

苦参碱固体自微乳制剂的制备及其评价

傅春升¹, 李洪松², 张学顺¹

1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011

2. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 制备苦参碱固体自微乳颗粒, 并对其进行质量评价。**方法** 通过固体吸附材料的优选, 制备了苦参碱固体自微乳颗粒, 建立了 HPLC 法测定颗粒中苦参碱及其体外溶出度的方法; 对溶解后微乳的类型、pH 值、Zeta 电位、粒径进行研究。**结果** 选择微粉硅胶与甘露醇质量比 2:1 为固体吸附材料, 每克苦参碱微乳液需加微粉硅胶 0.42 g, 微晶纤维素 0.21 g, 50 °C 恒温干燥后成淡黄色的苦参碱自微乳颗粒, 遇水快速形成澄明的液体, 平均粒径 79 nm, pH 值为 7.95, Zeta 电位-1.34 mV, 载药量 23.51 mg/g, 45 min 内累积溶出 94.2% 以上。**结论** 苦参碱固体自微乳的制备工艺简单, 制剂稳定, 可为水难溶性药物的开发提供一个新方法、新思路。

关键词: 苦参碱; 固体自微乳化给药系统; 固体吸附材料; 溶出度

中图分类号: R283.6; R944.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)04-0511-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.04.011

Preparation and evaluation of matrine solid self-microemulsifying granule

FU Chun-sheng¹, LI Hong-song², ZHANG Xue-shun¹

1. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China

2. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: **Objective** To develop the matrine solid self-microemulsifying drug delivery system (S-SMEDDS) and to evaluate its quality. **Methods** The matrine solid self-microemulsifying granule was prepared through the optimization of solid adsorption material, the HPLC method and dissolution test were used to determine the drug content in matrine S-SMEDDS, and the particle form, pH value, Zeta potential, and particle size were studied after it was dissolved. **Results** The ratio of micro powder silica gel and mannitol (2:1) was selected as the solid adsorption material, and 1 g of matrine micro-emulsion needed to add 0.42 g of micronized silica gel and 0.21 g of microcrystalline cellulose. The color of the matrine microemulsion particle was pale yellow after 50 °C constant temperature drying. Transparent liquid was formed quickly after it was dissolved. The average particle size was 79 nm, the pH value was 7.95, the Zeta potential was -1.34 mV, the drug loading was 23.51 mg/g, and the cumulative dissolution was over 94.2% within 45 min. **Conclusion** The preparation technology of matrine S-SMEDDS is simple and stable, and provides a means for the research and development of dissolvable drugs.

Key words: matrine; solid self-microemulsifying drug delivery system; dissolution rate

自微乳化给药系统 (self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS) 能够显著提高水难溶性药物的口服生物利用度^[1-2], 传统的 SMEDDS 制剂多为液体制剂, 存在生产过程复杂、服用不便、剂型单一等缺点; SMEDDS 口服后可能由于胃液稀释分散^[3]、小肠脂肪酶脂解消化^[4], 导致部分药物从体系中沉淀出来, 不利于药物吸收。固体自微乳化

给药系统 (solid self-microemulsifying drug delivery system, S-SMEDDS) 结合了 SMEDDS 和固体制剂的双重优点, 一方面通过添加各种固体辅料将传统的 SMEDDS 制成固体制剂, 也可使用包衣技术制备缓控释制剂; 另一方面选择适宜的固体辅料将 SMEDDS 固化可有助于抑制水难溶性药物在胃肠道内结晶沉淀^[5]。苦参碱是豆科植物苦参、苦豆子、

收稿日期: 2013-04-03

作者简介: 傅春升 (1969—), 男, 副主任药师, 药物化学专业硕士, 主要从事中药新剂型、新工艺研究。

Tel: (0531) 68617919 E-mail: yfuchunsheng@163.com

广豆根中重要的生物碱之一,近年来对其大量的药理和临床作用研究表明,其在抗纤维化、抗心律失常、抗炎、抗肿瘤等方面均具有较好的预防治疗作用。苦参碱的消除半衰期较短,不易溶于水,水温升高溶解度降低,普通制剂口服后溶出速率慢,吸收较差;静脉或肌注给药后常会发生局部疼痛,给患者用药带来不便。本实验将制备的固体自微乳制颗粒,干燥后将制备苦参碱的自微乳颗粒装入硬壳胶囊,以期能促进药物吸收、降低普通制剂给药造成的临床不良反应,为苦参碱制剂的开发提供新的思路。

1 仪器与材料

ER—182A 型电子天平(日本);XW—80A 旋涡混合器(上海精科实业有限公司);HJ—4A 四联数显恒温磁力搅拌器(金坛市金达仪器制造厂);DZF 真空干燥箱(北京市永光明医疗器械厂);日本岛津高效液相色谱仪,包括 LC—10AT 液相泵、SPD—10A 紫外检测器;MS3000 激光粒度分析仪、ZEN2600 Zeta 电位测定仪(英国马尔文公司)。

苦参碱对照品(批号 110805-200306,中国药品生物制品检定所);苦参碱原料药(山东大学药学院实验室自制,经 HPLC 法测定质量分数为 98%);苦参碱自微乳颗粒(山东中医药大学附属医院中药制剂三级实验室,批号 20120421、20130422、20130423);心律宁片(黑龙江新医圣制药有限责任公司,批号 20121120);油酸(天津市大茂化学试剂厂);油酸乙酯(上海飞翔化工厂);蓖麻油聚氧乙烯醚 40(EL-40,大连广汇科技有限公司);异丙醇(天津市富宇精细化工有限公司);无水乙醇、乙腈(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 苦参碱自微乳颗粒的制备

2.1.1 处方优化^[6] 通过伪三元相图研究可知油相为油酸与油酸乙酯(质量比 1:1),乳化剂为 EL-40,助乳化剂为异丙醇。当油相与乳化剂比例为 1:9、2:8、3:7、3.5:6.5 时可形成 O/W 型微乳。考虑到尽量减少乳化剂用量及微乳的稳定性,最佳空白处方定为:油酸、油酸乙酯、EL-40 和异丙醇比例为 0.15:0.15:0.35:0.35。通过测定苦参碱加入量与粒径的变化关系,得出苦参碱自微乳处方为:苦参碱、油酸、油酸乙酯、EL-40、异丙醇比例为 0.05:0.15:0.15:0.35:0.35。

2.1.2 固体吸附材料的优选 在乳糖、甘露醇、微

粉硅胶、羟甲基纤维素钠 4 种固体吸附材料中,以最大吸附量为考察指标选择最佳吸附剂。分别称取不同类型的固体吸附材料,逐滴加入液体自微乳,边加边混匀,使药液完全吸收成为干燥的粉末。当粉末稍显潮湿时,记录加入量,即为该吸附剂的最大吸附量^[7]。结果见表 1。结果显示微粉硅胶、微晶纤维素的吸附能力较大。微粉硅胶吸湿性强,制得的固体自微乳呈粉末状不易形成颗粒,故选用微粉硅胶与微晶纤维素作为混合吸附剂。

表 1 不同吸附材料吸附量

Table 1 Adsorption amount of different adsorption materials

固体吸附材料	最大吸附量/g
乳糖	0.27
甘露醇	0.52
微粉硅胶	2.08
微晶纤维素	0.86

2.1.3 混合吸附剂比例的优选 配制 1:1、1:2、2:1 不同质量比例的微粉硅胶与微晶纤维素混合吸附剂。称取 1.0 g 自微乳液,依次加入上述混合吸附剂 0.82、0.96、0.63 g,直至形成固体自微乳粉,通过溶出度试验优选出最佳比例。称取上述 3 种固体自微乳粉,分别放入盛有 100 mL 蒸馏水的溶出杯中,水温为 37 ℃,转速 50 r/min,药物与水接触时开始转动浆杆并记录时间,收集 45 min 时的样品。参照《中国药典》2010 年版一部苦参中苦参碱的 HPLC 测定方法,测定 45 min 时溶出介质中苦参碱的峰面积,进样 3 次,平均结果分别为 240 686.73、245 971.02、238 346.54 mV·s,表明不同比例的自微乳颗粒在 45 min 时的累积溶出率差别不大,考虑到减少吸附剂的用量,选用微粉硅胶与微晶纤维素(质量比 2:1)作为固体吸附剂。

2.1.4 自微乳颗粒的制备 按照处方即 1 g 苦参碱自微乳液中加入微粉硅胶 0.42 g、微晶纤维素 0.21 g。称取适量微粉硅胶、微晶纤维素,加入到 10 g 苦参碱自微乳液中,混匀,研细制软材后过 60 目筛,50 ℃恒温干燥至恒质量,得到淡黄色固体颗粒。

2.2 苦参碱自微乳颗粒的体外评价

2.2.1 类型的鉴别^[8] 采用稀释法鉴别,即取苦参碱自微乳颗粒 1.0 g 于 150 mL 烧杯中,加入 37 ℃蒸馏水 100 mL,轻轻搅拌数分钟后颗粒溶解,静置后溶液澄清有蓝色乳光,继续加入 50 mL 水,溶液仍为澄清溶液,表明制备的苦参碱自微乳颗粒为

O/W 型微乳, 可被大量水稀释。

采用染色法鉴别, 即取苦参碱自微乳颗粒约 1.0 g 于 150 mL 烧杯中, 加入 37 °C 蒸馏水 100 mL, 轻轻搅拌数分钟后颗粒溶解完全。静置待溶液澄清后, 同时滴加苏丹红(红色)和亚甲兰(蓝色)各一滴, 观察红色、蓝色在微乳溶液中的扩散速度, 结果蓝色的扩散速度大于红色, 表明制备的颗粒形成的微乳为 O/W 型微乳。

2.2.2 pH 值的测定 分别称取 3 批苦参碱自微乳颗粒适量, 100 倍量蒸馏水稀释, 搅拌均匀, 使用 pH 计测定, 每批测量 3 次, 记录平均值, 结果 3 批样品测定结果分别为 7.94、7.68、8.23。

2.2.3 Zeta 电位的测定 分别称取 3 批苦参碱自微乳颗粒适量, 用 100 倍量蒸馏水稀释, 搅拌均匀, 使用 Zeta 电位测定仪测量电位, 每批测量 3 次, 记录平均值, 结果分别为 -1.37、-1.31、-1.34 mV。

2.2.4 粒径及其粒径分布的测定 称取 3 批各 4 g 固体苦参碱自微乳颗粒, 取 37 °C 蒸馏水 50 mL 轻微搅拌溶解, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过除去不溶于水的微粉硅胶、微晶纤维素等杂质, 续滤液用 400 mL 蒸馏水稀释, 马尔文激光粒度仪测定平均粒径, 结果见图 1。结果表明, 3 批苦参碱自微乳颗粒乳化后的粒径分布较集中, 3 批样品测定粒径结果分别为 83、78、76 nm。

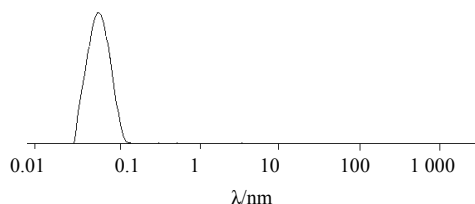


图 1 苦参碱自微乳颗粒的粒径及其分布

Fig. 1 Particle size and distribution of matrine S-SMEDDS

2.3 苦参碱自微乳颗粒中苦参碱的测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo APS-2 Hypersil 氨基柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-无水乙醇-3%磷酸水溶液 (80:10:10); 检测器: 紫外检测器; 检测波长 220 nm; 柱温: 25 °C; 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒质量的苦参碱对照品适量, 无水乙醇配成 10、20、40、60、80、100 μg/mL 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取 1.0 g 苦参碱自微乳胶囊内容物, 置 100 mL 量瓶中, 用无水乙

醇溶解并加至刻度, 4 000 r/min 离心 10 min, 精密量取上清液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 即得。

2.3.4 空白溶液制备 分别称取各种辅料 1.0 g, 制备共 6 g 的混合空白溶液, 乙醇溶解并定容, 配制一定质量浓度的空白自微乳颗粒溶液。

2.3.5 专属性考察 分别吸取对照品溶液、空白溶液、供试品溶液, 按上述色谱条件进样 10 μL, 结果见图 2。结果显示, 苦参碱自微乳中苦参碱色谱峰为强峰, 分离度好; 空白辅料在苦参碱对照品色谱峰位置无吸收峰, 对苦参碱的测定无干扰。

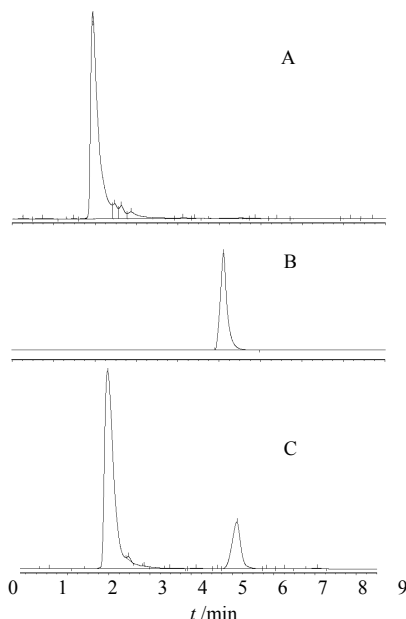


图 2 空白溶液(A)、苦参碱对照品(B)、固体苦参碱自微乳(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of blank solution (A), matrine reference solution (B), and matrine S-SMEDDS

2.3.6 标准曲线的绘制 分别精密量取苦参碱对照品采用上述 HPLC 法进行测定。以峰面积对进样体积作图, 得直线回归方程 $Y=6\,144.2X-10\,798$, $R^2=0.999$ 。表明苦参碱在 10~100 μg/mL 线性关系良好。

2.3.7 精密度试验 取 20 μg/mL 苦参碱对照品溶液, 1 d 内连续进样 5 次, 每次 10 μL, 记录苦参碱峰面积, 计算其 RSD 值为 0.9%。

2.3.8 稳定性试验 精密称取苦参碱 5.0 mg, 无水乙醇溶解定容至 50 mL 量瓶中作为供试品溶液, 于 1、4、8、12、24 h 进样 10 μL, 记录峰面积, 计算其 RSD 值为 0.66%。结果表明苦参碱溶液在 24 h

内基本稳定。

2.3.9 重复性试验 取同批苦参碱自微乳颗粒样品 5 份, 制备成供试品溶液, 进样, 每次 10 μ L, 记录峰面积, 计算苦参碱质量浓度的 RSD 值为 0.73%。

2.3.10 回收率试验^[9] 按处方量称取辅料, 以处方量的 80%、100%、120% 加入苦参碱对照品, 无水乙醇定容至 10 mL 量瓶中, 平行制备 3 份, 共 9 份, 按上述色谱条件进样, 测定样品中苦参碱的质量分数, 计算回收率。结果苦参碱的平均回收率为 100.26%, RSD 值为 0.7%。

2.3.11 测定结果 取 3 批制备苦参碱自微乳颗粒供试品溶液, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 照上述色谱条件进样, 每次 10 μ L, 测定 3 次, 记录峰面积, 带入直线回归方程, 计算药物质量分数, 分别为 23.56、22.86、24.13 mg/g。

2.4 体外溶出度实验

参照《中国药典》2010 年版溶出度测定法第一法^[10]。精密称取苦参碱固体自微乳颗粒 1.0 g (相当于含苦参碱 23.51 mg) 置于 900 mL 蒸馏水的溶出杯中, 水温为 (37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C, 转速 100 r/min, 浆杆开始转动时记录时间, 分别在 5、10、20、30、45、60 min 抽取样品液 5 mL, 同时补加 5 mL 蒸馏水, 精密量取经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过的续滤液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 无水乙醇定容, 用上述色谱条件进样分析, 用直线回归方程计算各时间点药物累积溶出率, 平行测量 3 次, 绘制溶出曲线。

另取心律宁片(HPLC 法测定含苦参碱 3.36 mg/片, 每片 50 mg) 10 片, 除去包衣, 研细, 精密称定 0.5 g 置于 25 mL 量瓶中, 加浓氨水 1 mL, 再加三氯甲烷至近刻度, 超声 45 min, 冷却至室温, 用三氯甲烷定容至刻度, 滤过, 取滤液 10 mL, 蒸干, 残渣加无水乙醇溶解, 定容至 10 mL, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 续滤液作为供试品溶液。采用同样方法绘制体外溶出曲线。结果见图 3。苦参碱自微乳颗粒在 5 min 内可以全部溶解, 45 min 内的平均累积溶出率达 94.2% 以上。

5 讨论

通过预实验得出干燥后的固体自微乳粒径会增大, 本实验在优选干燥方法时, 考察了冷冻干燥, 得到的颗粒颜色较淡, 但是溶出后的粒径变大较明显, 考察了不同温度对干燥后粒径、溶出的影响,

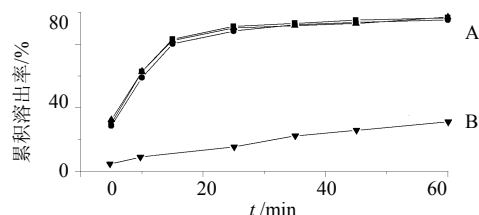


图 3 苦参碱自微乳颗粒 (A) 和心律宁片 (B) 的溶出度曲线
Fig. 3 Dissolution curves of matrine S-SMEDDS (A) and Xinlvning Tablets (B)

确定了 50 $^{\circ}$ C 为最佳。

由于自微乳液需与固体载体混合, 使得 SMEDDS 的发展受到载药量的限制, 同时由于固体制剂制备过程中存在烘干的步骤, 因而处方设计时还需要避免使用挥发性强的脂质, 以防止对药物的溶解度产生影响。

微粉硅胶可在油水界面形成屏障, 因而有可能会影响脂质成分中药物释放。近期的研究显示, 微粉硅胶能延缓药物的释放, 并且有助于降低药物的沉淀; 加入微粉硅胶可以提高 SMEDDS 的口服生物利用度, 但具体机制尚不明确。

参考文献

- [1] Abdalla A, Mader K. Preparation and characterization of a self-emulsifying pellet formulation [J]. *Eur J Pharm Biofarm*, 2007, 66(2): 220-226.
- [2] 陈立江, 刘洋, 李丽, 等. 赤芍总苷自微乳给药系统的研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1082-1086.
- [3] 董文雪, 何军, 杨亚妮. 自微乳释药系统研究进展 [J]. *中国医药工业杂志*, 2011, 42(12): 948-952.
- [4] 程玉钊, 周建平, 吕慧侠. 固体自乳药物传递系统的研究概况 [J]. *药学进展*, 2008, 32(2): 68-74.
- [5] 章巍, 董蔚, 平其能. 依托泊苷固体自微乳的研制及大鼠体内生物利用度研究 [J]. *药学与临床研究*, 2011, 5(5): 402-406.
- [6] 李洪松, 张学顺, 傅春升, 等. 苦参碱自微乳化制剂的制备工艺研究 [J]. *中草药*, 2012, 44(4): 416-419.
- [7] 于爱华, 翟光喜, 崔晶, 等. 葛根素固体自微乳的研制 [J]. *中药材*, 2006, 29(8): 834-837.
- [8] 潘玉, 李成森, 郭晏华, 等. 苦参碱口服微乳的制备及含量测定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(3): 176-182.
- [9] 陈立江, 刘洋, 李丽, 等. 赤芍总苷自微乳给药系统的研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1082-1086.
- [10] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 X C.