

双载体制备青蒿素速释型固体分散体工艺优化研究

薛昊^{1,2#}, 苏婧钰^{2#}, 陈文君²,
申雨玫², 王可轩¹, 李鑫¹, 陈靖^{2,3*}, 杨波^{1*}

¹哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076; ²扬州大学医学院(转化医学研究院);

³江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 扬州 225001

摘要:对载体类型影响青蒿素固体分散体中药物溶出度进行研究及优化制备工艺。以大豆卵磷脂与 PEG 6000 或聚乙烯吡咯烷酮为双分散载体, 采用溶剂法制备青蒿素速释型固体分散体, 以溶出度为考察指标, 单因素试验筛选载体类型及最佳制备工艺; 并采用红外吸收光谱法 (IR)、差示扫描量热法 (DSC) 进行物相表征, 明确载体-药物存在状态。结果表明在 50 min 内卵磷脂-PVP K30 双载体比卵磷脂-PEG 6000 药物溶出度更高, 制备固体分散体为速释型, 50 min 内总溶出度 87% 以上, 显著高于原料药和物理混合物, 且优化最佳工艺条件为卵磷脂与 PVP K30 比为 1:7, 搅拌时间 30 min, 无水乙醇用量 20 mL。IR 及 DSC 结果显示在固体分散体中药物可能以无定型状态存在。双载体制备青蒿素速释型固体分散体工艺简单可行, 可显著提高药物溶出度, 为提高青蒿素疗效奠定重要基础。

关键词:速释型固体分散体; 青蒿素; 双载体; 体外溶出; 制备工艺

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)4-0620-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.4.012

Optimized technical conditions of immediate released artemisinin solid dispersion prepared by using dual carriers

XUE Hao^{1,2#}, SU Jing-Yu², CHEN Wen-jun²,
SHEN Yu-mei², WANG Ke-xuan¹, LI Xin¹, CHEN Jing^{2,3*}, YANG Bo^{1*}

¹College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

²Institute of Translational Medicine, Medical College, Yangzhou University;

³Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Disease, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China

Abstract: This work aimed to study the impact of carriers on artemisinin solubility in solid dispersion and to optimize the technical conditions. Soybean lecithin with polyvinylpyrrolidone (PVP K30) or PEG 6000 were used as dual dispersion carriers to prepare artemisinin solid dispersion by solvent method. Better carriers and the optimal preparation parameters were screened by single factor test, and characterized by infrared absorption spectroscopy (IR) and differential scanning calorimetry (DSC). The results indicated that a higher drug dissolution from immediate released artemisinin solid dispersion was obtained when prepared using lecithin and PVP K30 than lecithin and PEG 6000 as dual carriers. Total dissolution within 50 min for artemisinin was found to be over 87% which was significantly higher than artemisinin alone and physical mixture with raw material and carriers. The optimal conditions were as follows: the ratio between soybean lecithin and PVP K30 was 1:7, stirring time was 30 min, and solvent volume of anhydrous alcohol was 20 mL. IR and DSC methods demonstrated that artemisinin in solid dispersion exist in an amorphous state. In this study, therefore, the optimal conditions of immediate release artemisinin solid dispersion prepared by using dual carriers is simple and feasible, which can significantly increase its dissolution and lay the basis for the improvement of artemisinin clinical efficacy.

收稿日期: 2020-06-12 接受日期: 2020-12-11

基金项目: 扬州大学大学生科创基金 (X20190733)

* 通信作者 Tel: 86-514-87973515; E-mail: chenjing2018@yzu.edu.cn, yb346937530@163.com

共同第一作者

Key words: immediate release solid dispersion; artemisinin; dual carriers; *in vitro* dissolution; processing parameters

疟疾是一种由疟原虫引起、按蚊传播且在世界范围内广泛流行的一种致死率很高的恶性传染病,疟原虫的循环性传播及其复杂的生命周期,使疟疾一直难以彻底根除,大多数传统抗疟药如氯喹、奎宁、伯氨喹和哌喹等都先后出现耐药性而失效,而青蒿素(artemisinin, ART)类抗疟药作用迅速,目前公认毒性较低,尚未出现明显耐药性而成为一线抗疟药^[1,2]。ART为黄花蒿(*Artemisia annua* L.)叶中提取的一种倍半萜内酯类化合物^[3,4],不仅是目前治疗疟疾的唯一一线抗疟药物^[5,6],还具有抗病毒、免疫调节、抗炎、抗寄生虫、抗真菌及抗肿瘤等多种生物活性^[7-12],但由于其水溶性和脂溶性均较差,属难溶性药物,体内吸收不完全,生物利用度较低,为有效解决这些制约青蒿素临床应用的难题,近年来很多新方法被运用到青蒿素类药物制剂中,其中固体分散体技术得到了人们的关注。

固体分散体(solid dispersion, SD)是将固体疏水原料药以分子或微晶态分散在固体亲水性惰性载体中所形成的分散系统^[13],可显著增加药物溶解度与溶出度,促进药物的口服吸收,提高生物利用度^[14],还可通过选用适宜的载体及辅料,使药物较为稳定的高度分散甚至进一步达到缓控释效果。Ansari等^[15]以PVP K30为单载体制备了二氢青蒿素固体分散体,发现二氢青蒿素与载体以非晶体复合物存在,溶解度比原料药增加了50倍;Yang等^[16]以泊洛沙姆188为最佳载体制备了吴茱萸碱固体分散体,可在不影响药物含量与形态的基础上大大提高药物的溶出;Li等^[17,18]分别以PEG 6000-卵磷脂为双载体和Ⅲ号丙烯酸树脂为单载体制得ART固体分散体(ART-SD)和缓释型ART-SD。与单一载体相比,双载体或二种以上载体组成混合载体制备固体分散体在调节药物释放速度及改善药物溶出度方面可能更具优势^[19],但目前为止载体类型是否对ART溶出度存在影响尚不明确,且以双载体制备速释型ART-SD工艺条件也未得到优化。本文选用固体分散体常用载体卵磷脂与PEG 6000或PVP K30为双载体,比较了不同载体类型及比例对药物溶出度的影响,优化了双载体速释型ART-SD制备工艺,并通过IR、DSC方法明确最优处方制备的固体分散体中药物-载体的存在状态,为提高难溶性药物临床疗效奠定重要基础。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

ART(纯度>98%,批号:20190112)购于阿拉丁试剂有限公司;PVP K30、氢氧化钠购于国药集团化学试剂有限公司;PEG 6000购于北京化工厂天津市福晨化学试剂厂;大豆卵磷脂购于上海蓝季科技发展有限公司;无水乙醇购于天津市科密欧化学试剂有限公司;以上原辅料和试剂均为分析纯,药用辅料标准符合《中国药典》(2020版)相关规定。

1.2 仪器

LE204E102电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);RE-52CS旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);RCZ-6B2型智能溶出度试验仪(山东利达信仪器仪表设备有限公司);200F3差示扫描量热仪(德国Netzsch公司);Lambda750紫外分光光度计(Perkin Elmer公司);DZF-6050真空干燥箱(郑州长城科工贸有限公司)。

2 实验方法

2.1 样品制备

2.1.1 ART-SD制备

溶剂法制备:按一定质量比精密称取ART与载体材料(大豆卵磷脂、PVP K30或PEG 6000)适量,加入到适量95%乙醇中溶解,并在20℃下搅拌30 min后,将其置于旋转蒸发仪减压蒸去溶剂至粘稠,于真空干燥箱50℃干燥24 h,最后将样品置于预先清洗的研钵中,研磨均匀后,过80目筛,密封并于4℃保存。

2.1.2 物理混合物(physical mixture, PM)

按一定质量比精密称取ART与载体材料适量,过80目筛,室温下置于研钵内搅拌至混合均匀即得,密封并4℃保存。

2.2 固体分散体中ART定量分析

2.2.1 溶液配制

2.2.1.1 ART标准品溶液配制

精密称取ART对照品5.00 mg,置于50 mL量瓶中,加入95%乙醇充分溶解并定容,即为0.1 mg/mL对照品贮备液。

分别精密吸取ART对照品贮备液1、2、4、6、8 mL于50 mL量瓶中,依次加入95%乙醇9、8、6、4、2 mL,0.2% NaOH溶液定容至50 mL,分别配成系列浓度分别为2、4、8、12、16 μg/mL的标准品溶液,50

℃水浴加热 0.5 h, 迅速取出冷却, 备用。

2.2.1.2 辅料空白溶液配制

精密称取大豆卵磷脂、PVP K30 与 PEG 6000 各 5.00 mg, 按照“2.2.1.1”项下配制辅料空白溶液。

2.2.1.3 供试品溶液配制

精密称取 ART-SD 适量(0.100 0 g), 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 95% 乙醇待充分溶解后定容至刻度。精密吸取该样品母液 6 mL, 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 95% 乙醇 4 mL, 0.2% NaOH 溶液定容至 50 mL, 50 ℃水浴加热 0.5 h, 迅速取出冷却, 配制成 ART-SD 供试品溶液, 备用。

2.2.2 检测波长选择

以 1 mL 95% 乙醇与 9 mL 0.2% NaOH 混合液作为空白对照, 扫描波长范围 200 ~ 500 nm, 测定载体材料及 ART 对照品溶液吸收曲线, 确定反应产物最大吸收波长, 并考察载体材料是否对主药检测存在干扰。

2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 标准曲线制备

按照“2.2.2”项下确定的最适波长进行测定, 以 1 mL 95% 乙醇与 9 mL 0.2% NaOH 混合液作为空白对照, 测定不同浓度标准品溶液经反应后的吸光度值, 以浓度(C)-吸光度(A)绘制标准曲线。

2.2.3.2 精密度试验

取“2.2.1.1”项下 16 μg/mL 的标准品溶液, 在最大吸收波长处于紫外分光光度计上连续测定吸光度值 6 次, 计算日内精密度(RSD)。

2.2.3.3 稳定性试验

取“2.2.1.1”项下 16 μg/mL 的标准品溶液, 室温下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h, 测定吸光度值, 计算 RSD。

2.2.3.4 重复性试验

精密称取同一批次 ART-SD 适量(含 ART 5.00 mg), 取 3 份, 按“2.2.1.3”项制备供试品溶液, 测定吸光度值, 标准曲线法测得样品中 ART 浓度, 并计算平均百分含量和 RSD。

2.2.3.5 加样回收率试验

精密称取已知含量 ART-SD 样品 9 份(0.15 g), 分别加入高(12.0 μg/mL)、中(8.0 μg/mL)、低浓度(4.0 μg/mL)标准品溶液各 3 份适量, 按“2.2.1.3”项制备供试品溶液, 计算平均加样回收率(%)和 RSD。

2.2.3.6 样品含量测定

取“2.2.1.3”项制备的供试品溶液, 平行测定 3 次, 标准曲线法测定样品中 ART 浓度, 分别按理论投料量及原料药占制剂质量百分比, 计算样品中 ART 百分含量(%)及 RSD。

2.3 体外溶出度的测定

ART-SD 溶出度测定: 根据 2020 版《中国药典》第四部浆法通则。待溶出介质(超纯水 900 mL)温度稳定为 37 ℃, 取适量 ART-SD(相当于 ART20 mg)粉末置于超纯水中, 转速为 100 rpm。分别于 10、20、30、40、50 min 取样 5 mL, 及时补充溶出介质 5 mL, 样品 0.45 μm 滤膜过滤。得续滤液适量, 按上述含量测定方法测定 ART 浓度, 计算累积溶出度并绘制溶出曲线。

2.4 处方筛选与优化

2.4.1 载体种类

按照 8:1 固定比例精密称取载体混合物和 ART(分别以大豆卵磷脂与 PEG 6000 或大豆卵磷脂与 PVP K30 比例为 1:7 作为载体混合物), 按“2.1.1”项制备, 考察载体种类对 ART-SD 溶出的影响。

2.4.2 大豆卵磷脂: PVP K30 复合载体比例

固定 ART 与大豆卵磷脂比例为 1:1, 大豆卵磷脂和 PVP K30 比例分别为 1:5、1:7、1:9, 按“2.1.1”项制备 ART-SD, 并考察复合载体比例对 ART 溶出度影响。

2.4.3 搅拌时间

载体: 药物固定比例为 8:1, 复合载体比例选取大豆卵磷脂与 PVP K30 比例为 1:7, 选取搅拌时间分别为 20、30、40 min, 考察反应时间对 ART 溶出度影响。

2.4.4 溶剂用量

载体: 药物固定比例为 8:1, 复合载体比例选取大豆卵磷脂与 PVP K30 比例为 1:7, 分别加入到溶液体积分别 20、30、40 mL 的 95% 乙醇中, 按“2.1.1”项制备, 并考察溶剂用量对 ART 溶出度影响。

2.5 物相表征

2.5.1 差示扫描量热法(DSC)

将 ART、PVP K30、大豆卵磷脂、PM 及 ART-SD 粉末分别进行 DSC 分析。以一只坩埚作为空白参比, 另一只坩埚中放入 5.00 ~ 6.00 mg 样品, 测量条件: 氛围气为氮气, 10 ℃/min 升温, 温度范围 20 ~ 200 ℃扫描, 得到不同样品的 DSC 曲线。

2.5.2 红外光谱(IR)

采用溴化钾压片法将 ART、PVP K30、大豆卵磷

脂、PM 及 ART-SD 粉末分别制备成样品后进行红外扫描,扫描范围 $4\ 000 \sim 400\ \text{cm}^{-1}$,得到不同样品的红外光谱,进行光谱分析。

2.6 统计方法

所有数据均为 $\bar{x} \pm \text{SD}$,SPSS18.0 软件(IBM, USA)单因素方差分析(ANOVA)进行统计学分析($P < 0.05$)。

3 结果与分析

3.1 检测波长的确定

由图 1A 可以看出,ART 在 292 nm 处吸光度最强,仅在紫外区 203 nm 处有较弱的末端吸收,这是由于 50 °C 时 ART 在 0.2% NaOH 溶液中,定量生成 α,β -不饱和酮酸盐,得到一吸收峰在 292 nm 处的产物。而由图 1B、C、D 可以看出,辅料在 292 nm 处无吸收,对测定无干扰,故本实验选择 292 nm 为 ART 含量检测波长。

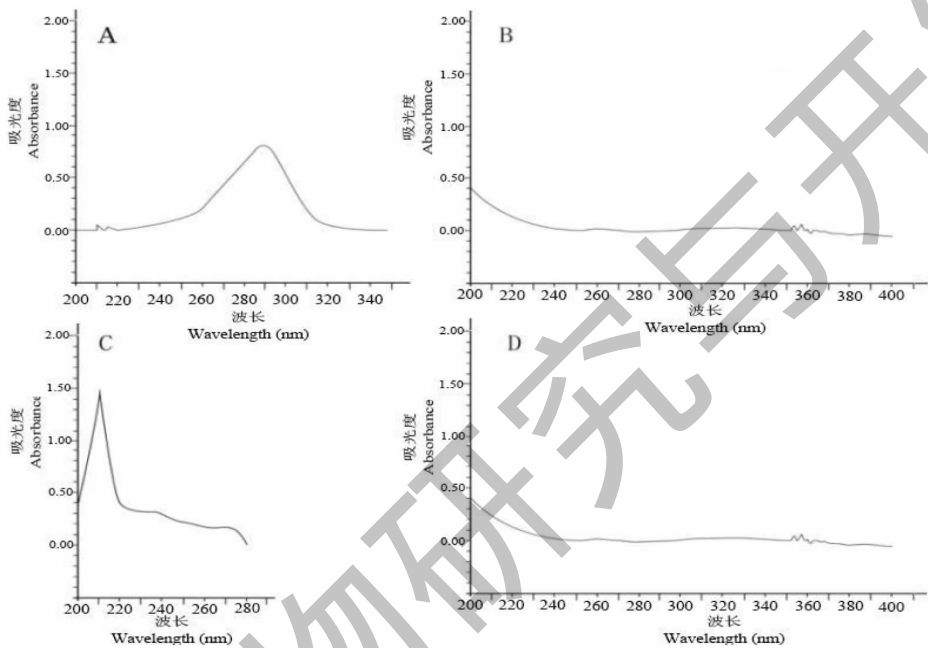


图 1 紫外扫描图

Fig. 1 Ultraviolet scanning spectrum

注:A:青蒿素;B:聚乙烯吡咯烷酮;C:大豆卵磷脂;D:聚乙二醇 6000。Note:A:ART;B:PVP K30;C:Soya bean lecithin;D:PEG 6000.

3.2 方法学考察

3.2.1 标准曲线的绘制

不同浓度标准品吸光度值见表 1,标准曲线如图 2,回归方程为: $A = 0.055C + 0.1085$, $r^2 = 0.9996$ ($n = 5$),结果表明 ART 在 $2.0 \sim 16.0\ \mu\text{g/mL}$ 范围内浓度与吸光度线性关系良好。

表 1 不同浓度标准品吸光度值

Table 1 The absorption values of different concentrations of standards

浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	2.0	4.0	8.0	12.0	16.0
吸光度 Absorbance	0.224 0	0.323 1	0.542 2	0.776 3	0.985 4

3.2.2 精密度

如表 2 所示精密度实验结果,RSD 小于 1%,表

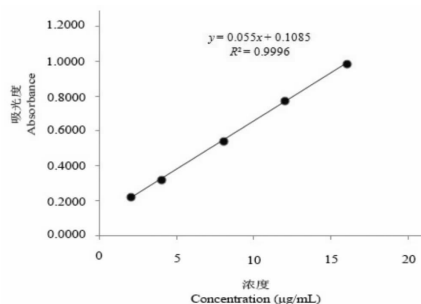


图 2 ART 标准曲线

Fig. 2 The standard curve of ART

明方法精密度良好。

3.2.3 稳定性

如表 3 稳定性实验结果,RSD 小于 1%,表示测定标准品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.2.4 重复性

如表 4 重复性实验结果,按理论投料量或占总

制剂含量计算 RSD 均小于 2% ,表明方法重复性良好。

表 2 精密度实验 ($n=6$)

Table 2 The precision ($n=6$)

序号 No.	1	2	3	4	5	6	相对标准偏差 RSD(%)
吸光度 Absorbance	0.976 2	0.976 0	0.976 3	0.975 9	0.976 1	0.975 8	0.02

表 3 稳定性测定结果 ($n=8$)

Table 3 The stability test ($n=8$)

时间 Time(h)	吸光度 Absorbance	相对标准偏差 RSD(%)
0	0.976 4	
2	0.978 9	
4	0.963 4	
6	0.986 6	0.87
8	0.968 5	
10	0.963 8	
12	0.982 2	
24	0.976 6	

表 4 重复性测定结果 ($n=5$)

Table 4 The repeatability test ($n=5$)

序号 No.	样品百分含量 Sample percentage(%)	制剂中样品含量 Sample content in preparation(%)	相对标准偏差 RSD(%)
8.23	4.00	12.11	97.00
8.04	4.00	11.95	97.75
8.08	4.00	12.02	98.50
8.00	8.00	15.85	98.13
8.03	8.00	15.95	99.00
7.90	8.00	15.79	98.63
8.23	12.00	20.12	99.08
7.93	12.00	19.86	99.42
7.94	12.00	19.72	98.17

3.2.5 加样回收率

如表 5 所示,低、中、高浓度的溶液平均加样回收率分别为 98.33%、98.11%、98.12%,RSD 小于 2%,符合方法学要求。

3.3 含量测定

由表 6 数据可知,按“2.2.1.3”项制备的 ART-SD 中 ART 含量均值按理论投料量计算为 94.97% ± 0.31%,按原料药占制剂总质量百分比为

10.55% ± 0.04%,RSD 为 0.28%。

3.4 处方优化结果

3.4.1 双载体种类筛选

由图 3 和表 7 可以看出,在 50 min 内,使用大豆卵磷脂和 PVP K30 作为双载体的溶出度和溶出速率均高于大豆卵磷脂和 PEG 6000,故选择大豆卵磷脂和 PVP K30 为复合载体。

表 5 加样回收率($n=3$)
Table 5 The recovery test($n=3$)

原有量 Original amount(μg)	加入量 Added amount(μg)	实测值 Measured value(μg)	回收率 Recovery rate(%)	平均回收率 Average recovery(%)	相对标准偏差 RSD(%)
8.23	4.00	12.11	97.00		
8.04	4.00	11.95	97.75	97.75 \pm 0.75	0.77
8.08	4.00	12.02	98.50		
8.00	8.00	15.85	98.13		
8.03	8.00	15.95	99.00	98.58 \pm 0.44	0.44
7.90	8.00	15.79	98.63		
8.23	12.00	20.12	99.08		
7.93	12.00	19.86	99.42	98.89 \pm 0.65	0.65
7.94	12.00	19.72	98.17		

表 6 ART-SD 中 ART 含量测定结果($n=3$)
Table 6 The contents of artemisinin in artemisinin solid dispersion($n=3$)

序号 No.	测量值 Measured value (%)	制剂中样品含量 Sample content in preparation(%)	平均含量 Average percentage (%)	相对标准偏差 RSD(%)
1	94.70	10.52		
2	94.90	10.54	94.97 \pm 0.31 (10.55 \pm 0.04)	0.28
3	95.30	10.59		

3.4.2 复合载体比例筛选

由图 4 和表 8 可以看出,溶出速率和溶出度均有差异,且在溶出 30 min 后,溶出度趋于稳定。当大豆卵磷脂和 PVP K30 比例低于 1:7 时,固体分散体的溶出度和溶出速率与载体比例成正比。当大豆卵磷脂和 PVP K30 比例高于 1:7 时,固体分散体的溶出速率和溶出度基本不变,分析原因是青蒿素已充足分散于载体中,故增加 PVP K30 用量对分散度无影响。故选择混合载体大豆卵磷脂和 PVP K30 比例为 1:7。

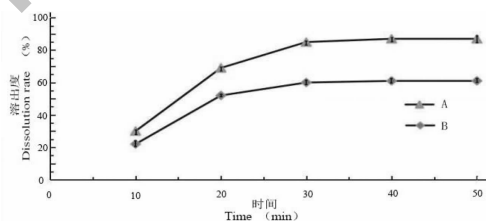


图 3 不同双载体影响 ART 累积溶出曲线
Fig.3 The dissolution curves of ART impacted by different dual carriers

注:A:大豆卵磷脂与 PVP K30;B:大豆卵磷脂与 PEG 6000。
Note:A:Soybean lecithin and PVP K30;B:Soybean lecithin and PEG 6000.

表 7 不同双载体影响 ART 累积溶出百分率测定结果($n=3$)

Table 7 Accumulative release percentage of ART impacted by different dual carriers($n=3$)

溶出时间 Dissolution time(min)	溶出度 Dissolution rate(%)	
	大豆卵磷脂: PVP K30 Soybean lecithin: PVP K30	大豆卵磷脂: PEG 6000 Soybean lecithin: PEG 6000
10	29.88 \pm 0.73	25.91 \pm 1.22
20	69.67 \pm 1.71	52.71 \pm 0.58
30	85.42 \pm 1.35	60.86 \pm 1.42
40	87.21 \pm 1.34	62.97 \pm 0.88
50	87.48 \pm 2.28	63.05 \pm 1.21

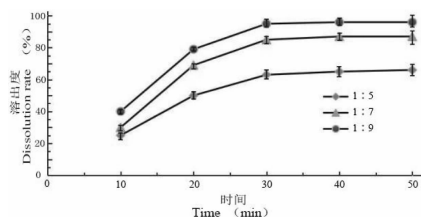


图4 不同载体比例影响 ART 溶出曲线

Fig. 4 The dissolution curve of ART impacted by different ratios of carriers

3.4.3 搅拌时间筛选

由图5和表9可以看出,搅拌时间在20~30 min之间时,随着搅拌时间的延长,溶出度也随之增加。但搅拌时间在30~40 min之间时,溶出度基本无变化。分析原因可能是当搅拌时间小于30 min

时,ART部分以微晶形式存在,达到30 min后,ART多以无定形态分散于载体中,故选择30 min为反应时间。

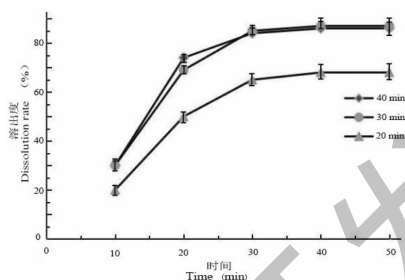


图5 不同搅拌时间影响 ART 溶出曲线

Fig. 5 The dissolution curve of ART impacted by different mixing time

表8 不同载体比例影响 ART 累积溶出百分率测定结果($n=3$)

Table 8 Accumulative release percentage of ART impacted by different ratios of carriers($n=3$)

溶出时间 Dissolution time (min)	溶出度 Dissolution rate (%)		
	1:5	1:7	1:9
10	25.13 ± 0.66	29.88 ± 0.73	39.97 ± 0.56
20	45.77 ± 0.99	69.67 ± 1.71	80.04 ± 1.21
30	54.82 ± 1.41	85.42 ± 1.35	95.22 ± 1.45
40	54.94 ± 1.75	87.21 ± 1.34	95.48 ± 1.62
50	55.02 ± 1.89	87.48 ± 2.28	95.55 ± 1.96

表9 不同搅拌时间影响 ART 累积溶出百分率测定结果($n=3$)

Table 9 Accumulative release percentage of ART impacted by different mixing time($n=3$)

溶出时间 Dissolution time (min)	溶出度 Dissolution (%)		
	20 min	30 min	40 min
10	20.22 ± 0.86	29.88 ± 0.73	29.75 ± 0.97
20	49.79 ± 0.90	69.67 ± 1.71	75.04 ± 1.50
30	62.66 ± 1.13	85.42 ± 1.35	85.37 ± 1.57
40	62.78 ± 1.99	87.21 ± 1.34	87.34 ± 1.66
50	62.82 ± 2.12	87.48 ± 2.28	87.39 ± 1.93

3.4.4 溶剂用量筛选

由图6和表10可以看出,当ART和载体充分溶解在溶剂中,在一定限度内,溶剂量的增加并不会影响溶出度。考虑到成本及安全性,故选择95%乙醇量为20 mL。

3.4.5 ART-SD 最优处方

通过上述实验,ART-SD 最优处方为:称取 50

mg ART, 50 mg 大豆卵磷脂, 350 mg PVP K30 (ART:大豆卵磷脂:PVP K30 = 1:1:7), 溶于 20 mL 95%乙醇中, 搅拌 30 min 后于旋转蒸发仪上蒸发至粘稠后置于真空干燥箱中, 50 °C 干燥 24 h, 研磨均匀后, 过 80 目筛后, 密封并在 4 °C 冰箱保存。

3.4.6 最优处方验证

由图7和表11可知 ART-SD 在 30 min 内快速

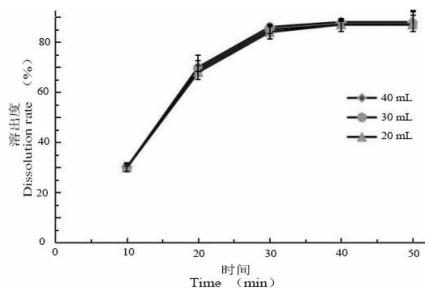


图6 不同溶剂用量影响 ART 溶出曲线

Fig. 6 The dissolution curve of ART impacted by different volume of solvents

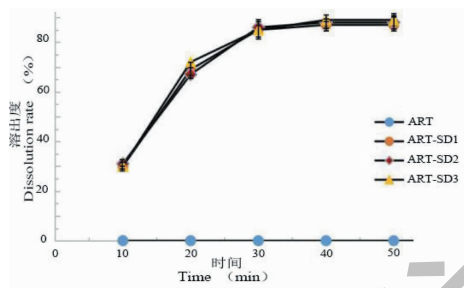


图7 不同批次制备 ART-SD 和 ART 原料药溶出度曲线差异

Fig. 7 Variation of the dissolution curves between ART-SD prepared by three batches and ART raw materials

表 10 不同溶剂用量影响 ART 累积溶出百分率测定结果 ($n=3$)Table 10 Accumulative release percentage of ART impacted by different volume of solvents ($n=3$)

溶出时间 Dissolution time (min)	溶出度 Dissolution (%)		
	20 mL	30 mL	40 mL
10	29.62 ± 0.66	29.88 ± 0.73	29.73 ± 0.56
20	69.77 ± 1.37	69.67 ± 1.71	69.60 ± 1.32
30	85.45 ± 1.54	85.42 ± 1.35	85.53 ± 1.04
40	87.35 ± 1.12	87.21 ± 1.34	87.29 ± 1.39
50	87.82 ± 1.72	87.48 ± 2.28	87.69 ± 2.21

溶出,30 min 后达到溶出平衡,总溶出度超过 87%,且三批样品的溶出曲线一致,说明该方法制剂重现性良

好。ART 原料药 50 min 内溶出度小于 0.06%,说明双载体制备的速释型 ART-SD 能显著提高 ART 溶出度。

表 11 不同批次制备 ART-SD 和 ART 原料药累积溶出百分率测定结果 ($n=3$)Table 11 Accumulative release percentage of ART-SD prepared by three batches and ART raw materials ($n=3$)

溶出时间 Dissolution time (min)	溶出度 Dissolution rate (%)			
	批号 1 Batch number 1	批号 2 Batch number 2	批号 3 Batch number 3	青蒿素原料药 Artemisinin raw material
10	29.57 ± 0.94	29.88 ± 0.45	29.64 ± 0.88	0.00 ± 0.01
20	69.21 ± 1.24	69.67 ± 1.93	69.98 ± 1.24	0.01 ± 0.08
30	85.13 ± 1.66	85.42 ± 1.35	85.81 ± 2.56	0.05 ± 0.06
40	87.24 ± 1.90	87.21 ± 1.22	87.65 ± 2.11	0.06 ± 0.08
50	87.69 ± 2.14	87.48 ± 2.09	87.77 ± 2.08	0.04 ± 0.19

3.5 物相表征

3.5.1 体外溶出对比

由图 8 不同样品的溶出曲线可以看出,在 50 min 内,ART 原料药在溶出介质中不溶,制备成 ART-SD 后,明显改善了解出度。相比于 ART 原料药,物理混合物 (PM) 中药物的溶出度基本不变,说明载体对主药只起到轻微的助溶作用。

3.5.2 差示扫描量热法 (DSC)

由图 9 可见,ART 在 152.6 °C 存在尖锐的吸热

峰,PVP K30 在 108 °C 左右有一个峰宽不对称的吸收峰,由于它是亲水性聚合物,在该温度下脱水而产生的峰。大豆卵磷脂没有明显的吸收峰,由于它具有无熔点且无固定形态的特性。PM 在 150 °C 和 105 °C 附近有两个吸收峰,说明 ART 与载体只是混合且并未改变晶型。ART-SD 无明显吸收峰,说明药物晶型发生了改变,载体与 ART 间形成了固体分散体。

表 12 青蒿素固体分散体、物理混合物及原料药累积溶出百分率测定结果 ($n=3$)Table 12 Accumulative release percentage of ART-SD, raw materials and PM ($n=3$)

溶出时间 Dissolution time (min)	溶出度 Dissolution (%)		
	青蒿素 Artemisinin	固体分散体 Solid dispersion	物理混合物 Physical mixture
10	0.00 ± 0.01	29.88 ± 0.73	0.05 ± 0.12
20	0.01 ± 0.07	69.67 ± 1.71	1.49 ± 0.32
30	0.03 ± 0.04	85.42 ± 1.35	3.81 ± 0.74
40	0.07 ± 0.08	87.21 ± 1.34	3.60 ± 0.41
50	0.05 ± 0.15	87.48 ± 2.28	3.45 ± 1.68

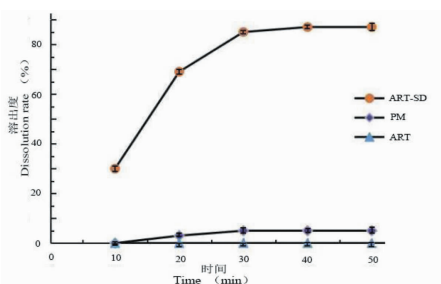


图 8 青蒿素固体分散体、物理混合物及原料药累积溶出曲线差异

Fig. 8 Variation of cumulative dissolution curves among ART-SD, PM and raw materials

3.5.3 红外光谱法 (IR)

由图 10 可见, ART 在 $1\ 738$ 、 $1\ 116$ 、 724 、 $2\ 870 \sim 3\ 000$ 、 $1\ 450 \sim 1\ 380\ \text{cm}^{-1}$ 有吸收峰, 分别是 C=O、C-O-C、O-O、C-H、C-H 键的伸缩振动; 只有 $1\ 738\ \text{cm}^{-1}$ 的 C-O 伸缩振动峰较强, 峰形较好, 周围无其他干扰峰。PVP K30 在 $1\ 655$ 、 $2\ 950$ 、 $1\ 289\ \text{cm}^{-1}$ 有吸收峰, 分别是 C=O 的伸缩振动、C-H 的伸缩振动、C-N 的伸缩振动, 在 $3\ 446\ \text{cm}^{-1}$ 宽且强的吸收峰是由于分

子吸收了水分。大豆卵磷脂在 $1\ 738\ \text{cm}^{-1}$ 有吸收峰 (C=O 的伸缩振动)。PVP 分子和大豆卵磷脂中均有羰基, 因而可以和 ART 分子中苯环上的氢形成氢键。PM 的羰基峰仍与 PVP 分子和大豆卵磷脂一致 ($1\ 655$ 、 $1\ 738\ \text{cm}^{-1}$), 说明 ART 与载体只是简单的混合。而 ART-SD 的羰基峰在 $1\ 653$ 、 $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$, 表明 ART 与载体间可能形成氢键, 生成了固体分散体, 使吸收峰发生了红移。

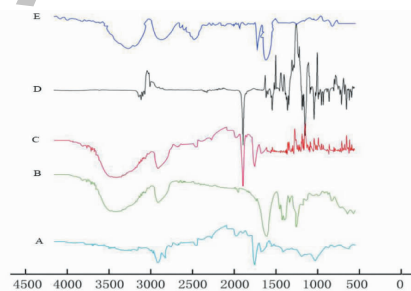


图 10 红外吸收光谱图谱

Fig. 10 IR spectrum

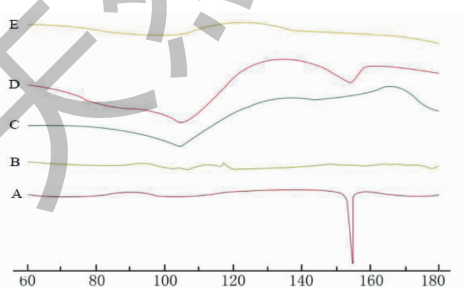


图 9 差示扫描图

Fig. 9 DSC spectrum

注: A: 青蒿素; B: 大豆卵磷脂; C: 聚乙烯吡咯烷酮; D: 物理混合物; E: 青蒿素固体分散体, 下同。Note: A: ART; B: Soybean lecithin; C: PVP K30; D: PM; E: ART-SD, the same below.

4 讨论

固体分散体技术通过将药物高度分散在适宜的载体材料中, 并以无定型态、微晶态、分子分散态或胶体分散态存在, 与胃肠液接触后, 药物溶出速度加快, 促进药物吸收, 提高生物利用度, 以改善难溶性药物口服吸收差的难题。根据载体性质和释药特点的不同, 固体分散体又分为速释型、缓控释型和肠溶型固体分散体。本文选取亲水性载体材料, 利用其良好的润湿性, 使 ART 从速释型 ART-SD 中快速被释放, 50 min 内溶出度远高于物理混合物和 ART 原料药, 有利于解决 ART 口服给药吸收不完全的缺点。

其次, 双载体较单一载体可更大程度地增加药

物的溶出,大豆卵磷脂具有增溶性,PVP K30 具有增加润湿性、降低溶出介质的表面张力、抑制药物结晶的特点^[20,21],在提高难溶性药物的溶出方面广泛选用 PVP K30,而 PEG 6000 亦被用来与卵磷脂混合作为双载体用于制备 ART-SD,但不同复合载体对 ART 从 ART-SD 中溶出度影响目前并不明确,双载体制备 ART-SD 工艺条件也尚未进行优化。本文通过考察卵磷脂分别与 PVP K30、PEG 6000 组合成双载体后对 ART 溶出度影响,发现卵磷脂-PVP K30 更优,并确定了二者的比例,在此基础上,进行了双载体溶剂法制备速释型 ART-SD 工艺条件优化,为 ART 新剂型开发奠定重要基础。

5 结论

本实验以 ART 溶出度为评价指标,通过单因素筛选双载体种类、复合载体比例、反应时间、溶剂用量等,确定双载体制备速释型 ART-SD 的最优处方为:50 mg ART,50 mg 大豆卵磷脂,350 mg PVP K30 (大豆卵磷脂和 PVP K30 比例 1:7),按最优工艺制得固体分散体中药物含量为 $10.55\% \pm 0.04\%$,在 30 min 时达到溶出平衡,50 min 内溶出度为 $87.21\% \pm 2.28\%$,显著高于 PM $3.45\% \pm 1.68\%$ 和 ART 原料药 $0.05\% \pm 0.15\%$ 。DSC 和 IR 分析表明 ART 与载体之间形成氢键且以新的无定型状态存在,后续将深入研究 ART-SD 是否能够改善 ART 作为难溶性药物口服生物利用度低的不足,提高抗疟活性,为临床提供更为有效的抗疟药物。

参考文献

- Davis TM, Karunajeewa H, Ilett KF, et al. Artemisinin-based combination therapies for uncomplicated malaria[J]. Med J Aust, 2005, 182(4): 181-185.
- Yang HL, Li CF, Yang YM, et al. Longitudinal monitoring in vivo sensitivity of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in the Southeast of Yunnan, China[J]. J Pathogen Biol(中国病原生物学杂志), 2008, 3: 917-919.
- Duke MV, Paul RN, Elsohly HN, et al. Localization of artemisinin and artemisitene in foliar tissues of glanded and glandless biotypes of *Artemisia annua* L. [J]. Int J Plant Sci, 1994, 155: 272-365.
- Tang Q, Sheng XB. Research progress on extraction method and detection technology of medicinal ingredients of *Artemisia annua* L. [J]. Crop Res(作物研究), 2006(5): 535-540.
- White NJ. Qinghaosu(artemisinin): the price of success[J]. Science, 2008, 320(5874): 330-334.
- Liu CX. Discovery and development of artemisinin and related compounds[J]. Chin Herb Med, 2017, 9(2): 101-114.
- Romero MR, Effertth T, Serrano MA, et al. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system[J]. Antiviral Res, 2005, 68(2): 75-83.
- Charliesilva I, Fraceto LF, De Melo NF, et al. Progress in nano-drug delivery of artemisinin and its derivatives: towards to use in immunomodulatory approaches [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(Sup3): S611-S620.
- Li X, Li T, Zhang X, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates murine experimental autoimmune encephalomyelitis through enhancing the expansion and functions of regulatory T cell[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e74108-e74119.
- Dunay IR, Chan WC, Haynes RK, et al. Artemisone and artemiside control acute and reactivated toxoplasmosis in a murine model [J]. Antimicrob Agents CH, 2009, 53: 4450-4456.
- Galal A, Ross SA, Jacob MR, et al. Antifungal activity of artemisinin derivatives[J]. J Nat Prod, 2005, 68: 1274-1276.
- Bhawluximon A, Jhurry D. Artemisinin and its derivatives in cancer therapy: status of progress, mechanism of action, and future perspectives[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, 79: 451-466.
- Vojinovic T, Medarevic D, Vranic E, et al. Development of ternary solid dispersions with hydrophilic polymer and surface adsorbent for improving dissolution rate of carbamazepine[J]. Saudi Pharm J, 2018, 26: 725-732.
- Weerapol Y, Tubtimsri S, Chairuk P, et al. Enhanced dissolution and oral bioavailability of poorly water-soluble herb (*Kaempferia parviflora*) extract using solid dispersions: effect of surfactants and concentrations [J]. J Pharm Investig, 2020, DOI: 10.1007/s40005-020-00477-w.
- Ansari MT, Batty KT, Iqbal I, et. Improving the solubility and bioavailability of dihydroartemisinin by solid dispersions and inclusion complexes [J]. Arch Pharm Res, 2011, 34: 757-765.
- Yang HM, Sheng R, Song Y, et al. Dissolution of ultrafine EVO-F68 solid dispersion[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2015, 27: 1626-1629.
- Li GD, Zhou Q, Zhao CW, et al. Study on preparation and dissolution of the solid dispersions of artemisinin [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 1999, 34(1): 26-28.
- Li GD, Zhou Q, Zhao CW, et al. Study on the preparation and dissolution of the sustained release solid dispersions of artemisinin[J]. Pharm J Chin PLA(解放军药理学学报), 2000, 16(1): 15-17.