草胡椒素 B 固体分散体的制备及其性质研究

李桂秀[1,2]，林梦感[1]，杨国红[1*]，杨义芳[1]，秦雪梅[2]

1. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室，上海 200040
2. 山西大学 中医药现代研究中心，山西 太原 030006

摘 要：目的 将草胡椒素 B（PB）制成固体分散体，改善 PB 的溶解度。**方法** 分别以聚乙烯吡咯烷酮（PVP）、聚乙二醇 4000（PEG 4000）和泊洛沙姆 188（F68）为载体，采用溶剂法或溶剂-熔融法制备 PB 固体分散体，并进行饱和溶解度和体外溶出度试验；利用差热分析（DSC）、电镜扫描（SEM）和红外光谱（IR）研究固体分散体的性质。**结果** 以 PVP 为载体制备的 PB 固体分散体的溶解度和体外溶出度优于 PEG 4000 和 F68，且以 PB-PVP 质量比 1∶6 为最佳。**结论** 以 PVP 为载体制备固体分散体能显著增加 PB 的溶解度，且以过饱和的固态溶液或无定型状态均匀分布在载体中。

关键词：草胡椒素 B；固体分散体；溶解度；溶出度；溶剂-熔融法

中图分类号：R283.6 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2012)12 - 2401 - 05

Preparation of peperomin B solid dispersion and its properties

LI Gui-xiu[1,2], LIN Meng-gan[1], YANG Guo-hong[1], YANG Yi-fang[1], QIN Xue-mei[2]

1. State Key Laboratory of New Drug & Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China
2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To prepare peperomin B (PB) solid dispersion and to improve the dissolution of PB. **Methods** The solid dispersion of PB was prepared by the dissolved or solvent-melting methods with PVP, PEG 4000, and Poloxamer 188 (F68) as carriers, respectively. The equilibrium solubility and dissolution characteristics of the solid dispersion *in vitro* were measured by HPLC. Properties of the solid dispersion were studied by DSC, SEM, and IR. **Results** The solid dispersion of PB with PVP as the carrier was better to improve the dissolution and solubility than those with PEG 4000 and F68, and PB-PVP (1∶6) was the best. **Conclusion** The PB solid dispersion with PVP as the carrier could significantly improve the solubility of PB, and is evenly distributed in the carrier in supersaturated solid solution or amorphous state.

Key words: peperomin B (PB); solid dispersion; solubility; dissolution; solvent-melting method

草胡椒素 B（peperomin B，PB）是存在于草胡椒属 *Peperomia* Ruiz et Pav. 植物中的一种专属性成分。本课题组采用人脐静脉内皮细胞小管生成抑制试验首次发现 PB 在 3～24 μmol/L 时可不同程度地抑制小管形成[1]。PB 还具有强化钙在 MDR 2780 卵巢癌细胞中的累积作用[2]，抑制 VA-13 肺癌细胞[2]、HIV-1 病毒感染的 C8166 T 淋巴细胞[3]、A549 肺癌细胞[4]和 Lovo 结肠癌细胞[4]等作用，因此拟将 PB 开发为中药一类新药肿瘤血管生成抑制剂。但在进一步的制剂研究中发现，PB 在水中的溶解度小，导致其体外溶出速率低，口服生物利用度低。

固体分散技术是将难溶性药物高度分散在另一种固体载体中的技术，可以显著增加药物分散度、溶解度、溶出速率，提高药物生物利用度[5-9]。因此，为了提高 PB 在水中的溶解度和溶出速率，本实验首次将 PB 与聚乙烯吡咯烷酮（PVP）、聚乙二醇 4000（PEG 4000）、泊洛沙姆 188（F68）分别制成固体分散体，考察其体外溶出速率，并采用差示扫描量热

收稿日期：2012-04-17

基金项目：国家自然科学基金资助项目（30901852）；国家“重大新药创制”科技重大专项（2009ZX09301-007）；上海市青年科技启明星计划项目（10QB1404000）

作者简介：李桂秀（1988—），女，硕士，研究方向为中药质量标准及工艺的研究。Tel: (021)69177770-8095 E-mail: L516514038@126.com

***通讯作者** 杨国红 Tel: (021)69177770-8083 E-mail: ghyang@yahoo.cn

网络出版时间：2012-09-20 网络出版地址：http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120920.1557.001.html

（DSC）法、扫描电镜（SEM）和红外光谱（IR）鉴别药物在固体分散体中存在的状态，为 PB 制剂的开发提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；DZF—6050 真空干燥箱（上海一恒科学仪器有限公司）；ZRS—8G 智能溶出试验仪（天津大学无线电厂）；204 F1 差示扫描量热分析仪（德国 Netzsch 公司）；JSM—6360LV 扫描电镜（日本 JEOL 公司）；Nicolet 6700 傅里叶红外光谱仪（美国 Nicolet 公司）。

原料药 PB（本课题组分离纯化，采用 NMR 和 ESI-MS 鉴定结构，HPLC 测定其质量分数＞94%）；PB 对照品（本课题组自制，HPLC 面积归一化法定量分析质量分数大于 98%）；F68、PEG 4000（南京威尔化工有限公司）；PVP（上海维酮材料科技有限公司）；乙腈为色谱纯（Merck 公司）；双蒸水（自制）；其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 PB-PVP 固体分散体的制备 采用溶剂法制备[6]。将 PB 原料药和载体 PVP 按 1∶2、1∶4、1∶6、1∶8、1∶10 的质量比分别放入烧杯中，加入无水乙醇适量，超声至 PB 和载体完全溶解，80 ℃水浴加热，并在剧烈搅拌下快速挥去溶剂，将其于−20 ℃迅速冷冻固化，隔夜后置于真空干燥箱中，干燥 12 h 后粉碎，过 60 目筛，制得 PB 与 PVP 不同比例的固体分散体，备用。

2.1.2 PB-PEG 4000 和 PB-F68 固体分散体的制备 采用溶剂-熔融法制备[6]。将 PB 溶于适量无水乙醇中，再按 PB 与载体质量比 1∶4、1∶6、1∶8 分别称取载体 PEG 4000 或 F68 放入烧杯中，置于 80 ℃水浴上加热并剧烈搅拌使之熔融均匀，于恒温下将 PB 溶液加入熔融载体中继续搅拌，直至蒸干溶剂，将其于−20 ℃迅速冷冻固化，隔夜后置于真空干燥箱中，干燥 12 h 后粉碎，过 60 目筛，制得 PB 与 PEG 4000 或 F68 不同比例的固体分散体，备用。

2.1.3 物理混合物的制备 将 PB 与载体 PVP、PEG 4000、F68 分别按质量比 1∶6 于研钵中研细，混匀后过 60 目筛，即得，备用。

2.2 PB 的定量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性实验 采用 Dikma Diamonsil C_{18} 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；以乙腈-水（55∶45）为流动相，体积流量 1.0 mL/min；检测波长 210 nm；柱温 30.0 ℃；进样量 20 μL。理论塔板数按 PB 峰计算不低于 5 000，PB 与载体色谱峰分离度大于 1.5。

2.2.2 线性关系考察 精密称取 PB 对照品 3.00 mg，置于 50 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，即得 60 μg/mL 储备液。将其分别稀释成 1.2、6.0、12.0、30.0、60.0 μg/mL 系列 PB 对照品溶液，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过后，分别吸取 20 μL 进样，照“2.2.1”项下色谱条件进行测定，记录峰面积。以 PB 对照品溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积积分值为纵坐标（Y）进行线性回归，得回归方程 Y＝162 361 X＋84 423，r＝0.999 6，表明 PB 在 1.2～60.0 μg/mL 线性关系良好。

2.2.3 稳定性试验 分别精密称取 4.00 mg PB-PVP（1∶6）、PB-PEG 4000（1∶6）和 PB-F68（1∶6）固体分散体，置于 100 mL 量瓶中，甲醇定容，照“2.2.1”项下色谱条件，分别于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样测定，记录峰面积。结果 PB-PVP、PB-PEG 4000 和 PB-F68 固体分散体的 RSD 分别为 0.33%、0.17%、0.56%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.4 精密度试验 取 PB 对照品溶液（30 μg/mL），重复进样 6 次，计算得峰面积的 RSD 为 0.21%。

2.2.5 重复性试验 照“2.1.1”和“2.1.2”项下方法，分别制备 PB-PVP（1∶6）、PB-PEG 4000（1∶6）和 PB-F68（1∶6）固体分散体各 6 份，置于 100 mL 量瓶中，甲醇定容，照“2.2.1”项下色谱条件，进样测定，记录峰面积。结果 PB-PVP、PB-PEG 4000 和 PB-F68 固体分散体的 RSD 分别为 0.98%、1.23%、1.15%。

2.2.6 加样回收率试验 分别精密称取 PB-PVP（1∶6）、PB-PEG 4000（1∶6）和 PB-F68（1∶6）固体分散体约 3.50 mg，各 9 份，置于 25 mL 量瓶中，分别平均分为 3 组，每组分别加入 PB 对照品溶液（40 μg/mL）3.0、2.5、2.0 mL，加甲醇定容，制成高、中、低质量浓度的供试品溶液，各进样 20 μL，测定 PB 峰面积。结果 PB-PVP（1∶6）、PB-PEG 4000（1∶6）和 PB-F68（1∶6）的平均回收率分别为 98.65%、99.02%、97.96%，RSD 分别为 2.56%、2.21%、2.69%，表明本方法回收率良好，不受载体的干扰。

2.3 溶解度的测定

取 PB 与不同载体的固体分散体和物理混合物

加入装有 3 mL 水的试管中，超声 30 min 以利于溶解，使其成过饱和状态，然后在 37 ℃水浴中平衡 24 h 后取出，8 000 r/min 离心 15 min，取上清液，0.45 μm 微孔滤膜滤过，分别精密吸取 20 μL 进样，照“2.2.1”项下色谱条件进行测定，计算不同样品在水中 37 ℃时的溶解度，结果见表 1。可以看出，PB 原料药在水中的溶解度很低，而不同载体的固体分散体和混合物的溶解度均有显著提高，其中以 PVP 为载体的固体分散体（1∶6）效果最佳，约是 PB 原料药溶解度的 18 倍。

表 1 样品的溶解度

Table 1 Solubility of sample

样 品	质量比	溶解度 / (μg·mL^{-1})
PB	—	2.14
PB-PVP	1∶4	33.62
	1∶6	38.22
	1∶8	36.57
PB-PEG 4000	1∶4	20.54
	1∶6	20.76
	1∶8	25.70
PB-F68	1∶4	21.10
	1∶6	33.11
	1∶8	34.66
PB-PVP 混合物	1∶6	21.99
PB-PEG 4000 混合物	1∶6	17.22
PB-F68 混合物	1∶6	24.71

2.4 体外溶出度的测定

参照《中国药典》2010 年版附录溶出度测定法中的桨法[10]。分别称取 PB 原料药及其混合物、固体分散体适量（相当于 PB 3 mg），置溶出杯中，溶出介质为蒸馏水，体积为 500 mL，转速 60 r/min，水浴温度为（37±0.5）℃。自样品粉末接触介质开始计时，分别于 2.5、5、10、15、30、45、60 min 取样 2 mL，同时补充同体积同温度的新鲜溶出介质；样品液过 0.45 μm 微孔滤膜，分别吸取 20 μL 进样，照“2.2.1”项下色谱条件进行测定，用外标法计算 PB 的质量浓度，并换算成累积溶出率。

2.5 载体材料的选择

溶出度结果（图 1）显示，以 PVP、PEG 4000 和 F68 为载体将 PB 制成的固体分散体较原料药溶出度均有显著提高，而且在 10 min 时 3 种固体分散体的溶出度基本达到最大，说明本实验制备的固体分散体不仅提高了 PB 的溶出度，而且还提高了其溶解速率。其中以 PVP 为载体制得的固体分散体（1∶6）中 PB 的溶出速率最大，10 min 内累积溶出率达 75%，显著高于 PEG 4000 和 F68 为载体制得的固体分散体，故选择 PVP 为载体制备 PB 固体分散体。

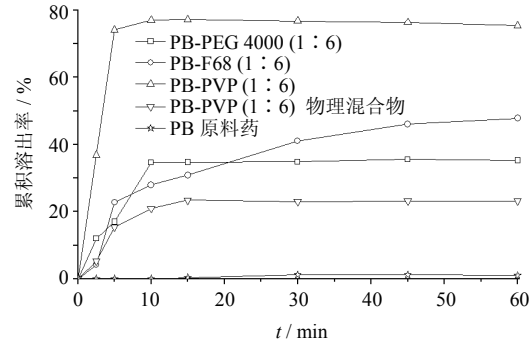

图 1 不同载体固体分散体的溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves of solid dispersion with different carriers

2.6 载体比例的选择

分别对 PB 和 PVP 不同比例（1∶2、1∶4、1∶6、1∶8、1∶10）的固体分散体进行溶出度试验，考察不同比例的载体对体外溶出度的影响，结果见图 2。随着载体比例的增加，PB 的溶出度逐渐增大，当 PB 和 PVP 比例增加到 1∶6 时，溶出度达到最大值，因此选择 PB 和 PVP 质量比为 1∶6 制备固体分散体。

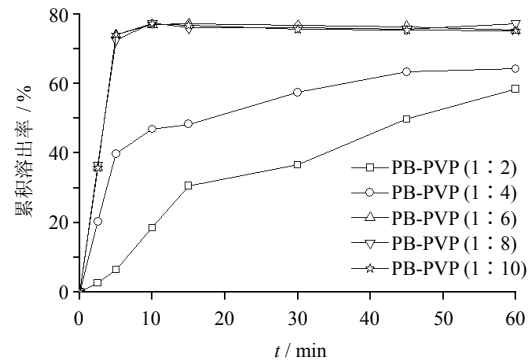

图 2 PB 与 PVP 不同比例固体分散体的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of solid dispersion in different ratios of PB and PVP

2.7 固体分散体的物相分析

2.7.1 红外光谱（IR）检测 采用 KBr 压片，在 500～4 000 cm^{-1} 进行 IR 光谱测定，结果见图 3。由图 3-A 可知，1 768 cm^{-1} 提示具有 γ-丁内酯的存在，1 590、1 512、1 470 cm^{-1} 提示具有多取代芳环，数

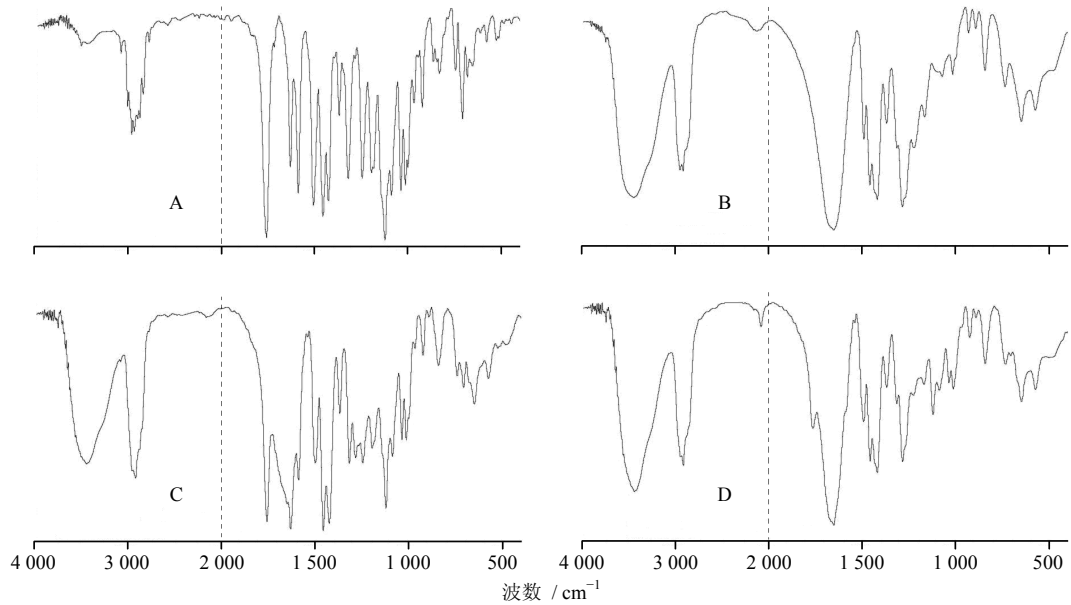

图 3 PB (A)、PVP (B)、PB-PVP (1∶6) 物理混合物 (C) 和 PB-PVP (1∶6) 固体分散体 (D) 的 IR 光谱图

Fig. 3 IR spectra of PB (A), PVP (B), PB-PVP (1∶6) physical mixture (C), and PB-PVP (1∶6) solid dispersion (D)

据与参考文献基本一致[11]；图 3-B 为 PVP 的 IR 光谱图，3 460、1 660 cm^{-1} 提示具有吡咯烷酮存在；图 3-C 为 PB-PVP 混合物的 IR 光谱图，可以看出其为 PB 和 PVP 载体的叠加；由图 3-D 可知，PB 结构中的 γ-丁内酯的吸收峰的强度明显降低，且 IR 图谱与 PVP 载体的图谱相似，分析原因可能是固体分散体中 PVP 占得比例较大。由此表明形成了 PB-PVP 固体分散体。

2.7.2 差示扫描量热法（DSC）分析 分别测定 PB 原料药、PVP 载体、PB-PVP（1∶6）固体分散体及物理混合物的 DSC 曲线。工作条件：以空坩埚为参比，气氛为 N_2，升温速率为 10 ℃/min，扫描范围为 30～300 ℃，结果见图 4。可以看出 PB 原料药在 136.2 ℃有 1 个吸收峰，是 PB 的熔融峰；PVP 在 86.4 ℃有 1 个较宽的吸热峰；PB-PVP（1∶6）混合物的 DSC 图中可以明显地看到 PB 的熔融峰和 PVP 的吸热峰，说明混合物中两者没有发生相互作用；而在 PB-PVP（1∶6）固体分散体的 DSC 图中，PB 在 136.2 ℃的熔融峰消失，说明其与 PVP 发生了相互作用，形成了过饱和的固态溶液或非结晶的无定形物[12]。

2.7.3 扫描电镜（SME）检测 JSM-6360LV 扫描电镜，高压 15.0 kV，把 PB 原料药、PVP 载体、PB-PVP（1∶6）固体分散体及物理混合物分别均匀干撒于贴有导电胶带样品座上，喷金约 1.5 min，用洁净的镊子取出，置于电镜测试仪器内，打开计算机

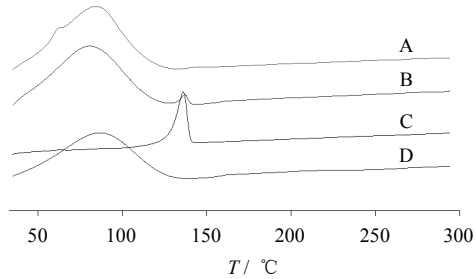

图 4 PB-PVP (1∶6) 固体分散体 (A)、PB-PVP (1∶6) 物理混合物 (B)、PB (C) 和 PVP 载体 (D) 的 DSC 图

Fig. 4 DSC of PB-PVP (1∶6) solid dispersion (A), PB-PVP (1∶6) physical mixture (B), PB (C), and PVP (D) carriers

程序进行测试，结果见图 5。PB 原料药为细小的结晶状（图 5-A），而 PVP 为光滑的圆球状（图 5-B）；在 PB-PVP 物理混合物（图 5-C）中，PB 原料药粉末分布在 PVP 表面；而在 PB-PVP 固体分散体（图 5-D）中，PVP 圆球状颗粒和 PB 原料药细小的结晶消失，变成了均匀的粉末状，说明在固体分散体中，PB 均匀分布在了 PVP 中。

3 讨论

结合 DSC 和 SEM 结果，可以推测出 PB-PVP 固体分散体中溶解度增加主要是以下原因：首先固体分散体中的 PB 以过饱和的固态溶液或无定形形式存在，这样大大增加了其溶解时的表面积；其次 PVP 具有增加溶出的作用[8]；且在固体分散体中的 PB 处于高能态，极易向稳定的结晶态聚集，而 PVP

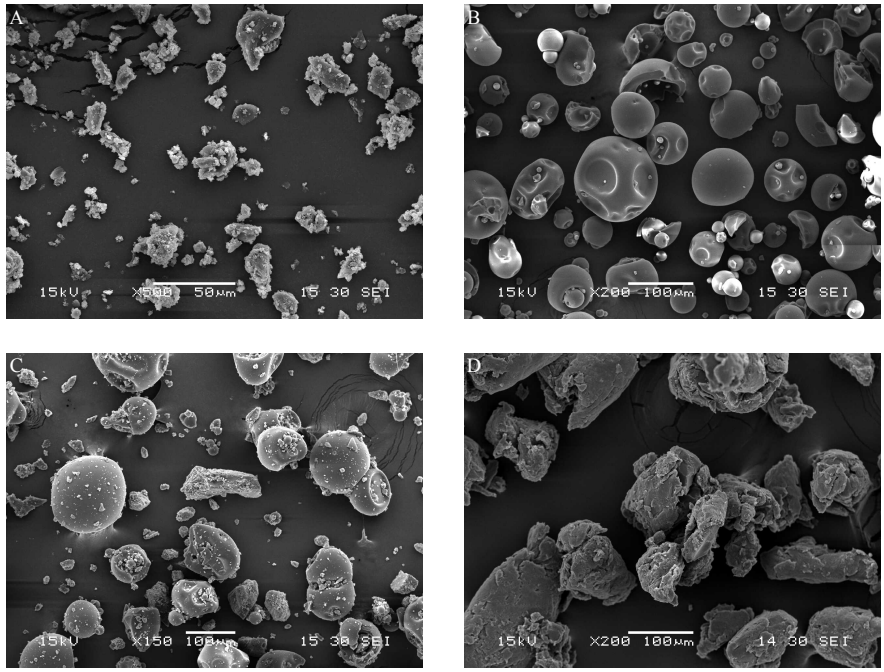

图 5 PB (A)、PVP (B)、PB-PVP (1∶6) 物理混合物 (C) 和 PB-PVP (1∶6) 固体分散体 (D) 的 SEM 图

Fig. 5 SEM of PB (A), PVP (B), PB-PVP (1∶6) physical mixture (C), and PB-PVP (1∶6) solid dispersion (D)

的围绕可有效防止这种积聚；另外在溶液中，由于 PB 在 PVP 中的浓度远远高于 PB 的溶解度，即溶液中的 PB 可维持过饱和状态。

药物从口服固体制剂中释放和溶出是被人体吸收和利用的前提，药物溶于被吸收部位的体液的速度影响其吸收速度；而吸收的速度会影响药物进入靶器官组织的速度和被靶器官所利用的程度。因此溶出速度与生物利用度有一定的相关性[13]。本课题组把溶解度小的 PB 制成固体分散体，提高其溶出度，可以在一定程度上提高 PB 的生物利用度。

参考文献

[1] 王奇巍. PDM 的化学成分及其抑制血管生成活性研究 [D]. 上海: 上海医药工业研究院, 2010.

[2] Wu J L, Li N, Haseqawa T, *et al*. Bioactive secolignans from *Peperomia dindygulensis* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(5): 790-794.

[3] Zhang G L, Li N, Wang Y H, *et al*. Bioactive lignans from *Peperomia heyneana* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(4): 662-664.

[4] 陈 立, 董俊兴. 石蝉草化学成分及抗肿瘤活性的研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2007.

[5] Urbanetz N A, Lippold B C. Solid dispersions of nimodipine and polyethylene glycol 2000: dissolution properties and physico-chemical characterization [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59(1): 107-118.

[6] 韩 刚, 阎林奇, 索 炜, 等. 大黄素固体分散体的制备及其溶出度的测定 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 487-490.

[7] 孙考祥, 吕会芳, 梁容才, 等. 人参皂苷 Rg_3 固体分散体的制备及体外特性研究 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 48-50.

[8] 朱亚丽. 固体分散体的释药机制及其质量控制的研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(5): 143-144.

[9] 陈 超, 周福军, 刘时乔, 等. 固体分散技术在中药制剂中的应用 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(4): 279-282.

[10] 中国药典 [S]. 二部. 2010.

[11] Chen C M, Jan F Y, Chen M T, *et al*. Peperomins A, B, and C, novel secolignans from *Peperomia japonica* [J]. *Hetrocycles*, 1989, 29(3): 411-414.

[12] 李 标. 固体分散体在药剂学中的应用 [J]. 中国药房, 2009, 20(10): 790-792.

[13] 王西林. 口服固体制剂溶出度和人体生物利用度的相关性 [J]. 天津药学, 1997, 9(1): 34-35.