

· 制剂与质量 ·

水飞蓟宾过饱和自乳化给药系统的制备及性质研究

彭璇,陈莘莘,包强,魏颖慧*,李范珠

(浙江中医药大学药学院,浙江 杭州 310053)

摘要:目的 制备水飞蓟宾过饱和自乳化给药系统(S-SEDDS),并对其基本性质进行研究。方法 通过溶解度试验、处方配伍试验和伪三元相图的绘制,以乳化时间、色泽和粒径为指标,筛选过饱和自微乳的处方组成。采用 HPLC 法测定水飞蓟宾 S-SEDDS 中药物;并以水飞蓟宾自乳化给药系统(SEDSS)为对照,考察药物溶出特征。结果 水飞蓟宾 S-SEDDS 的最佳处方组成为:油相中链甘油三酯(MCT)40%、乳化剂聚氧乙烯化蓖麻油(Cremophor RH40)48%、助乳化剂辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol)12%,羟丙甲纤维素(HPMC)的加入量为 50 mg/g;水飞蓟宾 S-SEDDS 的平均粒径为 49.6 nm,自乳化时间 < 3 min,载药量为 39.3 mg/g;体外溶出试验表明处方中加入少量的沉淀抑制剂,可有效维持药物在 S-SEDDS 中的过饱和和溶解状态。结论 所制备的水飞蓟宾过饱和自微乳处方达到了设计要求,为新制剂开发奠定了基础。

关键词:水飞蓟宾;过饱和自乳化给药系统(S-SEDDS);微乳;羟丙甲纤维素(HPMC)

中图分类号:R284.2;286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0040-05

Preparation and evaluation of silymarin supersaturation self-emulsifying drug delivery system

PENG Xuan, CHEN Ping-ping, BAO Qiang, WEI Ying-hui, LI Fan-zhu

(College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract : Objective To prepare the supersaturation self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) containing silymarin and to evaluate its basic properties. **Methods** With the time of self-emulsifying, the consequence of color visual examination and particle size as parameters, the optimum formulations of silymarin S-SEDDS were screened by solubility test, compatibility tests and pseudo ternary phase diagrams. The silymarin concentration was determined by HPLC. The *in vitro* dissolution characteristics of silymarin S-SEDDS were investigated with silymarin SEDSS as control. **Results** The optimum silymarin S-SEDDS was composed of medium chain triglycerides (MCT) 40%, Cremophor RH40 (ethoxylated hydrogenated-castor oil) 48%, Labrasol 12%. The time of self-emulsifying was less than 3 min, the average particle diameter was 49.6 nm, the adding amount of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was 50 mg/g, and the average content of silymarin was 39.3 mg/g. The *in vitro* dissolution test of silymarin S-SEDDS showed that the presence of a small amount of cellulosic polymer effectively sustained a metastable supersaturated state by retarding precipitation kinetics. **Conclusion** The designed formulation of silymarin S-SEDDS is reasonable and provides a strong foundation for further development of new preparations.

Key words: silymarin; supersaturation self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS); micro emulsion; hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)

水飞蓟宾是从菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 果实中提取的一种黄酮类成分,具有稳定肝细胞膜和改善肝功能的作用,对急性慢性肝炎、肝硬化和代谢中毒性肝损伤疗效确切^[1]。

由于水飞蓟宾难溶于水(溶解度为 0.4 mg/mL),口服生物利用度很低,严重影响其临床疗效^[2]。过饱和自乳化给药系统(supersaturatable self-emulsifying drug delivery systems, S-SEDDS)是在传统的

收稿日期:2009-05-14

基金项目:浙江省新苗人才计划(2007R40G2120032)

作者简介:彭璇(1985—),女,贵州省遵义市人,在读硕士研究生,研究方向:药物新剂型与新技术。

Tel.:15858109708 E-mail: zzz8035240@sina.com

*通讯作者 魏颖慧,李范珠

自乳化给药系统 (self-emulsifying drug delivery systems, SEDDS) 中添加水溶性纤维聚合材料, 如羟丙甲纤维素 (HPMC)、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 等以使游离药物和包裹于微乳中的药物在胃肠道内达到过饱和溶解, 从而增加药物溶解度, 提高难溶药物的口服生物利用度^[3]; 同时, 亦可降低乳化剂的用量, 减小对胃肠道的刺激。因此, 将水飞蓟宾制成 S-SEDDS 可增加药物溶解度, 提高其生物利用度, 且与 SEDDS 相比, 可减少乳化剂的用量, 提高用药的顺应性。因此本实验参考相关文献报道^[4,5], 通过溶解度试验、处方配伍试验和伪三元相图的绘制, 对水飞蓟宾的 S-SEDDS 处方进行了筛选, 并对其基本性质进行了考察。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪、Agilent 1200 色谱工作站 (美国 Agilent 公司); UV 1700 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); Zeta Potential/Particle Sizer Nicomp 380 ZLS (美国 Nicomp 公司); DF-101S 集热式恒温搅拌器 (巩义市英峪予华仪器厂); JEM-1200EX 透射电子显微镜 (日本

Jeol 公司); ZRS-28R 智能溶出度仪 (天津大学无线电厂)。

水飞蓟宾 (盘锦华成制药有限公司, 质量分数大于 97%, 批号 20070615); 水飞蓟宾对照品 (中国药品生物制品检定所, 质量分数为 99.8%, 批号 110856-200604); 中链甘油三酯 (MCT)、单亚油酸甘油酯 (Masine35-1)、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (Labrasol)、油酸聚乙二醇甘油酯 (Labrafil M 1944)、二乙二醇单乙基醚 (Transcutol P)、肉豆蔻异丙酯 (Estol) (法国 Gattefosse 公司); 聚氧乙烯氢化蓖麻油 (Cremophor RH40) (德国 Basf 公司); 羟丙基甲基纤维素 (HPMC) (日本信越化学工业株式会社); 甲醇 (色谱纯, Burdick Jackson 公司)。

2 方法与结果

2.1 溶解度试验^[6,7]: 将过量水飞蓟宾分别置于离心管中, 分别加入 2 mL 油相、乳化剂、助乳化剂, 涡旋混匀, 于 37 ℃ 恒温水浴震荡 24 h, 室温下静置过夜。4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液用流动相稀释, HPLC 法测定水飞蓟宾的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 水飞蓟宾在各种赋形剂中的溶解度

Table 1 Solubility of silymarin in various vehicles

油相	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)
MCT	0.89	Cremophor RH40	31.07	PEG400	81.75
Estol	0.71	Labrasol	61.42	1,2-丙二醇	4.99
Masine35-1	0.53	Labrafil M 1944	0.23	Transcutol P	90.41

2.2 油相与乳化剂的配伍: 根据溶解度试验结果, 选择 MCT、Estol、Masine35-1 为油相, Cremophor RH40、Labrasol 为乳化剂。将油相与乳化剂按照质量比例 4:6 于 37 ℃ 恒温水浴搅匀, 加入 50 倍量预热至 37 ℃ 的 0.1 mol/L 盐酸, 100 r/min 搅拌, 观察成乳状况, 以乳化时间 (乳化完全所需时间)、色泽、粒径作为指标考察乳化情况, 结果见表 2。结果表明, 以 MCT 为油相, Cremophor RH40 为乳化剂时乳化效果最好, 因此选择 MCT 为油相、Cremophor RH40 为乳化剂。

表 2 不同油相-乳化剂配伍试验结果

Table 2 Results of compatibility tests between various oils and emulsifiers

油相	乳化剂	乳化时间/s	色泽	粒径/nm
MCT	Cremophor RH40	<150	澄明, 蓝色明显乳光	49.70
Estol	Cremophor RH40	<210	澄明, 蓝色微弱乳光	57.21
Masine35-1	Cremophor RH40	<240	蓝白色明显乳光	71.74
MCT	Labrasol	<300	浑浊, 蓝白色乳状液	312.10

2.3 助乳化剂的筛选: S-SEDDS 中助乳化剂可促进药物溶解、辅助微乳形成。实验选用 Transcutol

P、Labrasol 为助乳化剂。将乳化剂与助乳化剂按质量比 (K_m) 1:1、2:1、4:1 混合, 于 37 ℃ 水浴搅匀, 再与 MCT 按质量比 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 混匀, 在 100 r/min 搅拌下滴入预热至 37 ℃ 的 0.1 mol/L 盐酸, 观察成乳状况。记录系统相变点的油、水、混合表面活性剂质量百分数, 用 Origin 7.5 软件绘制伪三元相图, 以微乳区面积为指标筛选助乳化剂^[8], 结果见图 1、2。结果表明, 助乳化剂为 Labrasol、Transcutol P, K_m 值为 2:1、4:1 时均存在微乳区, K_m 值为 4:1 时的微乳区面积比 K_m 值为 2:1 时的大, 以 Labrasol 为助乳化剂的体系比含 Transcutol P 的体系微乳区面积大, 因此选用 Labrasol 作为系统的助乳化剂, K_m 值为 4:1。

2.4 含药微乳的制备: 根据预试验结果, 将 MCT、Cremophor RH40 和 Labrasol 按表 3 所示的比例混合后加入水飞蓟宾于 37 ℃ 恒温水浴震荡 24 h, 静置过夜。隔日将混合物于 37 ℃ 保温 1 h, 加入 50 倍量 0.1 mol/L 盐酸, 于 100 r/min 搅拌均匀。以乳化时

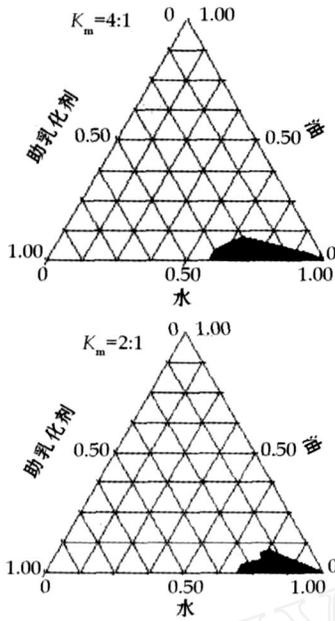


图 1 助乳化剂为 Labrasol 的伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram of S-SEDDS formulation composed of Labrasol as cosurfactant

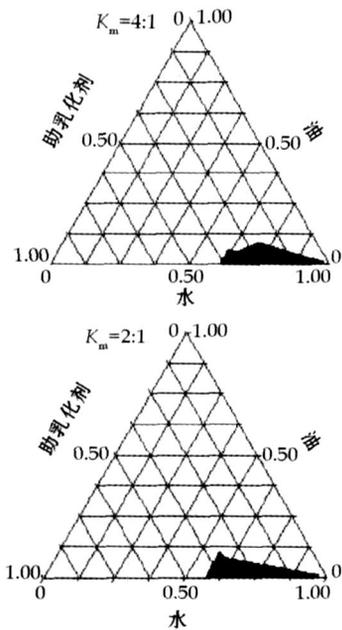


图 2 助乳化剂为 Transcutol P 的伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram of S-SEDDS formulation composed of Transcutol P as cosurfactant

间、微乳外观作为指标,比较成乳状况,结果见表 3。结果显示,当油相与乳化剂质量比为 3 : 7、4 : 6 时得到的自微乳溶液状态最佳,自乳化时间也较短。由于乳化剂用量过大会引起胃肠道刺激,因此选用油相、混合乳化剂质量比为 4 : 6。

2.5 沉淀抑制剂的选择:在自微乳处方中添加不同量的 HPMC,考察沉淀抑制剂对水飞蓟宾 S-SEDDS

中药物溶出度的影响。按含药微乳的制备项下所确定的含药微乳的处方平行制备含 HPMC 5、20、50、100 mg/g 的水飞蓟宾 S-SEDDS 和不含 HPMC 的水飞蓟宾 SEDDS,分别装入硬胶囊中,装量约 0.8 mL,进行测定,绘制药物浓度-时间曲线,见图 3。结果显示,HPMC 加入量为 5~100 mg/g 时均能有效维持水飞蓟宾在 S-SEDDS 中的过饱和溶解状态,且 HPMC 加入量为 50 mg/g 时效果最佳。

表 3 不同比例处方 S-SEDDS 的比较

Table 3 Comparison of S-SEDDS in different proportion of formulations

MCT / %	Cremonophor RH40 / %	Labrasol / %	自乳化时间 / s	外观
30	56	14	<150	明显蓝色乳光,放置一周后无沉淀析出
40	48	12	<180	明显蓝色乳光,放置一周后无沉淀析出
50	40	10	<240	蓝白色轻微乳光,放置一周后少许沉淀析出
60	32	8	<300	浑浊蓝白色轻微乳光,放置一周后大量沉淀析出

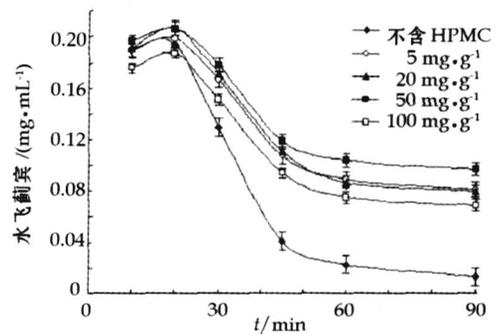


图 3 药物浓度-时间曲线

Fig. 3 Concentration-time profiles obtained from in vitro precipitation test

最后得到水飞蓟宾 S-SEDDS 的最佳处方组成为:油相 MCT (40%)、乳化剂 Cremonophor RH40 (48%),助乳化剂 Labrasol (12%),HPMC 的加入量为 50 mg/g。

2.6 水飞蓟宾的 HPLC 法测定

2.6.1 色谱条件:依利特 Hypersil BDS C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-0.05 mol/L 磷酸二氢钾 (50 : 50 : 5,磷酸调节 pH 值至 4.0);检测波长:288 nm;体积流量:1 mL/min;柱温:30 °C;进样量:20 μL。

2.6.2 对照品贮备液的制备:精密称取水飞蓟宾对照品 10.47 mg,置 50 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,制成 0.2094 mg/mL 的对照品贮备液。

2.6.3 供试品溶液的制备:称取 2 g 自微乳浓缩液

油-乳化剂-助乳化剂(10 12 3),加入 80 mg 水飞蓟宾原药和 100 mg HPMC,涡旋混匀,精密称取 10 mg,置 10 mL 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,吸取适量,0.2 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.6.4 空白溶液的制备:取 2 g 处方量各辅料,除

不加药物外,其余操作同供试品溶液的制备,制备空白溶液。

2.6.5 专属性试验:分别取供试品溶液和空白溶液,进样测定,色谱图见图 4。可见水飞蓟宾峰形好,辅料对水飞蓟宾的测定无干扰。

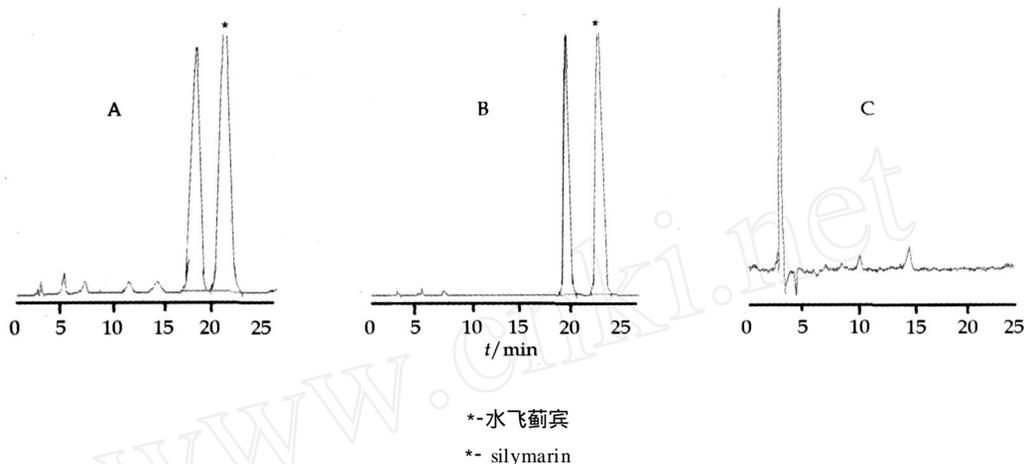


图 4 样品(A)、水飞蓟宾对照品(B)和空白(C) HPLC 色谱图

Fig 4 HPLC Chromatograms of sample (A), silymarin reference substance (B), and negative sample (C)

2.6.6 标准曲线的制备:分别精密量取水飞蓟宾对照品贮备液 0.5、1、2、3、4、5 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,进样测定。以质量浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $A = 38\,748.361\,3\,C - 57.492\,6$, $r = 0.999\,6$,表明水飞蓟宾在 10.47 ~ 104.47 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.6.7 精密度试验:取同一水飞蓟宾对照品溶液,连续进样测定 6 次,测定水飞蓟宾峰面积,计算得 RSD 为 2.01%。

2.6.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,于 12 h 内每隔 2 h 测定一次,记录水飞蓟宾峰面积,计算得 RSD 为 1.61%,表明其中的水飞蓟宾在 12 h 内较为稳定。

2.6.9 重现性试验:取同批样品 5 份,制备供试品溶液,进样测定,计算水飞蓟宾的质量分数,结果其 RSD 为 0.87%。

2.6.10 回收率试验:精密称取处方量 80%、100%、120%的水飞蓟宾对照品,加入处方量辅料,制备微乳,平行制备 3 份,测定微乳中水飞蓟宾的质量分数,得回收率分别为 99.34%、101.2%、99.45%,RSD 分别为 1.37%、1.47%、1.45%。

2.6.11 样品测定:平行制备 3 组水飞蓟宾过饱和自微乳,制备供试品溶液,进样测定,计算得自微乳中水飞蓟宾的质量分数分别为 38.6%、38.9%、40.3 mg/g, RSD 为 1.02%。

2.7 水飞蓟宾 S-SEDDS 的性质考察

2.7.1 粒径和 Zeta 电位的测定:取 1 g 过饱和自微乳浓缩液,加入 50 倍量 37 的 0.1 mol/L 盐酸,于 100 r/min 搅拌均匀,取适量用激光粒度测定仪测定粒径和 Zeta 电位,结果平均粒径为 49.6 nm (图 5),Zeta 电位为 -12.81 ± 0.95。

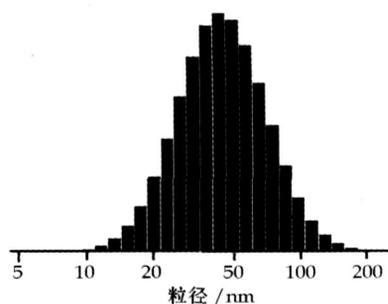


图 5 粒径分布图

Fig 5 Distribution of particle diameter

2.7.2 形态的观察:取 1 g 过饱和自微乳浓缩液,加入 50 倍量 37 的 0.1 mol/L 盐酸,于 100 r/min 搅拌均匀,取适量点样于铜网上,用滤纸吸走多余的液体,自然晾干 20 min。用 2% 磷钨酸溶液负染,置于透射电镜下观察,透射电镜照片见图 6。由透射电镜照片可见,载药微乳为圆球形,外观圆整,分布均匀。

2.7.3 体外溶出试验:将水飞蓟宾自微乳浓缩液和过饱和自微乳浓缩液分别装于硬胶囊中,装量约 0.8 mL,照《中国药典》2005 年版二部附录 C 第三

法,溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸 100 mL,温度 37℃,搅拌速度 100 r/min。分别于 10、20、30、45、60、90 min 定时取 1 mL (同时补充同温等量介质),用 0.2 μm 微孔滤膜滤过,进样 20 μL,按 HPLC 法测定,结果见图 7。结果表明两者在 20 min 时均已基本溶出完全;90 min 后水飞蓟宾 SEDDS 的溶出介质中水飞蓟宾质量浓度小于 0.02 mg/mL;而含 5% HPMC 的水飞蓟宾 S-SEDDS,90 min 后溶出介质中水飞蓟宾质量浓度大于 0.1 mg/mL。

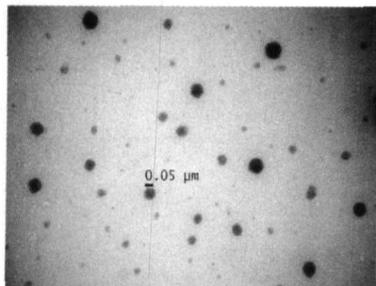


图 6 透射电镜扫描图

Fig. 6 Transmission electron microphotograph

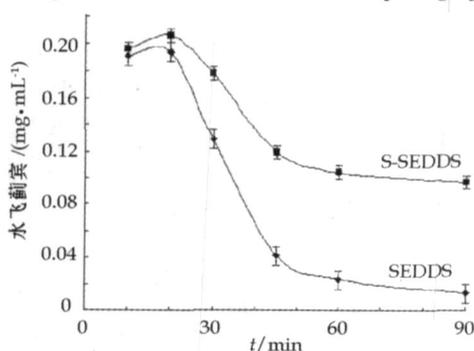


图 7 溶出曲线

Fig. 7 Dissolution curve

3 讨论

通过溶解度试验和油相-乳化剂配伍试验发现,中链甘油三酯(MCT)对水飞蓟宾有较好的溶解性,且自乳化的能力强,与 Cremophor RH40 在不加助乳化剂的情况下也能形成微乳,加入助乳化剂可进一步提高自发形成微乳的能力和载药量。

实验中发现油相与混合乳化剂的质量比为 1:9、2:8、3:7 时所形成的微乳粒径均小于比例为 4:6 时所形成的微乳,外观也优于后者,但本实验确定的最佳处方中油相与混合乳化剂比例为 4:6。原因是 S-SEDDS 中添加了 HPMC,它可使游离水飞蓟宾在 S-SEDDS 中过饱和溶解,防止水飞蓟宾沉淀析出,所以即使水飞蓟宾因处方中乳化剂用量不

足而析出,其在溶出介质中的溶解度也能保持相对恒定,无形中降低了自微乳处方中乳化剂的用量,而传统的自微乳处方中通常会加入较大量的表面活性剂以防止药物包裹不完全^[9]。

本实验采用《中国药典》2005 年版测定溶出度的方法,通过绘制药物质量浓度-时间曲线来比较含不同量沉淀抑制剂(HPMC)的 S-SEDDS 中水飞蓟宾质量浓度随时间的变化,用于筛选处方中沉淀抑制剂 HPMC 的最佳用量。结果 90 min 后水飞蓟宾 S-SEDDS 的溶出介质中水飞蓟宾质量浓度(0.01 mg/mL)明显高于水飞蓟宾 SEDDS(0.02 mg/mL)的溶出介质中水飞蓟宾质量浓度。有学者认为 HPMC 的这种抑制药物结晶析出的作用是由于 HPMC 的高分子链吸附到晶核或结晶的表面,阻止了晶核的形成和晶体的生长^[10]。目前有关聚合纤维素类沉淀抑制剂阻止药物析晶沉降机制的研究尚不完全,有待进一步探索。

参考文献:

- [1] Wu W, Wang Y, Que L. Enhanced bioavailability of silymarin by self-emulsifying drug delivery system [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2006, 63(3): 288-294.
- [2] Woo J S, Kim T S, Park J H, et al. Formulation and biopharmaceutical evaluation of silymarin using SMEDDS [J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30(1): 82-89.
- [3] Gao P, Morozowich W. Development of supersaturable self-emulsifying drug delivery system formulations for improving the oral absorption of poorly soluble drugs [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2006, 3(1): 97-110.
- [4] 江来,刘欢,王春龙,等.水飞蓟宾口服微乳制备及性质评价[J].*中草药*,2008,39(1):51-54.
- [5] 徐月红,陈可奇,杨蕾.丹参酮 A 自微乳释药系统的制备和性质研究[J].*中草药*,2008,39(5):686-688.
- [6] Gao P, Akrami A, Alvarez F, et al. Characterization and optimization of AMG 517 supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) for improved oral absorption [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(2): 518-528.
- [7] Gao P, Guyton M E, Huang T. Enhanced oral bioavailability of a poorly water soluble drug PNU-91325 by supersaturable formulations [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2004, 30(2): 221-229.
- [8] Borhade V, Nair H, Hegde D. Design and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of Tacrolimus [J]. *AA PS Pharm Sci Tech*, 2008, 9(1): 13-21.
- [9] Chiu Y Y, Higaki K, Neudeck B L, et al. Human jejunal permeability of cyclosporin A: influence of surfactants on P-glycoprotein efflux in Caco-2 cells [J]. *Pharm Res*, 2003, 20(5): 749-756.
- [10] Raghavan L, Tivdic A, Davis A F, et al. Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers [J]. *Int J Pharm*, 2001, 212(2): 213-221.