

## 水飞蓟素混悬剂的制备及稳定性和溶出度考察

朱 铨<sup>1</sup>, 崔京浩<sup>2</sup>, 全姬善<sup>3</sup>, 郭建鹏<sup>3</sup>

(1 厦门大学医学院药学系, 厦门 361005; 2 苏州大学药学院, 苏州 215123;

3 延边大学药学院, 延吉 133000)

**[摘要]** 目的: 制备和初步筛选水飞蓟素混悬剂并对其物理稳定性和溶出度进行评价。方法: 采用研磨法制备水飞蓟素混悬剂, 并考察了处方因素对混悬剂稳定性以及释放度等的影响。结果: 当水飞蓟素混悬剂中甘油用量为 4%、羧甲基纤维素钠为 1% 和聚乙烯吡咯烷酮为 12% 时, 沉降容积比、黏度和再分散性分别为 90%、48 mPa·s 和 100%。甘油和聚乙烯吡咯烷的加入使水飞蓟素在 2 min 内累积释放量迅速达到 20% 以上。结论: 初步确立水飞蓟素混悬剂的处方, 其物理稳定性良好, 且体外释放与同类水飞蓟素制剂比较有明显提高。

**[关键词]** 水飞蓟素; 混悬剂; 稳定性; 体外释放

**[中图分类号]** R944.1; R975.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2006)24-2136-04

## Preparation of silymarin suspension and evaluation of its stability and release

ZHU Xuan<sup>1</sup>, CUI Jing-hao<sup>2</sup>, QUAN Ji-shan<sup>3</sup>, GUO Jian-peng<sup>3</sup>

(1 Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2 College of Pharmacy, Soochow University, Suzhou 215123, China; 3 College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate *in vitro* release characteristics of silymarin suspensions. **Methods:** The silymarin suspension was prepared using grinding method. The optimal formulation was assessed based on release behaviors of silymarin suspensions. **Results:** The optimal silymarin suspensions showed 90% sedimentation volume ratio, 48 mPa·s viscosity and 100% re-dispersibility. The silybin release from the suspensions containing 4% glycerin, 1% Na-CMC and 12% PVP accumulated to more than 20% within 2 minutes. **Conclusion:** The silymarin suspensions featured better release profiles *in vitro*.

**[Key words]** silymarin; suspension; stability; *in vitro* release

水飞蓟素(silymarin)是从菊科植物水飞蓟(*Silybum marianum* Gaertner)果实中提取分离而得到的黄酮木质素类化合物的混合物, 主要由水飞蓟宾(silybin)、异水飞蓟宾(isosilybin)、水飞蓟宁(silydianin)和水飞蓟亭(silychristin)等同分异构体按 3:1:1:1 质量比例组成, 其中水飞蓟宾不仅含量高, 而

且活性也最大<sup>[1]</sup>。由于水飞蓟素难溶于水及一般有机溶剂, 口服吸收差, 其生物利用度较低, 从而影响了临床疗效。

目前, 含水飞蓟素的主要制剂有胶囊、复方制剂、片剂、混悬剂以及水飞蓟素复盐的注射剂等剂型。其中, 水飞蓟素混悬剂由于是液体制剂, 与片剂

- .....
- [2] 韩宁, 杨圣辉. 牙周病缓释治疗的进展[J]. 北京口腔医学, 2000, 8(2): 98-100, 107.
- [3] 段开文, 谭葆春, 史朋, 等. 壳聚糖复合药膜的研制及实验研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2005, 21(1): 102-105.
- [4] 吴骏, 朱家璧. 阿昔洛韦脂质体包封率的测定[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(3): 213-215.
- [5] 杨艳红, 郝永梅, 赵凤林. 非离子表面活性剂囊泡包封药物头孢唑啉钠的研究[J]. 化学通报, 2002, 65(7): 467-471.
- [6] 钱小蕾. 复方奥硝唑含漱液的制备及质量控制[J]. 中国药

房, 2005, 16(5): 350-351.

- [7] 胡燕. 紫外分光光度法测定奥硝唑栓的含量[J]. 医药导报, 2005, 24(6): 530.
- [8] 张小伟, 田聆, 魏于全. 纳米生物技术基因治疗载体研究进展[J]. 生物医学工程学杂志, 2005, 22(3): 610-613.
- [9] 白立峰, 齐鲁, 刘小杰. 羧甲基壳聚糖与明胶共混膜的制备及其性能的研究[J]. 合成纤维, 2005, 34(11): 6-9, 11.

编辑: 周卓/接受日期: 2006-08-08

等固体制剂比较吸收快,而且适宜吞服困难的患者,但是作者未见国内相关研究报道。本实验通过水飞蓟素混悬剂的溶出速度和稳定性研究筛选了水飞蓟素混悬剂的处方,并与国外同类制剂进行了比较。

## 材料与方 法

### 1 仪器与试药

高效液相色谱仪(LC-6A),可变波长紫外检测器( SPD-6A)和紫外分光光度计(UV-2201)均为日本岛津公司产品。智能药物溶出仪(RCZ-8A),天津大学精密仪器厂;旋转式黏度计(NDJ-7,上海天平仪器厂);电子蠕动泵(LDB-M,浙江象山定山仪器厂)。

水飞蓟宾对照品(购自Sigma公司),水飞蓟素(吉林汪清博维药业友情提供),利肝隆混悬剂(Legalon, Bukwang Pharm. Co., Ltd., Korea),其他试剂均为化学纯或分析纯。

### 2 水飞蓟素中水飞蓟宾含量的测定

色谱分析条件:色谱柱为 HALsil C<sub>18</sub> 分析柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);甲醇-0.02 mol·L<sup>-1</sup>高氯酸(50:50)为流动相;流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长为 288 nm;色谱柱温度为(30 ± 1)℃;内标物为对羟基苯甲酸丁酯;进样量 20 μL。

精密量取适量的水飞蓟宾对照品,溶于甲醇中,配制成 200 μg·mL<sup>-1</sup>的溶液。精密吸取一定量,加入内标液(溶剂为甲醇),用流动相稀释至刻度,配制成 1, 2, 4, 6, 8 和 10 μg·mL<sup>-1</sup>的系列浓度溶液,吸取 20 μL 进样,以水飞蓟宾峰面积与内标物峰面积比(Y)对水飞蓟宾浓度(X, μg·mL<sup>-1</sup>)进行线性回归,得标准曲线方程为  $Y = 0.3068X - 0.0314$ ,  $r^2 = 0.9998$ 。由此可见,在 1 ~ 10 μg·mL<sup>-1</sup>浓度范围内,水飞蓟宾与内标物的峰面积比和水飞蓟宾浓度之间呈良好的线性关系。

### 3 水飞蓟素混悬剂处方筛选

**3.1 混悬剂的制备** 按表 1 所示处方,取羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、苯甲酸钠(SB)、山梨酸钾(PS)于烧杯中,放入适量水,放置至全部溶胀,备用。精密称取水飞蓟素粉末 0.783 g(约相当于水飞蓟宾 0.24 g)置于乳钵中,加入适量甘油(glycerin)后,反复研磨至极细均匀粉末,再加入上述溶胀液,研磨混匀后,倒入有刻度的 50 mL 试管中,加入适量香精及甜味素,加水至刻度,摇匀即可。

表 1 水飞蓟素混悬剂的处方

No.	水飞蓟素/g	甘油/%	CMC-Na/%	PVP/%	SB/%	PS/%
F1	0.783	2	—	—	0.1	0.12
F2	0.783	4	—	—	0.1	0.12
F3	0.783	6	—	—	0.1	0.12
F4	0.783	4	0.5	—	0.1	0.12
F5	0.783	4	1.0	—	0.1	0.12
F6	0.783	4	2.0	—	0.1	0.12
F7	0.783	4	1.0	6	0.1	0.12
F8	0.783	4	1.0	12	0.1	0.12
F9	0.783	4	1.0	18	0.1	0.12
F10	0.783	4	2.0	3	0.1	0.12
F11	0.783	4	2.0	6	0.1	0.12

**3.2 沉降体积比的测定**<sup>[2]</sup> 将制备的各种处方混悬剂置于刻度试管,放置,每日测定沉降体积比  $F = H_u/H_0$ ,  $H_0$  为沉降前混悬液的高度,  $H_u$  为沉降后混悬液的高度。以  $H_u/H_0$  为纵坐标,沉降时间  $t$  为横坐标作图,画出沉降曲线。

**3.3 再分散性的测定** 混悬剂制备 1 周后,进行再分散性的测定。将置有各种处方混悬剂的刻度试管倒转 180°,测定恢复到初制混悬剂状态所需翻转次数。所需次数为 1 次的,再分散性为 100%,此后每增加 1 次,其分散性递减 5%。

**3.4 黏度的测定** 用旋转式黏度计测定各处方混悬剂的黏度,测定时用蠕动泵提供循环水,以确保被测物 25℃ 的恒温条件。

**3.5 絮凝度的测定** 以絮凝度来比较混悬剂絮凝程度的大小,公式为  $\beta = \frac{F}{F_0} = \frac{V_u}{V_0}$ ,其中  $F$  为絮凝混悬剂的沉降体积比,  $F_0$  为去絮凝混悬剂的沉降体积比,  $\beta$  表示由絮凝所引起的沉降容积增加的倍数,  $V_u$  为絮凝混悬液的高度,  $V_0$  为去絮凝混悬液的高度。

**3.6 药物溶出度的测定** 按《中华人民共和国药典》(2000 年版二部)附录中规定的浆法测定。取利肝隆及自制混悬剂各 6 mL,分别加入到 500 mL 人工胃液(0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸, pH 值 1.2)和人工肠液(磷酸盐缓冲液, PBS, pH 值 6.8),于预定时间内取样,并补加等量的新鲜溶出介质。所取样品经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液中加入适量内标物质后利用高效液相色谱法测定水飞蓟宾含量。

### 4 水飞蓟素混悬剂的影响因素试验

制备 3 批水飞蓟素混悬剂样品,放置在光照度 4 500 lx 条件下,于 0, 1, 3, 5 和 10 d 取样,高效液相色谱法测定含量,同时观察制剂颜色等外观的变化。温度对水飞蓟素混悬剂稳定性的影响试验是在(40 ± 2)℃ 条件下进行 3 个月,间隔一定时间取样,考察主要成分和外观颜色的变化。

## 结 果

### 1 甘油对混悬剂物理稳定性和溶出速度的影响

水飞蓟素为疏水性药物,不易被水润湿,很难制成混悬剂,必须加入一定量的润湿剂才可以制备均匀分散的混悬剂。在预实验中,我们分别以聚山梨酯-80(吐温-80)、泊洛沙姆及甘油作为润湿剂制备了混悬剂,其中甘油的润湿效果最佳。当甘油的用量为2%~6%时,尽管沉降体积比有改善的趋势,但不明显;黏度由1.6增加到3.0 mPa·s。混悬剂的再分散性是随着甘油用量的增加有增加的趋势,但是考虑到便于研磨,本实验采用了4%甘油。见表2。

表2 水飞蓟素混悬剂的物理稳定性评价

No.	沉降容积比/%	黏度/mPa·s	再分散性/%	絮凝度
F1	8	1.6	80	
F2	10	2.2	85	
F3	11	3.0	100	
F4	33	11	100	4.1
F5	63	19	100	7.7
F6	96	48	100	11.9
F7	83	45	100	未测定
F8	90	48	100	未测定
F9	93	50	100	未测定
F10	98	96	100	未测定
F11	99	270	100	未测定

甘油对水飞蓟素溶出度的影响见图1。虽然甘油在前60 min内对药物的溶出起到了促进作用,但加入的量对药物的溶出度影响不明显,表明甘油只是有利于难溶性水飞蓟素在水溶性介质中的分散,而对溶出速度影响不大。实验中也得到在较低的pH值条件下,药物的溶出度不佳,接近体内肠道pH值时,药物溶出较快。

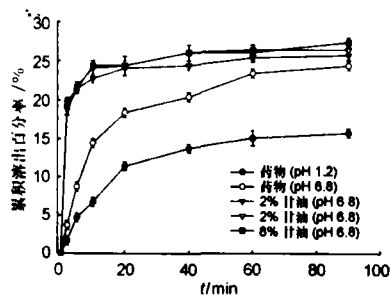


图1 甘油对水飞蓟素混悬剂溶出速率的影响

### 2 助悬剂 CMC-Na 对物理稳定性的影响

助悬剂在混悬剂中主要起增加分散介质的黏度、降低微粒沉降速度、防止结晶的转型等非常重要的作用。本实验中用 CMC-Na 作为助悬剂,在处方中起到了絮凝剂的作用,有利于提高混悬剂的稳定性。CMC-Na 用量对混悬剂沉降容积比的影响见图2, CMC-Na 用量增加时水飞蓟素混悬剂的沉降容积

比迅速增大,这可能是由于 CMC-Na 一方面使混悬剂黏度增加,使药物颗粒沉降缓慢,另一方面它又起到了絮凝的作用。由于使用2%的 CMC-Na 时混悬剂的黏度过高,本实验其他处方中均采用1%的用量。

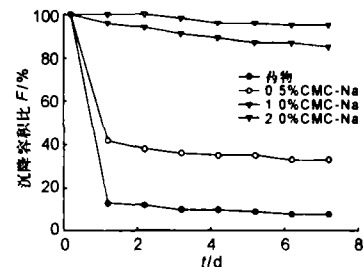


图2 CMC-Na 对水飞蓟素混悬剂沉降容积比的影响

### 3 PVP 对混悬剂溶出度的影响

PVP 对水飞蓟素混悬剂在人工胃液中药物释放的影响见图3。由于水飞蓟素在水中的溶解度很低,其释放度很低。当加入一定量的 PVP,其释放量有明显增加的趋势,而用量超过12%时其量效关系不明显。未加入 PVP 的混悬剂处方中药物的释放曲线与同类市售制剂利肝隆(LGL)相似。PVP 对水飞蓟素混悬剂在人工肠液中药物释放的影响见图4,药物的释放速度和释放量也随着 PVP 用量的增加有加快和增加的趋势。另外,以2% CMC-Na 作为助悬剂时,低浓度的 PVP(2%和6%)均使混悬剂的黏度大幅度增加;而选用1%的 CMC-Na 作为助悬剂时,并分别选用6%~18% PVP 时,混悬剂的黏度没有显著的变化。

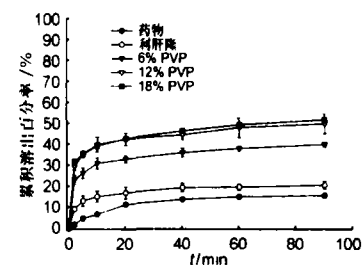


图3 PVP 对水飞蓟素混悬剂在人工胃液中溶出速率的影响(pH值1.2)

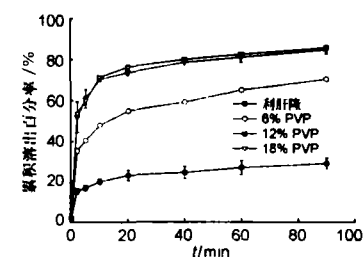


图4 PVP 对水飞蓟素混悬剂在人工肠液中溶出速率的影响(pH值6.8)

### 4 水飞蓟素混悬剂影响因素实验

在强光照射条件下,水飞蓟素混悬剂中主药含

量在  $(4.51 \pm 0.13) \sim (4.73 \pm 0.11) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内发生变化,有略微下降的趋势,其下降百分比为 4.65%。而且强光照射对该制剂的外观颜色影响明显,制剂的颜色从实验开始的浅黄色变成深黄色,而且随着 PVP 用量的增加,其颜色变化也越大。实验结果表明,水飞蓟素混悬剂应避光保存。

在本实验条件下,温度对水飞蓟素混悬剂中主药及其他成分含量影响不大,其含量变化为 2.11%。在 40℃ 条件下观察 3 个月的结果,水飞蓟素混悬剂的外观颜色也没有发生明显变化。实验结果表明,温度对该制剂的稳定性影响不大。

## 讨 论

水飞蓟素具有直接清除活性氧、抑制 5'-脂氧合酶、保护肝细胞膜、促进被损伤肝细胞合成 DNA 及结构蛋白、免疫调节和抗肝纤维化等作用<sup>[3]</sup>,对急性慢性肝炎、肝硬化和代谢中毒性肝损伤有较好的疗效,临床上主要用于各类毒性肝脏疾病、慢性肝炎和肝硬化的辅助治疗。为了改善其生物利用度,药学研究人员利用环糊精包合<sup>[4]</sup>、固体分散体<sup>[5,6]</sup>、固体脂质纳米<sup>[7]</sup>、微乳<sup>[8]</sup>、自乳化制药系统<sup>[9]</sup>以及磷脂复合物<sup>[10]</sup>等制剂学技术提高水飞蓟素的溶出速率和生物利用度的方法,并取得了一定的进展。

随着微粉学等制剂学研究的进展,对水难溶性药物的混悬剂越来越多,而且因制备方法相对简单而备受青睐。混悬剂中的药物吸收良好,很少受食物的影响,制成混悬剂后颗粒分布均匀,在胃肠的分布面积大,吸收快,用药量可控,生物利用度高,同时可避免片剂、胶囊剂等固体制剂难吞服的缺点。但是混悬剂由于是非均相分散体系,微粒分散度大、直径小,使得微粒与分散介质间存在物理界面,微粒表面能较高,体系处于不稳定状态。根据 Stokes 定律可知,微粒直径和微粒与介质密度差的减小,以及介质黏度的增加均可降低微粒的沉降速度,提高混悬液的稳定性。本研究用研磨法制备水飞蓟素混悬剂,并考察了亲水性润湿剂甘油和 PVP 用量以及高分子材料 CMC-Na 等处方因素对混悬剂沉降体积比、黏度、再分散性、絮凝度以及溶出度等的影响。实验结果表明,不同用量的甘油对水飞蓟素混悬剂中主要成分的 10 min 内释放有显著的促进作用,而后影响不大。这可能是由于甘油对水飞蓟素润湿性

有略微增加的作用,使药物在一定范围内迅速溶解,但是达到一定程度以后影响不大。PVP 在不同 pH 值条件下,与市售对照制剂和药物混悬液比较均有促进药物溶出的作用。这可能是由于亲水性高分子材料与水飞蓟素在研磨过程中,促进了水飞蓟素的分散性。CMC-Na 对促进提高水飞蓟素混悬剂黏度具有很好的促进作用,对其物理稳定性提高效果显著,而且对主药的理化特性没有影响,不失为较为理想的助悬剂。水飞蓟素混悬剂的体内评价有待于进一步研究。

[作者简介] 朱铨(1970-),男,副教授,药理学博士,主要从事新剂型开发和药动学研究。联系电话:(0592)2188681, E-mail:brandonxmu@yahoo.com.cn。

[通讯作者] 崔京浩(1966-),男,副教授,硕士生导师,主要从事口服缓控释制剂的研究。联系电话:(0512)65881280, E-mail:cjh0927@sina.com。

## [参 考 文 献]

- [1] FLORA K, HAHN M, ROSEN H, et al. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease [J]. *Am J Gastroenterol*, 1998, 93(2):139-143.
- [2] 宋赞梅,平其能,张志燕,等.曲马多树脂速释混悬剂的研制[J].中国药科大学学报,2000,31(1):18-20.
- [3] 于乐成,顾长海.水飞蓟素药理学效应研究进展[J].中国医院药学杂志,2001,21(8):493-494.
- [4] 汤秀珍,侯世祥,贺英菊,等.水飞蓟素增溶方法的比较研究[J].华西药学杂志,2001,16(3):193-195.
- [5] 朱铨,池青松,韩惠兰,等.水飞蓟素固体分散体中水飞蓟素溶出速度的研究[J].延边大学医学学报,2001,24(1):21-24.
- [6] LI FQ, HU JH, JIANG YY. Preparation and characterization of solid dispersions of silymarin with polyethylene glycol 6000 [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2003, 12(2):76-81.
- [7] 何军,李建芳,张乐乐,等.水飞蓟素固体脂质纳米粒体内药代动力学研究[J].中成药,2005,27(1):19-21.
- [8] 袁泉,李馨儒,王会娟,等.水飞蓟素微乳大鼠在体小肠吸收的动力学[J].药学报,2004,39(8):631-634.
- [9] 欧少英,龙晓英,陈其邦.水飞蓟素快速自增溶给药系统处方设计及体外释放度研究[J].广东药学院学报,2004,20(3):224-225.
- [10] 余恩欣,王芳,王强.水飞蓟素磷脂酰胆碱复合物对实验性肝损伤的保护作用[J].中国新药杂志,2004,13(11):993-995.

编辑:杨青/接受日期:2006-06-10