

## 阿德福韦酯自乳化制剂的研究

王金锐, 陈建明, 张悦 (第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433)

**摘要** 目的: 研究阿德福韦酯自乳化制剂, 探求其最佳处方配比。方法: 通过对油相、水、乳化剂的选择和配比优化, 成功地将阿德福韦包埋在乳液中, 由三元相图得到相应的自乳化区域, 并结合自乳化速率、粒径测定、及溶解度试验的考察筛选处方, 寻找出最佳的搭配和处方配比。结果: 优选的阿德福韦酯自乳化制剂处方中油相为辛酸甘油三酯, 表面活性剂为聚氧乙烯(35)蓖麻油。最终确立阿德福韦酯自乳化制剂的最优配方比为: 辛酸甘油三酯: 聚氧乙烯(35)蓖麻油(7: 3)。结论: 初步成功地制备了阿德福韦酯自乳化制剂。

**关键词** 阿德福韦酯; 自乳化制剂; 粒径测定; 三元相图

中图分类号: R944.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)02-0118-04

## Studies on the self-emulsifying drug delivery systems of adefovir dipivoxil

WANG Jin-rui CHEN Jian-ming Zhang Yue (Department of Pharmaceutics School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433 China)

**ABSTRACT Objective** To search for the optimum formula ratio for the self-emulsifying drug delivery systems of adefovir dipivoxil. **Methods** The recipe of the self-emulsifying drug delivery systems of adefovir dipivoxil formulation was optimized by studying the pseudoternary phase diagram, the self-emulsifying rate, particle size. Adefovir was successfully embedded in the SEDDS emulsion. **Results** The optimized prescription was tricaprylin as oil, Cremophor EL35 as surfactant with the oil and the surfactant ratio was 7: 3. **Conclusions** The preliminary adefovir dipivoxil self-emulsifying preparation has been prepared.

**KEY WORDS** adefovir dipivoxil, self-emulsifying drug delivery systems, droplet size, pseudoternary phase diagram

自乳化传递系统 (self-emulsifying drug delivery system, SEDDS) 是由油相、表面活性剂, 有时也存在助表面活性剂形成的均一、稳定、透明的溶液, 在环境温度 (通常指 37℃左右) 和温和搅拌的情况下, 由于表面活性剂的存在, 自发乳化形成粒子在 5 μm 左右<sup>[1]</sup> 的乳剂。在人体内, 自身胃的蠕动就可以提供温和的搅拌动力, 故称做“自乳化”。药物存在于这些细小的乳滴中, 快速分布于整个胃肠道中。药物在油/水两相之间分配, 依靠细小乳滴的巨大表面积大大提高了水不溶性药物的溶出, 提高了生物利用度<sup>[2-4]</sup>, 同时可以避免水不稳定药物的水解及药物对胃肠道的不良刺激<sup>[5,6]</sup>。

阿德福韦酯 (adefovir dipivoxil DPADV) 是由美国 Gilead Sciences 生物技术公司研究发明的一种高效抗乙型肝炎病毒类药物, 属于嘌呤类核苷类似物, 为阿德福韦的前体药物, 阿德福韦二磷酸盐通过与自然底物脱氧腺苷三磷酸 (dATP) 竞争和整合到病毒 DNA 后引起 DNA 链延长终止这样两种方式来抑

制 HBV-DNA 多聚酶 (逆转录酶), 从而发挥抗乙型肝炎病毒的疗效。阿德福韦酯在中国申请的被保护的 4 种晶型及制备方法, 分别是 I 型 (无水结晶型)、II 型 (水合型)、III 型 (甲醇溶剂化型)、IV 型 (富马酸盐或其他有机无机盐复合物)。目前国内有多个单位研制出了阿德福韦酯的其他的晶型, 但存在晶型转变而侵权的风险。

阿德福韦酯的自乳化制剂一方面药物以分子形式溶解在液体中, 不存在晶型的转变问题, 从而保证药物吸收的稳定性; 另一方面, 它是其乳剂形成的前体, 可以避免乳剂应用中常出现分层、絮凝、转相、破裂以及酸败等现象, 且乳剂的制备工艺也较复杂。所以笔者对阿德福韦酯自乳化制剂进行了研究。

### 1 材料

**1.1 仪器** 分析天平 (JA 5003 型, 上海天平仪器厂), Zetasizer 纳米粒径分析仪 (NANO-S 型, 英国马尔文仪器公司), 电热恒温水浴锅 (DK-S22 型, 上海精宏实验设备有限公司), 高效液相色谱仪 (Agilent 公司)。

**1.2 试剂** 阿德福韦酯标准品 (天津天士力集团药

作者简介: 王金锐 (1982-), 女, 硕士研究生. Tel: 13917672946, E-mail: shjru20300@yahoocn.com

通讯作者: 陈建明. E-mail: yjzm@163.com.

物研究院研制,含量 98.0%,批号: 20071212),吐温 80(中国医药上海化学试剂公司),聚氧乙烯(40)蓖麻油(德国 BASF),聚氧乙烯(35)蓖麻油(德国 BASF),辛酸甘油酯(美国 Stepan 公司),油酸乙酯(上海试剂化学有限公司),辛酸甘油三酯(浙江建德市千岛精细化工实业有限公司)。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 溶解度实验

**2.1.1 标准曲线的测定** ①测定条件:反相高效液相色谱  $C_{18}$ 柱(大连化学物理研究所 5  $\mu$ m, 250 mm  $\times$  4.6 mm);以四丁基溴化铵-磷酸盐溶液(取四丁基溴化铵 1.934 g 与磷酸二氢钾 6.8 g 加水溶解并稀释至 1000 mL,用磷酸调节 pH 值至 3.0):乙腈 = 60:40(V/V)为流动相;检测波长 260 nm。阿德福韦酯与相邻杂质峰的分度度 > 9.0,理论塔板数以阿德福韦酯峰计算应不低于 5000。②测定方法:称取阿德福韦酯对照品适量,用乙腈制成 5.0 mg/mL 的溶液作为储备液,分别取 50、100、200、400、800  $\mu$ L 置 2 mL 容量瓶中,加入乙腈稀释至刻度,摇匀得到系列浓度:0.125、0.25、0.5、1、2 mg/mL,依次取样 20  $\mu$ L 注入高效液相色谱仪,记录色谱峰的峰面积,浓度范围为 0.125~2 mg/mL,以浓度(mg/mL)为横坐标 C,峰面积为纵坐标 A,绘制标准曲线,见图 1。

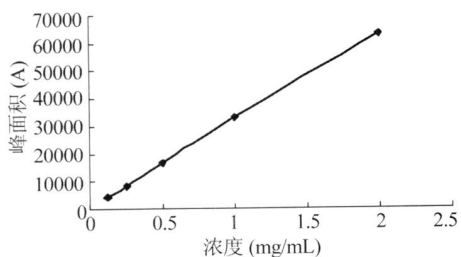


图 1 阿德福韦酯标准曲线

经计算,得到样品浓度与峰面积的线性方程为  $A = 31570C + 67585$ ,  $R^2 = 0.9992$ 。结果表明,在阿德福韦酯 0.125~2 mg/mL 范围内呈良好的线性关系。

**2.1.2 回收率与精密度** 按照“2.1.1”项下方法,取低、中、高浓度依次为 0.25、0.5、1 mg/mL,已知浓度的阿德福韦酯溶液,测定后带入标准曲线计算浓度,与原浓度进行比较,其回收率 96.98%, 98.62%, 102.14%。低、中、高 3 个浓度的 RSD 分别为 3.34%, 2.25%, 3.19%。日内精密度测定以上述低、中、高浓度按“2.1.1”项下方法,在同一天

进样 5 次,结果测得日内浓度分别为 0.22、0.47、0.96 mg/mL,日内 RSD 分别为 5.49%、3.84%、3.68%;日间精密度测定分别以上述低、中、高浓度按“2.1.1”项下方法,连续测定 3 d 测得日间浓度分别为 0.18、0.45、0.93 mg/mL,日间 RSD 分别为 6.58%、5.43%、4.26%。

**2.1.3 溶解度实验方法** 分别取辛酸甘油酯、油酸乙酯、辛酸甘油三酯,以及吐温 80、聚氧乙烯(40)蓖麻油、聚氧乙烯(35)蓖麻油各 1 mL 于试管中,少量多次加入阿德福韦酯,直至不溶为止(药物浓度范围在 20~100 mg/mL)。置于电热恒温水浴锅(37  $^{\circ}$ C)恒温 48 h,然后离心将上清液过滤,分别取 0.1 mL 用乙腈定溶至 5 mL,依次取样 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,用 HPLC 进行含量测定。

自乳化处方中为几种表面活性剂和被溶解的药物的油混合物,其在室温下应为透明单相的溶液,并对阿德福韦酯有良好的溶解性,将峰面积代入线性方程  $A = 31570C + 67585$  计算得到阿德福韦酯在不同油和表面活性剂中的溶解度,见表 1。

表 1 阿德福韦酯在不同油和表面活性剂中的溶解度

溶解介质	溶解度 (mg/mL)
辛酸甘油酯	0.19
油酸乙酯	0.92
辛酸甘油三酯	16.38
吐温 80	32.78
聚氧乙烯(40)蓖麻油	41.11
聚氧乙烯(35)蓖麻油	29.21

SEDDS 要求的油相要能以较少的用量溶解处方量的药物;表面活性剂通常为具有较高的 HLB 值的非离子表面活性剂。

由上表可以看出:溶解度符合药物浓度范围(20~100 g/mL)的表面活性剂为吐温 80、聚氧乙烯(40)蓖麻油,聚氧乙烯(35)蓖麻油,溶解度接近药物浓度范围的油为辛酸甘油三酯,由于聚氧乙烯(40)蓖麻油容易固化,因此,适于溶解阿德福韦酯的油为辛酸甘油三酯,表面活性剂为吐温 80、聚氧乙烯(35)蓖麻油,这为 SEDDS 的制备奠定了基础。

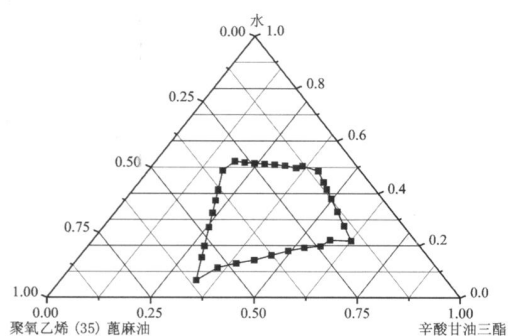
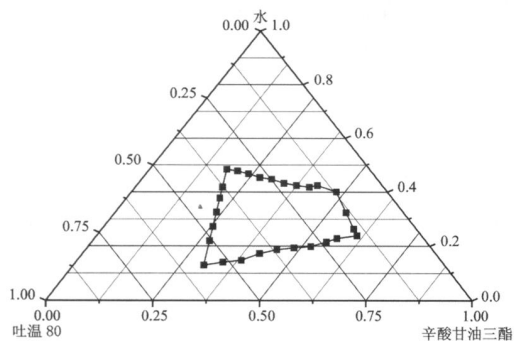
### 2.2 三元相图试验

**2.2.1 SEDDS 三元相图的制备** 选表面活性剂为吐温 80、聚氧乙烯(35)蓖麻油,油为辛酸甘油三酯,在室温下以 1 g 为处方总量,其中主药阿德福韦酯占 10 mg 固定油与表面活性剂的比例依次从 80/20 到 35/65 一共 10 个比例,采用水滴定法进行实验,将上述不同组分配制成载药自乳化制剂<sup>[7]</sup>,组成见表 2。

表 2 阿德福韦酯自乳化相图配方比例

组分	配方比例 (%)									
辛酸甘油三酯 (%)	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35
聚氧乙烯 (35) 蓖麻油	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
吐温 80 (%)										

## 2.2.2 自乳化传递系统三元相图 (见图 2和图 3):

图 2 辛酸甘油三酯-聚氧乙烯 (35) 蓖麻油-水三元相图  
自乳区:三元相图中间近似梯形区域图 3 辛酸甘油三酯-吐温 80-水的三元相图  
自乳区:三元相图中间近似梯形区域

综合考虑自乳化释药系统对药物的溶解能力,根据 origin6.0 软件作图结果,因图 2和图 3三元相图中间近似梯形区域中具有较好的流动相和稳定性特点,同时,按处方规定一定比例混合后,加入适宜水量后仅需轻微地机械振摇即可形成均匀、稳定性的 O/W 乳剂,所以判定图 2和图 3三元相图中间近似梯形区域为自乳区范围。

图 2和图 3形成的自乳区中,辛酸甘油三酯与聚氧乙烯 (35) 蓖麻油结合的处方所形成自乳区的面积大于辛酸甘油三酯和吐温 80 结合的处方所形成自乳区的面积,所以选用聚氧乙烯 (35) 蓖麻油为最佳表面活性剂。

以聚氧乙烯 (35) 蓖麻油为表面活性剂,油选自辛酸甘油三酯,分别按照辛酸甘油三酯 聚氧乙烯 (35) 蓖麻油为 80/20、75/25、70/30、65/35、60/40

55/45的处方比例,将每瓶溶液制成乳剂,依次取上述不同比例适量滴入带刻度的尖头试管中,试管中盛有适量蒸馏水,测量乳化时间<sup>[8]</sup>,观察乳化效果,结果见表 3。

表 3 乳化时间和乳化效果测定结果

	编号					
	1	2	3	4	5	6
辛酸甘油三酯 / 聚氧乙烯 (35) 蓖麻油	80/20	75/25	70/30	65/35	60/40	55/45
乳化时间 (min)	8.1	4.5	4.4	4.1	6.1	5.2
乳化效果	分层	不分层	不分层	不分层	不分层	不分层

根据体外乳化时间及目测乳化效果,将乳化效果分为如下级别,①第 1级:乳化时间小于 5 min,乳化后能形成均匀乳浊液;②第 2级:乳化时间大于 5 min 而小于 10 min,乳化后能形成均匀乳剂;③第 3级:乳化时间大于 10 min,能形成均匀乳剂;④第 4级:乳化时间大于 10 min,不能形成均匀乳剂。

根据上述自乳化速率,乳化时间和乳化效果的评定实验结果,辛酸甘油三酯与聚氧乙烯 (35) 蓖麻油之间的百分比分别在 75/25、70/30、65/35 的比例下,乳化时间均 < 5 min,符合体外乳化时间及目测乳化效果表述评定中第一级评定标准。

2.2.4 粒径测定 选择属于第 1级中乳化效果好的其中 3个点的自乳化制剂,见表 4 分别从已制备好的 3组处方溶液中取 75 mg 依据《胶体分散药物制剂》丛书关于自乳化制剂的自乳化能力评价与测定内容介绍里,自乳化后乳剂的粒径与分布的实验规定,同时避免加入过量水会形成不了乳剂的原因,因此,加 50 mL 37 ℃水,50 r/min 温和搅拌 5 min,再参照《胶体分散药物制剂》丛书对于本实验介绍规定,取 1 mL 于 4 000 r/min 下离心 5 min,用 Zetasizer 纳米粒径分析仪于室温下测定粒径。结果见表 4。

表 4 自乳化制剂不同比例配方的粒径测定结果

辛酸甘油三酯 聚氧乙烯 (35) 蓖麻油 (%)	粒径 (nm)	大粒子
75/25	161.3	0.286
70/30	145.7	0.264
65/35	124.6	0.130

自乳化制剂的处方要求以较低的表面活性剂用量来达到自乳化的目的,且要求自乳化时间较快以及稳定性好。从以上表中可以看出,当表面活性剂的比例增大时,自乳化制剂的乳化时间相应缩短,粒径随之减小,乳化效果更为明显,但是随之毒性也会增加,因此自乳化处方的选择是要受到多方面限制,

所以综合判断,取辛酸甘油三酯与聚氧乙烯(35)蓖麻油之间的百分比为70/30组的处方乳化效果较好,表面活性剂的用量较少,该处方对药物有较好的溶解能力,试验结果较为理想。

### 3 讨论

本制剂选用辛酸甘油三酯与聚氧乙烯(35)蓖麻油为阿德福韦酯自乳化制剂处方里的油和表面活性剂,是由于自乳化制剂里所选的油辛酸甘油三酯能以较少的用量溶解处方量的药物,即使在低温贮藏条件下,也不会有药物析出,容易被处方中的乳化剂乳化;所选用的聚氧乙烯(35)蓖麻油为非离子型表面活性剂,这是因为它的HLB值(12~14)较高,聚氧乙烯(35)蓖麻油的强亲水性是立即形成O/W乳滴和自乳化液在水环境中扩散所必要的,它能使自乳化过程更快,其本身也能溶解相对大量的疏水性药物阿德福韦酯,具有较强的乳化能力,从而有效增加油相中药物同胃肠道的接触面积。

阿德福韦酯自乳化制剂处方里未加助表面活性剂,因为使此制剂的生物利用度在体内达到最大程度的提高,故将其制备为胶囊剂;而其助表面活性剂使用长链醇、乙二醇、丙二醇、聚甘油等衍生物,可使囊材软化或溶解,导致药物外渗。因此阿德福韦酯自乳化制剂处方里不能加助表面活性剂。

自乳化速率是评价混合物自发形成稳定微乳或分散相粒径均一精细乳滴能力的一个指标。在研究中,自乳化的时间虽不能正式测定但可以通过目测观察。如用37℃恒温的溶出介质以不同比例稀释 SEDDS,轻微搅拌后以肉眼观察分散完全的时间。

根据实验结果,初步确定阿德福韦酯自乳化制剂最佳的配方比例为辛酸甘油三酯(70%),聚氧乙烯(35)蓖麻油(30%);该研究为以后的该制剂在体内考察提供了有益的研究基础。

### 参考文献:

- [1] Gursoy RN, Benita S. Self emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs[J]. *Biomed Pharmacother*. 2004, 58(3): 173.
- [2] Chae GS, Lee JS, Kim SH. Enhancement of the stability of BCNU using self emulsifying drug delivery systems (SEDDS) and *in vitro* antitumor activity of self emulsified BCNU-loaded PLGA water [J]. *Int J Pharm*, 2005, 301(1/2): 6.
- [3] Ma EL, Ma H, Liu Z, *et al*. In vitro and in vivo evaluation of a novel oral insulin formulation [J]. *Acta Pharmacol Sin* 2006 (10): 1382.
- [4] Hong J, Kim JK, Song YK, *et al*. A new self emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption [J]. *J Control Release* 2006, 110(2): 332.
- [5] You J, Cui FD, Han X, *et al*. Study of the preparation of sustained-release microspheres containing zedoary turmeric oil by the emulsion solvent diffusion method and evaluation of the self emulsification and bioavailability of the oil [J]. *Colloids Surf Biointerfaces* 2006, 48(1): 35.
- [6] Senatoni M, Newton M, Booth S *et al*. Controlled drug release from Pellets containing water insoluble drugs dissolved in a self emulsifying system [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2006, 65(1): 94.
- [7] 杨根生,严琴英,王文喜,等.紫杉醇口服自乳化给药系统的处方研究[J]. *浙江工业大学学报* 2008, 36(1): 5
- [8] 金丹,高缘.头孢泊肟酯自乳化制剂的研究[J]. *海峡药学* 2007, 19(3): 24.

收稿日期: 2008-09-22

(上接第 117 页)

质峰较多、主峰和杂质峰无法较好分离,且提取回收率较低,仅为68%;加入0.1 mol/L醋酸铵溶液(pH=10.45)的血浆样品图谱中杂质峰减少,主峰和杂质峰分离较好,提取回收率增至86%。

**3.4 萃取液的选择** 据文献<sup>[4]</sup>报道,乙酸乙酯提取率优于乙醚、正己烷、异丙醇、正己烷-二氯甲烷-异丙醇(300:150:1.5)。本试验又考察了使用乙酸乙酯和二氯甲烷做萃取液时样品的提取回收率。结果表明,乙酸乙酯回收率最高,且毒性较小。

### 参考文献:

- [1] Williams MP, Pounder RE. Review article: the pharmacology of rabeprazole [J]. *Aliment Pharmacol Ther* 1999, 13(Supp B): S3
- [2] Ishizaki T, Honai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitor: emphasis on rabeprazole

[J]. *Aliment Pharmacol Ther* 1999, 13(Supp B): 27

- [3] Takakuwa S, Chiku S, Nakata H, *et al*. Enantioselective high-performance liquid chromatographic assay for determination of the enantiomers of a new antiulcer agent E381Q in Beagle dog plasma and rat plasma [J]. *J Chromatogr B*, 1995, 673: 113.
- [4] 扈本荃,周瑾,程建峰,等.高效液相色谱法测定血浆中雷贝拉唑钠的浓度[J]. *中国医院药学杂志*, 2005, 25(1): 42.
- [5] 郭利民,钟世华.高效液相色谱法测定雷贝拉唑钠血药浓度[J]. *药物研究*, 2008, 5(3): 29.
- [6] 胡玉荣,孙健,阿有梅,等.雷贝拉唑钠血药浓度的HPLC测定[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(12): 1463.
- [7] Ranakrishna NV, Vishwattan KN, Wshu S, *et al*. High performance liquid chromatography method for the quantification of rabeprazole in human plasma using solid-phase extraction [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 816: 209.
- [8] 陈钧,江文明,颜庭晶,等.反相高效液相色谱法测定人血浆中雷贝拉唑钠浓度[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(4): 394

收稿日期: 2009-01-08