

葛根素微乳的制备

陈 茵¹, 钟延强², 鲁 莹² (1. 沈阳军区总医院药剂科, 辽宁 沈阳; 2. 上海第二军医大学药学院药剂学教研室 上海 200433)

摘要 目的: 制备葛根素微乳口服给药系统 (PUEME)。方法: 通过溶解度实验、处方配伍实验和伪三元相图的绘制, 以乳化时间、色泽为指标, 筛选油相、表面活性剂、助表面活性剂的最佳搭配和处方配比。结果: 葛根素在微乳中的溶解度最高可达 77.11 mg/mL。结论: 所制备的 PUEME 对葛根素增溶效果显著, 将为 PUE 的口服制剂的进一步开发提供依据。

关键词 葛根素; 微乳; 增溶

中图分类号: R944 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)03-0200-04

Preparation of Puerarin by microemulsion drug delivery system

Chen Han¹, Zhong Yan-qiang², Lu Ying² (1. China; 2. College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To develop a microemulsion drug delivery system of Puerarin (PUEME). **Methods:** Formulation of PUEME was screened by solubility experiments, compatibility tests and pseudo-ternary phase diagrams, with the consequence of visual examination as parameter. **Results:** The maximum drug incorporation was 77.11 mg/mL. The formulation was composed of IPM (10%), brij-96V (37.5%), ethanol (37.5%), and water (25%). **Conclusion:** The formulation of PUEME preparation could meet the general requirements of the design.

KEY WORDS puerarin; microemulsion; solubilization

葛根素 (Puerarin, PUE)^[1,2] 为豆科葛属植物野葛及甘葛藤根的主要有效成分, 临床主要用于治疗冠心病、心肌梗死、高血压、突发性耳聋等疾病, 疗效确切。然而葛根素在水中溶解度较低, 口服吸收较差, 生物利用度仅为 3.779%, 影响了药物疗效发挥^[3]。

微乳 (microemulsion, ME)^[4] 是由油相、水相、表面活性剂及助表面活性剂以适当比例混合后, 自发形成的一种透明或半透明、低黏度的动力学和热力学都很稳定的混合体系, 其液滴粒径介于 10~100 nm 之间。微乳作为药物载体可显著提高难溶性药物的溶出、口服吸收及生物利用度, 临床应用日益广泛^[5,6]。本实验通过乳化性能、增溶能力的考察筛选合适油相、表面活性剂体系, 通过制备相图优选适当处方比例制备葛根素微乳。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 L-2000 系列, 日立高效液相色谱仪 (上海天美仪器有限公司); Nicomp TM380ZLS 电位及散

射测定仪 (美国 Santa Barara); AL104 型电子天平 (梅特勒 托利多仪器上海有限公司); HJ-3 型数显恒温磁力搅拌器 (上海和欣科教设备有限公司)。

1.2 试剂 葛根素 (浙江康恩贝制药股份有限公司, 纯度 99.0%, 批号: 051202); Brij-96V (西班牙 Fluka 公司); IPM (国药集团化学试剂有限公司); LABRAFAC CC (法国 GATTEFOSSE); Cremphor EL (西班牙 Fluka); Cremphor RH40 (巴斯夫公司); 三酸甘油酯 (MCT 上海诚一食品有限公司)。1,2-丙二醇, Tween-80, PEG-400, 油酸乙酯 (Ethylolate), 药用甘油 (Glycerol), 甲醇 (色谱醇), 国药集团化学试剂有限公司。其它试剂均为分析醇。

2 方法与结果

2.1 PUE 含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Discovery C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 40 °C; 流动相: 甲醇-水 (30:70); 流速: 1.0 mL/min。检测波长: 250 nm, 进样量: 20 μL。PUE 保留时间为 6.3 min, 其它辅料对药物峰无干扰。

2.1.2 标准曲线 精密称定干燥至恒重的 PUE, 配

作者简介: 陈茵 (1982-), 女, 硕士研究生。

通讯作者: 鲁莹. Tel: (021) 25074588-801, E-mail: yinglu@snmu.edu.cn.

成质量浓度为 5.02、10.04、40.16、80.32、160.64 mg/L 的 30% 甲醇溶液,进行 HPLC 测定,以峰面积 A 对质量浓度 (mg/L) 进行线性回归,得标准曲线方程: $A = 82\,289 - 276\,69 \cdot R = 0.999\,8$ 。结果表明, PUE 在 5.02 ~ 160.64 mg/L 内,峰面积与其浓度呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度与回收率 分别测得低、中、高 3 个浓度 (9.96, 39.84, 159.36 mg/L) 的日内精密度分别为 0.3, 0.76, 0.81% ($n = 5$); 日间精密度分别为 0.34, 2.67, 3.68% ($n = 5$); 平均方法回收率 99.9, 101.75, 104.43% ($n = 3$)。

2.2 处方研究

2.2.1 油相和表面活性剂的筛选 油相与表面活性剂混合物稀释后形成乳剂的粒径越小,其所制备的微乳体系在体内经体液稀释后的稳定性越高。在一定条件下浊度可以代替粒径测定来反映乳剂粒径的大小变化,粒径越大,浊度相应越大,吸光值就越大;反之亦然。以 IM, Labrafac 为油相, Cremphor EL, ween-80, Brij-96V 作为表面活性剂,油与乳化剂的重量比固定为 6:4。在 37℃ 水浴中磁力搅拌均匀,然后加入 100 倍量 0.1 NHCL 在 50 r/min 磁力搅拌下乳化,分别于 30、60、90、120、180、240 s 测定其吸光值以考察油相与表面活性剂配伍的乳化性能。

结果显示 Labrafac cc 作为油相与所考察的表面活性剂混合稀释后吸光值最大且波动较大,说明 Labrafac cc 组稀释后形成乳剂的粒径最大且不均匀; IM 与三种表面活性剂混合稀释后测得的吸光值均较相应 Labrafac cc 组降低且在考察时间内较为稳定;证明油相的乳化效果大小为 IM > Labrafac cc。三种表面活性剂中, Brij-96V 组的吸光值较小且在测定时间内最为稳定,说明 Brij-96V 作为

乳化剂体系的乳化能力要优于 Cremphor EL、Tween-80,且 Tween-80 粘度较大,溶解较慢。考虑到所制备的葛根素微乳系统口服给药后,要求在体液环境下保持稳定或形成粒径细小均匀的乳剂体系,初步选择 IM 为油相, Brij-96V 为乳化剂。

2.2.2 助乳化剂的筛选 以乙醇、1,2-丙二醇、药用甘油、PEG400 为助乳化剂与 Brij 合用考察对微乳形成的影响。Brij-96V 中分别加入上述表面活性剂,加入油相观察是否有分层现象,再加入水相观察体系状态,如是否混浊、粘稠、溶解缓慢。

结果表明,甘油和 Brij-96V 混合后加入油相即分层,加入水后一直混浊,不能形成微乳。1,2-丙二醇、PEG-400 分布与 Brij-96V 混合加入油相,再加入水后,体系变得十分粘稠,溶解较慢,体系流动性差,乳化效率低。只有乙醇与 Brij-96V 和油相混溶后在较大范围内能够形成澄清透明的微乳溶液,故选用乙醇作为助表面活性剂。

2.2.3 伪三元相图制备 将表面活性剂 (S) 和助表面活性剂 (CoS) 按一定的比例 (3:2, 1:1, 2:3) 混合溶解后加入油相,恒温磁力搅拌器搅拌,用蒸馏水滴定三种成分的混合物,记下系统的状态变化情况, Origin6.0 制备相图。有淡蓝色乳光澄清透明为微乳。考虑到微乳在体内被体液稀释,需要选择微乳存在区域较大的处方。

如图 1 所示,以 Brij-96V 为表面活性剂, IM 和 Labrafac cc 为油相,乙醇为助表面活性剂, IM 形成的微乳区域明显大于 Labrafac CC; 如图 2 所示,以 IM 为油相, Brij-96V 和 Cremphor EL 为表面活性剂,乙醇为助表面活性剂, Brij-96V 形成的微乳区域明显大于 Cremphor EL。选用 Brij96/IM/乙醇/水体系制备葛根素微乳。

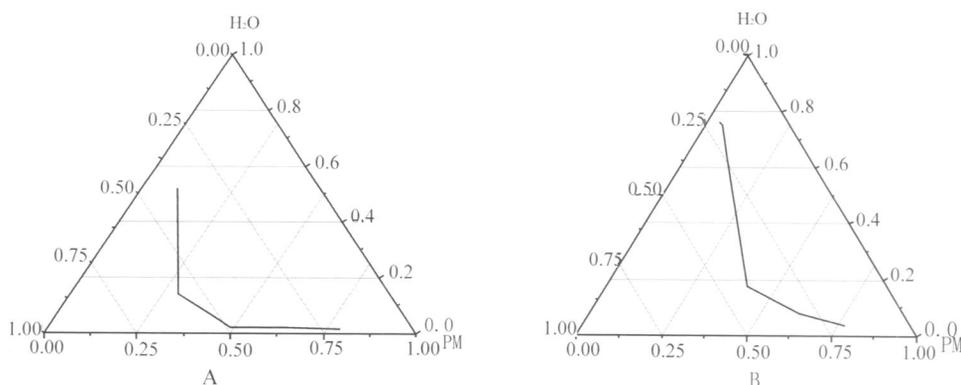


图 1 微乳的伪三元相图 (左下角区域表示微乳区域; A 油相为 Labrafac cc; B 油相为 IM)

2.3 微乳对葛根素的增溶效果 依照相图研究结

果配制体系不同比例微乳处方。将过量的药物置于

10 mL 密闭的具塞三角瓶中,分别加入不同比例组分的微乳 2 mL, (25 ±1) 恒温磁力搅拌 24 h,离心 3 000 r/min, 10 min。取上清液经 0.45 μm 微孔

滤膜过滤,滤液适当稀释后用 HPLC 测定药物在不同微乳处方中的溶解度,见表 1。

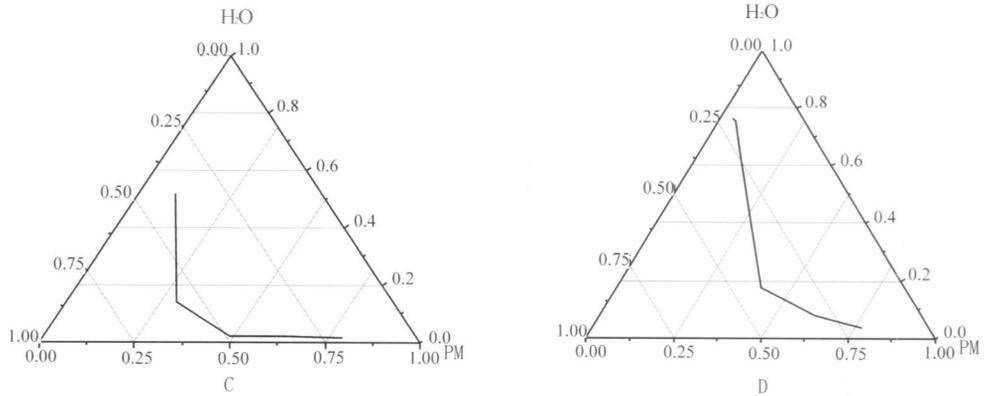


图 2 微乳伪三元相图

(左下角区域表示微乳区域; C 表面活性剂为 Cremphor EL; D 表面活性剂为 Brij-96V)

表 1 微乳处方对葛根素的增溶 (Km = 3 : 2)

| NO | Sur + co / (W / W) | Oil (W / W) | Water (W / W) | Drug incorporation (mg/mL) |
|----|--------------------|-------------|---------------|----------------------------|
| A | 27.08 | 24.27 | 48.66 | 20.35 |
| B | 34.95 | 15.10 | 49.95 | 28.61 |
| C | 43.58 | 30.93 | 34.21 | 37.55 |
| D | 44.22 | 24.56 | 31.22 | 38.34 |
| E | 50.03 | 29.76 | 20.20 | 37.87 |
| F | 49.84 | 40.19 | 9.97 | 34.92 |
| G | 55.00 | 15.03 | 29.96 | 25.98 |
| H | 70.06 | 15.20 | 14.75 | 56.07 |

表 2 微乳处方对葛根素的增溶 (Km = 1 : 1)

| NO | Sur + co / (W / W) | Oil (W / W) | Water (W / W) | Drug incorporation (mg/mL) |
|----|--------------------|-------------|---------------|----------------------------|
| A | 45.81 | 45.81 | 8.39 | 34.00 |
| B | 50.09 | 39.67 | 10.23 | 39.70 |
| C | 55.05 | 25.11 | 19.84 | 44.01 |
| D | 53.61 | 9.8 | 36.63 | 64.87 |
| E | 40.22 | 10.28 | 49.50 | 47.59 |
| F | 65.59 | 9.83 | 24.59 | 77.11 |
| G | 75.22 | 9.87 | 14.90 | 21.19 |

本课题选用 Brij-96V / IPM / 乙醇 / 水体系制备葛根素微乳,不同比例的微乳处方中葛根素的溶解度均较葛根素水中溶解度 (2.40 mg/mL) 有显著增加。对葛根素增溶效果最好的 PUEME 的处方比例为 Brij-96 V (37.5%), 乙醇 (37.5%), IPM (10%), 水 (25%); 此处方中葛根素溶解度为 77.11 mg/mL, 较药物水中饱和溶解度提高 32 倍。

3 讨论

3.1 油相和表面活性剂的筛选在整个处方研究中

是关键性的。本实验选用聚氧乙烯脂肪醇醚类的非离子表面活性剂: Brij-96V^[6] (Polyoxyethylene-10-oleyl ether; C₁₈:₁E₁₀), 该非离子表面活性剂在很大范围内较其它类型的非离子表面活性剂更易形成微乳,并且通过调节极性部分和非极性部分的体积,很容易调节其亲水亲油平衡值 (HLB), 是微乳研究中常用的表面活性剂。在初步筛选的过程中,首先选择目测自乳化的时间、紫外法测量吸光度值来初步判断乳化情况, Brij-96V 从微乳形成的时间快慢到粒径大小均优于其它乳化剂。选用 IPM 形成的微乳区域较大,生物亲合性强而更适用药用。

3.2 葛根素过低的溶解度是其口服制剂生物利用度低的主要原因,在我们制备的 Brij-96V / IPM / Ethanol / H₂O 体系中,不同处方比例微乳对葛根素均有较强的增溶效果。体系中表面活性剂比例增大,葛根素的溶解度增加。本实验制备的高浓度葛根素口服微乳制剂为高生物利用度葛根素口服微乳制剂的研究奠定了基础。

3.3 普通乳剂与微乳制剂的区别在于前者处方中不含有表面活性剂,表面活性剂的含量低,形成乳剂时需要外力做功,乳剂的粒径较大。而后者是热力学稳定的液体,贮存和携带方便。有报道认为微乳处方中的表面活性剂能改变细胞膜的流动性,提高药物的膜渗透性,从而能更好地促进药物吸收;还可以更好地通过淋巴吸收减少药物代谢而提高药物体内生物利用度。然而助表面活性剂和较高浓度的表面活性剂的存在可能会带来一定的安全性问题,故有关葛根素微乳的体内吸收情况以及安全性还有待进一步实验证实。

参考文献:

- [1] Li Y, Tan TW. Enhancement of the isolation selectivity of isoflavonoid puerarin using oligo- α -cyclodextrin coupled polystyrene-based media[J]. *Biochem Eng J*, 2008, (in press).
- [2] 崔升森, 赵春顺, 何仲贵. 葛根黄酮自微乳剂软胶囊的制备和溶出度的考察[J]. *中成药杂志*, 2007, 29(7): 993.
- [3] 林吉, 侯少贞, 李耿, 等. 葛根素注射液不良反应及口服制剂开发的探讨[J]. *世界科学技术-中医药现代化思路与方法*, 2005, 7(5): 48.
- [4] Narang As, Delmarre D, Gao DC. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions[J]. *Int J of Pharm*, 2007, 345: 9.
- [5] Wu W, Wang Y, Que L. Enhanced bioavailability of silymarin by self-microemulsifying drug delivery system [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2006, 63: 288.
- [6] Ko CJ, Ko YJ, Kim DM, *et al*. Solution properties and PGSE-NMR self-diffusion study of $C_{18:1}E_{10}$ /oil/water system [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2003, 216: 55.

收稿日期: 2008-03-24

复方奥硝唑搽剂的制备与质量控制

邢启德, 张志武, 李红兵, 李国柱 (中国人民解放军第 25 医院, 甘肃 酒泉 735000)

摘要 目的: 研制复方奥硝唑搽剂并对其质量进行控制。方法: 以奥硝唑和硼酸为主药制备复方搽剂, 采用紫外分光光度法和中和法分别直接测定两组分含量, 并对该制剂的稳定性进行考察。结果: 奥硝唑、硼酸平均回收率分别为 99.98%, 100.29%, *RSD* 分别为 0.49%, 0.97%。结论: 复方奥硝唑搽剂配方合理、质控方法可行, 所得制剂性质稳定, 符合中国药典 2005 年版的规定, 可满足临床用药要求。

关键词 奥硝唑; 硼酸; 搽剂; 制备; 质量控制

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2008)03-0203-03

Preparation and quality control of compound ornidazole liniment

XING Qing-de, ZHANG Zhi-wu, LI Hong-bing, LI Guo-zhu (PLA No. 25 Hospital Jiuquan, Gansu 735000, China)

ABSTRACT Objective: To study the preparation and quality control of compound ornidazole liniment **Methods:** Prepared compound liniments with ornidazole and boric acid as principle agents. The contents of these two groups were measured respectively by UV spectrophotometry and neutralization method. Then the stability of it was examined. **Results:** The average recoveries of ornidazole and boric were 99.98% and 100.29% with the *RSD* of 0.49%, 0.97%. **Conclusion:** The compound ornidazole liniment formula was reasonable; the quality control method was viable; the outgoing liniment was stable, and in line with the 2005 version of Chinese Pharmacopoeia. It could meet the clinical requirement.

KEY WORDS Puerarin; Microemulsion

痤疮是一种常见病、多因素性疾病, 以青春期发病率较高。常与皮脂分泌过多, 异常菌群和炎症的产生以及青春期青年男女体内雄性激素分泌旺盛有关, 使毛囊发炎生出红疹, 脓疱, 囊肿等症状^[1]。其主要体征为病变部位的毛囊皮脂腺呈慢性炎症反应, 常伴有皮脂溢出。针对其发病机制, 我院采用第三代广谱抗厌氧菌药奥硝唑、抑菌防腐剂硼酸、皮肤渗透促进剂月桂氮革酮配伍制成该复方搽剂, 用于治疗寻常痤疮, 经临床应用效果满意。现将其制备工艺和质量控制方法介绍如下:

1 仪器与材料

作者简介: 邢启德 (1958-), 男, 副主任药师。Tel: (0937) 2602825, E-mail: gansujiuquan_xqd@163.com.

UV-2100型紫外分光光度计 (日本岛津); Delta320-pH计 (梅特勒托利多仪器 上海 有限公司); 奥硝唑标准品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 20030101), 奥硝唑原料 (湖南九典制药有限公司, 批号: 200611A09); 硼酸原料及对照品 (自贡鸿鹤制药有限责任公司, 批号: 20060318); 月桂氮革酮 (西安交大科创药业有限责任公司, 批号: 20041009); 处方所用辅料均符合中国药典 2005 年标准, 乙醇 (AR)。

2 处方及制备

2.1 处方 奥硝唑 20 g, 硼酸 20 g, 月桂氮革酮 10 mL, 乙醇 (75%) 加至 1 000 mL。

2.2 制备 取硼酸加乙醇适量, 在水浴上加热使溶