

· 制剂与质量 ·

刺五加总苷自微乳制备工艺的研究

赵海燕, 刘建平*, 唐蓉蓉, 潘博

(中国药科大学药学院 药剂教研室, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究刺五加总苷自微乳的制备工艺和检测方法。方法 考察了刺五加总苷在不同油、乳化剂、助乳化剂中的平衡溶解度,通过伪三元相图的绘制、含药自微乳释药系统自微乳化效率和稳定性考察,确定最佳处方;以刺五加中异嗪皮啶为指标,采用 HPLC 法测定其在微乳中的量。结果 自微乳最佳处方:Caf-丙二醇-亚油酸乙酯的比例为 16:4:5;微乳的平均粒径为 40 nm,异嗪皮啶的平均质量浓度为 92.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结论 刺五加微乳粒径小,稳定性好。以异嗪皮啶为质量控制指标,方法准确可行。

关键词:刺五加总苷;自微乳给药系统;伪三元相图;异嗪皮啶;高效液相色谱

中图分类号:R283.6; R286.02 **文献标识码:**B **文章编号:**0253-2670(2006)04-0521-04

Self-microemulsifying drug delivery system of *Acanthopanax senticosus* total saponin

ZHAO Hai-yan, LIU Jian-ping, TANG Rong-rong, PAN Bo

(Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Objective To develop self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of *Acanthopanax senticosus* total saponins (ASTS) and the determination method. **Methods** The equilibrium solubility of ASTS in different compositions of oils, emulsifier and assistant emulsifier was investigated. The self-microemulsion formula was optimized by constructing the pseudo-ternary phase diagrams of blank SMEDDS and the studying the self-microemulsifying efficiency and the stability of drug-loaded SMEDDS. Taking isofraxidin, an effective component of *A. senticosus*, as the content determination index, the content was determined by HPLC. **Results** The optimal self-microemulsion formula was composed of Caf, propanediol, and ethyl linolenate. The ratio of them was 16:4:5. The average particle size was 40 nm. The average content of isofraxidin was 92.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$. **Conclusion** The acquired microemulsion with small particle size is stable. The content determination method of taking isofraxidin as the quality control index is accurate and reliable.

Key words: *Acanthopanax senticosus* total saponins (ASTS); self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS); pseudo-ternary phase diagram; isofraxidin; HPLC

自微乳释药系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS)是由油、表面活性剂和助表面活性剂或少量水组成,将药物包裹在油滴中,口服后遇体液在胃肠蠕动下自发分散形成 O/W 型微乳^[1,2]。SMEDDS 在胃肠道均匀、快速分布,可以提高药物溶出度和渗透率,降低药时曲线的峰谷比和不良反应,同时,也可经淋巴管吸收克服首过效应,在一定程度上可以避免药物在胃肠道内被酶水解,有利于提高生物利用度^[2],并且微乳易于制备,服用方便,稳定性好,易于工业化生产。

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及

根茎,具有补肾益脾、强心健骨、延年益寿的作用,已作为中药及保健品开发应用。临床应用的刺五加剂型主要为注射液、片剂和胶囊,其注射液不良反应较大^[3],片剂、胶囊剂存在给药剂量大、口服生物利用度低等问题。本实验根据刺五加主要成分的性质,研制了刺五加自微乳化给药系统,旨在提高药物胃肠道黏膜的渗透性,从而提高药物口服的生物利用度,减小给药剂量,降低不良反应,为临床提供刺五加口服的新型给药系统。

1 材料与仪器

1.1 材料:刺五加(河南华龙中药饮片厂,批号 040617)由中国药科大学中药鉴定教研室鉴定。聚氧

收稿日期:2005-08-08

作者简介:赵海燕(1981—),女,湖北省仙桃市人,中国药科大学 2003 级药剂研究生。E-mail: zhaohaiyan01@sina.com

* 通讯作者 刘建平 Tel: (025) 85339924 E-mail: jping_l@tom.com

乙烯蓖麻油(Cremophor EL,德国 BASF 公司),聚乙二醇-8-甘油辛酸/癸酸酯(Labrasol,法国 Gattefosse 公司),甘油(鑫科股份合肥工业大学化学试剂厂),丙二醇(Propanediol,上海久意化学试剂有限公司),乙醇(南京化学试剂一厂),正丁醇(南京化学试剂一厂),异丙醇(南京化学试剂一厂),乙二醇单乙基醚(Transcutol,卡乐康公司),三辛酸/癸酸甘油酯(Neobee,上海高维实业有限公司),油酸(上海凌峰化学试剂有限公司),亚油酸乙酯(ethyl linolenate, EL,上海金伴药业有限公司),正辛醇(上海凌峰化学试剂有限公司),以上试剂无特别说明均为分析纯。甲醇(江苏汉邦科技有限公司,色谱纯),异噁皮啉对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0837-200203)。

1.2 仪器:80-2 离心沉淀机(上海手术器械厂),BS-110S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),Zetasizer H-3000 激光粒度测定仪(英国 Malvern 公司),XW-80A 涡旋混合器(上海医科大学仪器厂),85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂),岛津高效液相色谱仪(SPD-10AT 检测器,LC-10A 泵),微孔滤膜(50 mm×0.45 μm,上海市新亚净化器件厂)。

2 方法与结果

2.1 紫外分析方法的建立

2.1.1 测定波长的确定:称取适量的刺五加总苷用甲醇溶解并稀释制成 48.8 μg/mL 的溶液,在 200~600 nm 进行紫外扫描。称取 10 倍处方量的辅料,制备空白微乳,然后精密吸取 25 μL 用甲醇破乳定容至 10 mL,200~600 nm 进行紫外扫描。结果辅料在 231 nm 处有最大吸收,药物在 280 nm 处有最大吸收而辅料没有,故选择 280 nm 为测定波长。

2.1.2 标准曲线的制备:精密称取异噁皮啉 24.4 mg,用甲醇溶解定容至 25 mL 量瓶,制成 0.976 mg/mL 的溶液。分别用移液管移取 0.1、0.25、0.5、1、1.5 mL 溶液于 10 mL 棕色量瓶中,用甲醇定容,于 280 nm 处测吸光度值。以吸光度值(A)对质量浓度(C)回归得标准曲线。回归方程为 $A = 6.7315C + 0.0021$, $r = 0.9994$ 。结果表明,刺五加总苷在 0.00976~0.1463 mg/mL 与吸光度线性关系良好。

2.2 溶解度的测定:将过量的刺五加总苷分别加入盛有 2 mL 的各种油、表面活性剂(surfactant, SA)、助表面活性剂(cosurfactant, CoSA)、不同 pH 值的缓冲溶液中,将混合物在 60 °C 水浴中涡旋搅拌以利于溶解,然后在 37 °C 水浴中平衡 48 h,3 000 r/min 离心 15 min。取上清液稀释一定倍数后采用紫外分光光度法测定。测定结果见表 1。可知,药物在表面活性剂 Caf、亚油酸乙酯、丙二醇、pH 6.80 的磷酸缓冲溶液中溶解度较大,故选择表面活性剂 Caf

表 1 刺五加总苷在不同溶剂中的溶解度

Table 1 Solubilities of ASTS in various solvents

油	溶解度/ (mg·mL ⁻¹)	乳化剂	溶解度/ (mg·mL ⁻¹)	助乳化剂	溶解度/ (mg·mL ⁻¹)	缓冲溶液	溶解度/ (mg·mL ⁻¹)
三辛酸/癸酸甘油酯	1.13	Caf	4.28	乙醇	38	0.01 mol/L 盐酸	38
油酸	1.81	聚乙二醇-8-甘	1.94	丙二醇	200	pH 6.8 磷酸盐	82
亚油酸乙酯	1.99	油辛酸/癸酸酯		异丙醇	8	pH 7.4 磷酸盐	81
花生油	0.08	聚氧乙烯蓖麻油	2.88	甘油	180	pH 8.0 磷酸盐	72
色拉油	0.05	聚山梨酯 80	3.51	正丁醇	28		
		司盘 80	2.50	乙二醇单	50		
				乙基醚			

为乳化剂,丙二醇为助乳化剂,亚油酸乙酯为油相。

2.3 油水分配系数的测定^[4]:取适量的刺五加总苷溶解在正辛醇饱和的水中,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,得原液。取 2 mL 原液稀释一定倍数后用紫外分光光度法测定药物质量浓度即为 C₀。在 2 mL 原液中加入 4 mL 水饱和的正辛醇,搅拌混合 12 h,静置分层,取水层稀释一定倍数后用紫外分光光度法测定水相中药物浓度即为 C_w。按公式 $K_{O/W} = [(C_0 - C_w)V_1] / C_w V_2$ (V₁:水相体积, V₂:油相体积) 计算,结果见表 2。可知,刺五加总苷的油水分系数(P)较小,说明其亲水性较强。

表 2 刺五加总苷在水/正辛醇体系中的油水分系数

Table 2 Partition coefficient of ASTS in water/n-octanol system

水/正辛醇	P	lgP
1:1	0.087	-1.06
1:2	0.092	-1.03
1:3	0.098	-1.01
1:4	0.095	-1.02

2.4 油相和不同比例 Caf、丙二醇混合物的假三元相图绘制:根据参考文献报道^[5],用滴定法绘制三元相图考察微乳区域。将乳化剂与丙二醇按 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 的质量

比混合,总质量为 0.4 g。加入亚油酸乙酯 0.1 g, 37 ℃ 恒温水浴下,用磁力搅拌器搅拌均匀。加水同时记录加入水的量与系统呈现的现象,并计算每一组分在体系中的质量比率。以水、乳化剂、丙二醇为三元相图的 3 个顶点,可以得到水-Caf-丙二醇的经典相图,根据相图的微乳区确定表面活性剂-丙二醇的比值(K_m)。结果见图 1。可知, K_m 在 9:1~4:6 时均可形成微乳。

取固定的 K_m 值(Caf 与丙二醇质量比为 1:1、2:1、4:1 时),分别配制乳化剂/助乳化剂的混合液,将复合乳化剂与油分别按质量比 9.5:0.5、9:1、8.5:1.5、8:2、7.5:2.5、7:3、6.5:3.5、6:4、5:5 混合,37 ℃ 水浴条件下加水,记录加入水的量与系统呈现的现象,并计算每一组分在体系中的质量比率,以混合乳化剂、水和油作为三元相图的顶点制备伪三元相图,并根据相图中微乳区确定 3 组分稳定自微乳系统。结果见图 2。可知, $K_m=4:1$ 时,微乳区域最大。

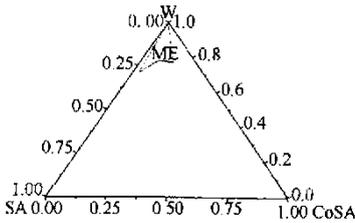


图 1 K_m 值的范围

Fig. 1 Range of K_m value

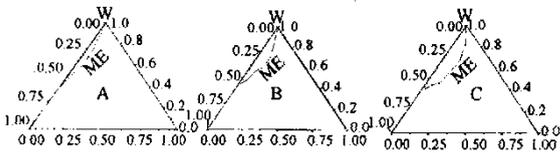


图 2 $K_m=1:1$ (A)、 $2:1$ (B)、 $4:1$ (C)时的相图

Fig. 2 Phase diagram of K_m being 1:1(A), 2:1(B), and 4:1(C)

2.5 含药自微乳释药系统性质考察:实验过程中发现含药微乳的粒径比空白微乳的粒径小,因此通过加药后对影响微乳性质的因素进行考察。

2.5.1 自微乳化速率的测定:自微乳化速率可通过目测法^[6]观察自微乳均匀分散成微乳的时间来衡量。取自微乳 1 g,加 10 mL 水于 37 ℃ 水浴中磁力温和搅拌下混匀形成微乳,观察并记录均匀分散形成微乳的时间。

2.5.2 粒径的测定:取 2.5.1 中的微乳用 Zetasizer H-3000 激光粒度测定仪测定其粒径。

2.5.3 稳定性的测定:分别于 0、6 h 时取 2 mL 微

乳加甲醇破乳并定容至 10 mL 量瓶,于 280 nm 处测定其紫外吸光度值。代入标准曲线计算质量浓度,以 $C_{6h}/C_{0h} \times 100\%$ 作为考察稳定程度的指标。

2.5.4 含药自微乳释药系统性质考察:将油和 3 种不同比例的 Caf-丙三醇混合物分别以 9.5:0.5、9:1、8.5:1.5、8:2、7.5:2.5 的比例,按 2.5.1 项下方法制备微乳,以自微乳化速率、粒径、稳定性来考察自微乳化的情况。结果见表 3。

表 3 Caf 与丙三醇质量比为 1:1、2:1、4:1 的自微乳化效率结果

Table 3 Results of self-microemulsifying efficiency (SA: CoSA=1:1, 2:1, and 4:1)

乳化剂与油比例	自微乳化速率/s			粒径/nm			稳定性/%		
	1:1	2:1	4:1	1:1	2:1	4:1	1:1	2:1	4:1
9.5:0.5	<30	<30	<30	<10	<10	<10	98	100	100
9:1	<30	<30	<30	47.9	11.6	<10	95	98	100
8.5:1.5	<30	<60	<60	83.5	27.9	19.8	80	95	98
8:2	<30	<60	<60	110.9	37.8	37.1	65	90	97
7.5:2.5	<60	<90	<90	375.3	153.0	80	50	70	85

结果表明,乳化剂在整个自微乳释药系统中的比例以及不同比例的乳化剂混合物对所成乳剂的粒径有极大的影响,乳化剂混合物的比例越高以及 Caf 在乳化剂混合物中所占的比例越大,所成微乳的粒径越小,稳定性也越好;自微乳化所需的时间随 Caf 的比例增大而增加;空白微乳中加入药物后,含药微乳的粒径减小,微乳区域没有增大。

2.6 自微乳的制备:取 32 份 Caf,8 份丙二醇及 10 份亚油酸乙酯,在 37 ℃ 水浴中温和搅拌下混匀,加入 10 g 刺五加总苷继续搅拌使溶解混匀,即得。

2.7 微乳中异嗪皮啶的测定

2.7.1 色谱条件:色谱柱:岛津 C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水-冰醋酸(30:70:1);体积流量:1 mL/min;检测波长:344 nm;进样量:20 μ L。

2.7.2 供试品溶液的制备:精密吸取刺五加自微乳 0.5 mL,加水 2 mL 在 37 ℃ 水浴中磁力温和搅拌下混匀使成微乳,转移至量瓶中,加甲醇破乳,并稀释定容至刻度,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,得供试品溶液。同法制备不含刺五加的空白微乳阴性对照液。

2.7.3 线性关系考察:取异嗪皮啶对照品适量,加甲醇溶解制成 18.04 μ g/mL 的储备液。分别精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1、1.2 mL 储备液,加甲醇稀释定容至 2 mL,按上述色谱条件测定。以峰面积(A)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标进行回归。回归方程为 $A = 7.4793 \times 10^3 C - 4.251 \times 10^3$, $r =$

0.999 4。线性范围为 1.804~10.824 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.7.4 方法专属性试验:分别取空白微乳和含药微乳供试液,按上述色谱条件进样测定,结果见图 3。异噻皮啶的保留时间为 10.832 min,空白微乳中辅料对异噻皮啶的测定无干扰。

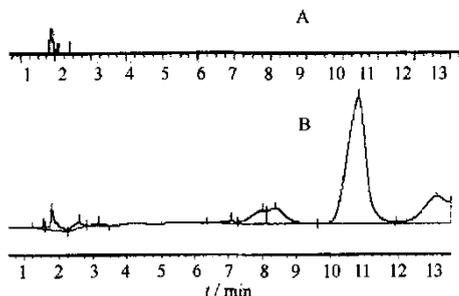


图 3 空白微乳(A)与样品(B)的高效液相色谱图
Fig. 3 HPLC Chromatogram of negative sample (A) and sample (B)

2.7.5 精密度试验:取同一质量浓度对照品溶液,按照色谱条件进样,在同一天内连续进样 5 次及连续 5 d 测其峰面积。结果峰面积日内 RSD 为 0.53%,日间 RSD 为 1.87%。

2.7.6 回收率试验:精密吸取空白微乳 2 mL,加异噻皮啶对照品储备液 2、2.5、3 mL,加甲醇定容至 10 mL,经微孔滤膜滤过,得高、中、低 3 个水平的供试品溶液各 3 份,进样测峰面积,计算回收率。结果高、中、低 3 个水平的回收率分别为 100.4%、97.26%、101.53%,RSD<3%。

2.7.7 样品测定:制备 3 批自微乳,按供试品溶液制备方法制备,进样 20 μL 测定,结果见表 4。微乳中异噻皮啶质量浓度不低于 91.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 4 微乳中异噻皮啶的测定结果 (n=5)

Table 4 Determination of isofraxidin in microemulsion (n=5)

批号	质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	RSD/%
A	92.4	1.31
B	91.6	0.58
C	94.0	0.92

3 讨论

由溶解度试验可知,刺五加总苷水溶性较强。药

物的油水分配系数(P)可用于评价药物溶解性并预测其在肠道中的吸收情况^[7]。一般认为,lgP 为 2~3 的药物在肠道中较易被吸收,而当药物的 lgP<0 时则极不易被肠道吸收。刺五加总苷的 lgP 为 -1.03,其油水分配系数较小,说明其水溶性较强,胃肠道黏膜透过性差,口服不易吸收。本实验研制自微乳给药系统,目的在于增加刺五加总苷的黏膜渗透性,从而提高药物的生物利用度。

当 $K_m=4:1$ 时,微乳区域最大,综合考虑微乳的黏度、稳定性及表面活性剂用量最少的原则,乳化剂混合物与油的比例选取 8:2,刺五加自微乳的最佳处方为乳化剂与助乳化剂、油、药比例为 53:13:17:17。

刺五加含多种化学成分,异噻皮啶为其主要有效成分之一,具镇静安神、抗肿瘤等作用,可作为微乳定量测定的指标。异噻皮啶的测定有薄层扫描法、HPLC 法等。本实验采用高效液相法测定异噻皮啶,回收率符合分析方法的要求,用其作为刺五加自微乳制剂异噻皮啶定量控制的方法是可行的。

References:

- [1] Pouton C W. Lipid formulation for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery systems [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2001, 11 (Suppl 2): S93-S98.
- [2] Constantinides P P. Lipid microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption: physical and biopharmaceutical aspects [J]. *Pharm Res*, 1995, 12 (11): 1561-1572.
- [3] Li A Z, Zhang L. Literature analysis on 96 cases of acanthopanax-loaded injection adverse actions [J]. *Chin Pharm Aff (中国药事)*, 2005, 19 (2): 123-124.
- [4] Zheng J M, Li Q X. *Novel Transdermal Drug Delivery System (经皮给药新剂型)* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.
- [5] Wang Q, Ding H M, Zhou H Y. Study on phase diagram and preparation of microemulsion [J]. *Northwest Pharm J (西北药学杂志)*, 1997, 12 (2): 72-73.
- [6] Gershanik T, Benzeno S, Beniton S. Interaction of self-emulsifying lipid drug delivery system with the everted rat intestinal mucosa as a function of droplet size and surface charge [J]. *Pharm Res*, 1998, 15 (6): 863-869.
- [7] Wu Y H, Wu Y T. The application of partition coefficient of drug in water/n-octanol system [J]. *Guangdong Pharm J (广东药学)*, 2000, 10 (4): 12-14.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年、1976年、1979年、1985-1994年(80元/年)、1995-1997年(110元/年)、1998年(120元/年)、1999年(135元/年)、2000年(180元/年)、2001-2003年(200元/年)、2004年(220元/年)、2005年(220元/年)。1996年增刊(50元)、1997年增刊(45元)、1998年增刊(55元)、1999年增刊(70元)、2000年增刊(70元)、2001年增刊(70元)、2002年增刊(65元)、2003年增刊(65元)、2004年增刊(65元)、2005年增刊(65元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。
电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail:zcyzzbjb@tjipr.com