

超临界二氧化碳制备布地奈德-聚氧乙烯固体分散体及体外评价

刘 辉^{1,3}, 潘卫三^{1*}, 周丽莉², 张志宏¹

(沈阳药科大学 1. 药学院, 2. 制药工程学院, 辽宁 沈阳 110016 3. 广州军区武汉总医院 药剂科, 湖北 武汉 430070)

摘要: 本文以水难溶性药物布地奈德为模型药物, 研究超临界流体技术制备布地奈德-聚氧乙烯固体分散体的方法及其影响因素。采用超临界二氧化碳静态法制备布地奈德-聚氧乙烯固体分散体, 用粉末 X 射线衍射法、差示扫描量热法、溶解度法和体外溶出实验进行固体分散体的物相鉴别。在 40 °C, 20 MPa 条件下, 布地奈德-聚氧乙烯 N 750 (1:10) 是形成固体分散体的最佳条件, 布地奈德与聚氧乙烯载体形成氢键, 以无定形态存在于载体中, 溶解度和体外溶出速率显著提高。超临界流体技术是制备固体分散体的一种可行方法。

关键词: 超临界流体; 固体分散体; 布地奈德; 聚氧乙烯

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)02-0206-05

Preparation of budesonide-poly (ethylene oxide) solid dispersions using supercritical carbon dioxide and *in vitro* evaluationLU Hui^{1,3}, PAN Weisan^{1*}, ZHOU Lili², ZHANG Zhirong¹

(1. School of Pharmacy, 2. School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. Department of Pharmacy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command, Wuhan 430070, China)

Abstract An application of supercritical fluids technology for processing of budesonide-poly (ethylene oxide) solid dispersions was presented. The correlations of the operation parameters in the preparation process were studied. Solid dispersions of budesonide in poly (ethylene oxide) were prepared using a static method for supercritical carbon dioxide and characterized by powder X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, intrinsic dissolution, and *in vitro* dissolution. It was found that the optimum condition of solid dispersions formation was as follows: temperature, 40 °C; pressure, 20 MPa; the ratio of budesonide and poly (ethylene oxide), 1:10. Drug existed in an amorphous state in hydrophilic poly (ethylene oxide) carriers and intrinsic solubility and dissolution rates were significantly enhanced. The mechanism of the enhanced dissolution may be attributed to the amorphous character of the budesonide, improvement of the wettability of the hydrophobic budesonide together with the formation of hydrogen bond of budesonide and hydrophilic poly (ethylene oxide). The supercritical fluids process can be used as an alternative method for preparation of solid dispersions.

Key words supercritical fluid; solid dispersion; budesonide; poly (ethylene oxide)

药物的溶解度和分散状态是影响药物体内生物利用度的主要因素之一, 利用固体分散技术, 使药物在水溶性高分子载体中形成高度分散状态, 可以有效地提高难溶性药物的溶解度和溶出速度, 从而提

高药物的生物利用度。常规的固体分散技术主要有溶剂法、熔融法和研磨法等^[1,2], 但这些方法都存在一些不足。溶剂法需要使用大量的有机溶剂, 环境污染严重, 并且有机溶剂残留会引起人体的毒副作用; 熔融法加热和冷却速率难以控制, 批间重现性差, 制备条件剧烈, 容易破坏药物的活性; 研磨法得到的固体分散体还存在难于粉碎和过筛等问题, 也限制了其进一步制备成药物制剂。超临界流体

收稿日期: 2006-04-19

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目 (20052059)。

* 通讯作者 Tel / Fax 86-24-23953241

E-mail phamacyanlh@163.com

(supercritical fluids SCF)技术作为一种新型的固体分散体制备方法,近年来得到迅速发展和广泛应用^[3-5]。与传统方法相比,SCF技术具有以下特点:

①制备过程条件温和,不需有机溶剂,绿色环保,无污染;②操作条件易于控制,产品重现性好;③直接形成微粒,无需粉碎,避免了常规制粒过程中产生相转变、高表面能、静电和化学降解等问题。

布地奈德(budesonide, BUD)是一种新型糖皮质激素^[6],局部抗炎活性优于全身糖皮质激素的作用。美国胃肠道学会推荐其作为治疗中、重度节段性肠炎、溃疡性结肠炎等局部炎症性大肠疾病的首选药物。但BUD是一种难溶性药物,溶解度差,影响其局部治疗效果。故本文选择BUD作为模型药物,以亲水性聚合物聚氧乙烯[poly(ethylene oxide), PEO]作为载体,应用SCF技术,采用超临界二氧化碳(supercritical carbon dioxide, SC CO₂)制备布地奈德-聚氧乙烯(BUD-PEO)固体分散体,以期提高BUD的溶解度和局部生物利用度。采用粉末X射线衍射法、差示扫描量热法、溶解度法和体外溶出实验等方法对固体分散体进行物相鉴别,并对药物/载体的配比和制备过程的影响因素进行考察。

材料与方 法

仪器 XL-30型扫描电镜(荷兰飞利浦-FEI); D MAX-2A型X衍射仪(日本理学); DSC 60型差示扫描量热仪(日本岛津);超临界流体装置(沈阳东宇超临界流体公司); UV-9100型紫外分光光度计(北京瑞利公司); RCZ-6B型溶出仪(上海黄海药检仪器厂)。

药品与试剂 布地奈德(山东鲁南制药有限公司惠赠);聚氧乙烯 N750 [poly(ethylene oxide) N750, PEO N750, 分子质量 300 kD, 美国 Dow 公司];其他试剂均为分析纯。

SC CO₂ 制备 BUD-PEO N750 固体分散体 将按比例混合均匀的 BUD-PEO N750 (1:5, 1:10, 1:20 w/w)置于高压反应釜中,将加压至超临界状态的 SC CO₂ 注入高压反应釜。待反应釜温度、压力等指标控制到设定值并稳定 10 min 静态反应预定时间后,快速减压,收集反应釜内的颗粒,待测定。SC CO₂ 制备 BUD-PEO N750 固体分散体的参数:温度, 40 °C; 压力, 20 MPa; 时间, 18 h。为了寻找最优化固体分散体制备条件,通过改变温度和压力,考察 SCF 条件对 BUD-PEO N750 (1:10 w/w) 固体分散体的影响,实验条件如表 1。

Table 1 Setting up conditions of SCF process

Condition of SCF process	Temperature/°C	Pressure/MPa
1	40	25
2	40	15
3	40	20
4	50	20
5	60	20

粉末 X 射线衍射 (powder X-ray diffraction, PXRD) 分析 在鉴别固体分散体时,若有药物晶体,则在衍射图上就有这种药物晶体的衍射特征峰,据此可以定性分析固体分散体中药物的存在状态。PXRD 分析条件为: Cu/石墨靶单色器;管流, 20 mA; 高压强度, 40 kV; 扫描范围, 5°~45°; 步长, 0.04°; 扫描速率, 2θ角 0.04°·s⁻¹。

差示扫描量热 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 固体分散体中若有药物晶体,则有吸热峰存在;药物晶体存在越多,吸热峰总面积越大。DSC 分析条件为: 样品量, 5 mg; 扫描范围, 25~300 °C; 升温速率, 10 °C·min⁻¹; 扫描环境, N₂ 气氛。

表观溶解度测定 含 BUD 10 mg 的过量样品置于 10 mL 具塞离心管中,加去离子水至刻度,超声分散 1 min,恒温摇床振摇 48 h 后,混悬液 15 000 × g 离心 10 min,上清液稀释后,于 240 nm 处测定吸收度,计算 BUD 的表观溶解度。振摇条件: 温度为 25 °C; 振摇频率为 50 次·min⁻¹。

体外溶出实验 精密称定相当于 BUD 9 mg 的样品,置溶出杯中,定时取样 5 mL (同时补入同温溶出介质 5 mL), 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,于 240 nm 处测定吸收度,并计算累积溶出百分率。溶出条件,中国药典 2005 年版二部浆法;溶出介质为 PBS (pH 7.4) 900 mL; 温度为 (37 ± 0.5) °C; 转速为 50 r·min⁻¹。

标准曲线^[7] 精密称定 BUD 5.0 mg 置 50 mL 量瓶中,用乙腈-PBS 缓冲液 (pH 7.4, 1:9) 稀释至刻度,制得 50 μg·mL⁻¹ 的储备液。精密量取储备液,配制成质量浓度为 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 和 20 μg·mL⁻¹ 系列溶液,在 240 nm 处测定吸收度,以吸收度 A 对浓度 C 作线性回归,得标准曲线方程: C = 56.722A - 0.1626, r = 0.9999, 线性范围为 0.5~20 μg·mL⁻¹。0.5, 10, 20 μg·mL⁻¹ 低、中、高 3 种浓度的日内 RSD 分别为: 0.98%, 0.82%, 0.93% (n = 3), 日间 RSD 分别为: 1.87%, 1.62%, 1.96% (n = 3)。称取处方量的 BUD 和 PEO N750 配制 0.54

10.08, 19.94 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3种浓度, 回收率分别为: 99.12%, 99.87%, 100.34% ($n=3$)。

结果与讨论

1 BUD-PEO N750 固体分散体的物相鉴别

1.1 BUD-PEO N750 固体分散体的形态学特征
扫描电镜结果显示, BUD 是一种立方形结晶体, BUD 和 PEO N750 的物理混合物中, BUD 晶体散在 PEO N750 载体中, 未见其形态改变。SCF 过程处理后, BUD 结晶体消失, 仅见单一聚集体存在, 平均粒径 200 μm 。

1.2 PXRD 分析 BUD, PEO N750, BUD 和 PEO N750 物理混合物 (1:5, 1:10 w/w), BUD-PEO N750 (1:5, 1:10 w/w) 固体分散体的 PXRD 分析结果见图 1。

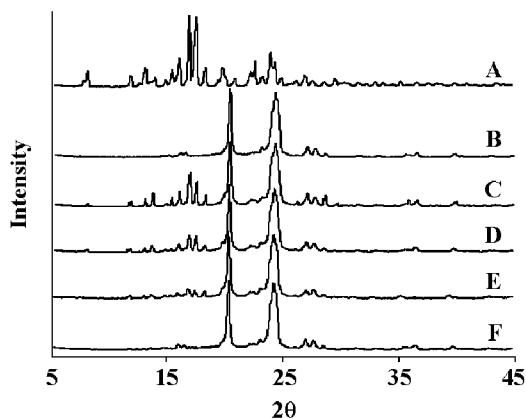


Figure 1 PXRD of BUD-PEO N750 solid dispersions A: BUD; B: PEO N750; C: Physical mixture of BUD and PEO N750 (1:5); D: Physical mixture of BUD and PEO N750 (1:10); E: BUD-PEO N750 (1:5) with SCF process (40 $^{\circ}\text{C}$ and 20 MPa); F: BUD-PEO N750 (1:10) with SCF process (40 $^{\circ}\text{C}$ and 20 MPa)

由图 1 可见, BUD 产生多个特异性结晶峰 (2θ 6.00, 12.00, 14.44, 15.36, 16.00, 18.44, 22.8), PEO N750 也具有明显的结晶峰 (2θ 19.08, 23.24)。BUD-PEO N750 (1:5, 1:10) 物理混合物的结晶峰是两种物质的加和, 随 BUD 在混合物中所占比例的不同, 其峰强度存在不同程度的下降, 但均可见 BUD 的特征峰, 说明 BUD 的晶型未改变, 二者仅为物理混合。SC CO_2 处理后, BUD-PEO N750 (1:5) 固体分散体中载体的特征峰无变化, 但 BUD 的结晶衍射峰明显下降, 说明 BUD 在其中以微晶态存在。BUD-PEO N750 (1:10) 固体分散体中仅出现载体的特征峰, BUD 所有结晶衍射峰消失, 提示 BUD 在

PEO 载体中由晶态完全转变成无定形态。

1.3 DSC 分析 BUD, PEO N750, BUD 和 PEO N750 物理混合物 (1:5, 1:10 w/w), BUD-PEO N750 (1:5, 1:10 w/w) 固体分散体的 DSC 分析结果见图 2。

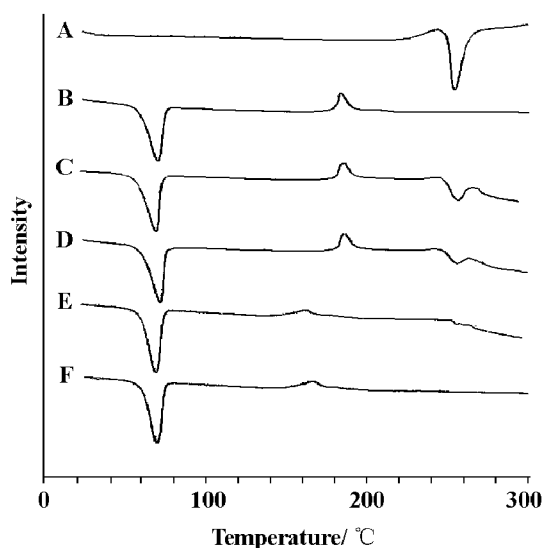


Figure 2 DSC of BUD-PEO N750 solid dispersions A - F: Same as that in Figure 1

DSC 曲线中, BUD 在 258 $^{\circ}\text{C}$ 出现 1 个吸热峰, PEO N750 在 68 $^{\circ}\text{C}$ 和 182 $^{\circ}\text{C}$ 分别出现 1 个吸热峰和 1 个放热峰。BUD-PEO N750 (1:5, 1:10) 物理混合物在对应的峰位处均出现相应的吸热峰和放热峰, 仅在峰强上有所降低。SC CO_2 处理后, BUD-PEO N750 (1:5, 1:10) 固体分散体中 PEO N750 的峰位未变, 但 BUD 的吸热峰明显减小甚至消失, 说明 BUD 在载体中形成无定形态, 进一步验证了 PXRD 的推断。

2 SCF 温度和压力对 BUD-PEO N750 固体分散体的影响

不同温度和压力条件下制备的 BUD-PEO N750 (1:10) 固体分散体的 PXRD 和 DSC 分析结果见图 3 和图 4。

2.1 控制温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 时改变压力制备固体分散体
由图 3 和图 4 可知, 压力为 20 和 25 MPa 时, 均未见 BUD 的衍射结晶峰和吸热峰; 压力为 15 MPa 时, BUD 的衍射特征峰和吸热峰重新出现, 说明在此条件下制备的固体分散体中, BUD 部分以微晶态存在。研究结果表明, 超临界流体的溶解能力主要与密度有关, 且随密度增高而加强。当其他条件不变, 随压力的增高, BUD 在 SC CO_2 中的溶解度增大, 使药物更易以分子状态存在于载体中, 形成无定形态; 压力降低时, BUD 在 SC CO_2 中的溶解度下降, 则易以晶态存在。

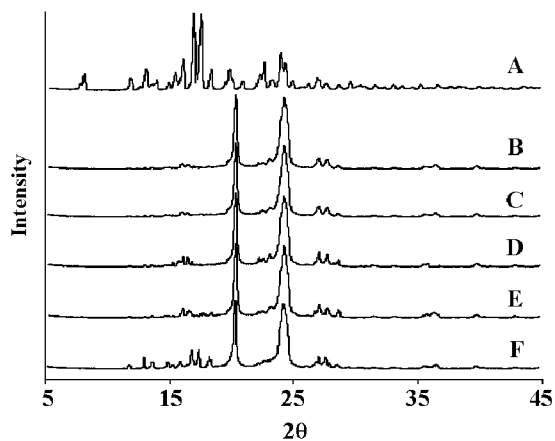


Figure 3 PXRD of BUD-PEO N750 (1:10) solid dispersions in different conditions of SCF process: A: Pure BUD; B: BUD-PEO N750 in 40 °C and 20 MPa; C: BUD-PEO N750 in 40 °C and 25 MPa; D: BUD-PEO N750 in 40 °C and 15 MPa; E: BUD-PEO N750 in 50 °C and 20 MPa; F: BUD-PEO N750 in 60 °C and 20 MPa

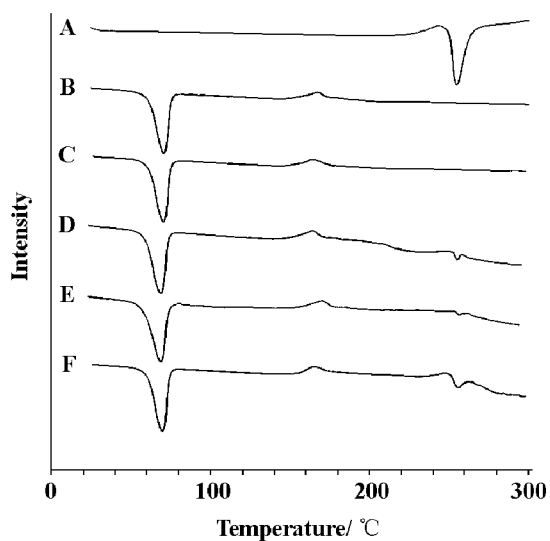


Figure 4 DSC of BUD-PEO N750 (1:10) solid dispersions in different conditions of SCF process: A – E: Same as that in Figure 3

2.2 控制压力为 20 MPa 时改变温度制备固体分散体 由图 3 和图 4 可知, 随制备温度升高 (50 °C, 60 °C), 固体分散体中 BUD 的衍射峰出现并逐渐增强, 并在 256 °C 出现 BUD 的吸热峰。其原因可能是温度越高, SC CO₂ 的密度越低, 溶解能力下降, BUD 在 SC CO₂ 中的溶解度变小, 更容易在固体分散体载体中重新结晶形成晶态。另外, 温度升高还能使形成的小晶核发生团聚, 进一步增大晶体。

结合实际操作条件, 本实验选择如下条件制备固体分散体: 温度为 40 °C; 压力为 20 MPa。

3 BUD-PEO N750 固体分散体中 BUD 的药剂学表征

3.1 表观溶解度 BUD 和 PEO N750 物理混合物 (1:5, 1:10 w/w) 和 BUD-PEO N750 固体分散体 (1:5, 1:10 w/w) 的表观溶解度见表 2。

Table 2 Apparent solubility of BUD ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Condition of preparation	Solid powder	Aqueous solubility / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
	Pure BUD	20.8 \pm 2.5
Physical mixture	BUD-PEO N750 (1:5)	28.5 \pm 2.3
	BUD-PEO N750 (1:10)	37.2 \pm 4.3
SC CO ₂ in 40 °C /20 MPa	BUD-PEO N750 (1:5)	187.2 \pm 35 [*]
	BUD-PEO N750 (1:10)	645.2 \pm 43 ^{*△}
SC CO ₂ in 40 °C /15 MPa	BUD-PEO N750 (1:10)	332.6 \pm 27
SC CO ₂ in 40 °C /25 MPa	BUD-PEO N750 (1:10)	664.3 \pm 38
SC CO ₂ in 50 °C /20 MPa	BUD-PEO N750 (1:10)	387.1 \pm 23
SC CO ₂ in 60 °C /20 MPa	BUD-PEO N750 (1:10)	169.5 \pm 18

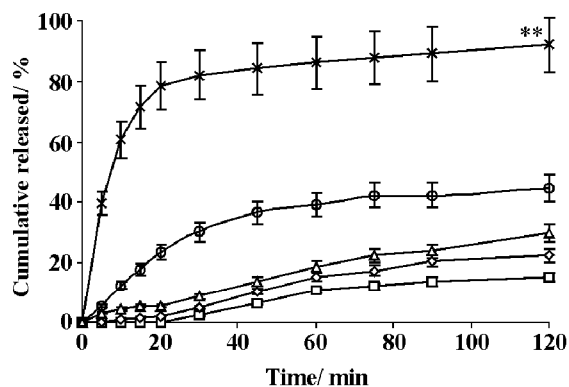
^{*} $P < 0.05$ vs pure BUD; [△] $P < 0.05$ vs BUD-PEO N750 (1:5)

BUD 是一种难溶性药物, 其表观溶解度为 20.8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 将 BUD 与 PEO N750 简单混合并不能改善其溶解度。采用 SC CO₂ 制备 BUD-PEO N750 固体分散体后, BUD 的溶解度显著提高, 且 BUD-PEO N750 (1:10) 中 BUD 的溶解度 (645.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 明显高于 BUD-PEO N750 (1:5) 中 BUD 的溶解度 (187.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) ($P < 0.05$)。对于不同温度条件下制备的固体分散体 (BUD-PEO N750 1:10, 20 MPa), 其中 BUD 溶解度大小顺序为: 40 °C (645.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) > 50 °C (387.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) > 60 °C (169.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。对于不同压力条件下制备的固体分散体 (BUD-PEO N750 1:10, 40 °C), 其中 BUD 溶解度大小顺序为: 25 MPa (664.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) \approx 20 MPa (645.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) > 15 MPa (332.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。药物的溶解度与其分散状态有关, 药物被水溶性载体 PEO 包围, 形成高度分散的无定形状态, 增加了难溶性药物 BUD 的亲水性和可润湿性, 并能防止其再次聚集, 从而显著提高 BUD 的溶解度。

3.2 体外溶出 BUD 和 PEO N750 物理混合物 (1:5, 1:10 w/w), BUD-PEO N750 固体分散体 (1:5, 1:10 w/w) 的体外溶出曲线见图 5 和图 6。

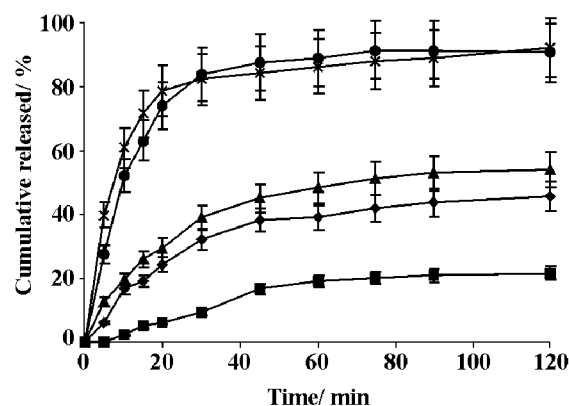
从图 5 可知, 纯药和物理混合物 (1:5, 1:10) 的溶出度之间无显著性差异。固体分散体的溶出速率和累积溶出率均显著高于纯药和物理混合物。120 min 时, 纯药、物理混合物 (1:10) 和固体分散体

(1:10) 的累积溶出率分别为 15.2%, 29.7%, 92.0%。固体分散体中药物的累积溶出率随 PEO 载体量的增大而加快。120 min 时, 1:5 与 1:10 固体分散体的累积溶出率有显著性差异 ($P < 0.01$)。固体分散体显著提高 BUD 体外溶出的原因可能是难溶性药物 BUD 经过固体分散处理后, 与 PEO 载体产生氢键缔合作用, 抑制了晶核的形成和生长, 使 BUD 在载体中以非结晶性无定形态存在, 增加了药物的表面积, 扩大了与溶剂的接触面积, 且随 PEO 载体数量增多, 氢键缔合作用越强, BUD 在固体分散体中的体外释药速率越快。



□—□ Pure drug ◇—◇ Physical mixture (1:5); △—△ Physical mixture (1:10); ○—○ Solid dispersion (1:5); ×—× Solid dispersion (1:10)

Figure 5 Cumulative dissolution profiles of BUD-PEO N750 solid dispersions (40 °C and 20 MPa) ($n = 6$). ** $P < 0.01$ vs solid dispersion (1:5)



×—× 40 °C and 20 MPa ●—● 40 °C and 25 MPa ▲—▲ 40 °C and 15 MPa ◆—◆ 50 °C and 20 MPa ■—■ 60 °C and 20 MPa

Figure 6 Cumulative dissolution profiles of BUD-PEO N750 (1:10) solid dispersions in different conditions of SCF process ($n = 6$)

从图 6 可知, 随压力增加, 固体分散体的累积溶出率增加, 但 20 和 25 MPa 制备的固体分散体之间无显著性差异, 提示压力对增加 BUD 在 SC CO₂ 中

的溶解度有阈值存在。随温度增加, 固体分散体的累积溶出率下降, 且存在显著性差异 ($P < 0.05$), 可能是由于 BUD 在载体中的分散状态, 温度升高使 BUD 从无定形态回复为晶态, 使其溶出度下降。

结论

本文采用 SC CO₂ 制备 BUD-PEO N750 固体分散体, 考察了 BUD/PEO 配比、压力和温度等因素对固体分散体形成的影响。用 PXRD, DSC, 溶解度法和溶出度法等对该体系进行了物相鉴别。结果发现: 40 °C, 20 MPa BUD-PEO N750 1:10 是形成固体分散体的最佳条件。BUD 与 PEO 的氢键缔合作用抑制了 BUD 晶核的形成和生长, 使其以非结晶性无定形态存在于载体 PEO 中, 溶解度和体外溶出速率得以显著提高; 且随 PEO 载体数量增多, 氢键缔合作用增强, BUD 在固体分散体中的体外释药速率加快。超临界流体技术制备固体分散体时, 不需有机溶剂, 条件温和, 可直接制成超细颗粒, 尤其适用于对光、热敏感和易氧化、水解的药物。

References

- [1] Branan E, Khoo C, Taylor LS. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of poorly water-soluble drug [J]. Int J Pharm, 2001, 222: 139-151.
- [2] Li FQ, Hu JH, Wang H, et al. Relativities between lattice changes and the function of dissolution improvement of poorly soluble drug simvastatin based upon PEG 6000 solid dispersion system [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2002, 37: 294-298.
- [3] Van Nijlen T, Brennan K, Van den Mooter G, et al. Improvement of the dissolution rate of artemisinin by means of supercritical fluid technology and solid dispersions [J]. Int J Pharm, 2003, 254: 173-181.
- [4] Sencar-Božić P, Srećić S, Knežević Ž, et al. Improvement of nifedipine dissolution characteristics using supercritical CO₂ [J]. Int J Pharm, 1997, 148: 123-130.
- [5] Sethia S, Squillante E. Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods [J]. Int J Pharm, 2004, 272: 1-10.
- [6] Edward JOC. Review of the unique properties of budesonide [J]. Clin Ther, 2003, 25: C42-C60.
- [7] Cui JH, Yan YD, Guo JP, et al. Studies on the preparation and release *in vitro* of budesonide pulsatile controlled release tablet of colon-specific delivery [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药学报), 2004, 6: 418-421.