

艾地苯醌固体分散体的制备及体外溶出度研究^Δ

胡蓉^{1*}, 陈双喜², 钟海军^{2,3#}, 余华³, 罗荣³, 邓泽元⁴(1.南昌大学化学学院, 南昌 330031; 2.南昌大学药学院, 南昌 330006; 3.江西省药物研究所, 南昌 330029; 4.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室/南昌大学食品学院, 南昌 330031)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4831-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.26

摘要 目的:制备艾地苯醌固体分散体,并考察其体外溶出度。方法:以泊洛沙姆407(P407)为载体,单因素考察不同制备方法(熔融法和溶剂法)和不同药载比(1:1、1:3、1:8)对药物溶出度的影响,并采用差式扫描量热(DSC)、X-射线粉末衍射(XRD)鉴别药物在固体分散体中的存在状态。结果:以溶剂法制备的药载比为1:3的艾地苯醌固体分散体,其体外溶出度约为80%。艾地苯醌在固体分散中主要以无定型或分子状态存在。结论:成功制得体外溶出度较高的艾地苯醌固体分散体。

关键词 艾地苯醌;固体分散体;泊洛沙姆407;溶出度

Preparation and Dissolution Rate *in vitro* of Idebenone Solid Dispersion

HU Rong¹, CHEN Shuang-xi², ZHONG Hai-jun^{2,3}, YU Hua³, LUO Rong³, DENG Ze-yuan⁴(1.College of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 2.School of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330006, China; 3.Jiangxi Institute of Materia Medica, Nanchang 330029, China; 4.State Key Lab of Food Science and Technology/College of Food, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Idebenone solid dispersion, and to investigate its dissolution rate *in vitro*. METHODS: Using Poloxamer 407 (P407) as carrier, the influence of preparation methods (solvent method, melting method) and the ratio of the drug to P407 (1:1, 1:3, 1:8) on the dissolution of drug were investigated by single factor design. The state of idebenone in matrix of solid dispersion was further determined by using differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray powder diffraction (XRD). RESULTS: Idebenone solid dispersion prepared by solvent method (the ratio of the drug to poloxamer was 1:3) showed dissolution rate of 80%. The majority of idebenone existed in the solid dispersion at amorphous forms or molecular state. CONCLUSIONS: Idebenone solid dispersions with high dissolution rate *in vitro* is prepared successfully.

KEYWORDS Idebenone; Solid dispersion; Poloxamer 407; Dissolution rate

艾地苯醌是目前唯一能够透过血脑屏障的线粒体靶向治疗药物。其在结构上类似于辅酶Q₁₀,具有很强的抗氧化作用,可以抑制脂质过氧化反应所导致的膜障碍;也可以激活脑线粒体的呼吸活性,从而改善脑内葡萄糖利用和脑能量代谢,促使脑内产生的三磷酸腺苷(ATP)增加。在临床上其用于治疗多种与氧化压迫相关的中枢神经系统退化疾病,例如帕金森病、阿尔茨海默病等,最常用于治疗弗里德赖希共济失调^[1-2]。但该药亲脂性极强,水中溶解度低(8 mg/L)^[1],且首关效应大,故不易被人体吸收^[3-4],所以笔者拟通过提高其溶出速率来改善其口服吸收。

固体分散体系指药物以分子、胶态、无定形、微晶等状态均匀分散在某一固体载体物质中所形成的分散体系^[5]。固体分散技术广泛用于增加难溶性药物的溶解度和溶出速率,通过减小药物粒径、增加药物润湿性,从而提高药物的溶出速率。具有表面活性的载体能更有效地增加药物溶出度,同时阻碍药物重结晶,防止固体分散体老化^[6]。故本研究采用固体分散技术,以泊洛沙姆407(P407)为载体制备固体分散体,体外溶出度试验考察不同制备方法和不同的载体用量对药物溶

出度的影响,并通过差式扫描量热(DSC)和X-射线粉末衍射(XRD)研究艾地苯醌在固体分散体中的存在状态。目前国内尚无有关艾地苯醌固体分散体的报道。

1 材料

1.1 仪器

Diamond DSC型DSC分析仪(美国Perkin-Elmer公司);TU-1900型双紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);ZRS-6G型溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司);1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);XD-3A型XRD仪(日本Shimadzu公司)。

1.2 药品与试剂

艾地苯醌原料药(苏州立新制药有限公司,批号:C07-20130702,纯度:99.3%);P407(F127,德国BASF公司);聚乙二醇6000(PEG6000,上海浦东高南化工厂);甲醇为色谱纯,无水乙醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 艾地苯醌分析方法的建立

2.1.1 检测波长的确定 分别制备艾地苯醌、P407的甲醇溶液,在220~400 nm波长范围内进行紫外扫描。结果艾地苯醌在278 nm波长处有最大吸收,且辅料无干扰,故选择278 nm为检测波长。

2.1.2 色谱条件 色谱柱:Kromasil-OSD-C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(78:22, V/V),流速:1.0 ml/min;检测波长:278 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

Δ基金项目:江西省自然科学基金资助项目(No.20122BAB205031);江西省博士后科研项目(No.2013KY21)

* 硕士研究生。研究方向:药物制剂。E-mail: hr199009@163.com

通信作者:教授,博士。研究方向:药物新剂型的研究与开发。E-mail: zhonghj@ncu.edu.cn

2.1.3 适用性试验 取艾地苯醌原料药的甲醇溶液、艾地苯醌固体分散体的甲醇溶液,其中艾地苯醌的质量浓度均相当于14.35 $\mu\text{g/ml}$,分别作为对照品和样品;另取P407的甲醇溶液和PEG6000的甲醇溶液作为空白对照。溶液经0.45 μm 微孔滤膜过滤后,按“2.1.2”项下色谱条件进样,记录色谱。结果显示,艾地苯醌与溶剂峰分离良好,理论板数按艾地苯醌峰计不低于5606,保留时间为8.08 min,且载体材料均对艾地苯醌峰测定无干扰。色谱图见图1。

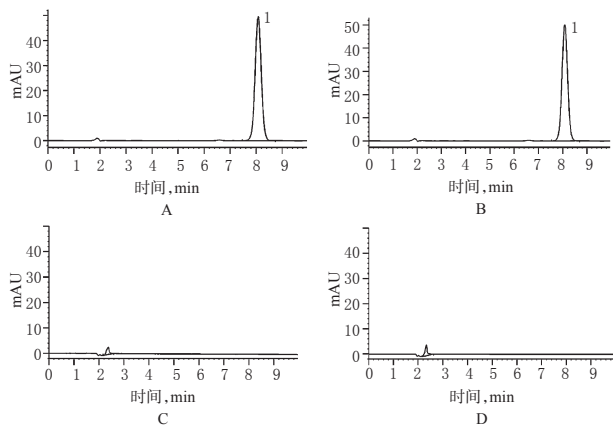


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. P407; D. PEG6000; 1. 艾地苯醌

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; C. P407; D. PEG6000; 1. idebenone

2.1.4 线性范围、回收率与精密度考察 以艾地苯醌峰面积(y)对其质量浓度(x)进行回归分析,得回归方程为 $y=57.977x-6.028$ ($r=0.999$),结果表明艾地苯醌检测质量浓度的线性范围为0.48~30.72 $\mu\text{g/ml}$ 。2.1、12.6、25.2 $\mu\text{g/ml}$ 的艾地苯醌甲醇溶液的方法回收率分别为99.32%、99.65%、99.61%,RSD分别为0.86%、0.32%、0.37% ($n=3$);日内RSD分别为0.11%、0.10%、0.11% ($n=5$),日间RSD分别为0.10%、0.12%、0.19% ($n=5$)。

2.2 体外溶出度测定方法

按2010年版《中国药典》(二部)附录中规定的浆法测定。选择转速为 (75 ± 1) r/min,温度为 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,以1000 ml水作为溶出介质。精密称取艾地苯醌固体分散体适量(约相当于艾地苯醌30 mg),直接投入溶出杯中,分别于5、10、20、30、45、60、80、100 min取样5 ml,并立即补充等温等体积溶出介质。样品溶液经0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液进样测定,计算累计溶出度。

2.3 艾地苯醌-P407物理混合物的制备

按处方比例称取艾地苯醌原料药和P407适量,混合均匀,过60目筛保存备用。

2.4 艾地苯醌固体分散体的制备

2.4.1 熔融法制备艾地苯醌固体分散体 称取处方比例的艾地苯醌原料药和P407适量,先将P407在65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴不断搅拌至完全熔化,加入艾地苯醌并搅拌至完全混融,再迅速转移至冰浴中搅拌至完全固化,然后放置于真空干燥箱中干燥24 h,取出,研磨,过60目筛备用。

2.4.2 溶剂法制备艾地苯醌固体分散体 称取处方比例的艾地苯醌原料药和P407,用适量无水乙醇溶解后,不断搅拌使乙醇挥发,待混合物为黏稠状后移至真空干燥箱中干燥24 h,取出,研磨,过60目筛备用。

2.5 固体分散体制备方法考察

分别用溶剂法、熔融法制备药载比(艾地苯醌-P407)为1:1的艾地苯醌固体分散体,测定其体外溶出度,并以艾地苯醌原料药和相应比例的艾地苯醌-P407物理混合物的溶出度作为对照。结果表明,两种方法制备的固体分散体的溶出度都明显高于艾地苯醌原料药及物理混合物,60 min左右艾地苯醌累计溶出度均为70%左右。但由于熔融法制备的固体分散体黏性较大,制备过程中损失的量较大,且重现性不好,故选择溶剂法制备固体分散体。4种样品的体外溶出度测定结果见图2。

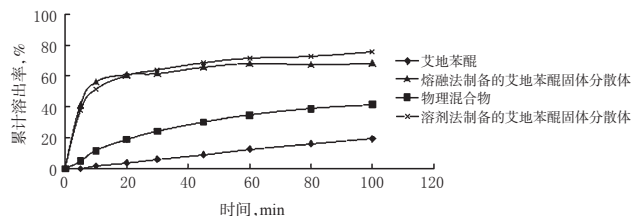


图2 艾地苯醌原料药、物理混合物以及熔融法、溶剂法制备的固体分散体的溶出曲线($n=3$)

Fig 2 Dissolution curves of idebenone crude drug, physical mixture and solid dispersion by melting method and solvent method ($n=3$)

2.6 载体的选择

本研究选用固体分散体技术中常用的水溶性载体PEG作为联合载体^[9],固定艾地苯醌与P407的比例为1:1,改变PEG6000用量,制备艾地苯醌-P407-PEG6000比例分别为1:1:1、1:1:2、1:1:5、1:1:8的固体分散体,考察其体外溶出度。结果显示,加入不同比例的PEG6000作为联合载体后,药物的溶出度无明显变化,与艾地苯醌-P407比例为1:1的固体分散体的溶出度接近。故最终选定P407单独作为艾地苯醌固体分散体的载体。不同载体比例对体外溶出度的影响见图3。

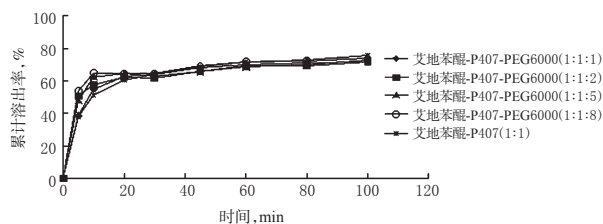


图3 不同载体比例对体外溶出度的影响($n=3$)

Fig 3 The influence of different carrier ratios on *in vitro* dissolution rate ($n=3$)

2.7 固体分散体药载比的考察

精密称取艾地苯醌原料药和P407适量,采用溶剂法制备二者比例分别为1:1、1:3、1:8的固体分散体,考察其体外溶出度。结果显示,随着载体用量的增加,艾地苯醌的溶出度逐渐增加;与1:1固体分散体相比,1:3固体分散体中艾地苯醌的体外溶出度增加,20 min左右已接近80%,而继续加大载体比例对固体分散体中艾地苯醌的溶出度无明显影响。因此,最终确定药载比为1:3。不同药载比对体外溶出度的影响见表1。

2.8 DSC分析

分别取艾地苯醌原料药、P407以及艾地苯醌与P407的比例为1:3的物理混合物和固体分散体约2 mg进行DSC分析(工作条件:加热速度5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,温度范围30~200 $^{\circ}\text{C}$,空白铝坩锅为参比物),结果见图4。

表1 不同药载比对体外溶出度的影响(n=3, %)

Tab 1 The influence of different drug-loading ratio on dissolution rate(n=3, %)

药载比	时间, min								
	0	5	10	20	30	45	60	80	100
1:1	0	37.70	51.21	60.52	63.89	68.76	71.74	72.81	75.52
1:3	0	51.01	65.54	75.55	76.15	78.89	78.14	78.67	78.43
1:8	0	47.17	72.06	78.74	80.65	80.17	82.06	81.92	81.75

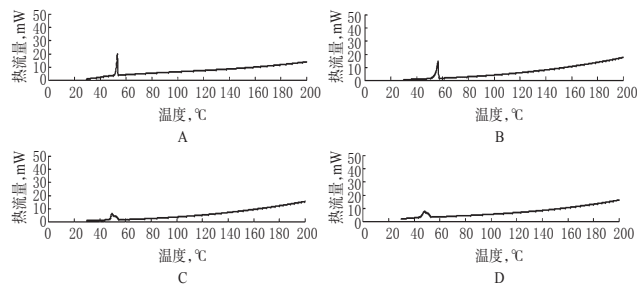


图4 差示扫描量热图

A. 艾地苯醌; B. P407; C. 固体分散体; D. 物理混合物

Fig 4 Diagram of differential scanning calorimetry

A. idebenone; B. P407; C. solid dispersion; D. physical mixture

由图4可知,艾地苯醌原料药在53.20 °C存在吸热峰,为艾地苯醌的熔融峰;P407在56.61 °C附近有1个吸热峰,该峰为P407的熔融峰;而在药物与载体P407的物理混合物及二者形成的分散体的DSC曲线中,分别在47.96 °C和49.42 °C存在相似的较宽吸热峰,这可能是由于艾地苯醌与P407熔点非常相近,所以其熔融吸热的温度范围部分重叠,导致峰宽增大;固体分散体的吸热峰面积相较于相同量的物理混合物的更小,其吸收的热量更少,说明在固体分散体中药物形态发生了改变。

2.9 XRD 法

分别取艾地苯醌原料药、P407以及艾地苯醌与P407的比例为1:3的物理混合物和固体分散体,进行XRD分析(工作条件:Cu靶;高压强度40 kV,管流30 mA;扫面范围4~90 °;扫面速度2 °/min),结果见图5。

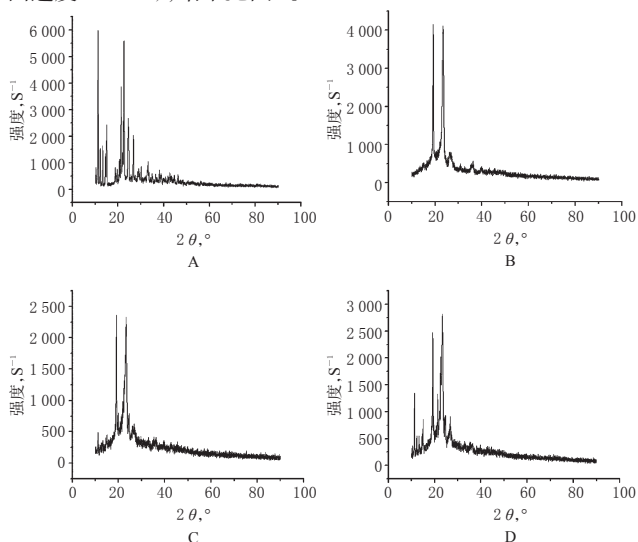


图5 X-射线粉末衍射图

A. 艾地苯醌; B. P407; C. 固体分散体; D. 物理混合物

Fig 5 X-ray powder diffraction pattern

A. idebenone; B. P407; C. solid dispersion; D. physical mixture

由图5可知,艾地苯醌与P407制备成物理混合物后,艾地苯醌的特征结晶峰有一定程度的减弱或消失;而制备成固体分散体后,艾地苯醌的特征结晶峰几乎完全消失,证明固体分散体中药物主要以无定型或分子状态存在,极少数以微晶形式存在。

3 讨论

泊洛沙姆是一种由聚氧乙烯(PEO)、聚氧丙烯(PPO)组成的PEO-PPO-PEO非离子型三嵌段共聚物。其水溶性较好,而且具有独特的疏水内核-亲水外壳结构,能与许多药物形成孔隙固溶体,增大药物的溶出^[7]。因其具有表面活性,故可以作为增溶剂或者乳化剂增加难溶性药物的吸收;与皮肤黏膜具有较好的相容性;可以减慢肠蠕动,延长药物在胃肠道内的滞留时间,从而改善吸收^[8]。故本研究选用P407作为固体分散体载体材料。

由溶出度结果可知,以P407为载体,采用溶剂法和熔融法两种方法制备的固体分散体中药物的溶出度都明显高于其原料药及物理混合物。可能是因为艾地苯醌分散到载体材料的分子中,在溶剂挥发或熔融物冷却凝固时,载体材料阻碍药物分子聚集进而形成较小的晶粒,甚至转变成无定型或分子状态,使得药物溶解度增加。DSC和XRD结果也表明,艾地苯醌在固体分散体中晶型发生改变,大部分以无定型或分子状态存在,极少数以微晶形式存在。由于熔融法制备过程中要求将熔融的混合物迅速冷却,使得实验重现性不好;另外熔融法制备的固体分散体黏性较大,不易粉碎过筛,损失较大。而溶剂法简单易操作,不需加热,故最终选定溶剂法制备艾地苯醌固体分散体。通过考察不同载体用量的固体分散体的溶出度,发现随着载体比例不断增加,艾地苯醌溶出度也逐渐增大,但当药物与载体比例继续增大到1:8时,艾地苯醌的溶出度与1:3时差异不明显,因此选择药载比为1:3。

有许多报道称在固体分散体中,采用联合载体相比于单一载体效果更优^[9-10]。本研究采用PEG6000作为联合载体,与P407共同作用,结果药物的体外溶出度并没有显著变化,与报道不相一致,其机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Carbone C, Pignatello R, Musumeci T, et al. Chemical and technological delivery systems for idebenone: a review of literature production[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012, 9(11):1 378.
- [2] 赵茜.唯一的线粒体靶向治疗药物:艾地苯醌[J]. *中国药房*, 2011, 22(38):3 631.
- [3] 文先红,郭明.光谱法研究环糊精与艾地苯醌的超分子作用[J]. *光谱实验室*, 2009, 26(1):1.
- [4] Bodmer M, Vankan P, Dreier M, et al. Pharmacokinetics and metabolism of idebenone in healthy male subjects[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2009, 65(5):493.
- [5] 张惠平,向大雄,罗杰英,等.固体分散技术在药剂学中的研究进展[J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(11):807.
- [6] Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs[J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12(23/24):1 068.
- [7] 靖博宇,王志远,李燕,等.非洛地平固体分散体的制备和体外溶出度考察[J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(3):185.
- [8] 呼自顺,陈宇洲,王珍.盐酸小檗碱泊洛沙姆188固体分散体的制备[J]. *中国药房*, 2010, 21(11):990.
- [9] 蒋艳荣,张振海,陆艳,等.丹参酮II A二元载体固体分散

Q-TOF LC/MS 技术分析乙醇体积分数对人参单体皂苷提取率的影响^Δ

杨宗林^{1*}, 李 慧¹, 王 冰¹, 刘淑莹^{1,2#} (1. 吉林省人参科学研究院/长春中医药大学, 长春 130117; 2. 中国科学院长春应用化学研究所, 长春 130022)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4834-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.27

摘要 目的: 研究乙醇体积分数对不同的人参皂苷单体提取率的影响。方法: 采用不同体积分数的乙醇为溶剂[0% (水)、20%、50%、70%、95%, V/V] 对人参进行回流提取, 经四极杆-飞行时间液相色谱/质谱(Q-TOF LC/MS) 技术鉴定各峰的成分归属, 并对其中的 16 种主要皂苷进行分析。结果: 乙醇体积分数对人参药材中总皂苷的提取率存在较大影响, 当乙醇体积分数为 70% 时总皂苷的提取率最高, 此差别主要由三醇型皂苷引起, 二醇型皂苷在不同体积分数乙醇溶液中的提取率基本相似。结论: 乙醇体积分数不同时, 得到提取物中的皂苷不仅在总量上存在差异, 在单体比例上亦存在差异。

关键词 乙醇体积分数; 人参; 四极杆-飞行时间液相色谱/质谱; 皂苷单体; 提取率

Analysis of the Impact of Ethanol Volume Fraction on Extract Rate of Ginsenoside Monomer by Q-TOF LC/MS

YANG Zong-lin¹, LI Hui¹, WANG Bing¹, LIU Shu-ying^{1,2} (1. Jilin Ginseng Academy/Changchun University of TCM, Changchun 130117, China; 2. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the impact of ethanol volume fraction on the extract rate of ginsenoside monomer. METHODS: Water and different volume fraction of ethanol solution (20%, 50%, 70%, 95%, V/V) were used for ginseng extract. High performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (Q-TOF LC/MS) was applied to identify components attributable of each peak. Especially 16 kinds of main saponins were analyzed. RESULTS: The volume fraction of ethanol had a significant impact on extract rate of ginsenoside. When the volume fraction of ethanol was 70%, extract rate of ginsenoside was the highest; however, the differences were mainly caused by protopanaxatriol saponins. The yield of protopanaxadiol ginsenosides was similar in different volume fraction of ethanol solution. CONCLUSIONS: When the volume fraction of ethanol is different, result is not only different in the total saponin, but also different in the proportion of the monomers.

KEYWORDS Ethanol volume fraction; *Panax ginseng*; Q-TOF-LC/MS; Saponin monomer; Extract rate

人参是五加科(Araliaceae)植物人参(*Panax ginseng* C.A. Meyer.)的干燥根, 具有大补元气的功效^[1], 临床上常用于各种虚证的治疗^[2]。人参中的主要有效成分是皂苷, 其常以人参类植物为主要原料经不同体积分数的乙醇(甲醇)煎煮或浸泡后获得。人参皂苷是一类四环三萜化合物, 在甾体母核上连接糖基侧链而得, 提取溶剂极性的差异对皂苷的提取率影响较大。

研究^[3-5]表明, 溶剂不同时, 相同提取工艺所得皂苷含量存在差异; 诸多研究均以总皂苷为指标, 且研究结果各不相同, 由于皂苷单体性质各不相同, 不同乙醇体积分数提取所得到的皂苷单体含量理论上也应存在一定的差异。但却未见乙醇

体积分数对皂苷单体提取率差异的相关文献报道。

高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)技术可以对复杂体系进行定性定量分析^[6-7], 近年来在天然药物中的应用越来越普遍^[8]。四极杆-飞行时间MS(Q-TOF MS)技术具有分辨率高、稳定性好、精密度高的优点, 在化合物定性分析方面应用较广。本文采用Q-TOF液相色谱(LC)/MS技术鉴定了不同体积分数乙醇所得提取物中主要的人参皂苷单体, 并对其含量进行比较, 研究了乙醇体积分数对皂苷提取率的影响。

1 材料

1.1 仪器

体的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10): 1 383.

Δ 基金项目: 吉林省科技发展计划项目(No.20130206059YY)

* 硕士研究生。研究方向: 中药有效成分与应用开发。E-mail: zonglin17@sina.com

通信作者: 教授, 博士生导师, 博士。研究方向: 质谱分析。电话: 0431-86045155。E-mail: sylccucm@163.com

[10] Janssens S, de Armas HN, Remon JP, et al. The use of a new hydrophilic polymer, kollicoat IR, in the formulation of solid dispersions of itraconazole[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2007, 30(3/4): 288.

(收稿日期: 2015-01-12 修回日期: 2015-03-05)

(编辑: 邹丽娟)