

水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统的制备及体外质量评价

赖章婷¹, 丁海波¹, 蒋且英², 陈绪龙¹, 廖正根^{1*}

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学 实验动物科技中心, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 开发和优化水飞蓟宾 (SLB) 过饱和自微乳给药系统 (SLB-SSMEDDS), 提高 SLB 在生物介质中的过饱和度以及延长过饱和时间。方法 通过溶解度试验、乳化剂乳化能力的考察以及伪三元相图的绘制, 筛选出 SLB-SSMEDDS 处方组成; 采用层次分析法 (AHP) 综合评价各处方的性能以筛选最优处方比例; 以维持药物在体外生物介质中的过饱和度和持续时间优选沉淀抑制剂 (PPIs) 的种类及其用量; 从乳化效果、乳液大小及表面形貌, 体外释药及体外过饱和度等角度全面评价 SLB-SSMEDDS。结果 SLB-SSMEDDS 处方为丙二醇单辛酸酯-聚氧乙烯氢化蓖麻油-二乙二醇单乙基醚-醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯 (10:67.5:22.5:2), 载药量为 50.19 mg/g, 形成的自微乳均一透明, 乳滴呈大小均匀的圆球状分布, 乳化时间为 (30.67±4.16) s, 平均粒径为 (11.67±0.81) nm, 多分散指数 (PDI) 为 0.15±0.04, SLB-SSMEDDS 在人工胃液和人工肠液 2 种生物介质中药物的溶出速率均显著升高, 体外稀释过饱和度在 120 min 内可维持在 10 以上。结论 SLB-SSMEDDS 制备工艺简单, 能改善传统自微乳给药系统 (SMEDDS) 的稳定性问题, 有效维持过饱和状态, 增强 SLB 体外溶出。

关键词: 水飞蓟宾; 过饱和自微乳; 给药系统; 体外质量评价; 载药量; 平均粒径; 生物介质

中图分类号: R283 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4091-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.013

Preparation and *in vitro* quality evaluation of silybin supersaturated self-microemulsion drug delivery system

LAI Zhang-ting¹, DING Hai-bo¹, JIANG Qie-ying², CHEN Xu-long¹, LIAO Zheng-gen¹

1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China

2. Experimental Animal Center, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To develop and optimize the silybin supersaturated self-microemulsion drug delivery system (SLB-SSMEDDS) and improve the oral bioavailability of SLB in the biological medium. **Methods** The formulation of SLB-SMEDDS was selected by solubility test, emulsifying ability of emulsifier and pseudo-ternary phase diagram. The analytic hierarchy process (AHP) was used to evaluate the performance of each prescription to screen the optimal ratio. The type and dosage of precipitation inhibitors (PPIs) was optimized to maintain the supersaturation and duration of drugs in biological media *in vitro*; Finally, the emulsification effect, emulsion size and surface morphology of SLB-SSMEDDS was comprehensively evaluated in terms of *in vitro* release and *in vitro* supersaturation. **Results** The SLB-SSMEDDS prescription was Capryol 90-Cremophor RH-Transcutol HP-HPMC-AS MF (10:67.5:22.5:2). The self-microemulsion with a drug loading of 50.19 mg/g was uniform and the emulsion droplets were spherical in shape and uniform in size. And the emulsification time was (30.67±4.16) s, the average particle size was (11.67±0.81) nm, and the PDI was (0.15±0.04). The dissolution rate of SLB-SSMEDDS in FaSSGF and FaSSIF-V2 was significantly increased. And the *in vitro* dilution and supersaturation could be maintained above 10 within 120 min. **Conclusion** SLB-SSMEDDS has a simple preparation process and can improve the stability of traditional SMEDDS, maintain supersaturation effectively and enhance the dissolution of SLB *in vitro*.

Key words: silybin; supersaturated self-microemulsion; drug delivery system; *in vitro* quality evaluation; drug loading; average particle size; biological media

收稿日期: 2019-08-12

基金项目: 江西省一流学科资助 (JXSYLXK-ZHYA0059)

作者简介: 赖章婷, 女, 硕士研究生, 从事药物新剂型及新技术研究。Tel: 15170060517 E-mail: 1508809432@qq.com

*通信作者 廖正根, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事药物新剂型及新技术研究。Tel: (0791)87119011 E-mail: lyzlyg@163.com

口服给药一直是最受欢迎的给药途径,由于一些药物分子的低溶解性易导致其口服生物利用度较低,为此,人们常将药物制成高浓缩的药物溶液制剂或高能态的固体制剂以提高化合物的溶解度^[1]。自微乳给药系统(SMEDDS)是由油相、表面活性剂、共溶剂组成,当其暴露在水介质中,加以温和搅拌或消化运动时,可自发形成小于100 nm的O/W型微乳,是一类重要的高浓缩药物溶液制剂^[2]。但由于该类制剂在胃肠液中易形成化学势高于晶体平衡态溶解度的溶液而具有结晶的趋势,为了避免结晶或降低结晶速度以较长时间地维持过饱和状态,近年一些研究将沉淀抑制剂(PPIs)引入到SMEDDS中^[3],并将含有PPIs的SMEDDS称为过饱和自微乳给药系统(SSMEDDS)。

水飞蓟宾(silybin, SLB)是菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 中提取分离得到的黄酮类化合物,为水飞蓟素主要的活性成分之一。广泛应用于急性慢性肝病的治疗,包括病毒性肝炎和肝硬化^[4-6]。近期,研究人员发现其在前列腺癌^[7]、乳腺癌^[8]、胰腺癌^[9]的治疗中也发挥着重要作用,同时,还具有改善记忆力^[10]、抗炎^[11]等作用。然而,SLB的水溶性较差(25 °C, 1.352 mg/mL)^[12],生物利用度低,为解决该问题,本研究筛选优化出一种合适的SSMEDDS,以期提高其在生物介质中的过饱和度和延长过饱和时间。

1 材料

1.1 仪器

FEI Tecnai G 2 Spirit TWIN 120 kV 透射电子显微镜(美国FEI公司);Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);Malvern Nan-S型纳米激光粒度仪(英国Malvern公司);高速冷冻离心机(德国Sigma公司);ZRS-8G智能溶出仪(天津天大天发科技有限公司);85-2A双数显恒温磁力搅拌器(金坛市城东新瑞仪器厂);雷磁PHS-2F-pH计(上海仪电科学仪器股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

SLB(西安昊轩生物科技有限公司,批号HXSFJB20190305,质量分数>98%);SLB对照品(成都埃法生物科技有限公司,批号S-0240181008,质量分数>98%);丙二醇单辛酸酯(Capryol 90)、二乙二醇单乙基醚(Transcutol HP)、油酸聚乙二醇甘油酯(Labrafil M 1944 CS)、单亚油酸甘油酯(Maisine 35-1),均为嘉法狮贸易公司赠送;聚山梨

酯-20(Tween-20)、Tween-80 购自海源叶生物科技有限公司;聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL)、聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH)、聚乙二醇400(PEG-400)、聚乙烯己内酰胺-聚醋酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物(Soluplus)购自巴斯夫中国有限公司;羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基甲基纤维素(HPMC K4M)购自西安天正药用辅料有限公司;聚乙烯吡咯烷酮K30(PVP K30)、牛黄胆酸钠、鸡蛋卵磷脂、马来酸均来自北京索莱宝科技有限公司;聚乙烯吡咯烷酮K17(PVP K17)、羟丙基β环糊精(HP-β-CD),美仑生物有限公司;氯化钠(西陇科学生物科技有限公司);泊洛沙姆188(Poloxamer 188),上海普为医药辅料技术有限公司;醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯(HPMC-AS MF),Ashland公司;丙烯酸树脂(Eudragit L 100-55)德国罗姆公司。

2 方法与结果

2.1 人工胃液(FaSSGF)/人工肠液(FaSSIF-V2)的制备

FaSSGF:牛黄胆酸钠 80 μm,鸡蛋卵磷脂 20 μm,氯化钠 34.2 mm,胃蛋白酶 0.1 mg/mL, pH 为1.6;FaSSIF-V2:牛黄胆酸钠 3 mm,鸡蛋卵磷脂 200 μm,氯化钠 68.62 mm,马来酸 19.12 mm, pH 为6.5。

2.2 平衡溶解度的测定

分别在一定量的辅料中加入过量的SLB,涡旋5 min后,超声120 min助溶,37 °C恒温摇床平衡24 h,8 000 r/min离心10 min,上清液用甲醇稀释适宜倍数后,采用HPLC法^[13]测定SLB在不同辅料中的平衡溶解度(表1)。根据结果,初步确定油

表1 SLB在不同介质中的平衡溶解度($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Solubility of SLB in different excipients ($\bar{x} \pm s, n=3$)

类别	介质	溶解度/(mg·g ⁻¹)
乳化剂	Tween-20	47.53±0.92
	Tween-80	53.53±0.10
	Cremophor EL	41.21±0.15
	Cremophor RH	51.00±0.56
共溶剂	Transcutol HP	149.60±1.35
	PEG-400	86.50±0.87
	1,2-丙二醇	43.29±0.66
油相	Capryol 90	5.29±0.06
	Labrafil M 1944 CS	1.46±0.19
	油酸	—
	IPM	—
	油酸乙酯	—

—为溶解度未检测到

—indicates that solubility is not detected

相为 Capryol 90 和 Labrafil M 1944 CS, 共溶剂为 Transcutol HP 和 PEG-400。不同乳化剂对 SLB 的溶解度差别不大, 故进一步由乳化性能确定。

2.3 乳化剂的筛选

以 Capryol 90 为油相, Transcutol HP 为助乳化剂, 乳化剂与助乳化剂质量比 (K_m) 为 1:1, 将油相与混合乳化剂分别按不同的 K_m 混合均匀, 即得空白 SMEDDS。取空白 SMEDDS 1 g, 加入至 100 mL 预热至 37 °C 的双蒸水中, 100 r/min 磁力搅拌, 观察 4 种乳化剂的乳化能力 (表 2), 可见 Cremophor RH 的乳化能力最好, 因此选择 Cremophor RH 为乳化剂。

2.4 伪三元相图的绘制

将乳化剂与助乳化剂按 K_m 1:2~4:1 混合后, 再与油相按 1:9~9:1 涡旋混匀。取 1 g 混合物在 100 r/min 磁力搅拌下分散于 100 mL 加热至 37 °C 的双蒸水中, 记录能形成澄清泛淡蓝光的微乳溶液或能形成半透明或蓝白色微乳液的点^[14]。将结

表 2 不同乳化剂能力考察

Table 2 Emulsifying ability of different emulsifiers

乳化剂	油相与混合乳化剂质量比			
	1:9	2:8	3:7	4:6
Tween-20	澄清	泛蓝光	乳白色	乳白色
Tween-80	澄清	澄清	乳白色	乳白色
Cremophor EL	澄清	澄清	蓝白色	蓝白色
Cremophor RH	澄清	澄清	泛蓝光	泛蓝光

果导入 Origin 中绘制伪三元相图 (图 1)。由三元相图结果可知, 乳化区域大小为 $a > b > c > d$ 。因此选择 Capryol 90 为油相、Cremophor RH 为乳化剂、Transcutol HP 为助乳化剂。

2.5 SLB 自微乳处方 (SLB-SMEDDS) 的优化

2.5.1 SLB-SMEDDS 的制备 按“2.2”项下方法测定表 3 设定的不同处方的平衡溶解度, 分别往空白 SMEDDS 中加入平衡溶解度为 50% 和 90% 的

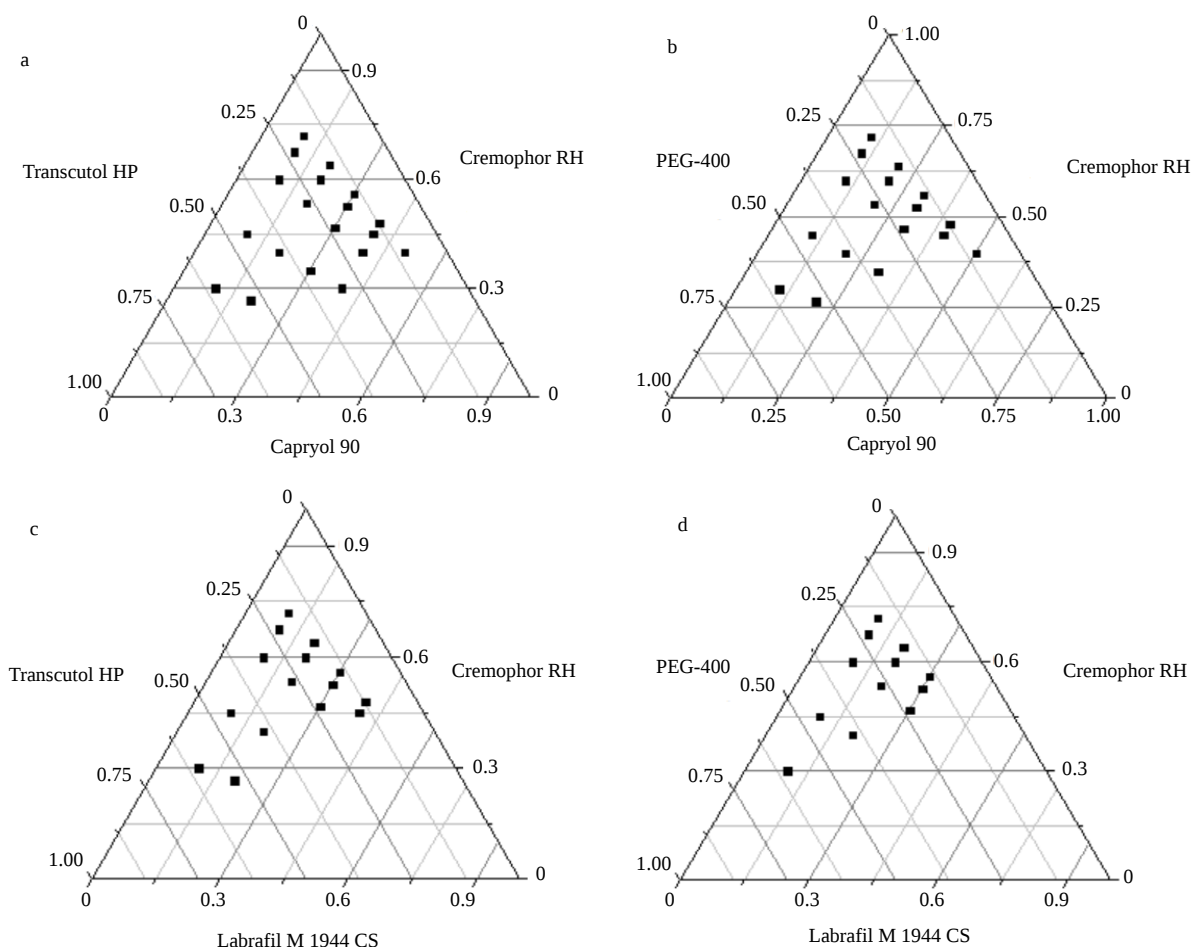


图 1 空白自微乳伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram of blank SMEDDS

表 3 处方组成设计与平衡溶解度 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Composition and equilibrium solubility of SMEDDS formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	Capryol 90/%	Cremophor RH/%	Transcutol HP/%	K_m	油相-混合乳化剂	平衡溶解度/(mg·g ⁻¹)
F1	10	45.00	45.00	1 : 1	1 : 9	80.51 ± 1.28
F2	20	40.00	40.00	1 : 1	2 : 8	54.49 ± 1.53
F3	30	35.00	35.00	1 : 1	3 : 7	51.74 ± 0.81
F4	10	60.00	30.00	2 : 1	1 : 9	71.11 ± 2.01
F5	20	53.33	26.67	2 : 1	2 : 8	62.25 ± 0.98
F6	30	46.67	23.33	2 : 1	3 : 7	40.67 ± 0.56
F7	40	30.00	30.00	2 : 1	4 : 6	32.95 ± 0.94
F8	10	67.50	22.50	3 : 1	1 : 9	66.92 ± 0.35
F9	20	60.00	20.00	3 : 1	2 : 8	57.21 ± 0.53
F10	30	52.50	17.50	3 : 1	3 : 7	39.42 ± 1.33
F11	40	45.00	15.00	3 : 1	4 : 6	32.58 ± 1.30

SLB, 溶解完全后, 即得 SLB-SMEDDS。将 0.5 g 处方加入到 50 mL 预热至 37 °C 的双蒸水中, 按“2.4.2”项下方法测定各评判指标。

2.5.2 评判指标的测定 在样品分散完全后, 用秒表记录制剂分散完全的时间; 目测法观察微乳液外观 (澄清 3、泛蓝光 2、蓝白色 1); 采用纳米粒度仪测定分散液的平均粒径及多分散指数 (PDI); 在分散 5、15 min (MR5、MR15) 时取样 1 mL 过 0.22 μm 滤膜, 续滤液稀释适量倍数, HPLC 测定含量。

2.5.3 层次分析法 (AHP) 法权重的确定与综合评判方法 各处方各指标的测定结果见表 4, 根据影响自微乳处方的吸收因素的重要性, 将 7 个指标分为 5 个层次, 并拟定各指标的优先顺序为平衡溶解度 (X_1) = MR5 (X_2) > 粒径 (X_3) > MR15 (X_4) > 分散时间 (X_5) > PDI (X_6) = 外观 (X_7), 构建成对比较的判别优先矩阵 (表 5)。根据表 5 的评分结果, AHP 法计算得到的各指标权重系数见表 5, 一致性比例因子 (CR) = 0.011 8 < 0.10, 即指标优先比较判断矩阵具有满意的一致性, 权重系数有效。

各指标按下列方式归一化处理: 平衡溶解度 = X_1 /最大平衡溶解度; 粒径 = $(100 - X_3)/100$, 无法测定粒径设定为 0; 分散时间 = $(\text{最大分散时间} - X_5)/\text{最大分散时间}$; MR5 = $X_2/\text{最大 MR5}$, MR15 = $X_4/\text{最大 MR15}$, 空白处方该两指标定为 0; 外观 = $X_7/\text{最大外观值}$ 。各载药量的综合评分为各指标的归一化值乘以权重系数的总合, 不同处方的总评分 (Y) 为 3 种载药处方综合评分的总和 (表 4), 表 4 显示 F8 最优, 因此选择 F8 中各辅料的比例为 SLB-SMEDDS 处方。

2.6 SLB 过饱和自微乳 (SLB-SSMEDDS) 处方的优化

2.6.1 PPIs 种类的筛选 按处方 75% 载药量, 加入质量比为 5% 的 PPIs, 制备含 PPIs 自微乳处方。将制备好的处方以 1 : 100 分散于预热至 37 °C 的 FaSSGF、FaSSIF-V2 中, 100 r/min 磁力搅拌, 不同时间点取样 1 mL, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 续滤液用甲醇稀释适宜倍数, HPLC 进样检测, Graphpad prism 6 软件绘制时间-浓度曲线, 梯形法计算质量浓度-时间曲线下面积 (AUC), 结果见图 2 和图 3。结果显示, 在 FaSSGF 体系中, 加入不同的 PPIs 后, 各组 AUC 相较于 SMEDDS 组均显著增加, 而在 FaSSIF-V2 体系中, 仅有 5 种 PPIs 显示抑晶作用, 表明不同体系中, PPIs 的抑晶效果不同。HPMC-AS MF 加入有一定缓释作用, 其在 FaSSIF-V2 体系中较长时间维持的高位质量浓度远高于 FaSSGF 体系中 Soloplus 维持的高位质量浓度, 且考虑到如果将乳液封装于肠溶胶囊中时可以避免在胃液中产生沉淀, 因此, 选择 HPMC-AS MF 为抑晶物质。

2.6.2 处方载药量与 PPIs 用量优化 按处方不同载药量 (75%、90%), 分别加入不同用量的 HPMC-AS MF (2%、5%、10%), 制备含 PPIs 自微乳处方, 将制备好的处方按“2.5.1”项操作。结果见图 4、5。由图 4 可知, 在 75% 载药量下, FaSSGF 体系中, HPMC-AS MF 3 个用量下均具有抑晶作用, AUC 的大小为 5% 用量 > 10% 用量 > 2% 用量; FaSSIF-V2 体系中, HPMC-AS MF 3 个用量下均未见沉淀的产生, 其中 AUC 的大小为 2% 用量 > 5% 用量 > 10% 用量。由图 5 可知, 在 90% 载药量下, FaSSGF 体系

表 4 处方考察指标及评分 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Physical characteristics and scores of SMEDDS formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	载药量/%	平均粒径/nm	分散时间/s	外观	药物维持率/%		PDI	Y
					MR5	MR15		
F1	0	12.84±1.29	16.33±0.58	澄清	—	—	0.181±0.043	1.72
	50	—	13.67±1.53	澄清	60.36±7.78	18.51±4.92	—	
	90	—	14.33±0.58	澄清	36.60±3.77	11.48±1.86	—	
F2	0	27.06±1.68	13.67±1.15	泛蓝光	—	—	0.636±0.037	1.89
	50	34.56±3.28	17.00±1.00	泛蓝光	78.54±5.51	45.49±3.19	0.501±0.017	
	90	59.49±1.06	18.00±2.00	蓝白色	65.84±7.89	21.77±0.84	0.472±0.004	
F3	0	19.80±1.01	39.33±3.21	泛蓝光	—	—	0.143±0.035	1.84
	50	25.94±0.49	15.33±0.58	泛蓝光	82.58±0.55	48.33±3.26	0.290±0.023	
	90	59.51±4.82	16.33±3.21	蓝白色	38.64±2.31	22.36±2.95	0.371±0.058	
F4	0	11.24±0.43	26.33±3.51	澄清	—	—	0.105±0.034	2.00
	50	18.31±2.37	18.31±2.37	澄清	82.85±1.46	50.04±3.29	0.199±0.042	
	90	—	25.67±1.15	澄清	56.90±2.23	21.75±3.52	—	
F5	0	26.13±3.22	21.33±3.51	泛蓝光	—	—	0.850±0.001	1.68
	50	52.67±1.71	23.67±2.31	蓝白色	81.68±3.87	46.95±6.69	0.587±0.031	
	90	—	21.00±3.61	蓝白色	59.95±5.46	21.49±0.96	—	
F6	0	58.89±4.57	100.00±10.44	蓝白色	—	—	0.958±0.072	1.65
	50	48.86±1.02	46.00±4.00	蓝白色	89.75±0.97	84.21±2.18	0.490±0.004	
	90	57.55±3.57	46.33±5.13	蓝白色	73.07±4.96	38.21±1.43	0.457±0.012	
F7	0	24.61±0.42	188.00±3.00	泛蓝光	—	—	0.197±0.006	1.73
	50	27.76±0.14	57.00±3.61	泛蓝光	76.57±1.31	72.96±1.91	0.190±0.007	
	90	33.21±2.85	36.33±2.08	泛蓝光	74.80±2.67	50.72±3.28	0.296±0.015	
F8	0	11.58±0.72	18.67±2.31	澄清	—	—	0.145±0.060	2.05
	50	14.44±0.40	22.00±2.65	澄清	81.75±0.61	75.49±1.93	0.271±0.031	
	90	—	17.67±2.52	澄清	68.46±1.94	31.01±1.25	—	
F9	0	26.79±2.05	75.33±6.11	泛蓝光	—	—	0.796±0.120	1.85
	50	41.44±2.74	42.00±2.65	蓝白色	83.03±0.79	63.69±6.07	0.620±0.036	
	90	50.08±7.80	23.67±6.35	蓝白色	67.66±3.55	24.95±2.56	0.486±0.099	
F10	0	87.50±2.34	163.33±6.11	蓝白色	—	—	1.000±0.000	1.48
	50	56.23±1.48	86.33±2.08	蓝白色	84.70±1.62	79.44±0.95	0.465±0.015	
	90	67.41±1.73	97.00±2.65	蓝白色	72.56±11.21	43.15±6.15	0.426±0.032	
F11	0	24.37±0.29	235.67±37.53	泛蓝光	—	—	0.316±0.015	1.64
	50	24.40±0.22	104.67±5.51	泛蓝光	87.78±1.83	81.41±0.98	0.216±0.009	
	90	27.61±1.69	105.00±3.00	泛蓝光	77.68±2.84	65.86±0.89	0.370±0.033	

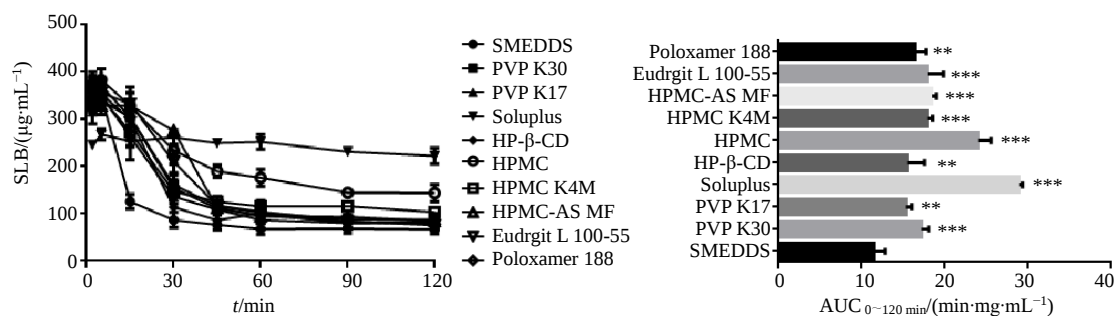
—表示该数据无法测定

—indicates that index is not detected

表 5 指标成对比较的优先判断矩阵

Table 5 Priority judgment matrix for paired comparison of indicators

权重指标	溶解度	粒径	分散时间	MR5	MR15	PDI	外观	权重
溶解度	1	2	4	1	3	5	5	0.285 3
粒径	1/2	1	2	1/2	2	3	3	0.157 5
分散时间	1/4	1/2	1	1/4	1	1	1	0.070 5
MR5	1	2	4	1	3	4	5	0.276 1
MR15	1/3	1/2	1	1/3	1	2	2	0.093 6
PDI	1/5	1/3	1	1/4	1/2	1	2	0.065 5
外观	1/5	1/3	1	1/5	1/2	1/2	1	0.051 6



与 SMEDDS 组比较: **P < 0.01 ***P < 0.001, 下同

P < 0.01 *P < 0.001 vs SMEDDS group, same as below

图2 FaSSGF 体系中不同 PPIs 的 SLB 过饱和时间-浓度曲线及 AUC

Fig. 2 SLB concentration versus time profile and AUC values of different polymers in FaSSGF

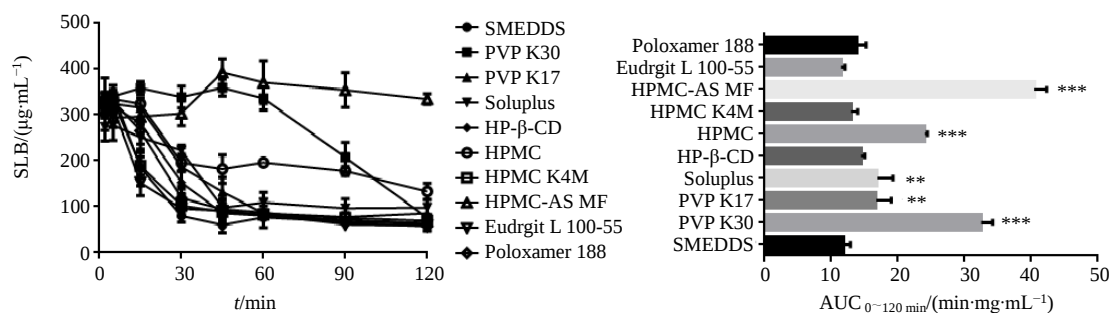


图3 FaSSIF-V2 体系中不同 PPIs 的 SLB 过饱和时间-浓度曲线及 AUC

Fig. 3 SLB concentration versus time profile and AUC values of different polymers in FaSSIF-V2

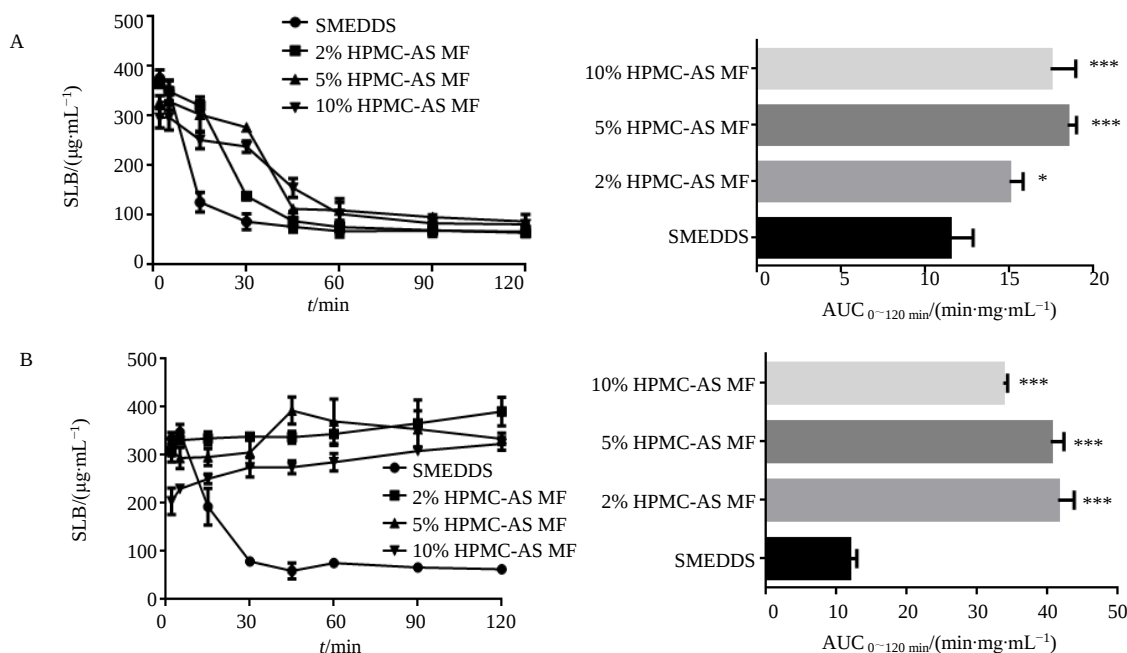


图4 FaSSGF (A)、FaSSIF-V2 (B) 体系中 75%载药量的 SLB 过饱和时间-浓度曲线及 AUC

Fig. 4 SLB concentration versus time profile and AUC values of 75% drug loading in FaSSGF (A) and FaSSIF-V2 (B)

中, HPMC-AS MF 用量均未见抑晶作用, AUC 的大小为 2%用量>5%用量>10%用量, 只有 2%用量与无抑制物质有差异; FaSSIF-V2 体系中, 抑晶作

用呈明显的用量相关性, 用量越大, 抑晶能力越强, AUC 的大小为 10%用量>5%用量>2%用量。在 FaSSIF-V2 体系中, 75%载药量、2% HPMC-AS MF

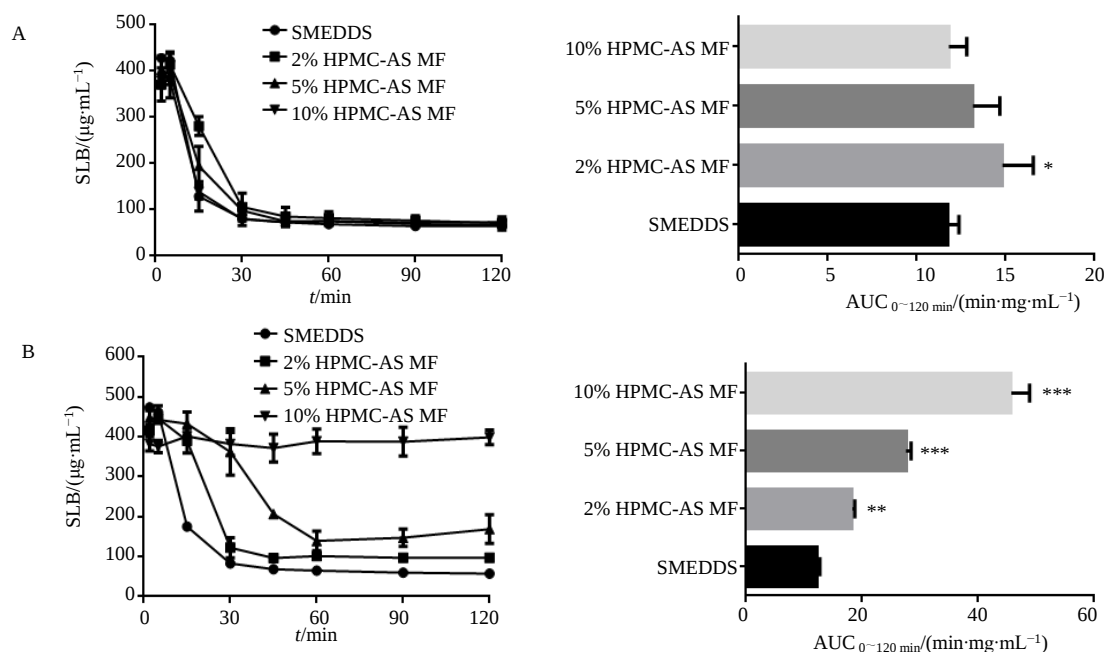


图 5 FaSSGF (A)、FaSSIF-V2 (B) 体系中 90%载药量的 SLB 过饱和和时间-浓度曲线及 AUC
Fig. 5 SLB concentration versus time profile and AUC values of 90% drug loading in FaSSGF (A) and FaSSIF-V2 (B)

与 90%载药量、10% HPMC-AS MF 两者的 AUC 相差不多。因此, 选用 75%载药量、2% HPMC-AS MF 用量为最终处方。

2.7 SLB-SSMEDDS 体外质量评价

2.7.1 乳化时间及外观评价 按“2.5.2”项下方法测定乳化时间及外观, 每个样品重复 3 次, 乳化时间为 (30.67±4.16) s, 溶液呈澄清均一透明状。

2.7.2 粒径分布 按“2.5.2”项下方法测粒径分布和 PDI, 每个样品重复 3 次, 粒径为 (11.67±0.81) nm, PDI 为 0.15±0.04。

2.7.3 微观结构观察 按“2.5.2”项下方法制备样品, 取少量液体滴加到铜网上, 铺展均匀, 并滴加

10 μL 2.0%磷酸溶液, 负染 10 min, 用滤纸从边缘吸去多余水分, 挥干, 透射电镜下观察 SLB-SSMEDDS 的微观结构 (图 6)。结果经稀释后的乳滴成圆球形, 乳液之间无粘连, 分布均匀。

2.7.4 体外过饱和度评价 取 0.5 g 空白 SMEDDS、SSMEDDS, 加到 50 mL 预热至 37 °C FaSSGF、FaSSIF-V2 中, 100 r/min 磁力搅拌, 搅拌至分散均匀, 溶液体系为空白胶束溶液, 按“2.2”项下方法测定 SLB 在空白胶束中的溶解度。根据不同处方体外稀释过程质量浓度的变化, 计算过饱和度 ($S = C_{\text{分散}}/C_{\text{空白胶束}}$)。结果见图 6。结果表明, 与 SMEDDS 相比, SSMEDDS 过饱和的程度更高、过饱和持续

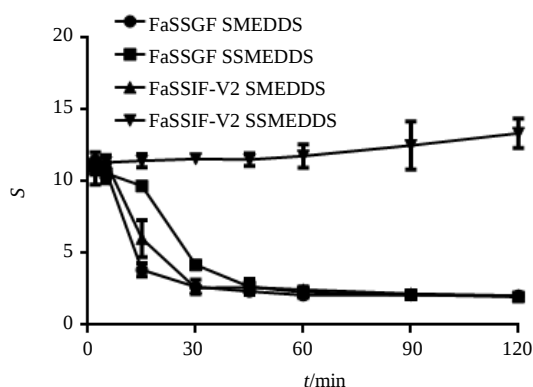
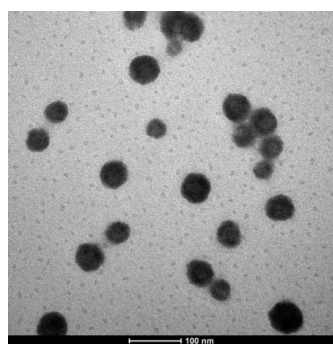


图 6 SLB-SSMEDDS 透射电镜图 (A) 及体外稀释过饱和度-时间曲线 (B)
Fig. 6 Transmission electron microscopy (A) and *in vitro* supersaturation-time profile (B) of SLB-SSMEDDS

时间更长,尤其在 FaSSIF-V2 体系中,在 120 min 内,维持的过饱和度均能达到 10 以上。

2.7.5 体外释药评价 采用《中国药典》2015 年版四部 0931 溶出度与释放度测定法,分别以 FaSSGF (含 0.5% SDS) 和 FaSSIF-V2 (含 0.5% SDS) 作为溶出介质,测定方法为溶出介质 500 mL,温度为 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,搅拌桨转速为 (100 ± 1) r/min。精密称取 20 mg SLB 原料药、0.4 g SLB-SMEDDS (约含 SLB 20 mg) 及 SLB-SSMEDDS 加入到 0 号胶囊壳中,开启溶出仪,将胶囊加入到溶出杯中,开始计时,在不同时间点取样 2 mL,同时补加等温、等体积空白介质,0.22 μm 微孔滤膜滤过, HPLC 测定药物含量,计算药物累积溶出率。结果见图 7, 2 种溶出介质中 SLB-SMEDDS/SLB-SSMEDDS 均可显著提高药物的溶出速率,10 min 药物已基本溶出,在 2 种溶出介质间未见明显差异;原料药在 FaSSGF、FaSSIF-V2 2 种体系中 30 min 分别溶出 12.27%、16.74%,结果表明自微乳给药体系可显著提高药物的溶出速率。

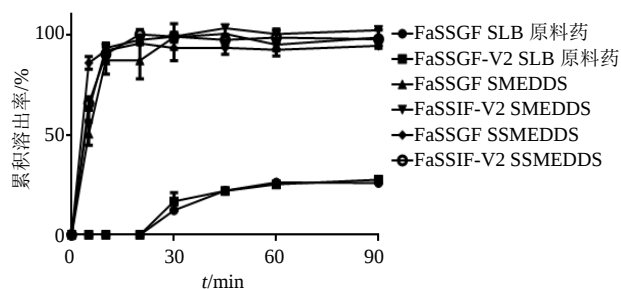


图 7 SLB 原料药、SLB-SMEDDS 和 SLB-SSMEDDS 的体外溶出曲线

Fig. 7 *In vitro* release profile of SLB, SLB-SMEDDS and SLB-SSMEDDS

3 讨论

SMEDDS 处方优化时应考虑辅料对药物的溶解能力、处方的相容性和自乳化效率及载药处方的稀释稳定性^[15-16]。油相是 SMEDDS 制剂的重要载体,影响自微乳的载药量和乳化效果,用量一般为 10%~40%^[17];乳化剂主要用来提供基本的微乳化特性,使油相在水相中能快速分散成细小均匀的乳滴;助乳化剂用于降低界面张力,增强乳化效果,稳定乳滴,同时其具有很好的增溶作用, K_m 值为 1:1~3:1^[18]。一般而言,自乳化区域越宽,表明不同配方的自乳化能力越强。因此本研究结合溶解能力和自乳化能力,选择 Capryol 90-Cremophor RH-

Transcutol HP 为处方组成。

处方的有效性由微乳性能、载药量及稀释稳定性共同决定。载药量与处方的稀释稳定性有很大联系,一般载药量越大,稳定性越差,载药量一般为平衡溶解度的 50%~90%^[19]。空白处方一定程度上可反映微乳性能,但载药处方为最终目的,因此本研究考察了 3 个载药水平处方性能。在评价指标的设计上,粒径、PDI、乳化时间和外观是评价自微乳给药体系的关键因素^[20-21]。游离药物分子是影响药物的吸收重要因素^[21],其受处方载药量及稀释稳定影响,其中 5、15 min 药物的维持率可反映处方的稀释稳定性。AHP 是一种解决多目标的复杂问题定性和定量相结合的决策分析方法,采用主观客观结合的赋权法确定权重,可增强总体评价结果的科学性和合理性^[22]。根据影响自微乳吸收因素的大小,分别对指标赋予权重。评价结果 F8 为最优处方,且处方微乳性能满足普遍要求,与实际相符。

药物分子以分子形式存在于 SMEDDS 中处方中,其药物质量浓度远远高于稀释液中的平衡溶解度,从而稀释过程常伴随不同程度的药物析出。在制剂的改良过程,通常加入 PPIs 以提高溶液的稳定性。PPIs 通过在溶液体系与药物分子发生相互作用而产生抑晶作用,其机制可分为氢键、相对分子质量和空间位阻、疏水相互作用及溶液黏度几种^[23]。本研究推测其维持过饱和体系稳定性是溶液体系、药物与抑晶物质共同作用的。相同辅料在不同稀释体系中,可表现不同的抑晶能力,如 FaSSGF 体系 Soloplus 表现出明显的抑晶能力,而 FaSSIF-V2 体系 HPMC-AS MF、PVP K30 则表现出明显的抑晶能力。同一辅料在相同体系中,在提高载药量的同时,提高了过饱和度,增大了晶核形成的可能性,导致 PPIs 抑晶能力的减弱。一般 PPIs 用量与抑晶能力呈正比,但辅料对药物分子的吸附作用,降低释放速率,使得游离药物分子浓度偏低。因此,在优选 SMEDDS 处方时,需综合考虑溶液体系、药物与抑晶物质之间的关系,选择合适的评价系统,以选择最优处方。

由于处方筛选的辅料范围和种类不同,本研究优选的 SMEDDS 组成与已有报道^[24-25]不同,同时,本研究载药处方优选方法与沉淀抑制剂的筛选的系统性与已有报道^[24-25]也不同,因此,优选的 SLB-SSMEDDS 也不同于报道的处方。性能表征结果显示本研究的处方具有更高的载药量和维持过饱和的能力,处方更优。

参考文献

- [1] 龚 双, 朱春柳, 丁劲松, 等. 聚合物型过饱和和给药系统的促吸收机制及研究进展 [J]. 药科学报, 2018, 53(8): 1311-1318.
- [2] Patel M H, Mundada V P, Sawant K K. Novel drug delivery approach via self-microemulsifying drug delivery system for enhancing oral bioavailability of asenapine maleate: Optimization, characterization, cell uptake, and *in vivo* pharmacokinetic studies [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2019, 20(2): 1530-9932.
- [3] Jaisamut P, Wiwattanawongsa K, Graidist P, *et al.* Enhanced oral bioavailability of curcumin using a supersaturable self-microemulsifying system incorporating a hydrophilic polymer; *in vitro* and *in vivo* investigations [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2017, 19(2): 730-740.
- [4] Takke A, Shende P. Nanotherapeutic silibinin: An insight of phytochemistry in healthcare reformation [J]. *Nanomed-Nanotechnol*, 2019, doi: 10.1016/j.nano.2019.102057.
- [5] Gianni T, Silvia L, Sharmila F, *et al.* Alcoholic liver fibrosis: Detection and treatment [J]. *Minerva Med*, 2018, 109(6): 457-471.
- [6] Li W H, Zhou C C, Fu Y, *et al.* Targeted delivery of hyaluronic acid nanomicelles to hepatic stellate cells in hepatic fibrosis rats [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, doi: 10.1016/j.nano.2019.102057.
- [7] Sherman B, Hernandez A M, Alhaddo M, *et al.* Silibinin differentially decreases the aggressive cancer phenotype in an *in vitro* model of obesity and prostate cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2019, doi: 10.1080/01635581.2019.1633363.
- [8] Dong X Y, Lang T Q, Yin Q, *et al.* Author correction: Co-delivery of docetaxel and silibinin using pH-sensitive micelles improves therapy of metastatic breast cancer [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 38(12): 1655-1662.
- [9] Zhang X K, Jiang J W, Chen Z W. *et al.* Silibinin inhibited autophagy and mitochondrial apoptosis in pancreatic carcinoma by activating JNK/SAPK signaling [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, doi: 10.1016/j.prp.2019.152530.
- [10] Liu B, Liu W W, Liu P W, *et al.* Silibinin alleviates the learning and memory defects in overtrained rats accompanying reduced neuronal apoptosis and senescence [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(8): 1818-1829.
- [11] Cristina R, Marila C L M, Fernanda D S J, *et al.* Hydrogel containing silibinin nanocapsules presents effective anti-inflammatory action in a model of irritant contact dermatitis in mice [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, doi: 10.1016/j.ejps.2019.104969.
- [12] 周 宇, 夏新华, 李 朝, 等. 水飞蓟宾处方前研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(5): 100-103.
- [13] Li X R, Pei Y S, Huang Y Q, *et al.* *In vitro* and *in vivo* evaluation of a self-microemulsify drug delivery system for silybin [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2009, 18(4): 342-347.
- [14] El-Badry M, Haq N, Fetih G, *et al.* Solubility and dissolution enhancement of tadalafil using self-nanoemulsifying drug delivery system [J]. *J Oleo Sci*, 2014, 63(6): 567-576.
- [15] Qian J, Meng H J, Xin L, *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery systems of myricetin: Formulation development, characterization, and *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Colloid Surf B*, 2017, doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.09.020.
- [16] Siqueira S D, Mullertz A, Graeser K, *et al.* Influence of drug load and physical form of cinnarizine in new SNEDDS dosing regimens: *In vivo* and *in vitro* evaluations [J]. *AAPS J*, 2017, 19(2): 587-594.
- [17] Feeney O M, Crum M F, McEvoy C L, *et al.* 50 Years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2016, doi: 10.1016/j.addr.2016.04.007.
- [18] Ahmed A K, Amira M M, Reham S A, *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *J Mol Liquid*, 2016, doi: 10.1016/j.molliq.2016.02.081.
- [19] Nicky T, Anette M, Anja G, *et al.* Influence of lipid composition and drug load on the *in vitro* performance of self-nanoemulsifying drug delivery systems [J]. *J Pharm Sci*, 2012, 101(5): 1721-1731.
- [20] Kang J H, Oh D H, Oh Y K, *et al.* Effects of solid carriers on the crystalline properties, dissolution and bioavailability of flurbiprofen in solid self-nanoemulsifying drug delivery system (solid SNEDDS) [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, doi: 10.1016/j.ejpb.2011.11.005.
- [21] Shailja T, Varun K, Kaushik T, *et al.* Triple antioxidant SNEDDS formulation with enhanced oral bioavailability: Implication of chemoprevention of breast cancer [J]. *Nanomed-Nanotechnol*, 2016, 12(6): 1431-1443.
- [22] 吴振起, 高 畅, 杨 璐, 等. 基于层次分析法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选养阴清肺汤加味提取工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2862-2867.
- [23] 程 慧, 吕慧侠. 过饱和和药物递送系统的研究与应用进展 [J]. 药学进展, 2019, 43(3): 181-190.
- [24] 彭 璇, 陈苹苹, 包 强, 等. 水飞蓟宾过饱和和自乳化给药系统的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 40-44.
- [25] Wei Y H, Ye X L, Shang X G, *et al.* Enhanced oral bioavailability of silybin by a supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) [J]. *Colloid Surf A*, 2012, doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.12.025.