

· 制剂与质量 ·

灯盏花素自微乳化释药系统的制备及特性研究

陈 鹰¹, 杜 蓉¹, 刘 平², 刘 宏¹, 辛华雯^{1*}

(1. 广州军区武汉总医院 药剂科, 湖北 武汉 430070; 2. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510000)

摘要:目的 研究灯盏花素自微乳化释药系统的处方及特性。方法 通过溶解度试验、处方配伍和伪三相图的绘制, 筛选油相、表面活性剂、助表面活性剂的最佳搭配和配比。并对灯盏花素自微乳化释药系统的理化性质、体外溶出度和大鼠在体肠吸收情况进行了测定。结果 灯盏花素自微乳化最终优化处方为: Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400、TEA 比例为 25 40 35 7。灯盏花素自微乳化释药系统的粒径为 88.6 nm, 在 1 h 时体外溶出率达到 97.8%, 约是灯盏花素原料药的 8.0 倍, 是灯盏花素片剂的 5.1 倍。大鼠在体肠吸收灯盏花素自微乳化释药系统的肠壁通透系数分别是灯盏花素原料的 3.4 倍, 灯盏花素片剂的 3.3 倍。结论 所制备的灯盏花素自微乳化释药系统促进了灯盏花素的溶出和吸收, 为灯盏花素的新制剂开发提供了实验依据。

关键词: 灯盏花素; 自微乳化释药系统; 处方研究; 特性评价

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)03-0374-05

Formulation and characteristics of self-microemulsifying drug delivery system for breviscapine

CHEN Ying¹, DU Rong¹, LIU Ping², LIU Hong¹, XIN Hua-wen¹

(1. Department of Pharmacy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command, Wuhan 430070, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Nanfang Medical University, Guangzhou 510000, China)

Abstract: **Objective** To study formulation and characteristics of self-microemulsifying drug delivery system for breviscapine (BRV-SMEDDS). **Methods** The optimum formulations of BRV-SMEDDS were screened by solubility tests, formula compatibility, and pseudo-ternary phase diagrams. And the physico-chemical characters, dissolution *in vitro* and *in situ* rat's intestine absorption of BRV-SMEDDS were also observed. **Results** The optimum formulation of SMEDDS was composed of Maisine 35-1-Cremophor RH40-PEG400-TEA = 25 40 35 7. The particle diameter was 88.6 nm. The percent of accumulated dissolution of BRV in SMEDDS *in vitro* was up to 97.8% at 1h, which was 8.0 times as much as that of BRV powder, and 5.1 times as BRV tablets. In the tests of *in situ* rat's intestine absorption, the permeability coefficient of BRV-SMEDDS was increased by 3.4 times as much as BRV powder, and 3.3 times as BRV tablets. **Conclusion** The dissolution and absorption of BRV is improved by formulation of SMEDDS. It could provide reference for the new dosage form of BRV.

Key words: breviscapine (BRV); self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS); formulation design; evaluation on characteristics

灯盏花素系菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz. 中灯盏花甲素和灯盏乙素的混合物, 主要成分为灯盏乙素, 临床主要用于治疗缺血性脑血管疾病^[1]。目前市售剂型有普通片剂和注射液^[2]。由于灯盏花素水溶性和脂溶性均差, 且受到肠道多药耐药相关蛋白 MRP2 的分泌和外排作用^[3], 导致其口服吸收差, 生物利用度低仅为 0.40%^[4]。自微乳化释药系统是由药物、油相、表面活性剂和助表面活性剂形成的热力学稳定、均一的

无水溶液, 在体温和胃肠道的蠕动下, 能自发形成粒径小于 100 nm 的乳剂^[5], 目前正受到越来越多学者的关注。因此, 为提高灯盏花素的溶解和吸收, 本实验研制了灯盏花素自微乳化释药系统, 进行了处方筛选和优化, 并对其理化性质进行了评价。

1 仪器和试药

PH1100 型高效液相色谱仪 (美国安杰伦公司); Nano-ZS90 型纳米粒度、Zeta 电位分析仪 (英

* 收稿日期: 2008-07-23

基金项目: 湖北省自然科学基金课题 (2007ABA071 号)

作者简介: 陈 鹰 (1971-) , 湖北武汉人, 女, 博士, 副主任药师, 主要从事药剂学及生物药剂学方面的研究与开发工作。

Tel: (027) 87649309 E-mail: cy9262005@yahoo.com.cn

国 Malvern 公司);JEM - 100CX 型透射电镜(日本 JEOL 公司);ZRS - 8 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

灯盏花素原料(南京青泽医药科技开发有限公司,质量分数为 98.7%,批号 2007-0822);灯盏乙素对照品(中国药品生物制品鉴定所,批号 110842-200403);灯盏花素片(批号 050101,规格:20 mg/片,湖南嘉彩药业有限公司);Labrasol、Labrafac CC、Transcutol P、Maisin 35-1(法国 Gattefosse 公司);Cremophor RH40、Cremophor EL(德国 BASF 公司);辛酸癸酸甘油酯(GTCC)、蓖麻油、肉豆蔻酸异丙酯(IPM)均由广东伊隆华工贸有限公司提供;油酸(天津恒光化学试剂制造有限公司);大豆油、玉米油、花生油、橄榄油(上海忠化化工有限公司);油胺、十八胺、三乙醇胺(TEA)(湖北强奇医药有限公司)、液态磷脂(上海太伟药业有限公司)、N-三甲基壳聚糖(自制)。含无水 Na_2SO_3 的 Lock's 缓冲液(每 1 000 mL 内含无水 Na_2SO_3 2 g,用 1.0 mol/L HCl 调 pH 6.8);乙腈为色谱纯,无水乙醇、丙二醇、异丙醇等试剂为分析纯。

SD 大鼠,雄性,体质量 220 ~ 250 g,武汉大学医学院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(鄂)2004-0004。

2 方法与结果

2.1 灯盏乙素的定量^[6]:色谱柱为 Lichrospher C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-稀磷酸溶液(1 → 900) (20 80);检测波长:335 nm;体积流量:1 mL/min;柱温:40 ;进样量:20 μL 。理论塔板数以灯盏乙素计不低于 3 000。结果灯盏乙素保留时间为 7.8 min,其他辅料对药物峰无干扰。

2.2 溶解度试验:将适量的灯盏花素原料置于具塞离心管中,加入 800 mg 油、表面活性剂或助表面活性剂,于 37 恒温振荡器中放置 48 h,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液用甲醇稀释适宜倍数后进行 HPLC 法测定溶解度,结果见表 1。

2.3 处方配伍筛选:分别选择溶解度较大的 Maisine 35-1、Labrac CC、GTCC 作为油,Cremophor RH40、Cremophor EL、Labrasol 作为表面活性剂,PEG 400 和无水乙醇作为助表面活性剂,考察所选油、表面活性剂、助表面活性剂配伍后的自微乳化能力。按常用比例将油、表面活性剂、助表面活性剂按照 30 40 30 的比例旋涡混均 5 min 后,取

表 1 灯盏花素在不同溶剂中的溶解度

Table 1 Solubilities of BRV in various solvents

类 型	名 称	溶解度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
油	Maisine35-1	75.2
	蓖麻油	< 0.2
	油酸乙酯	0.61
	维生素 E	< 0.2
	花生油	< 0.2
	大豆油	< 0.2
	IPM	0.72
	GTCC	5.1
	Labrac CC	9.8
	玉米油	< 0.2
表面活性剂	橄榄油	< 0.2
	Cremophor EL	660.1
	Cremophor RH40	2120.3
	Tween-80	330.3
	Labrasol	540.8
助表面活性剂	Transcutol P	2110.6
	甘油	1412.0
	PEG400	10372.7
	无水乙醇	5693.1
	异丙醇	1829.4
	丙二醇	3710.2
其他	水	51.6
	人工胃液	2.2
	人工肠液	3451.2

混合物 1 滴(50 μL)加入到 20 mL 蒸馏水中,轻摇后,以目测等级^[7]为指标观察自乳化情况,其中 A-迅速乳化(≤1 min),澄清或微微泛蓝;B-迅速乳化(≤1 min),比 A 稍不澄清,蓝白;C-乳化稍慢(≤2 min),呈亮白色奶状液体;D-呈暗、灰白色,略带油状外观,乳化较慢(> 2 min);E-乳化困难或有大量油滴存在。结果(表 2)表明油相的乳化效率大小依次为:GTCC > Labrac CC > Maisine 35-1,但药物在 Maisine 35-1 中溶解度是 GTCC 的约 15 倍,但也能达到自乳化的要求,在加入助表面活性剂以后乳化级别可能会提高;表面活性剂 Cremophor RH40、Cremophor EL 的乳化能力明显强于 Labrasol, Cremophor RH40 的乳化效果比 Cremophor EL 稍好;助表面活性剂中,PEG 400 的乳化能力 > 无水乙醇。初步选择 Maisine 35-1 作为油, Cremophor RH40 作为助表面活性剂,PEG 400 作为表面活性剂。

具体的油、助表面活性剂和表面活性剂的最佳

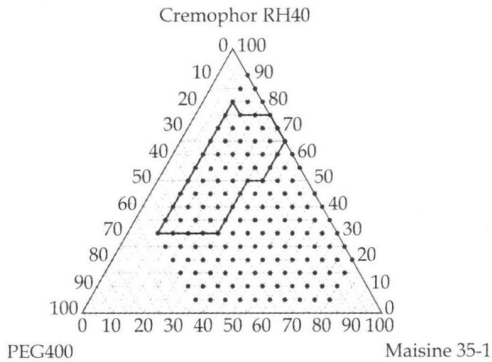
表 2 不同油和表面活性剂的配伍试验结果

Table 2 Compatibility of various oils and surfactants

油	表面活性剂	乳化等级	
		助表面活性剂 (PEG400)	助表面活性剂 (无水乙醇)
Maisine 35-1	Cremophor EL	C	D
Maisine 35-1	Cremophor RH40	B	D
Maisine 35-1	Labrasol	D	E
Labrac CC	Cremophor EL	B	D
Labrac CC	Cremophor RH40	A	C
Labrac CC	Labrasol	C	D
GTCC	Cremophor EL	A	C
GTCC	Cremophor RH40	A	C
GTCC	Labrasol	B	D

比例选择,以伪三元相图进一步确定。

2.4 空白自乳化系统的伪三元相图:在 SEDDS/SMEDDS 中油相的质量分数的选择范围通常为油为 10%~80%;表面活性剂为 5%~80%;助表面活性剂为 0%~60%。因此,用伪三元相图在以上区域考察有效自乳化区。称取不同比例的各相,混匀后,照 2.3 项下方法,自乳化级别达到 A 或 B 级的即为有效自乳化区,见图 1。结果表明 Maisine 35-1 在 20%~40%,Cremophor RH40 30%~75%,PEG400 0%~50%,自乳化效果能达到 A 或 B 级。因此,本着尽量减少表面活性剂和增加整个体系溶解度能力的原则,在此范围内选择了处方 Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400 比例为 25 40 35,测得粒径为 (83.6 ± 16.8) nm。



实线圈起的区域代表自乳化区域,圆点表示被考察的区域
Region of self-microemulsification represented by solid line
and region of evaluated compositions represented by filled circles

图 1 自微乳化释药系统的伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram of SMEDDS

2.5 混合助表面活性剂的选择:在所有考察的灯盏花素在油、表面活性剂、助表面活性剂中溶解度均小于 11 mg/mL,市售灯盏花素片剂规格是 20 mg/片,

所以制备获得的自微乳化系统应该达到约 0.5~1.0 g 混合油中含药 20~40 mg,即 1~2 粒胶囊中能装入 20~40 mg 药物。但 2.4 项下获得的处方系统 Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400 的比例为 25 40 35 对灯盏花素的溶解度约为 6 mg/mL,仍达不到 0.5~1.0 g 混合油中含药 20 mg 的要求,因此,为增加整个体系的溶解能力和经水稀释后的稳定性(少有沉淀析出),考虑采用混合表面活性剂或助表面活性剂。

灯盏花素在水中的溶解度很低($51.6 \mu\text{g/mL}$),在酸中几乎不溶;其脂溶性也较差;具有弱酸性($pK_a = 3.29$),其在 $pH \geq 6.8$ (如人工肠液)下较易质子化,溶解度增加。为此,本实验选择加入一定量的略带碱性的表面活性剂或助表面活性剂来增加灯盏花素在整个自微乳化体系总的溶解度,选择 Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400、新加入的助表面活性剂的比例按 25 40 35 17.5 考察药物在其中的溶解情况,结果(表 3)表明并不是加入一定量的略带碱性的表面活性剂或助表面活性剂均能增加灯盏花素在整个自微乳化体系总的溶解度。发现采用助表面活性剂 TEA 能获得较好的效果。以 Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400 的比例为 25 40 35 为基础,改变 TEA 和 PEG400 的比例,考察其溶解药物情况和自乳化效果,结果(表 4)表明,TEA 的加入对增加整个体系的溶解能力有很大帮助,但随着量的增加会逐步降低体系的自乳化效果。因此,为保证体系的稳定性,以及经水稀释后无沉淀析出,选择比例 PEG400 与 TEA 的比例为 5 1 为宜。其中指标的衡量同表 2。“A⁻”表示乳化效果比 A 稍差,但比 B 强。

2.6 灯盏花素自乳化系统的伪三元相图的制备:照 2.4 项下方法绘制含药自微乳化区域,结果见图 2。

表 3 混合助表面活性剂的选择对灯盏花素溶解度的影响

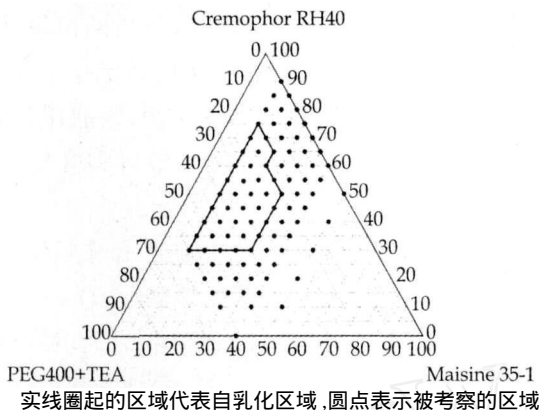
Table 3 Effects of different cosurfactant mixtures on solubilities of BRV

名称	溶解度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
油胺	< 15
十八胺	< 10
N-三甲基壳聚糖	< 5
TEA	> 40
液态磷脂	< 10
去氧胆酸钠	< 10

表 4 TEA 与 PEG400 比例对灯盏花素在自微乳化体系中溶解度的影响

Table 4 Effects of ratio between TEA and PEG400 on solubilities of BRV in SMEDDS

比例		溶解度/ (mg · g ⁻¹)	自乳化级别
PEG400	TEA		
1	1	125.0	B
2	1	112.8	A ⁺
3	1	87.0	A ⁺
4	1	70.2	A
5	1	56.6	A
6	1	48.8	A



Region of self-microemulsification represent by solid line and region of evaluated compositions represented by filled circles

图 2 灯盏花素自微乳化释药系统的伪三相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram of BRV-SMEDDS

药物的加入会减少空白自乳化系统的自乳化区域。因此,最终选择自微乳化处方为 Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400、TEA 比例为 25 40 35 7。

2.7 灯盏花素自微乳化释药系统的制备: Maisine 35-1、Cremophor RH40、PEG400、TEA 按 25 40 35 7 比例,精密称取各组分共 500 mg,混匀后加入灯盏花素 20 mg,于 37 ℃ 水浴中超声 20 min,再在 37 ℃ 恒温振荡器中放置 4 h,即得。

2.8 理化性质测定

2.8.1 粒径与电位:取灯盏花素自微乳化释药系统 1 滴(约 50 mg)滴于 10 mL 蒸馏水中,采用电位及激光散射测定仪(25 ℃)测得粒径为 (88.6 ± 24.7) nm,电位为 (-18.5 ± 1.5) mV。

2.8.2 形态观察:取灯盏花素自微乳化释药系统 1 滴(约 50 mg)滴于 10 mL 蒸馏水中,轻轻摇匀 1 min,点样于铜网上,用 1% 磷钨酸溶液负染,透射电镜观察,见图 3,结果表明,灯盏花素自微乳化释药系统经水稀释后形成大小较均匀的水包油球形乳

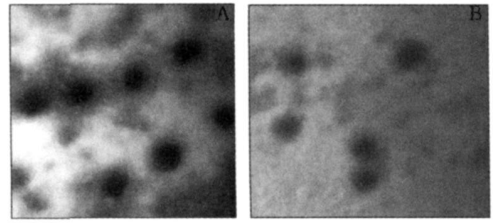


图 3 空白自微乳化释药系统(A)和灯盏花素自微乳化释药系统(B)透射电镜扫描图

Fig. 3 Optical microscope scan of blank SMEDDS (A) and BRV-SMEDDS (B)

滴。灯盏花素自微乳化释药系统形态与空白自微乳化释药系统相似。

2.8.3 溶出度试验:按《中国药典》2005 年版附录 XC 中有关桨法规定进行,转速 100 r/min,水浴温度 37 ℃,溶出介质为水 250 mL。投药量相当于灯盏花素 20 mg,分别于 10、20、30、45、60 min 取样 5 mL,0.22 μm 微孔滤膜滤过,同时补充同温度的 5 mL 空白溶出介质,取续滤液 20 μL 进行 HPLC 测定,计算累积溶出率。以灯盏花素原料药或灯盏花素片剂为对照进行体外溶出度试验,结果见图 4。可见灯盏花素自微乳化释药系统在 1 h 时达到 97.8%,约是灯盏花素原料药(12.2%)的 8.0 倍,是灯盏花素片剂(19.5%)的 5.1 倍。自微乳化系统能自发形成细小的乳剂粒子,依靠这些粒子的巨大比表面积,可大大提高水难溶性药物灯盏花素的溶出的速度和程度。

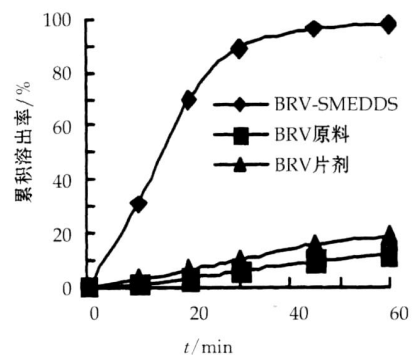


图 4 体外药物溶出曲线图

Fig. 4 Cumulative dissolution profile of BRV-SMEDDS in vitro

2.8.4 稳定性试验:取制备的灯盏花素自微乳化释药系统样品 40 放置 3 个月,分别对灯盏花素、自乳化级别和水中粒径、电位、溶出度进行了测定,见表 5。结果表明,3 个月内灯盏花素自微乳化释药系统稳定性较好。

2.9 大鼠在肠吸收初步实验:将实验前禁食一夜

表5 灯盏花素自微乳化释药系统的稳定性试验

Table 5 Stability test of BRV-SMEDDS

观察时间/月	粒径/nm	电位/mV	灯盏花素/%	自乳化级别	1 h内溶出度/%
0	88.6 ±24.7	-18.5 ±1.5	100.45 ±1.02	A	97.8 ±1.3
1	86.7 ±22.5	-21.2 ±1.2	100.98 ±1.56	A	96.2 ±2.1
2	85.4 ±19.6	-20.8 ±1.1	99.98 ±1.34	A	98.6 ±2.4
3	92.7 ±22.5	-17.7 ±0.9	99.82 ±1.68	A	95.4 ±1.9

(自由饮水)的大鼠称重,ip 15%乌拉坦溶液(5 mL/kg)进行麻醉,后加以固定,体温保持37℃。沿腹中线打开腹腔,自幽门1 cm处开始量取约15 cm的肠段,肠段的两端各剪开一个小口,插管,结扎,并用37℃生理盐水将小肠内容物冲洗干净,再用空气排出生理盐水并将大鼠串联到循环装置中。供试品为灯盏花素自微乳化释药系统,并以灯盏花素原料和灯盏花素片剂为对照。用50 mL循环供试液(配成含灯盏花素100 μg/mL的无水Na₂SO₃的Lock's缓冲液),以1.0 mL/min的速度循环平衡2 h,收集循环药液,滤过,取续滤液测定灯盏花素的质量浓度,计算终末药量,同时测定肠段长度,计算肠壁通透系数(K_e ,表示肠壁通透性^[8])。结果灯盏花素自微乳化释药系统、片剂和原料的肠壁 K_e 分别为(4 574 ±839)、(1 368 ±581)、(1 345 ±514) cm²/h,大鼠在体肠吸收实验表明灯盏花素自微乳化释药系统的肠壁 K_e 分别约是灯盏花素片剂的3.3倍,灯盏花素原料的3.4倍,而灯盏花素片剂与原料间无显著性差异。

3 讨论

自微乳化释药系统是目前发展起来的一种新型药物载体技术,其优势在于:形成细小的乳滴迅速均匀分布于胃肠道中,依靠其巨大比表面积,提高药物的溶解度和溶出;形成的乳剂表面张力低,易于通过胃肠壁的水化层;形成的微乳可经淋巴吸收,从而克服部分药物的首过效应等;处方中的某些表面活性剂或助表面活性剂^[5](如聚山梨酯、Cremophor EL、Pluronic等)还具有抑制P-糖蛋白或多药耐药相关蛋白MRP2外排功能的作用;这对于改善吸收受外排转运蛋白影响的药物更具有针对性。

灯盏花素口服吸收差,一方面与其溶解性差有关,另一方面与其受到多药耐药相关蛋白MRP2的肠分泌和外排作用有关,本实验采用自乳化释药系统,使药物溶解度从51.6 μg/mL(水中)增加到28.3 mg/mL(混合自乳化油中),增加了548.4倍;

灯盏花素自微乳化释药系统在30 min时已达到85%以上,在1 h时为97.8%,约是灯盏花素原料药(12.2%)的8.0倍,是灯盏花素片剂(19.5%)的5.1倍;说明自微乳化系统可大大提高水难溶性药物BRV的溶解和溶出。而且,自乳化处方将有可能改善灯盏花素受外排转运的影响,其体内生物利用度及吸收机制实验正在进行中。

许多难溶性药物的水溶性差,脂溶性也不好,在许多油中的溶解度也不一定高,溶解度差的原因与药物本身性质如脂水分分配系数、极性、质子化程度等有关。三乙醇胺是一种常用的表面活性剂,毒性很低,在医药上也有用途,现有用其制成的市售乳膏,用于放射性皮炎、皮肤创伤和烧伤等治疗。本实验将其作为自乳化系统中的助乳化剂,是利用其乳化性能和一定的碱性,促进药物的溶解和乳化,效果良好。

有关灯盏花素HPLC法测定已有文献报道,实验中曾比较了流动相:甲醇-水-磷酸(40 60 0.5)、乙腈-水-冰醋酸-三乙胺(16 81 2 1)。但出峰时间过快,或峰形不好。经过实验,最终选择流动相乙腈-稀磷酸溶液(1→900)(20 80),灯盏花素保留时间为7.8 min,峰形较好,且其他辅料对药物峰无干扰。

许多黄酮类化合物如灯盏花素、槲皮素、葛根素等都存在溶解性差,口服吸收及生物利用度低的问题,从而影响了临床疗效,造成了中药资源的严重浪费。自微乳化释药系统为提高难溶性药物的口服吸收及生物利用度提供了一个很有前景的新剂型。

参考文献:

- [1] 王丽娟,王勇.灯盏花素药理作用及临床应用研究进展[J].齐齐哈尔医学院学报,2005,26(11):1323-1325.
- [2] 钟海军,邓英杰.灯盏花素新剂型研究进展[J].中成药,2005,27(8):950-953.
- [3] 王从品,吕承哲.影响黄酮苷类药物吸收的因素[J].中国医院药学杂志,2006,26(1):1395-1396.
- [4] 葛庆华,周臻,支晓瑾.灯盏花素在犬体内的药动学和绝对生物利用度研究[J].中国医药工业杂志,2003,34(12):618-632.
- [5] Gursoy R N, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs[J]. *Biomed Pharmacotherapy*, 2004, 58: 173-182.
- [6] 李昌勤,屠万倩. HPLC法测定灯盏花素片中野黄芩苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(3): 212-213.
- [7] Shui M, Andrew J, Christopher J. Formulation design and bioavailability assessment of lipidic self-emulsifying formulation of halofantrine[J]. *Int J Pharm*, 1998, 167(2): 155-164.
- [8] Gursoy R N, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs[J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58: 173-182.