

·工艺研究·

均匀设计法优选穿心莲内酯自乳化固体分散体

陈伶俐¹, 易少凌¹, 王振华²(1. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 采用均匀设计法, 筛选穿心莲内酯自乳化固体分散体的最优制备工艺。**方法** 以穿心莲内酯体外释放度 T63.2 为指标, 采用均匀设计法考察聚乙二醇、大豆油、吐温-80 等辅料对穿心莲内酯自乳化固体分散体体外释放的影响并筛选出最优工艺; 考察市售的穿心莲内酯滴丸溶出速率。**结果** 最优工艺为吐温-80 (18%), 大豆油(10.8%), 聚乙二醇-6000(61.2%), 穿心莲内酯(10%)。**结论** 自乳化技术与固体分散技术相结合能显著提高穿心莲内酯的体外溶出度。

关键词: 穿心莲内酯; 自乳化固体分散体; 均匀设计; 释放度; 制备工艺

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0498-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.027

Optimization of Self-emulsifying Solid Dispersion Technology for Andrographolide by Uniform Design

CHEN Lingli¹, YI Shaoling¹, WANG Zhenhua²(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520 Guangdong, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To optimize the self-emulsifying solid dispersion technology for andrographolide by uniform design. **Methods** With andrographolide in-vitro release rate T63.2 as the index, the effects of polyethylene glycol (PEG), soybean oil, Tween-80 and other accessories on in-vitro release of self-emulsifying solid dispersion prescription of andrographolide were evaluated, and the optimal technology was screened. Moreover, we investigated the solubility of andrographolide dripping pills on market. **Results** The optimal ingredients for self-emulsifying solid dispersion prescription of andrographolide were Twain-80(18%), soybean oil(10.8%), PEG-6000(61.2%), and andrographolide(10%). **Conclusion** The combination of self-emulsifying technology with solid dispersion technology can significantly improve the solubility of andrographolide in vitro.

Keywords: Andrographolide; Self-emulsifying solid dispersion; Uniform design; Release rate; Pharmaceutical Technology

穿心莲内酯(andrographolide)是爵床科植物穿心莲[*Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees]中提取得到的二萜内酯类化合物, 是中药穿心莲的主要成分之一, 具有清热解毒、凉血消肿及消炎抗菌、抗病毒感染、抗肿瘤等功能^[1-3]。穿心莲内酯片剂为临床常用口服制剂, 但由于穿心莲内酯难溶于水, 口服生物利用度特别低。为提高其体内生物利用度, 本研究利用自乳化技术和固体分散体技术相结合, 将穿心莲内酯制备成自乳化固体分散体。以提高穿心莲

内酯的体外溶出度, 改善穿心莲内酯的口服吸收, 增加其生物利用度, 满足临床的需求。药物制剂体外溶出实验数据分析常采用 Weibull 分布函数进行处理^[4], 本研究利用统计软件通过非线性回归(Nonlinear regression)来进行拟合 Weibull 分布中的 3 个参数, 计算出药物溶出参数。

1 材料与仪器

1.1 试药 穿心莲内酯滴丸, 天津天士力制药股份有

收稿日期: 2014-03-12

作者简介: 陈伶俐, 女, 实验师, 研究方向: 中药制剂新剂型。Email: 513622750@qq.com。通讯作者: 王振华, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药制剂新剂型。Email: wzhh@gzucm.edu.cn。

限公司；穿心莲内酯对照品，中国药品生物制品检定所，批号：110797-200907；穿心莲内酯原料，纯度 99%，桂林市三棱生物制品有限公司，批号：200912；十二烷基硫酸钠，天津市永大化学试剂有限公司，批号：200908；甲醇(DikmaPure)为色谱纯，其他试剂均为分析纯，制剂所用辅料均为药用级。

1.2 仪器 Dionex 高效液相色谱仪(summit p680 泵、Dionex UVDI70U 检测器)，美国戴安公司；Diamonsil C₁₈ 高效液相柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm)，北京迪马科技有限公司；ZRS-8G 智能溶出度仪，天津威鑫公司；电热恒温水浴锅，上海医疗器械五厂；BP110S 电子分析天平，德国 Sartorius 公司；超声波清洗机，中船七院 726 所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱：Diamonsil C₁₈ (5 μm, 250 × 4.6 mm)，流动相：甲醇-水(60:40)，柱温：35℃，流速：1 mL·min⁻¹，检测波长：225 nm，采用 20 μL 定量环进样。

2.2 工艺设计与供试品溶液的制备 据预实验及前期研究^[9]，确定吐温-80(TW-80)为主要乳化剂，其用量为 5%~30%；大豆油(以下简称 OIL)为主要油相，其用量为 0~15%；聚乙二醇-6000(PEG-6000)作为固体分散体的主要成型剂，其用量为 20%~90%。取 TW-80、OIL，以均匀设计表 U₁₃^[12] 安排实验，PEG-6000 为 100% 减去前两者之和，见表 1。

2.2.1 熔融法制备自乳化固体分散体 精确称量各工艺比例的 OIL、TW-80，加入穿心莲内酯 1 g，涡旋

混合均匀，再加入工艺比例的 PEG-6000，使成总量 10 g。置 80℃ 水浴锅上加热 1 h，全部熔融后，将熔融液体趁热倒入预冷牛津杯(内径 6 mm，外径 8 mm，高 10 mm)中，立即于 -10℃ 冷冻 2 h。成品贮于真空干燥器中干燥过夜，即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取自乳化固体分散体，用 0.5% 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液溶解，至分散完全，精密量取 10 mL，置中性氧化铝柱^[6] (200~300 目，5.0 g，内径 1.5 cm)上，用 10 mL 甲醇洗脱，收集洗脱液，置 25 mL 容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，过 0.45 μm 滤膜，取续滤液作为供试品溶液。

2.3 标准曲线的制备 精密称取穿心莲内酯适量，加甲醇溶解，制备成浓度为 0.2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液，用甲醇稀释至 1/2、1/4、1/5、1/8、1/16 倍浓度，参照 2.1 项下方法测定，以峰面积(A)与对照品浓度(C)作线性回归，得穿心莲内酯回归方程： $A=688.67C+1.7332$ ， $r=0.9998$ ；线性范围 0.0129~0.2064 mg·mL⁻¹。

2.4 精密度试验 取同一份供试品溶液同 1 天连续进样 6 次，记录所测峰面积积分值，计算日内精密度；3 d 内每天重复测定 2 次，计算日间精密度。结果表明，日内和日间精密度峰面积积分值 RSD 分别为 0.66%、1.26%。

2.5 重复性试验 取同一批样品，平行制备 6 份供试品溶液，依 2.1 项下方法测定，峰面积积分值 RSD 为 2.08%。结果表明方法的重现性良好。

2.6 稳定性试验 同一供试品溶液，分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进行测定，穿心莲内酯峰面积积分值 RSD 为 1.40%，结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的穿心莲内酯自乳化固体分散体各 6 份，分别精密加入穿心莲内酯对照品适量，按 2.2.2 项下制备方法操作，测定并计算穿心莲内酯的回收率，结果见表 2，穿心莲内酯的平均回收率为 100.06%，RSD=1.39%，表明该法具有良好的回收率。

2.8 释放度测定及结果分析

2.8.1 释放度测定及结果 按《中国药典》溶出度测定法，取溶出介质煮沸脱气或超声脱气 0.5% SDS；溶出杯：500 mL；转速：100 r·min⁻¹；温度：37.0℃；取样时间：5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 min；取样量：6 mL，每次取样后立即补充于 37.0℃ 下保温的新鲜溶出介质 6 mL。全溶样品(100% 溶出)处理：取各工艺下的样品各 1 颗，按前述实验条件和

表 1 均匀设计表 U₁₃^[12]

Table 1 The uniform design for U₁₃^[12]

实验号	因素水平		
	TW-80/%	OIL/%	PEG-6000/%
1	30	8	62
2	30	12	58
3	25	4	71
4	25	10	65
5	20	14	66
6	20	6	74
7	15	12	73
8	15	4	81
9	10	8	82
10	10	14	76
11	5	6	89
12	5	10	85

注：因素水平是指占辅料总量的百分比。

表 2 加样回收率实验结果(n=6)

取样量/mg	加入量/mg	实测值/mg	回收率/%	均值/%	RSD/%
0.9195	1.0505	1.9513	99.05	100.06	1.39
0.9194	1.0505	2.0057	101.81		
0.9192	1.0505	2.0009	101.58		
0.9191	1.0505	1.9415	98.57		
0.9192	1.0505	1.9755	100.29		
0.9193	1.0505	1.9513	99.06		

表 3 不同工艺样品溶出度试验结果($\bar{x} \pm s$, n=6)

t/min	穿心莲内酯累计溶出百分比/%											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
5	27.3 ± 2.11	24.33 ± 0.98	23.03 ± 1.35	22.82 ± 2.12	23.55 ± 2.53	19.11 ± 2.34	19.26 ± 1.67	17.85 ± 2.46	13.89 ± 3.11	16.83 ± 2.55	14.41 ± 2.12	15.19 ± 2.18
10	44.48 ± 2.13	39.74 ± 1.32	39.71 ± 1.51	39.2 ± 2.41	35.29 ± 2.14	34.12 ± 2.01	36. ± 1.98	34.8 ± 1.83	26.9 ± 2.06	33.37 ± 2.15	27.9 ± 3.01	30.58 ± 2.15
15	61.36 ± 1.65	54.48 ± 1.43	54.38 ± 2.11	53.06 ± 2.14	49.07 ± 2.03	48.37 ± 1.08	54.96 ± 2.19	51.9 ± 1.78	40.74 ± 2.11	51.96 ± 1.89	46.86 ± 1.87	48.82 ± 2.04
20	71.88 ± 3.02	65.84 ± 3.11	65.97 ± 1.89	65.47 ± 2.11	60.88 ± 2.08	58.66 ± 2.08	66.08 ± 2.12	63.04 ± 1.76	49.65 ± 1.45	61.36 ± 2.12	56.33 ± 2.09	60.52 ± 1.34
30	84.58 ± 1.75	79.87 ± 2.15	77.36 ± 1.87	77.89 ± 2.36	74.32 ± 1.65	69.03 ± 3.12	80.24 ± 2.17	76.7 ± 2.32	61.36 ± 2.18	77.03 ± 2.31	66.15 ± 1.46	76.31 ± 2.06
45	97.36 ± 1.92	89.74 ± 2.57	86.44 ± 1.54	88.52 ± 1.69	87.23 ± 2.43	83.46 ± 2.18	92.35 ± 1.25	89.31 ± 1.69	71.9 ± 2.07	89.74 ± 1.26	80.72 ± 2.36	89.42 ± 2.15
60	99.37 ± 2.34	94.46 ± 1.38	90.99 ± 2.17	92.86 ± 2.13	92.83 ± 4.01	85.42 ± 3.12	97.03 ± 3.15	90.33 ± 2.08	76.35 ± 2.31	94.01 ± 2.18	84.66 ± 3.01	91.69 ± 2.14

参数 t_0 , 计算出各个工艺的 $T_{63.2}$ 。以不同因素以及各因素之间的组合为自变量, 多元线性回归分析, 发现因素 X_1 (TW-80)、 X_2 (OIL)、 X_3 (PEG-6000)、TW-80 的平方、PEG-6000 的平方组合对穿心莲内酯 $T_{63.2}$ 的影响较大。得到多元线性回归方程: $Y = -316.25 + 666.35X_1 + 475.57X_2 - 507.49X_1^2 + 349.42X_3^2$ 方程中 Y 为 $T_{63.2}$ 。欲使 $T_{63.2}$ 最小值, 据方程计算: X_1 (TW-80) 为 20%、 X_2 (OIL) 为 12%、 X_3 (PEG-6000) 为 68% (此为辅料的百分比, 占总量 90%) 时 Y 有最小值, 为 15.17。结果见表 4~表 5。

2.9 最优工艺验证及溶出度对比实验 见表 6。根据

表 4 Weibull 函数参与计算与 $T_{63.2}$ 计算

Table 4 Weibull function participateing in the calculation and $T_{63.2}$ calculation

样品编号	τ	m	t_0	$T_{63.2}$
1	0	1.055	18.45	15.85
2	0	0.979	17.93	19.08
3	1.728	0.817	10.43	19.36
4	6.56×10^{-8}	0.965	17.81	19.77
5	0	0.971	20.00	21.87
6	2.143	0.777	11.07	24.22
7	1.125	1.039	19.89	18.91
8	2.217	0.887	13.29	20.69
9	3.225	0.692	10.63	33.67
10	1.473	1.008	19.92	20.93
11	3.054	0.782	11.76	26.43
12	1.959	1.002	19.99	21.83

方法溶出 4 h, 之后停止转动, 于溶出仪中 37.0 °C 下放置过夜, 取样前开启转速转动 10 min。取出的溶出样品按供试品溶液制备处理, 取续滤液依 2.1 项下方法测定其峰面积, 并计算累积溶出度, 结果见表 3。

2.8.2 Weibull 函数拟合溶出度结果与均匀设计回归方程的计算 参考文献方法^[7], 拟合 Weibull 函数方程 $y = 1 - e^{-\frac{(t-\tau)^m}{t_0}}$ 中的位置参数 τ 、形状参数 m 和尺度

表 5 多元线性回归分析

Table 5 Multivariate linear regression analysis of the optimal ingredients

	常数项	X_1	X_2	X_3	X_1X_1	X_2X_2
偏回归系数 B	-316.25	666.35	475.57	剔除	-507.49	349.42
标准化 B		21.11	5.56		-5.67	16.82
概率 P	0.036	0.027	0.033		0.024	0.027

优选工艺比例, 依 2.2.1 项下方法制备自乳化固体分散体, 与市售滴丸各取 6 份, 按 2.2.2 项下方法处理样品, 取续滤液依 2.1 项下测定其峰面积, 计算累积溶出度。针对穿心莲内酯释放度, 拟合 Weibull 函数, 得到方程 $y = 1 - e^{-\frac{t^{1.055}}{18.45}}$, 计算 $T_{63.2}$, 自制自乳化固体分散体 $T_{63.2} = 15.85$, 接近理论值 15.17。拟合 Weibull 函数 $y = 1 - e^{-\frac{t^{0.971}}{20}}$ 计算市售滴丸 $T_{63.2} = 21.87$ 。结果表明, 自制的自乳化固体分散体药物的溶出速率明显快于穿心莲内酯滴丸, 且药物的释放更完全。

3 讨论

固体分散体的比表面积大小直接影响药物释放, 为使固体分散体工艺筛选中释放度数据有较好的重现性, 降低由于面积因素造成的样品间的误差, 本研究中采用抗生素测定专用的牛津杯来制备自乳化固体分散体, 由于其大小一致, 确保供试样品的比表面积差异降低到最小程度。

表 6 优选工艺溶出度对比试验($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 6 Comparison of the solubility of the prescriptions made by optimal technology and those on the market

样品	累计溶出度 /%						
	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	60 min
1	27.30 ± 1.46	44.48 ± 2.31	61.36 ± 2.29	71.88 ± 2.30	84.58 ± 2.75	97.36 ± 2.07	99.37 ± 2.05
2	23.25 ± 1.96	35.29 ± 2.04	49.02 ± 2.10	60.84 ± 1.80	74.31 ± 1.49	87.31 ± 2.35	92.81 ± 2.52

注: 样品 1 为自制自乳化固体分散体制剂, 样品 2 为市售穿心莲内酯滴丸。

在以往工艺的基础研究中, 曾测得受试药物在有机溶剂、油相及不同表面活性剂中的溶解度^[5], 基本确定表面活性剂为 TW-80; 固体成型剂为 PEG; 油相为 OIL。采用熔融法, 制备穿心莲内酯自乳化固体分散体, 以穿心莲内酯体外释放度 $T_{63.2}$ 为指标, 采用均匀设计法考察 PEG、OIL、TW-80 等辅料对其体外释放的影响。利用 Weibull 函数拟合溶出度结果, 得到多元线性回归方程: $Y = -316.25 + 666.35(TW-80) + 476.57(OIL) - 507.49(TW-80)^2 + 349.42(PEG-6000)^2$ 。当 TW-80=20%、OIL=12%、PEG-6000=68%, 折算为最优工艺比例: 药物穿心莲内酯占 10%, 吐温-80 占 18%, 大豆油占 10.8%, PEG-6000 占 61.2%, 穿心莲内酯 $T_{63.2}$ 最小值 15.17。

在常规固体分散体中, 由于水溶性固体载体对难溶性药物的分散增溶效果有限, 故将自乳化辅料成分用到固体分散体载体材料中, 制备自乳化固体分散体, 可以增强固体分散体对难溶性药物的增溶能力。目前, 国外文献^[6]有关自乳化固体分散体的研究报道比较多, 本研究将自乳化制剂与固体分散体技术相结合, 实验证明自制自乳化固体分散体能有

效提高体外溶出度, 预测能提高生物利用度。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 251-252.
 [2] Shen YC, Chen CF, Chiu WF. Suppression of rat neutrophil reactive oxygen species production and adhesion by the diterp enoidlacton e andrographolide[J]. Plan ta Med, 2000, 66(4): 314.
 [3] 李玉祥, 樊华, 张劲松, 等. 中草药抗癌的体外实验[J]. 中国药科大学学报, 1999, 30(1): 37.
 [4] 周怀悟, 倪永兴. 医药应用概率统计[M]. 上海: 百家出版社, 1990: 68.
 [5] 陈伶俐, 王振华. 穿心莲内酯基本理化性质考察[J]. 今日药学, 2010, 20(1): 41-43.
 [6] 陈伶俐, 易少凌, 梁家龙, 等. 穿心莲内酯自乳化固体分散体体外方法学考察[J]. 海峡药学, 2013, 25(12): 127-129.
 [7] 黄献, 刘裕恒, 莫志江. 用 SPSS 拟合药物溶出度 Weibull 参数[J]. 中国药房, 2006, 17(14): 1079-1081.
 [8] Heo MY, Piao ZZ, Kim TW, et al. Effect of solubilizing and microemulsifying excipients in polyethylene glycol 6000solid dispersion on enhanced dissolution and bioavailability of ketocanazole [J]. Arch Pharm Res, 2005, 28(5): 604-611.

(编辑: 邓响潮)

科技论文“前言”和“讨论部分”的写法

1. 科技论文“前言”的写法 (1)突出重点。在回顾前人所作的研究工作时, 应找具有代表性的、与本研究关系最密切的资料来阐述, 避免写成文献综述。(2)注意深度。在论述本人所作研究时, 一些普及的、为公众所熟知的原理和知识, 不必一一赘述, 如教科书中早已有的公式, 众所周知的基础理论等等。(3)审慎评价。(4)不列图表。

2. 科技论文“讨论部分”的写法 科技论文的“讨论”是对获得的科研资料进行分析、比较、解释、评价、综合判断, 从而得出具有独特性或创新结论的推理论证过程。其目的是为最终结论提供理论依据。

写作要点: ①设法提出结果中证明了的原理、相互关系, 并归纳性地加以解释, 但注意只应是对结果进行论述而不是重述; ②指出本论文所研究的结果和解释与以往发表的文献著作相一致或不一致的地方; ③论述自己研究工作的理论含义, 以及实际应用的各种可能性; ④指出可能出现的情况, 明确提出尚未解决的问题和今后探索的方向。

编辑部摘录