

文章编号: 1006-2858(2007)08-0474-05

# 红树林真菌草酸青霉(092007)的环二肽类成分

刘海滨<sup>1</sup>, 高 昊<sup>1</sup>, 王乃利<sup>2</sup>, 林海鹏<sup>3</sup>, 洪 葵<sup>3</sup>, 姚新生<sup>1</sup>

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 深圳市创新中药及天然药物研究重点实验室, 广东 深圳 518055; 3. 中国热带生物技术研究所, 海南 海口 571101)

**摘要:** 目的 研究海南文昌红树林真菌草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)的代谢产物,寻找新的抗肿瘤活性化合物。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱及制备型高效液相色谱等方法进行分离,通过化合物的理化性质及各种波谱技术鉴定它们的结构,采用 MTT 法评价化合物体外细胞毒活性。结果 从真菌菌丝体的丙酮提取物中分离得到 6 个环二肽类化合物,鉴定其结构分别为:环(苯丙-异亮)二肽[cyclo-(Phe-Ile)](1)、环(苯丙-缬)二肽[cyclo-(Phe-Val)](2)、环(异亮-亮)二肽[cyclo-(Ile-Leu)](3)、环(缬-缬)二肽[cyclo-(Val-Val)](4)、环(脯-缬)二肽[cyclo-(Pro-Val)](5)、环(脯-甘)二肽[cyclo-(Pro-Gly)](6)。体外活性表明:化合物 1、3 和 5 在 50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  下对肝癌细胞 Hep G- 的抑制率分别为 31%、32%、17%,对前列腺癌细胞 LNCaP 抑制率分别为 50%、43%、53%。结论 这些化合物均为首次从该属真菌的代谢产物中分离得到,其中化合物 2、3 和 5 具有一定的细胞毒活性。

**关键词:** 红树林真菌; 草酸青霉; 环二肽; 代谢产物; 细胞毒

中图分类号: R 284 文献标志码: A

从天然产物中寻找高效低毒的抗肿瘤活性先导物和物是抗癌新药研究的重要途径。海洋微生物资源丰富,其独特的生态环境产生了与之相应的特殊代谢产物。这些代谢产物为抗肿瘤药物和先导化合物提供了重要来源<sup>[1]</sup>。肽类化合物,尤其是环肽类化合物有各种各样的生理功能,例如:抑制胰岛素分泌,控制食欲,调节能量代谢,抑菌和抗癌等<sup>[2]</sup>,因此,对环二肽类化合物的研究具有重要意义。

草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)采自文昌红树林半红树植物黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)的根中,通过体外抗肿瘤细胞活性测定,显示有较强的细

胞毒作用。该菌株经纯化后,于黄豆粉培养基上培养、发酵。作者从真菌菌丝体的丙酮提取物中分离得到 6 个环二肽类化合物,利用 IR、ESI-MS 以及一维、二维核磁共振等波谱技术确定其结构分别为:环(苯丙-异亮)二肽(1)、环(苯丙-缬)二肽(2)、环(异亮-亮)二肽(3)、环(缬-缬)二肽(4)、环(脯-缬)二肽(5)、环(脯-甘)二肽(6)。体外活性表明:化合物 2、3 和 5 在 50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  下对肝癌细胞 Hep G- 的抑制率分别为 31%、32%、17%,对前列腺癌细胞 LNCaP 抑制率分别为 50%、43%、53%,具有一定的细胞毒活性。化合物 1-6 的结构见图 1。

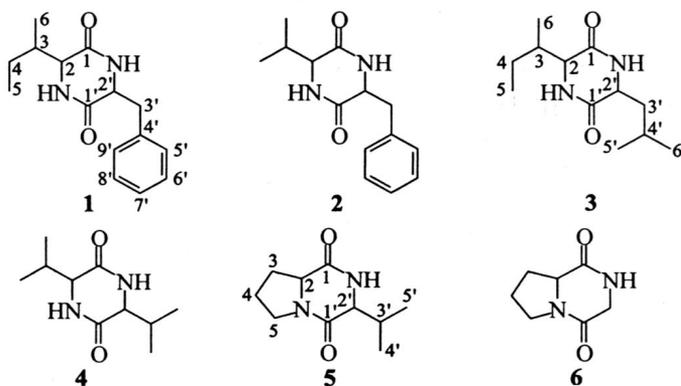


Fig. 1 The structures of compounds 1 - 6

收稿日期: 2006-09-25

基金项目: 国家高科技发展计划(863)海洋生物技术主题(2004AA628040); 科技部社会公益项目(2004DIB3J072)

作者简介: 刘海滨(1980-),男(汉族),山东茌平人,硕士研究生, E-mail bin1778@163.com; 王乃利(1950-),男(汉族),辽宁沈阳人,教授,主要从事天然药物化学研究, Tel. 0755-26957685, E-mail wangnl@sz.tsinghua.edu.cn.

## 1 仪器与材料

Yanaco 熔点测定仪(温度未校正,日本 Yanaco 公司), Ftir 8900 红外光谱仪(日本 Eyela 公司), 核磁共振仪为 Bruker AV-400(TMS 内标, 瑞士 Bruker 公司), Bruker Esquire 2000 质谱仪(瑞士 Bruker 公司)。

薄层色谱用硅胶 GF254 和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂), 反相 ODS 填料(美国 Merck 公司), Sephadex LH-20 柱凝胶(美国 Amersham Biosciences 公司), 液相用甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他所用试剂均为分析纯。

菌株是从文昌红树林半红树植物黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)的根中分离得到, 由海南热带生物技术研究所洪葵教授课题组鉴定为草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)。菌株的分离、发酵以及菌株活性筛选工作分别由海南热带生物技术研究所陈华、林海鹏、庄令完成。菌株保存在海南热带生物技术研究所。

## 2 提取与分离

草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)菌株在黄豆粉培养基(可溶性淀粉20 g, 黄豆粉浸提物15 g, 酵母粉5 g, 蛋白胨2 g, 碳酸钙4 g, 氯化钠4 g, 海水500 mL, 蒸馏水500 mL)上培养, 发酵量140 L, 抽滤得菌丝体, 风干, 用5 L丙酮浸提2次, 浓缩提取液得流浸膏200 g, 用等体积环己烷、正丁醇萃取3次, MTT法检测正丁醇萃取物有明显抑制Hep G细胞的活性。因此, 取正丁醇萃取物28 g, 经硅胶中低压柱色谱分离, MTT法进行细胞毒活性评价, 对筛选得到的活性馏分进行有序分离, 经Sephadex LH-20柱色谱、反相ODS柱色谱和高效液相色谱纯化, 分别得到化合物1(4 mg)、2(5 mg)、3(5 mg)、4(5 mg)、5(4 mg)、6(8 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物1: 无色结晶(甲醇)。mp 295 ~ 297。茛三酮显色阴性, 薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性, 示为环肽类成分。[ $^3_0D$ ] - 20.8° (MeOH, c 0.3), IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3 190, 1 666提示结构中含有酰胺键, 3 030, 1 600, 1 454为芳环特征吸收峰, 756, 702提示取代类型为苯环单取代。ESI-MS给出  $m/z$ : 283 [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>, 推测化合物分子质量为260。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,

DMSO- $d_6$ )谱中给出: 8.08 (1H, s)、7.87 (1H, s)的2个活泼氢信号, 提示结构存在2个NH, 7.21 (5H, m)提示结构中含有单取代苯环。<sup>13</sup>C-NMR及DEPT-135 (100 MHz, DMSO- $d_6$ )谱给出15个碳信号, 其中有3个季碳信号、8个CH碳信号、2个CH<sub>2</sub>碳信号、2个CH<sub>3</sub>碳信号, 通过<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>HCOSY谱给出: 8.08 (1H, s)与4.21 (1H, m)相关, 7.87 (1H, s)与3.58 (1H, m)相关, 提示为2个氨基酸形成的环二肽结构, 具体信号归属如下:<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.08 (1H, s, H-Phe)、7.87 (1H, s, H-Ile)、7.21 (5H, m, H-(5-9))、4.21 (1H, m, H-2)、3.58 (1H, m, H-2)、3.15 (1H, dd,  $J = 5.0, 13.4$  Hz, H-3a)、2.86 (1H, dd,  $J = 5.0, 13.4$  Hz, H-3b)、1.40 (1H, m, H-3)、0.66 (2H, m, H-4)、0.57 (3H, m, H-5或H-6)、0.54 (3H, m, H-5或H-6)。化合物1的<sup>13</sup>C-NMR谱数据见表1。以上数据与文献[3]比对, 鉴定化合物1为环(苯丙-异亮)[cyclo-(Phe-Ile)]二肽。

化合物2: 白色粉末(甲醇)。mp 280 ~ 282。茛三酮显色阴性, 薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性, 示为环肽类成分。[ $^3_0D$ ] 71.9° (MeOH, c 0.5), IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3 210, 1 666提示结构中含有酰胺键, 3 030, 1 600, 1 450为芳环特征吸收峰, 756, 702提示取代类型为苯环单取代。ESI-MS给出  $m/z$ : 269 [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>, 推测化合物分子量为246。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )谱中显示, 高场区有裂分为d峰的2个甲基氢信号, 推断结构中含有异丙基, 与化合物1的氢谱相比, 在低场区7.22 (5H, m)的1组氢信号提示结构中也含有单取代苯环, 并且这2个化合物的<sup>13</sup>C-NMR数据相近, 据此可以推断化合物2也为2个氨基酸环合形成的环二肽结构。具体信号归属如下:<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.07 (1H, s, H-Phe)、7.88 (1H, s, H-Val)、7.22 (5H, m, H-(5-9))、4.20 (1H, m, H-2)、3.52 (1H, m, H-2)、3.14 (1H, dd,  $J = 5.0, 13.5$  Hz, H-3a)、2.88 (1H, dd,  $J = 5.0, 13.4$  Hz, H-3b)、1.69 (1H, m, H-3)、0.65 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-4或H-5)、0.28 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-4或H-5)。化合物2的<sup>13</sup>C-NMR谱数据见表1。以上数据与文献[3]比对, 鉴定为化合物2环(苯丙-缬)[cyclo-(Phe-Val)]二肽。

化合物3: 白色结晶(甲醇)。mp 287 ~ 289。

茛三酮显色阴性,薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性,示为环肽类成分。 $[\alpha]_D^{30} - 124.87^\circ$  (MeOH,  $c$  0.5), IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3 444, 3 193, 1 662 提示结构中含有酰胺键。ESI-MS 给出  $m/z$ : 249  $[M + Na]^+$ , 推测化合物分子质量为 226。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱中给出  $\delta$ : 8.13 (1H,  $s$ ), 8.01 (1H,  $s$ ) 的 2 个活泼氢信号, 提示结构存在 2 个 NH,  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱给出 12 个碳信号, 其中  $\delta$ : 168.3, 166.8, 58.8, 52.3 信号, 结合氢谱  $\delta$ : 3.75 (1H,  $m$ ), 3.68 (1H,  $m$ ) 等信号推断为两个氨基酸环合形成的环二肽结构。具体信号归属如下:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.13 (1H,  $s$ , H-Leu), 8.01 (1H,  $s$ , H-Ile), 3.75 (1H,  $m$ , H-2), 3.68 (1H,  $m$ , H-2), 1.83 (1H,  $m$ , H-4), 1.80 (1H,  $m$ , H-3), 1.43 (1H,  $m$ , H-3a), 1.16 (1H,  $m$ , H-3b), 1.42 (1H,  $m$ , H-4a), 1.16 (1H,  $m$ , H-4b), 0.92 (3H,  $m$ , H-6), 0.88 (3H,  $m$ , H-6), 0.86 (3H,  $m$ , H-5), 0.85 (3H,  $m$ , H-5)。化合物 3 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱数据见表 1。以上数据与文献[4]比对, 鉴定化合物 3 为环(异亮-亮) [cyclo-(Ile-Leu)] 二肽。

化合物 4: 白色粉末(甲醇)。mp 303 ~ 305 $^\circ$ 。茛三酮显色阴性, 薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性, 示为环肽类成分。 $[\alpha]_D^{30} - 1^\circ$  (MeOH,  $c$  0.2), ESI-MS 给出  $m/z$ : 221  $[M + Na]^+$ , 推测化合物分子质量为 198。从  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱中可以看出,  $\delta$ : 7.92 (2H,  $s$ ) 的 1 个活泼氢信号, 提示可能为 NH,  $\delta$ : 0.96 (3H,  $d$ ,  $J = 7.1$  Hz), 0.84 (3H,  $d$ ,  $J = 6.8$  Hz) 的 2 个甲基氢信号提示结构中含有异丙基结构;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱只给出 5 个碳信号, 其中  $\delta$ : 167.4 的碳信号强度很高, 提示为 2 个酰胺羰基重合, 说明该化合物是对称结构, 为 2 个相同氨基酸形成的环二肽。具体信号归属如下:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.92 (1H,  $s$ , H-Val), 3.68 (1H,  $m$ , H-2), 2.18 (1H,  $m$ , H-3), 0.96 (3H,  $d$ ,  $J = 7.1$  Hz, H-4), 0.84 (3H,  $d$ ,  $J = 6.8$  Hz, H-6)。化合物 4 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱数据见表 1。以上数据与文献[5]比对, 鉴定化合物 4 为环(缬-缬) [cyclo-(Val-Val)] 二肽。

化合物 5: 白色粉末(甲醇)。mp 185 ~ 187 $^\circ$ 。茛三酮显色阴性, 薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性, 示为环肽类成分。 $[\alpha]_D^{30} - 89.07^\circ$  (MeOH,  $c$  0.4),

ESI-MS 给出  $m/z$ : 219  $[M + Na]^+$ , 推测化合物分子质量为 196。从  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱中可以看出,  $\delta$ : 7.94 (1H,  $s$ ) 的 1 个活泼氢信号, 提示可能为 NH, 结合碳谱的两个酰胺羰基信号, 推测有一个酰胺键上的氮为叔氮。1.01 (3H,  $d$ ,  $J = 7.24$  Hz), 0.85 (3H,  $d$ ,  $J = 6.8$  Hz) 的 2 个甲基氢信号提示结构中含有异丙基结构,  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱给出 10 个碳信号, 其中  $\delta$ : 165.2, 170.2, 59.4, 58.2 信号, 结合氢谱  $\delta$ : 4.11 (1H,  $m$ ), 3.91 (1H,  $m$ ) 等信号推断可能为环二肽类结构。具体信号归属如下:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.94 (1H,  $s$ , H-Val), 4.11 (1H,  $m$ , H-2), 3.91 (1H,  $m$ , H-2), 3.38 (2H,  $m$ , H-5), 1.85 (2H,  $m$ , H-4), 2.3 (2H,  $m$ , H-3), 1.84 (1H,  $m$ , H-3), 1.01 (3H,  $d$ ,  $J = 7.24$  Hz, H-4), 0.85 (3H,  $d$ ,  $J = 6.88$  Hz, H-5)。化合物 5 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱数据见表 1。以上数据与文献[6]比对, 鉴定化合物 5 为环(脯-缬) [cyclo-(Pro-Val)] 二肽。

化合物 6: 白色粉末(甲醇)。mp 162 ~ 164 $^\circ$ 。茛三酮显色阴性, 薄层展开酸水解后茛三酮显色阳性, 示为环肽类成分。ESI-MS 给出  $m/z$ : 177  $[M + Na]^+$ , 推测化合物分子质量为 154。IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3 204, 3 165, 1 648 提示结构中含有酰胺键, 从  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱中可以看出,  $\delta$ : 8.04 (1H,  $s$ ) 的 1 个活泼氢信号, 结合碳谱的 2 个酰胺羰基信号, 推测也存在 1 个叔氮的酰胺键, 氢谱没有给出甲基氢信号,  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) 谱给出 7 个碳信号, 其中  $\delta$ : 172.0, 166.5, 59.9, 47.0 信号, 结合氢谱  $\delta$ : 4.23 (1H,  $m$ ), 4.10 (1H,  $d$ ,  $J = 16.8$  Hz), 3.74 (1H,  $d$ ,  $J = 16.8$  Hz) 等信号推断可能为环二肽类结构。具体信号归属如下,  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 4.23 (1H,  $m$ , H-2), 4.10 (1H,  $d$ ,  $J = 16.8$  Hz, H-2a), 3.74 (1H,  $d$ ,  $J = 16.8$  Hz, H-2b), 3.53 (2H,  $m$ , H-5), 1.97 (2H,  $m$ , H-4), 2.31 (1H,  $m$ , H-3a), 1.97 (1H,  $m$ , H-3b)。化合物 6 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱数据见表 1。以上数据与文献[7]比对, 鉴定化合物 6 为环(脯氨酸-甘氨酸) [cyclo-(Pro-Gly)] 二肽。

## 4 活性测试

用 MTT 法评价各化合物对肝癌细胞 Hep G-2、前列腺癌细胞 LNCaP 生长的抑制作用, 结果

见表 2。化合物 2、3 和 5 具有一定的细胞毒活性。

Table 1  $^{13}\text{C}$ -NMR data of compounds 1 - 6 (100 MHz, DMSO- $d_6$ )

Position	1	2	3	4	5	6
1	166.4	166.5	166.8	167.4	165.2	172.0
2	58.7	59.2	58.7	59.1	59.4	59.9
3	37.7	31.0	38.2	31.0	27.8	29.4
4	23.1	18.2	24.3	18.6	22.0	23.3
5	11.7	16.2	11.7	17.3	44.6	46.3
6	14.4		15.1			
1	166.3	166.4	168.3	167.4	170.2	166.5
2	55.0	55.0	52.3	59.1	58.2	47.0
3	37.6	37.8	43.6	31.0	27.7	
4	136.3	136.3	23.5	18.6	18.3	
5	130.4	130.3	21.7	17.3	16.4	
6	127.9	127.9	23.0			
7	126.4	126.4				
8	127.9	127.9				
9	130.4	130.3				

Table 2 Inhibition ratios of compounds 1 - 6 (50 mg  $\text{L}^{-1}$ )

Cell	1	2	3	4	5	6	Taxol (positive drug, 10 $\mu\text{m}$ )
Hep G	-	0.31 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.07	0.10 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.07	0.17 $\pm$ 0.04
LNCaP	0.27 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.03	0.43 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.07	0.34 $\pm$ 0.07	0.48 $\pm$ 0.07

## 5 讨论

近年来,关于环二肽分离自真菌、放线菌中的报道有很多,其生物学功能越来越引起人们的关注。该类化合物具有激素调节、控制能量代谢、抗菌和抗肿瘤等作用<sup>[2]</sup>。作者报道的 6 个环二肽化合物有不同程度的细胞毒活性。尤其是对前列腺癌细胞 LNCaP 生长的抑制作用较为明显。实验中作者又采用酶联免疫法(ELISA)<sup>[8]</sup>观察 6 个环二肽化合物对 LNCaP 细胞分泌前列腺特异性抗原(PSA)的抑制作用。结果:化合物 2 和 4 也显示了较强的抑制前列腺特异性抗原(PSA)的活性。关于这方面的活性尚未文献报道,有待更进一步探讨研究。

### 参考文献:

- [1] FLAM F. Chemical prospectors scour the seas for promising drugs [J]. Science, 1994, 266 (5189): 1324 - 1325.  
 [2] 林永成,周世宁. 海洋微生物及其代谢产物 [M]. 北

京:化学工业出版社,2003:416 - 417.

- [3] STARK T, HOFMANN T. Structures, sensory activity, and dose/ response functions of 2, 5-diketopiperazine in roasted Cocoa Nibs [J]. J Agric Food Chem, 2005, 25 (18): 7225 - 7226.  
 [4] WANG Shuang-ming, TAN Ning-hua, YANG Ya-bin, et al. Cyclodipeptides from the roots of Pannax notoginseng [J]. Natural Product Research and Development, 2004, 16(5): 383 - 386.  
 [5] 汪有初,周俊,谭宁华,等. 五味子的环二肽及其合成 [J]. 药学学报, 1999, 34(1): 19 - 22.  
 [6] JAYATILAKE G S, THORNTON M P. Metabolites from an Antarctic Sponge-associated Bacterium, Pseudomonas aeruginosa [J]. J Nat Prod, 1996, 59 (3): 293 - 296.  
 [7] 李厚金,林永成,刘晓红,等. 红树林内源真菌 2 524 号的肽类成分( ) [J]. 中山大学学报(自然科学版), 2002, 41(1): 110 - 112.  
 [8] HOROSZEWCZ J S, LEONG S S, KAWINSKI E, et al. LNCaP model of human prostatic carcinoma [J]. Cancer Res, 1983, 43: 1809 - 1818.

## Cyclic dipeptide constituents from the mangrove fungus *Penicillium oxalicum*( No.092007)

LIU Hai-bin<sup>1</sup>, GAO Hao<sup>1</sup>, WANG Nai-li<sup>2</sup>, LIN Hai-peng<sup>3</sup>, HONG Kui<sup>3</sup>, YAO Xin-sheng<sup>1</sup>

(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Key Lab. for New Drugs Research of TCM, Shenzhen 518055, China; 3. Institute Tropical Biosciences and Biotechnology, Haikou 571101, China)

**Abstract : Objective** To study the metabolites of mangrove fungus *Penicillium oxalicum* from the south China sea and search for new anti-tumor compounds. **Methods** Compounds were isolated by silica gel, ODS column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and reversed-phase HPLC purification. Structural elucidation was achieved by physico-chemical constants and spectroscopic analysis. MTT assay was used to evaluate the bioactivities *in vitro*. **Results** Six cyclic dipeptides were isolated from the acetone extracts of mycelium of fungus and elucidated as cyclo-(Phe-Ile) (1), cyclo-(Phe-Val) (2), cyclo-(Ile-Leu) (3), cyclo-(Val-Val) (4), cyclo-(Pro-Val) (5), cyclo-(Pro-Gly) (6). Compounds 2, 3 and 5 could evidently inhibit the growth of cancer cell lines Hep G<sub>2</sub> and LNCaP at the concentration of 50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . **Conclusions** All of Compounds are obtained from the marine fungus for the first time. Compounds 2, 3 and 5 show cytotoxic activity *in vitro*.

**Key words :** mangrove fungus; *Penicillium oxalicum*; cyclic dipeptides; metabolites; cytotoxic

(上接第 473 页)

## Preparation of self-microemulsifying semi-solid matrix hard capsules of cyclosporine A

WANG Li-jun, WANG Dong-kai, LI Ling, SONG Yang, ZHANG Cui-xia, WANG Hai-feng

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract : Objective** To develop the formulation of cyclosporine self-microemulsifying hard capsules drug delivery system. **Methods** A supersaturated solution of cyclosporine A was prepared to measure the solubility, self-microemulsification *in vitro*, and pseudoternary phase diagrams were used to evaluate the self-microemulsification existence area. The optimum formulation was determined for cyclosporine A self-microemulsifying hard capsules. The cyclosporine A self-microemulsifying hard capsules and the dissolution was measured. **Results** In the optimum formulation, Tween80-RH40 (mass ratio is 1:1), labrasol, miglyol 812N and poloxamer 188-S-40 (mass ratio is 1:1) were selected as emulsifier, co-emulsifier, oil phase and semi-solid matrix, respectively. Microemulsion droplets with a mean droplet size of 40 nm were formed by using this formulation. **Conclusions** The dissolution of cyclosporine A in water is significantly increased by using optimized formula of cyclosporine A self-microemulsifying hard capsules drug delivery system.

**Key words :** cyclosporine A; self-microemulsifying; semi-solid