（1: 1）为油相，CremphorEL35/Labrasol(2: 1)为乳化剂，Transcutol P 为助乳化剂，按处方制备空白 SMEDDS，加入过量黄芩素，在 37 °C 水浴中搅拌溶解，24 h 后取出，于 12 000 r·min⁻¹ 高速离心 15 min，吸取上清液，即制备得到一种包载黄芩素原料药的自微乳，最大载药量为 (18.1±1.11)mg/g，将其在纯化水中稀释 100 倍后 3 min 内即形成稳定均一的微乳，形成的微乳粒径为 27.2 ±0.56nm。与黄芩素原料药（口服灌胃）相比，黄芩素自微乳大鼠口服给药的 C_{max} 提高至 3.1 倍，相对生物利用度(AUC)增加至 3.77 倍（文献 6：中国

新药杂志，2010，19（5）：371-395）。

Wenli Liu 等报道了以 Caprylic capric triglyceride (ODO, 25%)为油相，Cremophor RH40(53.57%)为乳化剂，Transcutol P (21.43%)为助乳化剂，并将过量黄芩素原料药与油相、乳化剂和助乳化剂在 37℃ 条件下搅拌 48h，再将混合物于 12000rpm 离心 20min，取
5 上清液，最终制备得到包载黄芩素原料药的自微乳，最大载药量为 (32.02)mg/g，遇水后乳化粒径为 27.54nm。与黄芩素原料药混悬液（分散于 0.5%羧甲基纤维素钠溶液）相比，黄芩素自微乳大鼠口服给药的 C_{max} 提高至 1.6 倍，相对生物利用度(AUC)增加至 2.01 倍（文献 7：Fitoterapia, 2012, 83:1532-1539）。

文献 6 和文献 7 中制备的自微乳均使黄芩素的口服生物利用度明显提高，但验证性
10 实验表明，其仍存在如下缺陷：

（1）制备的黄芩素自微乳混合物，4℃放置后易形成半固体或析出，室温放置一个月即发生药物析出；

（2）在给定的油相、乳化剂、助乳化剂条件下，黄芩素载药量难以进一步提高，无法满足临床治疗剂量对载药量的要求；

15 （3）与黄芩素原料药相比，C_{max} 以及 AUC 增加的幅度有限。

此外，刘昌顺等比较了黄芩苷（BG）、黄芩苷磷脂复合物（BGPC）、直接包载黄芩苷的自微乳给药系统（BG-SMEDDS）、以黄芩苷-磷脂复合物为中间体的自微乳给药系统（BGPC-SMEDDS）在大鼠体内的药动学，结果表明，与 BG 相比，BGPC、BG-SMEDDS、BGPC-SMEDDS 的血浆浓度均有所增加，C_{max} 分别为 BG 的 3.89、11.01
20 和 6.70 倍，AUC_{0→24h} 分别为 BG 的 2.46 倍、2.86 倍和 2.38 倍。即 C_{max}：黄芩苷自微乳>黄芩苷-磷脂复合物的自微乳>黄芩苷-磷脂复合物，AUC_{0→24h}：黄芩苷自微乳>黄芩苷-磷脂复合物>黄芩苷-磷脂复合物的自微乳。

发明内容

25 理想的载药自乳化组合物，应满足以下条件：（1）在冷藏或室温条件下长期贮存，应为外观均一的澄清透明液体，不应发生分层；（2）在冷藏或室温条件下长期贮存，应为外观均一的澄清透明液体，不应发生凝固或沉淀，避免使用前“将药物混合物加热融化”的处理环节，减少药物降解；（3）自乳化效率高，模拟胃肠环境，加一定量的水稀释后，可快速自发乳化，形成纳米级的乳滴；（4）自乳化混合物直接口服后，在胃肠中自发乳
30 化形成的乳滴，应为纳米级（1-1000nm），而不应为微米级（>1μm）。

对于载药 SEDDS，不同药物由于理化性质不同，载药量及稳定性也不相同。并且，油相、乳化剂和助乳化剂以及比例的改变，都会对载药量及自乳化效率产生影响，进而影响其粘膜渗透性以及生物利用度，但这种影响往往无固定规律可循。

本发明人对黄酮多酚类的药物制剂进行深入研究发现，将磷脂与选自黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇中黄酮多酚类药物制成黄酮多酚类药物-磷脂复合物，
5 以此为中间体制备的自乳化系统具有稳定性好、载药量高、生物利用度高等有益效果。

鉴于此，一方面，本发明提供一种黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述黄酮多酚类药物自乳化组合物包含黄酮多酚类药物-磷脂复合物、油相、乳化剂和助乳化剂，所述黄酮多酚类药物包括选自黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇中
10 的一种或多种。

可选地，所述黄酮多酚类药物还可以包括黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇以外的其他黄酮多酚类药物，所述其他黄酮多酚类药物为选自汉黄芩素、阿魏酸、儿茶素、厚朴酚、和厚朴酚、芹菜素、陈皮素、鱼藤酮、补骨脂乙素、金鱼草素、飞燕草素、银杏素中的一种或多种。

15 优选地，所述黄酮多酚类药物为黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素或白藜芦醇；
可选地，所述黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量为 10-110mg/g，优选 10-100mg/g。
可选地，所述黄酮多酚类药物自乳化组合物的粒径为 10-1000nm。

可选地，所述黄酮多酚类药物-磷脂复合物中，黄酮多酚类药物与磷脂的质量比(w/w)为 1:1-1:15，可选为 1:1-1:8。

20 所述的黄酮多酚类药物-磷脂复合物由黄酮多酚类药物与磷脂材料复合而成，可选地，所述黄酮多酚类药物-磷脂复合物的药物复合率 $\geq 80\%$ 。

可选地，所述黄酮多酚类药物为中药提取的黄酮多酚类药物提取物和/或化学合成的黄酮多酚类药物；

25 可选地，所述黄芩素可以是人工合成的黄芩素，还可以是植物提取的黄芩素含量在 50%以上的有效组分，还可以是植物提取经转化或重结晶制备的产物。

可选地，所述磷脂为选自天然磷脂、合成磷脂材料中的一种或多种；

可选地，所述天然磷脂包括选自大豆磷脂、蛋黄磷脂中的一种或多种；

可选地，所述合成磷脂包括选自磷酸甘油酯、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、甘油磷脂酸、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺、二肉蔻酰磷脂酰胆碱中的一种或多种；优选为
30

选自磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、甘油磷脂酸中的一种或多种。

可选地，所述的油相为选自植物油、植物油衍生物中的一种或多种；

可选地，所述植物油包括选自大豆油、玉米油、橄榄油、椰子油、花生油、山茶油、蓖麻油中的一种或多种；

- 5 可选地，所述植物油衍生物包括选自油酸山梨醇酯、油酸甘油酯、亚油酸甘油酯、油酸聚乙二醇甘油酯 (labrafil® 1944cs)、单亚油酸甘油酯 (Maisine35-1)、油酸乙酯、亚油酸乙酯、C8/C10 甘油单酯、椰子油 C8/C10 甘油双酯、椰子油 C8/C10 甘油三酯、辛酸甘油三酯、辛酸甘油二酯、辛酸甘油单酯、癸酸甘油单酯、癸酸甘油二酯、癸酸甘油三酯、辛癸酸甘油单酯、辛癸酸甘油酯、辛癸酸甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯 (Labrafil® M2125CS)、月桂酸聚乙二醇甘油酯 (Gelucire)、丙二醇单辛酸酯 (Capryol 90) 中的一种或多种；

优选地，所述油相为选自大豆油、蓖麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、辛癸酸甘油酯中的一种或多种。

- 可选地，所述乳化剂为选自辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (labrasol 或 labraosol)、聚乙
15 二醇 (包括：PEG-200、PEG-400、PEG-600、PEG-800 (PEG 后面数字表示平均分子量))、吐温 (包括：吐温 20、吐温 21、吐温 40、吐温 60、吐温 61、吐温 80、吐温 81、吐温 85，优选吐温 80、吐温 60、吐温 20)、司盘 80 (span 80)、油酸聚乙二醇甘油酯 (labrafil® 1944cs)、亚油酸聚乙二醇甘油酯 (Labrafil® M2125CS)、磷脂、辛基苯基聚氧乙烯醚 (X-100) 中的一种或多种；优选为辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (labrasol 或 labraosol)、
20 吐温 80、吐温 85、Triton X-100、labrafil® 1944cs 中的一种或多种。

- 可选地，所述助乳化剂为选自乙醇、丙二醇、碳酸丙二酯、乙二醇单乙基醚、甘油糠醛、二甲基异山梨酯、丙二醇单辛酸酯 (Capryol 90)、二乙二醇单乙基醚 (transcutol HP 或 transcutol P)、聚乙二醇 (包括：PEG-200、PEG-400、PEG-600、PEG-800 (PEG 后面数字表示平均分子量))、甘油、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (labraosol)、苯甲醇中的
25 一种或多种；优选为二乙二醇单乙基醚 (transcutol HP 或 transcutol P)、聚乙二醇 400 (PEG-400)、乙醇、丙二醇单辛酸酯 (Capryol 90) 中的一种或多种。

可选地，以油相、乳化剂与助乳化剂三者的组成质量比为 100% 计，油相为 10-50% (优选为 20-40%)，乳化剂为 30-60% (优选为 40-60%)，助乳化剂为 20-60% (优选为 30-50%)

- 30 另一方面，提供一种上述黄酮多酚类药物自乳化组合物的制备方法，其特征在于，

包括如下制备步骤：

(1) 黄酮多酚类药物-磷脂复合物的制备：取黄酮多酚类药物与磷脂材料，溶解于有机溶剂中，经复合反应后，去除有机溶剂，干燥，即得；

可选地，所述有机溶剂为选自乙酸乙酯、四氢呋喃、甲醇、丙酮、乙醇、无水乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、乙醚、甲基乙基醚、二氧六环、丁酮、石油醚、己烷、环己烷、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、DMSO、DMF 中的至少一种或多种，优选为乙酸乙酯、四氢呋喃、甲醇、乙醇、环己烷、DMSO、DMF 中的一种或多种。

(2) 黄酮多酚类药物自乳化组合物的制备：将步骤(1)所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物与油相、乳化剂和助乳化剂以任意的顺序充分混合；

例如，可以将步骤(1)所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物与油相、乳化剂和助乳化剂直接充分混合。

或者，先将油相、乳化剂和助乳化剂混合均匀，制备空白自乳化浓缩液，然后将步骤(1)所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物加入至所制得的空白自乳化浓缩液中，充分混合。

或者，将步骤(1)所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物先溶于油相、乳化剂或助乳化剂中的任一者中，再加入另外两种成分，充分混合。

另一方面，本发明提供一种药物组合物，其特征在于，包含上述的黄酮多酚类药物自乳化组合物以及任选存在的药学上可接受的辅料。

可选地，所述药物组合物的剂型包括：口服制剂、注射制剂、经皮给药制剂、粘膜给药制剂、肺部吸入给药制剂或肠道给药制剂；可选地，所述药物组合物的剂型包括：滴剂、口服液、片剂、胶囊剂（包括：软胶囊、硬胶囊）、颗粒剂、冲剂、膜剂、凝胶剂、散剂、乳剂、滴丸剂、栓剂、气雾剂、喷雾剂、粉雾剂、贴剂、贴膏剂、溶液剂、软膏剂或乳膏剂。

药学可接受的辅料可以是药物制剂领域中任何常规的辅料。特定辅料的选择将取决于用于治疗特定患者的给药方式或疾病类型和状态。例如，可以作为药学可接受的辅料包括药学领域常规的稀释剂、载体、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体和润滑剂。必要时，还可以在药物组合物中加入香味剂、防腐剂和甜味剂。

另一方面，本发明提供上述黄酮多酚类药物自乳化组合物，或者上述药物组合物在制备抗菌、抗病毒、抗炎、抑制变态反应、调节免疫、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、抗紫

外辐射、治疗激素缺乏、抗高血压、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗老年痴呆、治疗手足口病、抗骨质疏松或保护肝脏的药物中的用途。

有益效果:

本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物具有稳定性好、载药量高、生物利用度高的有益效果。

本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物的外观性状为均一液体,载药量可以达到 100 mg/g 以上 (W 黄酮多酚类药物/W 组合物)。

本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物具有良好的自乳化能力,加 10-1000 倍的水进行稀释后,可快速乳化形成粒径在 10-1000nm 的乳滴。

附图说明

图 1 是试验例 2 中受试组 A、B、C 大鼠血浆中黄芩苷浓度-时间曲线图。

图 2 是试验例 2 中受试组 A、B、C 大鼠血浆中黄芩素浓度-时间曲线图。

具体实施方式

以下对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于示例性地对本发明进行说明,并不用于限制本发明。

以下实施例 1-5 中,采用高效液相色谱法 (HPLC 法) 测定所得黄酮多酚类药物-磷脂复合物中黄酮多酚类药物与磷脂的复合率。

HPLC 色谱条件:

色谱柱: Agilent ZORBAX SB C18 柱(250mm×4.6mm, 5μm);

流动相: 0.05%磷酸-甲醇(35:65, v/v);

流速: 1.0mL/min;

柱温: 25℃ (常温);

进样量: 10μL 检测波长: 275nm。

测定方法: 精密称取黄酮多酚类药物对照品 24mg, 置 10ml 容量瓶中, 加无水乙醇溶解并定容, 精密移取 1ml 置 100ml 容量瓶, 加无水乙醇稀释成浓度为 24μg/ml 的溶液, 作为对照品溶液。精密称取 135mg 黄酮多酚类药物-磷脂复合物, 置 50ml 容量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1ml, 置 25ml 容量瓶中, 加入无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试液 A。精密称取 135mg 黄酮多酚类药物-磷脂复合物,

置 50ml 容量瓶中, 加正己烷溶解并定容, 摇匀, 经 0.45um 有机膜过滤。精密移取续滤液 1ml 于 25ml 容量瓶中, 氮吹除去溶剂, 加入无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试液 B。分别精密量取对照液、供试液 A 和 B 各 10 μ l, 照上述 HPLC 方法依法测定, 记录色谱图, 根据峰面积按外标法计算黄酮多酚类药物-磷脂复合物的含量, 分别记为 $W_{总}$ 和 $W_{复合}$ 。

5 $W_{总}$ 和 $W_{复合}$ 。

复合率计算公式:

$$\text{复合率}\% = (W_{复合}/W_{总}) * 100\%$$

实施例 1 采用不同药脂比 (黄芩素原料药与大豆磷脂质量比) 制备黄芩素-磷脂复合物。

10 按表 1 的药脂比精密称取黄芩素原料药和大豆磷脂, 置于 1000ml 旋蒸瓶中, 加入适量四氢呋喃混合摇匀, 待黄芩素原料药与磷脂溶解完全且复合溶液澄清后, 放置 15~30min, 置于旋蒸仪上, 40℃ 挥干溶剂。待旋蒸瓶中物体起泡呈蜂窝状后, 继续旋蒸 1~2h, 制备完成, 将其放入干燥箱中干燥 3d 后, 轻轻刮下黄芩素-磷脂复合物固体, 置于干燥箱内保存备用。

15 表 1 不同药脂比的黄芩素-磷脂复合物处方及其复合率

复合物编号	BAPC-1	BAPC-2	BAPC-3	BAPC-4	BAPC-5
药脂比 (w:w)	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7
复合率 (%)	99.5	100.5	99.3	100.2	99.1

实施例 2 采用不同有机溶剂制备黄芩素-磷脂复合物

采用实施例 1 相同的方法, 所不同的是: 按黄芩素原料药与大豆磷脂的质量比(w/w)为 1: 3.5 投料, 分别采用乙酸乙酯、甲醇、丙酮、乙醇、无水乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、乙醚、甲基乙基醚、二氧六环、丁酮、石油醚、己烷、环己烷、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、DMSO、DMF 作为反应溶剂, 制备黄芩素-磷脂复合物, 并考察复合率。

结果表明, 采用上述有机溶剂作为反应溶剂时, 所得所有的黄芩素-磷脂复合物的复合率均大于 80%。

实施例 3 采用不同磷脂制备黄芩素-磷脂复合物

25 采用实施例 1 相同的方法, 所不同的是: 按黄芩素原料药与磷脂的质量比(w/w)为 1: 3.5 投料, 分别采用天然磷脂: 蛋黄磷脂或大豆磷脂等, 或合成磷脂: 磷酸甘油酯、鞘磷

脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、甘油磷脂酸、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺或二肉蔻酰磷脂酰胆碱为脂质材料，制备黄芩素-磷脂复合物，并分别考察复合率。

结果表明，采用上述磷脂制备的所有黄芩素-磷脂复合物的复合率均在 80%以上。

5 **实施例 4 采用不同来源的黄芩素原料药制备黄芩素-磷脂复合物**

采用实施例 1 相同的方法，所不同的是：按黄芩素原料药与大豆磷脂的质量比(w/w)为 1: 3.5 投料，所述黄芩素原料药分别采用化学合成的黄芩素或中药提取的黄芩素提取物（黄芩素含量≥50%）制备系列黄芩素-磷脂复合物。并考察复合率。

该实施例所使用的合成黄芩素：购自南京泽郎生物科技有限公司。

10 该实施例所使用的黄芩素提取物采用以下方法制备：将黄芩药粉过 20 目筛，加 5 倍量水，在 38℃下酶解 24h，干燥至恒重得黄芩酶解药粉，再分别加 10 倍量不同浓度乙醇（10%、30%、50%、70%、100%），在超声功率为 70%下提取 3 次，每次 20min，过滤。将滤液减压蒸馏并干燥至恒重，得到不同含量的黄芩素提取物。

结果，所有的黄芩素/磷脂的复合率均在 80%以上。

15 **实施例 5 制备不同的黄酮多酚类药物-磷脂复合物**

采用实施例 1 相同的方法，所不同的是：分别采用原花青素、槲皮素、姜黄素、白藜芦醇与大豆磷脂按质量比(w/w)1: 3.5 投料，制备系列黄酮多酚类药物-磷脂复合物。结果表明药物复合率均在 90%以上，见表 2。

表 2 不同黄酮多酚类药物-磷脂复合物的药物复合率

复合物编号	BAPC-6	BAPC-7	BAPC-8	BAPC-9
药物	原花青素	槲皮素	姜黄素	白藜芦醇
复合率(%)	98.2	99.1	97.8	99.5

20

以下实施例、对比例和试验例中，

1、所得黄酮多酚类药物自乳化组合物的乳化粒径按如下方法测定：

用移液枪移取 200μl 黄酮多酚类药物自乳化组合物缓慢加入 20ml 蒸馏水中（37℃水浴，缓慢搅拌），记录黄酮多酚类药物自乳化组合物乳化时间，并取乳化后的溶液用激光粒度仪直接测定其粒径。

25

2、所得黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量按如下方法测定：

精密称取 0.5g 黄酮多酚类药物自乳化组合物置 10ml 容量瓶中，用无水乙醇溶解并

稀释至刻度，摇匀。精密量取 1ml，置 50ml 容量瓶中，加入 95%乙醇（含 0.02%VC）溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。另精密称取黄酮多酚类药物原料药 30mg，置 25ml 容量瓶中，加无水乙醇溶解并定容，精密移取 1ml 置 50ml 容量瓶，加入 95%乙醇（含 0.02%VC）稀释成浓度为 24 μ g/ml 的溶液，作为对照品溶液。精密量取供试品溶液和对照品溶液各 10 μ l 注入液相色谱仪进行分离分析，色谱柱为 Agilent ZORBAX SB C18 柱(250mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m)，流动相为 0.05%磷酸-甲醇(35:65, v/v)，流速为 1.0mL/min，柱温为 25 $^{\circ}$ C，检测波长为 275nm。记录色谱图，根据峰面积按照外标法计算黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量。

10 实施例 6 黄酮多酚类药物自乳化组合物所用油相、乳化剂和助乳化剂以及三者比例的筛选

a、黄芩素自乳化组合物的初步制备

（1）按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料，以四氢呋喃为反应溶剂，经复合反应后，去除有机溶剂，干燥，得黄芩素-磷脂复合物；

（2）以油酸乙酯为油相，辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯（labraosol）-为乳化剂，transcutol HP 为助乳化剂。按 2：5：3 的比例，精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内，混合均匀，得空白自乳化浓缩液；

（3）称取适量（空白自乳化浓缩液重量的 30%）步骤（1）的黄芩素-磷脂复合物，置于步骤（2）的空白自乳化浓缩液中，并将其置于空气浴振荡器中，温度 25 $^{\circ}$ C，转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后，得黄芩素自乳化组合物。

结果表明，所制备的黄芩素自乳化组合物为均一溶液，可在 2min 中内乳化完全，且粒径在 10-1000nm 范围内。

b、采用不同乳化剂制备黄芩素自乳化组合物

采用上述 a、中相同的方法制备黄芩素自乳化组合物，所不同的是：以 PEG-400、吐温 80、吐温 60、吐温 20、吐温 85、Span 80、油酸聚乙二醇甘油酯（labrafil $\text{\textcircled{R}}$ 1944cs）、亚油酸聚乙二醇甘油酯（Labrafil $\text{\textcircled{R}}$ M2125CS）、磷脂、辛基苯基聚氧乙烯醚（Triton X-100）中的一种、或辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯与吐温 80 的组合、或辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯与 PEG-400 的组合、或辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯与辛基苯基聚氧乙烯醚的组合、或辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯与磷脂的组合、或吐温 80 与 PEG-400 的组合、或吐温 80 与辛基苯基聚氧乙烯醚的组合、或吐温 80 与磷脂的组合代替 labrasol 为乳化剂，制备黄芩素自乳化组合物。

结果表明,所制备的黄芩素自乳化组合物为均一溶液,可在 2min 中内乳化完全,且粒径在 10-1000nm 范围内。

c、采用不同助乳化剂制备黄芩素自乳化组合物

采用上述 a、中相同的方法制备黄芩素自乳化组合物,所不同的是:以乙醇、丙二醇、
5 聚乙二醇、碳酸丙二酯、乙二醇单乙基醚、甘油糠醛、二甲基异山梨酯、transcutol P、PEG400、甘油、labraosol、苯甲醇中的一种、或 transcutol HP 与乙醇的组合、或 transcutol HP 与丙二醇的组合、或 transcutol HP 与 PEG400 的组合、或 transcutol HP 与甘油的组合、或 transcutol HP 与乙二醇单乙基醚的组合、或 labraosol 与乙醇的组合、或 labraosol 与丙二醇的组合、或 labraosol 与 PEG400 的组合、或 labraosol 与甘油组合,代替 transcutol
10 HP 为助乳化剂,以吐温 80 为乳化剂,制备黄芩素自乳化组合物。

结果表明,所制备的黄芩素自乳化组合物为均一溶液,可在 2min 中内乳化完全,且粒径在 10-1000nm 范围内。

d、采用不同油相制备黄芩素自乳化组合物

采用上述相同的方法制备黄芩素自乳化组合物,所不同的是:以大豆油、玉米油、
15 橄榄油、椰子油、花生油、山茶油、蓖麻油、油酸山梨醇酯、油酸甘油酯,亚油酸甘油酯、油酸聚乙二醇甘油酯(labrafil® 1944cs)、Maisine35-1、亚油酸乙酯、C8/C10 甘油单酯、椰子油 C8/C10 甘油双酯、椰子油 C8/C10 甘油三酯、辛酸甘油三酯、辛酸甘油二酯、辛酸甘油单酯、癸酸甘油单酯、癸酸甘油二酯、癸酸甘油三酯、辛癸酸甘油单酯、辛癸酸甘油酯、辛癸酸甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯(Labrafil®
20 M2125CS)、Gelucire、Capryol 90 中的一种,或油酸乙酯与辛癸酸甘油酯的组合,或油酸乙酯与肉豆蔻酸异丙酯的组合,或油酸乙酯与大豆油的组合,或亚油酸聚乙二醇甘油酯与亚油酸乙酯的组合,或亚油酸聚乙二醇甘油酯与橄榄油的组合,或亚油酸聚乙二醇甘油酯与辛酸甘油单酯的组合代替油酸乙酯为油相,以吐温 80 为乳化剂,制备黄芩素自乳化组合物。

25 结果表明,所制备的黄芩素自乳化组合物为均一溶液,可在 2min 中内乳化完全,且粒径在 10-1000nm 范围内。

e、采用不同的油相、乳化剂、助乳化剂比例制备黄芩素自乳化组合物

(1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料,以四氢呋喃为反应溶剂,经复合反应后,去除有机溶剂,干燥,得黄芩素-磷脂复合物;

30 (2) 以油酸乙酯为油相,吐温 80 为乳化剂,transcutol HP 为助乳化剂。按三者的组

成质量比总和为 100%计,以油相:乳化剂:助乳化剂=10%: 60%: 30%、或 20%: 50%: 30%、或 20%: 40%: 40%的比例,精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内,混合均匀,得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取适量(空白自乳化浓缩液重量的 30%)步骤(1)的黄芩素-磷脂复合物置于步骤(2)的空白自乳化浓缩液中,并将其置于空气浴振荡器中,温度 25℃,转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后,得黄芩素自乳化组合物。

结果表明,所制备的黄芩素自乳化组合物为均一溶液,可在 2min 中内乳化完全,且粒径在 10-1000nm 范围内。

实施例 7 黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量考察

(1) 按黄酮多酚类药物(黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素、白藜芦醇)与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料,以四氢呋喃为反应溶剂,经复合反应后,去除有机溶剂,干燥,分别制得黄芩素-磷脂复合物、原花青素-磷脂复合物、槲皮素-磷脂复合物、姜黄素-磷脂复合物、白藜芦醇-磷脂复合物;

(2) 以油酸乙酯为油相, labraosol 为乳化剂, transcuto HP 为助乳化剂。按 2: 5: 3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内,混合均匀,得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取适量步骤(1)的黄芩素-磷脂复合物、原花青素-磷脂复合物、槲皮素-磷脂复合物、姜黄素-磷脂复合物、白藜芦醇-磷脂复合物,分别加入 5g 油相(油酸乙酯)或步骤(2)所得的空白自乳化浓缩液中,加热至 37℃,搅拌或剪切分别使各磷脂复合物充分混合、溶解,室温放置 24h,观察药物是否析出,如无药物析出,再分别加适量各磷脂复合物,同法操作,直至药物析出,取上清液于 12000r/min 离心 20min。然后取上清液,采用所述 HPLC 法测定上述各黄酮多酚类药物-磷脂复合物在油相和空白自乳化浓缩液中的饱和溶解度。

测试结果表明,黄芩素-磷脂复合物可使黄芩素在油中的饱和溶解度从 0.3mg/g 增加至 60mg/g 以上,可使黄芩素在空白自乳化浓缩液中的饱和溶解度(即黄芩素自乳化组合物的载药量)从 20mg/g 增加至 100mg/g 以上。

测得原花青素、槲皮素、姜黄素、白藜芦醇的磷脂复合物使其各自的原料药在油中的饱和溶解度可达 60mg/g 以上,在空白自乳化浓缩液中的饱和溶解度可达 100mg/g 以上。

以上试验表明,本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量高。

实施例 8: 以黄芩素-磷脂复合物为中间体采用不同的油相制备黄芩素自乳化组合物

(1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料, 以四氢呋喃为反应溶剂, 经复合反应后, 去除有机溶剂, 干燥, 得黄芩素-磷脂复合物;

(2) 以 labrosol 为乳化剂, transcuto HP 为助乳化剂, 采用下表 3 所示不同的油相, 按 2: 5: 3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取适量步骤 (1) 的黄芩素-磷脂复合物 (按照载药量为 50mg/g 投料) 置于步骤 (2) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒径, 结果见表 3。

表 3 不同油相制备的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	油相	载药量 (mg/g)	乳化时间 (min)	粒径 (nm)
SEDDS-1	大豆油	50.23	1	320
SEDDS-2	蓖麻油	50.76	1	150
SEDDS-3	油酸乙酯	50.15	1	280
SEDDS-4	肉豆蔻酸异丙酯	50.34	1	403
SEDDS-5	油酸乙酯: 辛酸甘油酯 (1: 1)	50.54	1	230

实施例 9: 以黄芩素-磷脂复合物为中间体采用不同的乳化剂制备黄芩素自乳化组合物

(1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料, 以四氢呋喃为反应溶剂, 经复合反应后, 去除有机溶剂, 干燥, 得黄芩素-磷脂复合物;

(2) 以油酸乙酯为油相, transcuto HP 为助乳化剂, 采用下表 4 所示不同的乳化剂, 按 2: 5: 3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取适量 (按照载药量为 50mg/g 投料) 步骤 (1) 的黄芩素-磷脂复合物置于步骤 (2) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。

待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒

径, 结果见表 4。

表 4 不同乳化剂制备的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	乳化剂	载药量 (mg/g)	乳化时间 (min)	粒径 (nm)
SED DS-6	labrasol	50.28	1	280
SED DS-7	吐温 80	50.34	1	335
SED DS-8	Triton X-100	50.68	1	280
SED DS-9	labrafil ® 1944cs	50.10	1	200
SED DS-10	Span 80	50.27	1	450

实施例 10: 以黄芩素-磷脂复合物为中间体采用不同的助乳化剂制备黄芩素自乳化组合物

- 5 (1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料, 以四氢呋喃为反应溶剂, 经复合反应后, 去除有机溶剂, 干燥, 得黄芩素-磷脂复合物;
- (2) 以油酸乙酯为油相, labrasol 为乳化剂, 采用下表 5 所示不同的助乳化剂, 按 2: 5: 3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;
- 10 (3) 称取适量(按照载药量为 50mg/g 投料) 步骤(1) 的黄芩素-磷脂复合物置于步骤(2) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒径, 结果见表 5。

表 5 不同助乳化剂制备的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	助乳化剂	载药量 (mg/g)	乳化时间 (min)	粒径 (nm)
SED DS-11	transcutol HP	50.54	1	280
SED DS-12	Capryol 90	50.42	1	450
SED DS-13	乙醇	50.41	1	170
SED DS-14	丙二醇	50.23	1	300
SED DS-15	甘油	50.19	1	610

- 15 **实施例 11: 以黄芩素-磷脂复合物为中间体, 采用不同的油相: 乳化剂: 助乳化剂比例制备黄芩素自乳化组合物**

(1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料, 以四氢呋喃为反应溶剂, 经复合反应后, 去除有机溶剂, 干燥, 得黄芩素-磷脂复合物;

(2) 以油酸乙酯为油相, labrosol 为乳化剂, transcutol HP 为助乳化剂, 采用下表 6 所示不同的油相: 乳化剂: 助乳化剂比例, 精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取适量(按照载药量为 50mg/g 投料) 步骤(1) 的黄芩素-磷脂复合物置于步骤(2) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒径, 结果见表 6。

表 6 不同油相: 乳化剂: 助乳化剂比例制备的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	油: 乳: 助(w/w)	载药量(mg/g)	乳化时间(min)	粒径(nm)
SEDDS-16	2: 4: 4	50.31	1	730
SEDDS-17	2: 5: 3	50.29	1	280
SEDDS-18	2: 6: 2	50.51	1	260
SEDDS-19	3: 4: 3	50.30	1	440
SEDDS-20	3: 5: 2	50.11	1	370

实施例 12: 以黄芩素-磷脂复合物为中间体制备不同载药量的黄芩素自乳化组合物

(1) 按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料, 以四氢呋喃为反应溶剂, 经复合反应后, 去除有机溶剂, 干燥, 得黄芩素-磷脂复合物;

(2) 以油酸乙酯为油相, labrosol 为乳化剂, transcutol HP 为助乳化剂, 按 2: 5: 3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

(3) 称取不同质量的步骤(1) 的黄芩素-磷脂复合物置于步骤(2) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得不同载药量的黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒径,

结果见表 7。

表 7 不同载药量的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	载药量(mg/g)	乳化时间(min)	粒径(nm)
-------	-----------	-----------	--------

SEDDS-21	20.18	1	98
SEDDS-22	50.14	1	280
SEDDS-23	70.44	1	400
SEDDS-24	80.65	1	480
SEDDS-25	100.27	1	500

实施例 13: 以不同的药脂比的黄芩素-磷脂复合物为中间体制备黄芩素自乳化组合物

(1) 以油酸乙酯为油相, labrosol 为乳化剂, transcuto HP 为助乳化剂, 按 2: 5: 3 的比例, 精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

- 5 (2) 称取实施例 1 所得的系列黄芩素-磷脂复合物 (按照载药量 100mg/g 投料) 置于步骤(1)的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后, 得黄芩素自乳化组合物, 同时测定其载药量和乳化粒径, 结果见表 8。

表 8 不同药脂比的黄芩素-磷脂复合物制备的黄芩素自乳化组合物

组合物编号	黄芩素-磷脂复合物编号	载药量 (mg/g)	乳化时间 (min)	粒径 (nm)
SEDDS-26	BAPC-1	100.12	1	472
SEDDS-27	BAPC-2	100.23	1	513
SEDDS-28	BAPC-3	100.33	1	535
SEDDS-29	BAPC-4	100.41	1	564
SEDDS-30	BAPC-5	100.27	1	593

10 **实施例 14: 制备不同的黄酮多酚类药物自乳化组合物**

(1) 以油酸乙酯为油相, labrosol 为乳化剂, transcuto HP 为助乳化剂, 按 2: 5: 3 的比例, 精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内, 混合均匀, 得空白自乳化浓缩液;

- 15 (2) 称取表 2 中系列黄酮多酚类药物-磷脂复合物 (制备组合物 SEDDS-31、SEDDS-32、SEDDS-33、SEDDS-34, 磷脂复合物按照载药量为 20mg/g 投料; 制备组合物 SEDDS-35、SEDDS-36、SEDDS-37、SEDDS-38, 磷脂复合物按照载药量为 100mg/g 投料) 置于步骤 (1) 的空白自乳化浓缩液中, 并将其置于空气浴振荡器中, 温度 25℃, 转速 210rpm。待黄酮多酚类药物-磷脂复合物溶解完全后, 得黄酮多酚类药物自乳化组合物

物，同时测定其载药量和乳化粒径，得到不同载药量和不同粒径的黄酮多酚类药物自乳化组合物，结果见表 9。

表 9 不同黄酮多酚类药物-磷脂复合物制备的黄酮多酚类药物自乳化组合物

组合物编号	磷脂复合物 编号	载药量 (mg/g)	乳化时间 (min)	粒径 (nm)
SEDDS-31	BAPC-6	20.05	1	85
SEDDS-32	BAPC-7	20.71	1	92
SEDDS-33	BAPC-8	20.32	1	76
SEDDS-34	BAPC-9	20.18	1	105
SEDDS-35	BAPC-6	100.22	1	476
SEDDS-36	BAPC-7	100.47	1	535
SEDDS-37	BAPC-8	100.32	1	512
SEDDS-38	BAPC-9	100.13	1	581

5 从实施例 6 到实施例 14 的结果可以看出，本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物均能快速乳化形成纳米级乳滴。实施例 7 至实施例 12 制备了不同载药量的黄酮多酚类药物自乳化组合物，根据需要，本发明的黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量高达 100mg/g 以上。

10 试验例 1：本发明黄芩素自乳化组合物、文献 2-7 的黄酮多酚类自微乳、以及对比例 1 的自乳化组合物的物理稳定性考察

(1) 对比例 1 包载黄芩素原料药的黄芩素自乳化组合物制备

以油酸乙酯为油相，吐温 80 为乳化剂，transcutol HP 为助乳化剂。按 2：5：3 的比例精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内，混合均匀，得空白自乳化浓缩液，
15 再称取黄芩素原料药置空白自乳化浓缩液中，并将其置于空气浴振荡器中，温度 25℃，转速 210rpm，振荡 24h，12000 rpm 离心 15min，取上清液即制得所述包载黄芩素原料药的黄芩素自乳化组合物。(2) 对比例 2 水飞蓟素磷脂复合物自乳化组合物的制备

按文献【刘琳婕.水飞蓟素及其磷脂复合物自微乳化胶囊的研究.[D].沈阳，沈阳药科大学，2007】方法，以丙酮为反应溶剂，水飞蓟素、大豆磷脂质量比为 1：1，55℃加热
20 回流，减压浓缩至液体体积为后，迅速加入到正己烷中，得黄色沉淀物，上层液体为黄

白色乳浊液，减压过滤，用正己烷洗涤沉淀，置于真空干燥箱中室温干燥，得黄白色固体产物，即水飞蓟素磷脂复合物。称取 70 g 水飞蓟素磷脂复合物，加 250 g 油酸乙酯与 MCT 的混合物(1:1)，涡旋混合使之溶解，加入 200 g Cremophor EL，以及 50 g Transcutol，37 °C 水浴中温和搅拌即得。

- 5 (3) 按文献 2-7 所述处方和制备方法（如本申请背景技术中所述），分别制得原花青素自微乳 YZ-1、槲皮素自微乳 YZ-2、姜黄素自微乳 YZ-3、白藜芦醇自微乳 YZ-4、黄芩素自微乳 YZ-5 和黄芩素自微乳 YZ-6。

- (4) 将 YZ-1, YZ-2, YZ-3, YZ-4, YZ-5, YZ-6, 对比例 1 的自乳化组合物, 对比例 2 的水飞蓟素自乳化组合物, 本发明中上述实施例制备的黄芩素自乳化组合物, 原花青素自乳化组合物, 槲皮素自乳化组合物, 姜黄素自乳化组合物和白藜芦醇自乳化组合物, 在 4°C 和室温分别放置 5 天、1 月及 2 月, 观察外观性状的变化, 进行物理稳定性考察, 相关结果见表 10。

表 10

名称		初始	5 天		1 月		2 月	
			4°C	室温	4°C	室温	4°C	室温
YZ-1		澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	药物析出
YZ-2		澄清透明	析出	澄清透明	析出	药物析出	析出	药物析出
YZ-3		澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	药物析出	半固体	药物析出
YZ-4		澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	药物析出
YZ-5		澄清透明	药物析出	澄清透明	药物析出	药物析出	药物析出	药物析出
YZ-6		澄清透明	半固体	澄清透明	半固体	药物析出	半固体	药物析出
对比例 1		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	药物析出	澄清透明

对比例 2		澄清透明	药物析出	澄清透明	药物析出	澄清透明	药物析出	澄清透明
SEDDS-4		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-8		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-12		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-16		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-25		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-29		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-31		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-32		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-33		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-34		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-35		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-36		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-37		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明
SEDDS-38		澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明

		明	透明	透明	透明	透明	透明	透明
--	--	---	----	----	----	----	----	----

结果表明：按文献 2-7，以及对比例 1 和对比例 2 制备的系列黄酮多酚类药物自乳化组合物，4℃放置后易形成半固体或析出，室温放置 1-2 个月即发生药物析出，稳定性较差。

5 本发明的以黄酮多酚类药物-磷脂复合物为载体的黄酮多酚类药物自乳化组合物在 4℃以及室温放置 2 个月后，外观性状依然澄清透明，稳定性高。

试验例 2：血浆药代动力学研究

(1) 制备以黄芩素-磷脂复合物为中间体的黄芩素自乳化组合物

10 ①按黄芩素与大豆磷脂的质量比(w/w)1:3.5 投料，以四氢呋喃为反应溶剂，经复合反应后，去除有机溶剂，干燥，得黄芩素-磷脂复合物；②以油酸乙酯为油相，吐温 80 为乳化剂，transcutol HP 为助乳化剂，按 2: 5: 3 的比例，精密称取油相、乳化剂和助乳化剂于适当容器内，混合均匀，得空白自乳化浓缩液；③称取适量步骤①的黄芩素-磷脂复合物置于步骤②的空白自乳化浓缩液中，并将其置于空气浴振荡器中，温度 25℃，转速 210rpm。待黄芩素-磷脂复合物溶解完全后，得黄芩素自乳化组合物。该组合物用 100 倍
15 水稀释后 1min 内乳化完全，测定其粒径为 10nm，载药量为 20mg/g。

(2) 试验分组

受试组 A：给予上述 (1) 中制得的本发明的以黄芩素-磷脂复合物为中间体的黄芩素自乳化组合物（以下标记为 BAPC-SMEDDS）

20 受试组 B：给予对比例 1 中包载黄芩素原料药的黄芩素自乳化组合物（以下标记为 OBA -SMEDDS）

受试组 C：给予黄芩素原料药（以下标记为 BA）

(3) 试验动物

Sprague-Dawley 大鼠，雄性，200g。大鼠试验前喂养一周，试验前一夜禁食，不禁水，实验期间自由饮水。

25 (4) 给药方式及剂量

大鼠 15 只，随机分成 3 组（分别为受试组 A、受试组 B、受试组 C），每组各 5 只。按 40mg/kg 剂量灌胃给药（2~3ml），给药后分别于 5，15，30，45，60，75min 和 3、6、8、10、12、24h 眼眶后静脉丛取血 0.3mL，置预先肝素化的 1.5mL 尖底离心管中，4000r/min 离心 15min，吸取上层血浆，置-80℃冰箱保存，测定前常温放置解冻。

(5) 血药浓度测定

血浆样品处理：取血浆 100μL，置 1.5mL 尖底离心管，加入抗坏血酸 10μL (200mg/mL)、内标溶液 20μL (500ng/ml)，再加入 300μL 甲醇，涡旋混合 60s，于 12,000 r/min 离心 10min，然后吸取上清液，置离心管中，离心浓缩挥去溶剂 (40℃)，
5 再加 200μL 甲醇：水 (80：20) 溶解，涡旋 30s 后，于 12000 r/min 离心 5min，取上清液 20μL 进样，按拟定的下述色谱条件测定血药浓度 (液相色谱-质谱联用)。

HPLC 色谱条件：

色谱柱为 Agilent ZORBAX SB C18 柱 (250mm×4.6mm，5μm)；

流速为 1.0mL/min；

10 进样体积为 20μL；

柱温为 25℃；

流动相 (梯度洗脱见表 11)：洗脱剂为乙腈-0.1%甲酸。

表 11 LC 流动相梯度洗脱

时间 (min)	流速 (mL/min)	洗脱剂百分比 (%) (v/v)	
		乙腈	0.1%甲酸
0	1.0	20	80
5	1.0	30	70
20	1.0	50	50
25	1.0	20	80
30	1.0	20	80

质谱条件：

15 离子源为电喷雾离子源 (ESI)，正离子方式检测，多离子反应监测模式 (MRM)；
其他参数：雾化器压力 40 psi，干燥气流速 9 L/min，干燥气温度 350℃，毛细管电压 4000 V，分流比 1：2。

用于定量的 MRM 检测离子对：黄芩苷 [M+H]⁺+447.0→271.1；

黄芩素 [M+H]⁺+271.1→122.8；

20 6-羟基黄铜 [M+H]⁺+239.0→137.0。

(6) 试验结果

6.1 黄芩素口服进入体内后会在肠道上皮细胞和肝脏组织被快速代谢为黄芩苷，血浆中黄芩苷浓度-时间曲线和相关药代参数如图 1 及表 12 所示。

结果表明：本发明黄芩素-磷脂复合物为中间体的黄芩素自乳化组合物的 $C_{\max}$ 相比于黄芩素原料药和包载黄芩素原料药的黄芩素自乳化组合物分别提高了 7.7 倍和 1.9 倍， $AUC_{(0-t)}$ 分别提高了 4.5 倍和 1.3 倍。以血浆中黄芩苷浓度计算的 BAPC-SMEDDS 和 OBA-SMEDDS（相对于黄芩素原料药）的相对生物利用度分别为 448.7%和 342.5%。

5

表 12 黄芩苷血浆药代参数

名称	单位	BAPC-SMED DS	OBA-SMED DS	BA
AUC(0-t)	mg/L*min	3802.1±1194.3	2901.7±210.9	847.3±302.003
AUC(0-∞)	mg/L*min	3823.3±1198.7	2939.2±220.8	848.9±301.8
MRT(0-t)	min	320.0±44.5	420.2±69.2	354.9±34.4
MRT(0-∞)	min	327.6±47.0	436.2±88.8	357.7±36.5
Tmax	min	42.0±26.8	45.0±18.4	57.0±16.4
Cmax	mg/L	15.3±2.2	8.2±1.9	2.0±0.6
相对生物利用度	%	448.7	342.5	100.0

6.2 血浆中黄芩素浓度-时间曲线和相关药代参数如图 2 及表 13 所示，本发明黄芩素-磷脂复合物为中间体的黄芩素自乳化组合物的 $C_{\max}$ 相比于黄芩素原料药和包载黄芩素原料药的黄芩素自乳化组合物分别提高了 4.6 倍和 1.9 倍， $AUC_{(0-t)}$ 分别提高了 3.7 倍和 1.2 倍。以血浆中黄芩素浓度计算的 BAPC-SMEDDS 和 OBA-SMEDDS（相对于黄芩素原料药）的相对生物利用度分别为 374.4%和 302.3%。

10

表 13 黄芩素血浆药代参数

名称	单位	BAPC-SMED DS	OBA-SMEDDS	BA
AUC(0-t)	μg/L*min	59404.7±18640.9	47961.5±10615.8	15864.8±8964.4
AUC(0-∞)	μg/L*min	59612.0±18614.0	51506.9±10466.6	15880.4±8996.5
MRT(0-t)	min	254.2±41.1	355.1±71.4	239.8±51.6
MRT(0-∞)	min	259.6±48.9	476.3±234.6	240.5±52.8
Tmax	min	48.0±16.4	39.0±27.2	75.0±64.5
Cmax	μg/L	451.0±365.6	238.0±72.5	99.1±42.0
相对生物利用度	%	374.4	302.3	100.0

权 利 要 求 书

1. 一种黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，包含黄酮多酚类药物-磷脂复合物、油相、乳化剂和助乳化剂，所述黄酮多酚类药物包括选自黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇中的一种或多种；

可选地，所述黄酮多酚类药物还可以包括黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素和白藜芦醇以外的其他黄酮多酚类药物，所述其他黄酮多酚类药物为选自汉黄芩素、阿魏酸、儿茶素、厚朴酚、和厚朴酚、芹菜素、陈皮素、鱼藤酮、补骨脂乙素、金鱼草素、飞燕草素、银杏素中的一种或多种；

可选地，所述黄酮多酚类药物为黄芩素、原花青素、槲皮素、姜黄素或白藜芦醇；

可选地，所述黄酮多酚类药物自乳化组合物的载药量为 10-110mg/g，优选 10-100mg/g；

可选地，所述黄酮多酚类药物自乳化组合物的粒径为 10-1000nm。

2. 根据权利要求 1 所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述黄酮多酚类药物-磷脂复合物中，黄酮多酚类药物与磷脂的质量比为 1:1-1:15，可选为 1:1-1:8。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述磷脂为选自天然磷脂、合成磷脂材料中的一种或多种；

可选地，所述天然磷脂包括选自大豆磷脂和蛋黄磷脂中的一种或多种；

可选地，所述合成磷脂包括选自磷酸甘油酯、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、甘油磷脂酸、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺、二肉蔻酰磷脂酰胆碱中的一种或多种；优选为选自磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、甘油磷脂酸中的一种或多种。

4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述的油相为选自植物油、植物油衍生物中的一种或多种；

可选地，所述植物油包括选自大豆油、玉米油、橄榄油、椰子油、花生油、山茶油、蓖麻油中的一种或多种；

可选地，所述植物油衍生物包括选自油酸山梨醇酯、油酸甘油酯、亚油酸甘油酯、油酸聚乙二醇甘油酯、单亚油酸甘油酯、油酸乙酯、亚油酸乙酯、C8/C10 甘油单酯、椰子油 C8/C10 甘油双酯、椰子油 C8/C10 甘油三酯、辛酸甘油三酯、辛酸甘油二酯、辛酸甘油单酯、癸酸甘油单酯、癸酸甘油二酯、癸酸甘油三酯、辛癸酸甘油单酯、辛癸酸甘油酯、辛癸酸甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯、月桂酸聚乙二醇甘油酯、丙二醇单辛酸酯中的一种或多种；

优选地，所述油相为选自大豆油、蓖麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、辛酸癸酸甘油酯中的一种或多种。

- 5 5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述乳化剂为选自辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯、聚乙二醇、吐温、司盘 80、油酸聚乙二醇甘油酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯、磷脂、辛基苯基聚氧乙烯醚中的一种或多种；

优选为辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯、吐温 80、吐温 85、辛基苯基聚氧乙烯醚、油酸聚乙二醇甘油酯中的一种或多种。

- 10 6. 根据权利要求 1-5 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，所述的助乳化剂为选自乙醇、丙二醇、碳酸丙二酯、乙二醇单乙基醚、甘油糠醛、二甲基异山梨酯、丙二醇单辛酸酯、二乙二醇单乙基醚、聚乙二醇、甘油、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯、苯甲醇中的一种或多种；

优选为二乙二醇单乙基醚、聚乙二醇 400、乙醇、丙二醇单辛酸酯中的一种或多种。

- 15 7. 根据权利要求 1-6 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，其特征在于，以油相、乳化剂与助乳化剂三者的总质量比为 100%计，油相为 10-50%（优选为 20-40%），乳化剂为 30-60%（优选为 40-60%），助乳化剂 20-60%（优选为 30-50%）。

8. 权利要求 1-7 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物的制备方法，其特征在于，包括如下制备步骤：

（1）黄酮多酚类药物-磷脂复合物的制备：取黄酮多酚类药物与磷脂，溶解于有机溶剂中，经复合反应后，去除有机溶剂，干燥，即得；

- 20 可选地，所述有机溶剂为选自乙酸乙酯、四氢呋喃、甲醇、丙酮、乙醇、无水乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、乙醚、甲基乙基醚、二氧六环、丁酮、石油醚、己烷、环己烷、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、DMSO、DMF 中的一种或多种，优选为乙酸乙酯、四氢呋喃、甲醇、乙醇、环己烷、DMSO、DMF 中的一种或多种。

- 25 （2）黄酮多酚类药物自乳化组合物的制备：将步骤（1）所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物与油相、乳化剂和助乳化剂以任意的顺序充分混合；

可选地，将步骤（1）所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物与油相、乳化剂和助乳化剂直接充分混合；

- 30 或者，先将油相、乳化剂和助乳化剂混合均匀，制备空白自乳化浓缩液，然后将步骤（1）所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物加入至所制得的空白自乳化浓缩液中，充分混合；

或者，将步骤（1）所得的黄酮多酚类药物-磷脂复合物先溶于油相、乳化剂或助乳化剂中的任一者中，再加入另外两种成分，充分混合。

9. 一种药物组合物，其特征在于，包含权利要求 1-7 任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物以及任选存在的药学上可接受的辅料；

5 可选地，所述药物组合物的剂型包括：口服制剂、注射制剂、经皮给药制剂、粘膜给药制剂、肺部吸入给药制剂或肠道给药制剂；

可选地，所述药物组合物的剂型包括：滴剂、口服液、片剂、胶囊剂、颗粒剂、冲剂、膜剂、凝胶剂、散剂、乳剂、滴丸剂、栓剂、气雾剂、喷雾剂、粉雾剂、贴剂、贴膏剂、溶液剂、软膏剂或乳膏剂。

10 10. 权利要求1-7任一项所述的黄酮多酚类药物自乳化组合物，或者权利要求9所述的药物组合物在制备抗菌、抗病毒、抗炎、抑制变态反应、调节免疫、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、抗紫外辐射、治疗激素缺乏、抗高血压、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗老年痴呆、治疗手足口病、抗骨质疏松或保护肝脏的药物中的用途。