

水飞蓟素固体分散体的制备及5种成分的溶出度

孙欣荣^{1,2}, 张敏新², 杨海跃^{2,3}, 吴珏^{1,2}, 宋洪涛^{2*}, 刘志宏^{2*}

(1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 2. 福州总医院药学科, 福建 福州 350025; 3. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102)

摘要: 目的 制备水飞蓟素固体分散体, 并评价5种成分的溶出度。方法 以F68与PVPk30为联合载体, 溶剂熔融法制备固体分散体。再考察联合载体比例、药物-载体比例对水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭、花旗松素溶出度的影响。结果 最佳条件为联合载体比例1:3, 药物-载体比例1:5。固体分散体中5种成分的溶出度显著高于原料药和物理混合物(水飞蓟素-载体)中。结论 固体分散体可显著提高水飞蓟素中有效成分的溶出度。

关键词: 水飞蓟素; 固体分散体; 制备; 化学成分; 溶出度; 溶剂熔融法

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2018)01-0087-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-4528.2018.01.016

Preparation of silymarin solid dispersions and dissolution rates of five constituents

SUN Xin-rong^{1,2}, ZHANG Min-xin², YANG Hai-yue^{2,3}, WU Jue^{1,2}, SONG Hong-tao^{2*}, LIU Zhi-hong^{2*}

(1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, China; 3. Medical College of Xiamen University, Xiamen 361102, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare silymarin solid dispersions and to evaluate the dissolution rates of five constituents. **METHODS** Taking F68 and PVPk30 as a combined carrier, the solid dispersions were prepared by solvent fusion method. Then the effects of combined carrier ratio and drug-carrier ratio on dissolution rates of silybin, isosilybin, silydianin, silycristin and taxifolin were investigated. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 1:3 for combined carrier ratio, and 1:5 for drug-carrier ratio. These five constituents displayed much higher dissolution rates in solid dispersions than those in raw medicine and physical mixture (silymarin-carrier). **CONCLUSION** Solid dispersions can significantly increase the dissolution rates of effective components in silymarin.

KEY WORDS: silymarin; solid dispersions; preparation; chemical constituents; dissolution rates; solvent fusion method

水飞蓟素^[1]是菊科植物水飞蓟的果实经提取精制而得的混合物, 其主要成分有水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭及花旗松素, 在保肝方面具有显著的临床疗效。但该成分水溶性和脂溶性均较低, 导致口服吸收不佳, 生物利用度差, 影

响了其临床疗效^[2]。

杨逊等^[3]以PVPk30为载体, 按1:7的比例采用溶剂法制备水飞蓟素固体分散体, 发现水飞蓟宾溶出度显著改善, 30 min的累积释放率可达90% (溶出介质为脱气后的人工胃液), 但其载药

收稿日期: 2017-08-23

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2015J01491)

作者简介: 孙欣荣(1992—), 女, 硕士生, 从事药物新剂型与制剂新技术研究。Tel: (0591) 22859459, E-mail: 252617017@qq.com

* 通信作者: 宋洪涛(1968—), 男, 博士, 主任药师, 从事药剂学、临床药学研究。Tel: (0591) 22859459, E-mail: sohoto@vip.

163.com

刘志宏(1986—), 男, 硕士, 主管药师, 从事药剂学研究。Tel: (0591) 22859459, E-mail: liuzh827@sina.cn

量较低, 仅为 12.5%; Li 等^[4]以 PEG6000 为载体, 以 1:6 的药物-载体比例采用熔融法进行制备, 测得 60 min 的累积释放率可达 96.55% (溶出介质为 0.2% 吐温 80), 但其在 30 min 的累积释放率仅为 42.15%。在大多数相关实验中, 仅以水飞蓟宾增溶情况为评价指标, 但水飞蓟素主要有 5 种活性成分, 各成分之间可能存在协同作用^[5]。为了全面控制该成分的药理作用以符合中医用药整体观, 本实验以这 5 种有效成分的增溶情况为指标, 考察了各载体对其的影响, 旨在筛选出各成分溶出较好、载药量较高的固体分散体处方, 为相关固体制剂的制备奠定基础。

1 材料与仪器

水飞蓟素原料药 (辽宁盘锦华成制药厂, 批号 120505); 花旗松素 (含有量 98.0%, 批号 16031335)、水飞蓟亭 (含有量 98.0%, 批号 16012001)、水飞蓟宁 (含有量 98.0%, 批号 16032031)、水飞蓟宾 (含有量 98.0%, 批号 15091631)、异水飞蓟宾 (含有量 98.0%, 批号 16032122) 对照品 (上海同田生物技术股份有限公司); 聚乙烯吡咯烷酮 K-30 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20160307); 泊洛沙姆 188 (北京凤礼精求商贸有限责任公司, 批号 WPD1610B)。

RCZ-6B2 型药物溶出仪 (上海黄海药检仪器有限公司); Agilent 1200 型快速高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); PHS-3C 型精密 PH 计 (上海雷磁科学仪器公司); FD-2A 型真空冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司); DZF-6051 型真空干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 含有量测定

2.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 °C; 检测波长 288 nm; 以甲醇-0.05% 磷酸为流动相, 梯度洗脱 (程序见表 1); 进样量 20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	甲醇/%	0.05% 磷酸/%
4	35	65
16	40	60
23	45	55
25	50	50
40	50	50

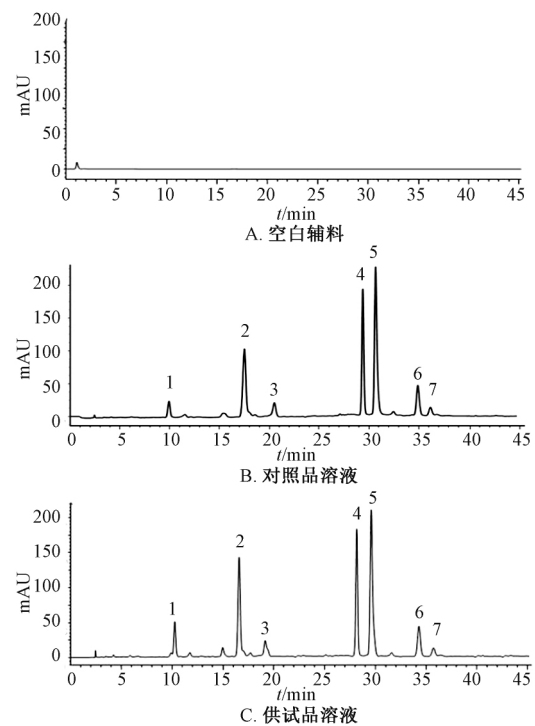
2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 供试品溶液 精密称取固体分散体约

120 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 甲醇超声溶解, 65% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.1.2.2 对照品溶液 精密称取花旗松素、水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾对照品适量, 置于 100 mL 量瓶中, 超声溶解, 甲醇稀释至刻度, 配制成质量浓度分别为 81.2、77.4、66.8、151.2、88.6 μg/mL 的对照品溶液。

2.1.3 专属性考察 按“2.1.2”项下方法制备供试品、对照品、空白辅料溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下测定, 结果见图 1, 可知空白辅料对测定无干扰, 方法专属性良好。



1. 花旗松素 2. 水飞蓟亭 3. 水飞蓟宁 4, 5. 水飞蓟宾
6, 7. 异水飞蓟宾

1. taxifolin 2. silycristin 3. silydianin 4, 5. silybin 6, 7. isosilybin

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.1.4 线性关系考察 精密称取花旗松素、水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾对照品适量, 置于 100 mL 量瓶中, 超声溶解, 甲醇稀释至刻度, 得质量浓度分别为 81.2、77.4、66.8、151.2、88.6 μg/mL 的对照品溶液, 精密量取 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、1.25、2.5、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 65% 甲醇稀释至刻度, 取续滤液 20 μL。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐

标 (Y) 进行线性回归, 结果见表 2, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
花旗松素	$Y = 62.60X - 8.270$	0.999 6	0.812 0 ~ 40.60
水飞蓟亭	$Y = 43.37X - 8.586$	0.999 7	0.774 0 ~ 38.70
水飞蓟宁	$Y = 27.96X - 11.42$	0.999 1	0.668 0 ~ 33.40
水飞蓟宾	$Y = 43.64X - 6.859$	0.999 6	1.512 ~ 75.60
异水飞蓟宾	$Y = 49.03X - 21.04$	0.999 4	0.886 0 ~ 44.30

2.1.5 稳定性试验 取供试品 (批号 20170411) 溶液, 于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 测定, 测得花旗松素、水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾峰面积 RSD 分别为 1.02%、0.36%、1.00%、1.24%、0.53%, 表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.1.6 精密度试验 配制低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液, 1 d 内连续进样 5 次, 测定日内精密度, 再连续进样 5 d, 测定日间精密度, 测得日内、日间峰面积 RSD 均小于 2%, 表明该方法精密度良好。

2.1.7 重复性试验 精密吸取同一供试品 (批号 20170605) 溶液 6 份, 每份 10 μL , 进样测定, 测得各成分含有量 RSD 均小于 2%, 表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取含有量已知供试品 (批号 20170730) 6 份, 每份约 60 mg (花旗松素、水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾含有量分别为 3.35、21.28、11.65、53.45、10.03 mg/g), 置于 100 mL 量瓶中, 精密加入一定量对照品, 在“2.1.1”项色谱条件下测定, 计算加样回收率。结果, 花旗松素、水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾平均加样回收率分别为 98.75%、98.44%、100.92%、102.10%、98.55%, RSD 分别为 0.77%、0.85%、1.33%、0.67%、1.01%。

2.1.9 样品含有量测定 精密称取 3 批样品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下测定, 结果见表 3。

2.2 体外溶出度测定 按照 2015 版《中国药典》四部通则 0931 “溶出度与释放度测定法”规定中的第二法 (浆法), 测定药物在 pH7.5 磷酸盐缓冲液 (900 mL) 中的体外溶出度, 浆转速 75 r/min, 水浴温度 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。取固体分散体粉末约

表 3 各成分含有量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=3)

批号	花旗松素	水飞蓟亭	水飞蓟宁	水飞蓟宾	异水飞蓟宾
20170411	3.32	20.88	11.68	53.32	10.02
20170424	3.30	21.12	11.85	53.43	10.01
20170605	3.35	21.42	11.59	53.45	10.02

420 mg 装入胶囊, 于 10、20、30、40、50、60 min 取样, 每次 10 mL, 及时补充等温度等体积的溶出介质, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液进样分析, 结果代入标准曲线计算质量浓度, 并换算成累积溶出度。

2.3 固体分散体制备

2.3.1 溶剂法 称取适量水飞蓟素原料药与 PVPk30, 溶于 80% 乙醇中, 搅拌加热混匀, 置于旋转蒸发仪中蒸干溶剂, 浓缩物置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱中干燥 12 h, 研磨后过筛, 即得。

2.3.2 熔融法 称取处方量低熔点载体 F68, 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴熔融, 并在持续搅拌下加入处方量水飞蓟素原料药, 充分搅拌溶解, 当整个体系均匀、并除去其中的气泡后, 趁热将混合物倾入 -20 $^{\circ}\text{C}$ 预冻不锈钢模具中, 使其迅速固化, 冷藏 4 h 左右, 置于干燥器中干燥, 待脆化后取出粉碎, 即得。

2.3.3 溶剂熔融法 称取水飞蓟素适量, 加入 80% 乙醇, 超声振荡溶解。再称取适量 F68 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中, 加热熔融完全后, 加入已溶于适量 80% 乙醇的 PVPk30, 充分搅拌混匀, 形成二元亲水载体。然后, 向其中加入药物溶液, 搅拌至黏稠状且无醇味后, 迅速放入 -20 $^{\circ}\text{C}$ 预冻不锈钢模具中固化 2 h, 冷冻干燥过夜, 过筛, 即得。

2.3.4 物理混合物 按处方量称取水飞蓟素与载体适量, 研细, 等量递加法混合均匀, 过 80 目筛, 置于干燥器中保存备用。

2.4 载体种类对药物溶出度的影响 F68 为低熔点载体, 故采用熔融法制备固体分散体; PVPk30 为高熔点载体, 故采用溶剂法制备; 联合载体大多采用溶剂熔融法制备。

2.4.1 单一载体 固定药物-载体比例为 1:5, 以 F68 和 PVPk30 为载体材料, 按“2.3”项下方法制备固体分散体。以 5 种成分体外溶出度为指标, 考察载体种类对水飞蓟素溶出度的影响, 结果见图 2。由图可知, 水飞蓟素原料药的溶出并不理想, 5

种有效成分溶出度最高仅为40%左右;以F68为载体时,固体分散体中各成分累积溶出度显著提高,但速释能力较低;以PVPk30为载体时,固体分散体中各成分累积溶出度均较F68低,尤其是花旗松素和水飞蓟宁,溶出度仅为60%左右,但其速释能力却明显优于后者。因此,将2种载体结合制备固体分散体可提高各成分速释能力及溶出度。

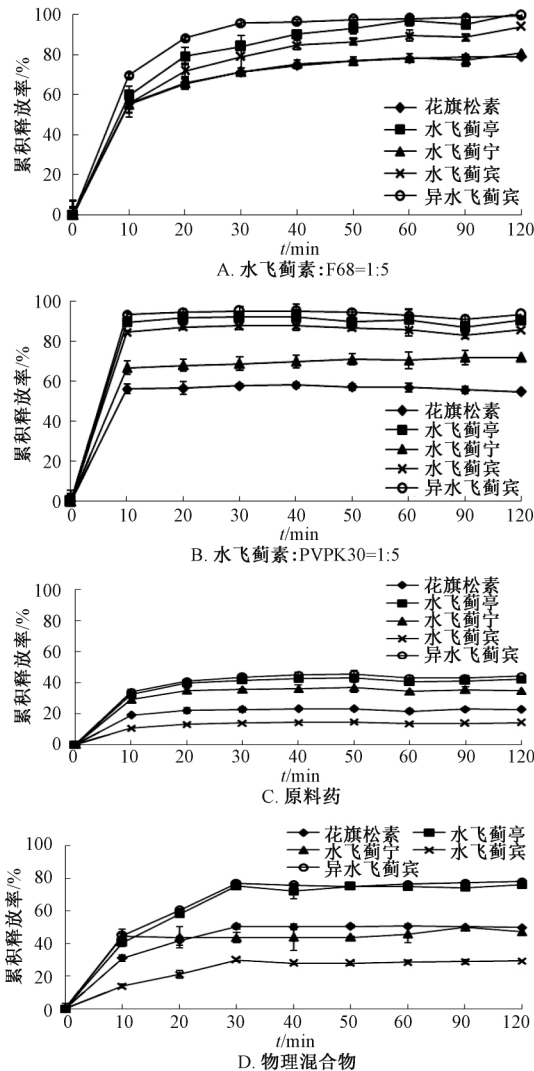


图2 不同种类载体下固体分散体的溶出曲线
Fig. 2 Dissolution curves for solid dispersions with different kinds of carriers

2.4.2 联合载体 固定药物-载体比例为1:5,按表4称取不同比例的PVPk30与F68,按“2.3”项下方法制备固体分散体,并进行体外溶出试验,考察联合载体对药物溶出度的影响,结果见图3。由图可知,随着联合载体中F68所占比例的增大,花旗松素和水飞蓟宁的速释能力及溶出度逐渐增大;当比例为1:3时,各成分的溶出度达到最大;再

进一步增加F68比例时,溶出度无明显上升趋势。因此,选择PVPk30:F68(1:3)作为载体制备固体分散体。

表4 联合固体分散体配方
Tab. 4 Combined solid dispersion formula

配方	组成			载体比例
	水飞蓟素/g	PVPk30/g	F68/g	
1	1.2	5	1	5:1
2	1.6	6	2	3:1
3	0.8	2	2	1:1
4	1.6	2	6	1:3
5	1.2	1	5	1:5

2.4.3 药物-载体比例 按“2.3”项下方法制备固体分散体,并进行体外溶出试验,考察药物-载体比例1:1、1:3、1:5、1:7时对药物溶出度的影响,结果见图4。由图可知,药物溶出度随着载体用量增大而提高;但当两者比例为1:7时,花旗松素和水飞蓟宁的速释能力与溶出度呈下降趋势,这可能与PVPk30在溶剂中形成了凝胶,从而阻滞成分释放有关。

3 讨论

在水飞蓟素5种有效成分中,水飞蓟宾为多酚类化合物(其黄酮结构中的3-、5-、7-、20-酚羟基),酸性环境中会抑制-OH中H⁺的解离,从而使游离的酚类结构不稳定,易被氧化,在酸性条件下发生降解;其余4种成分在发挥药效的同时,还起到抗氧剂的作用,可与水飞蓟宾竞争,从而使后者较为稳定。文献报道,水飞蓟素的药理活性是各组分综合作用的结果,其比例的变化会影响药效^[5],故本实验以5种有效成分的增溶情况作为评价指标,以期筛选出能同时使其溶出度均显著提高的固体分散体载体及处方。

近年来,有报道将水飞蓟素制备成自微乳^[6-7]、固体脂质纳米粒^[8]、立方液晶骨架^[9]、环糊精包合物^[10]、磷脂复合物^[11]、固体分散体^[12]等剂型,其中前三者属于纳米技术,载药量较小,若将其进一步制备成固体制剂时,载药量会更小;包合物在制备过程中常遇到包封率低的问题,虽可通过增加辅料等方法来解决,但制备过程较繁琐,不利于工厂大批量生产;磷脂复合物和固体分散体不稳定,但后者可通过改变载体的方法来解决该问题。因此,本实验采用固体分散体技术制备水飞蓟素固体分散体,旨在提高其5种有效成分的溶出度。

F68作为制备固体分散体常用的载体,还是一

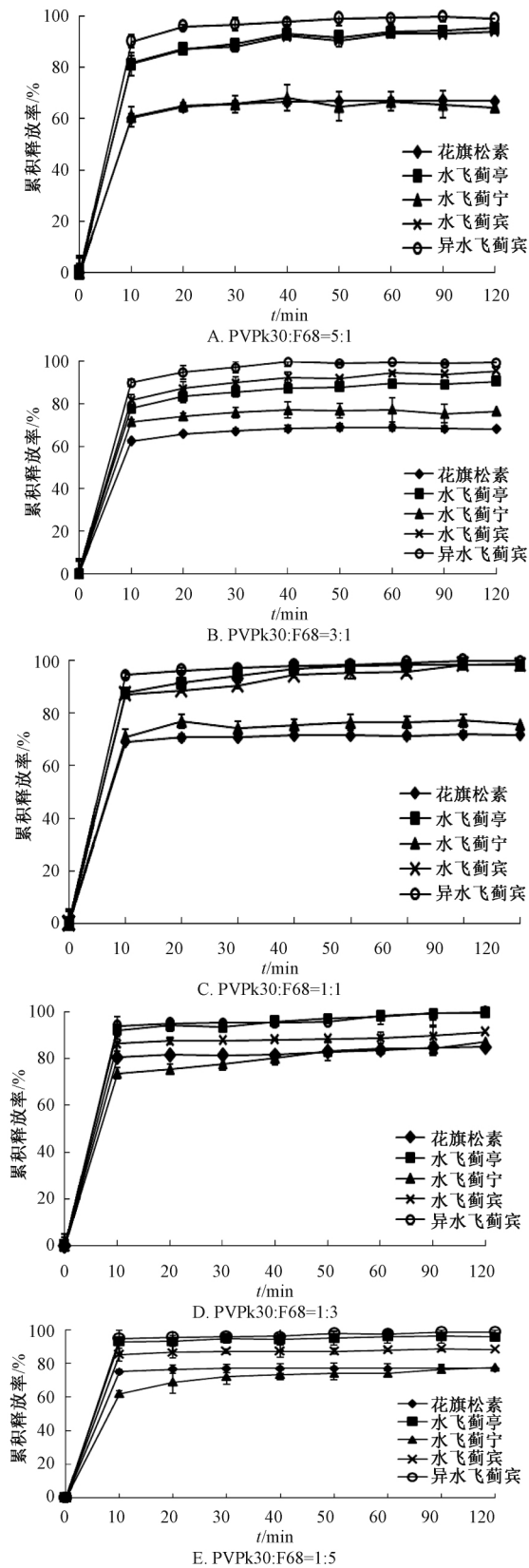


图3 不同比例联合载体下固体分散体的溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curves for solid dispersions with different ratios of combined carrier

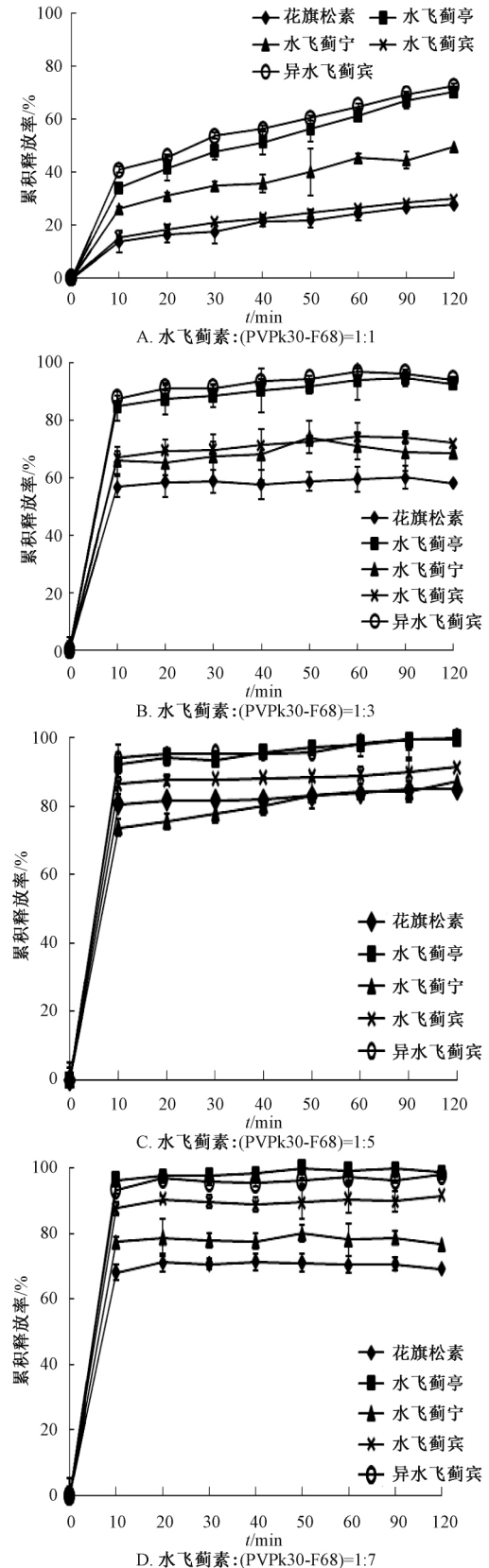


图4 不同比例药物-载体下固体分散体的溶出曲线

Fig. 4 Dissolution curves for solid dispersions with different ratios of drug-carrier

种常见的非离子型表面活性剂,广泛用于药物的溶解及溶出^[13];载体PVP k30具有抑晶作用,可防止固体分散体在存放过程中出现再结晶现象,保证药物有较高的溶出度,这是因为PVP与药物之间发生了物理和化学作用,药物中的PVP链与其形成了氢键,并且随着PVP用量的增加,固体分散体中与PVP结合的药物分子越多,非结合型的药物分子越少,药物溶出速率越大^[14]。因此,本实验选择PVPk30与F68作为固体分散体进行考察。

实验显示,水飞蓟素与PVPk30-F68(1:3)的比例为1:5时,所得固体分散体可使药物中各成分的溶出度显著增加,为相关制剂的开发提供了参考,但其物相鉴别及体内分析尚有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Surai P F. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2015, 4(1): 204-247.
- [2] Javed S, Kohli K, Ali M. Reassessing bioavailability of silymarin[J]. *Altern Med Rev*, 2011, 16(3): 239-249.
- [3] 杨逊,陈钧,韩邦兴,等.水飞蓟素固体分散体对CCl₄致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].*中成药*, 2010, 32(7): 1111-1114.
- [4] Li F Q, Hu J H. Improvement of the dissolution rate of silymarin by means of solid dispersions[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2004, 52(8): 972-973.
- [5] 卢懿,唐宁,吴伟.天然药物的稳定性:1.水飞蓟素和水飞蓟素在缓冲液和生物样品中的比较研究[C]//中华中医药学会中成药学术研讨会论文集.北京:中华中医药学会,2007.
- [6] 李馨儒,袁泉,李晓燕,等.水飞蓟素自微乳浓乳的制备和体内外评价[J].*中国新药杂志*, 2010, 19(5): 422-426.
- [7] Li X R, Yuan Q, Huang Y Q, et al. Development of silymarin self-microemulsifying drug delivery system with enhanced oral bioavailability[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(2): 672-678.
- [8] 于莲,刘思佳,杜妍,等.水飞蓟素固体脂质纳米粒的制备及体外释放研究[J].*北方园艺*, 2012(19): 175-178.
- [9] 廉茹月.单油酸甘油酯/泊罗沙姆407立方液晶骨架用于提高水飞蓟素生物利用度的研究[D].上海:复旦大学,2011.
- [10] Ghosh A, Biswas S, Ghosh T. Preparation and evaluation of silymarin β-cyclodextrin molecular inclusion complexes[J]. *J Young Pharm*, 2011, 3(3): 205-210.
- [11] Zeng Q P, Liu Z H, Huang A W, et al. Preparation and characterization of silymarin synchronized-release microporous osmotic pump tablets[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 519-531.
- [12] 马林,方伟,苏玉永,等.共研磨法改善水飞蓟素固体分散体的溶出度[J].*中国医院药学杂志*, 2012, 32(17): 1361-1365.
- [13] 刘其媛,张振海,金鑫,等.人参皂苷Rg₃二元固体分散体的制备及体外特性研究[J].*中国中药杂志*, 2013, 38(24): 4298-4302.
- [14] 雷亚丽.葛根黄豆苷元固体分散体的制备和体外溶出研究[D].保定:河北大学,2010.