

水蜈蚣总黄酮固体分散体的制备及其性质研究

孙彩霞, 尹蓉莉*, 赵俊霞, 苏建春, 甘林建, 余泉毅

成都中医药大学, 四川 成都 611137

摘要: 目的 制备水蜈蚣 *Kyllinga brevifolia* 总黄酮固体分散体, 以提高其体外溶出率。方法 分别以聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30)、聚乙二醇 (PEG) 6000、PEG 4000、泊洛沙姆 188 (F68) 为载体, 采用溶剂法或溶剂熔融法制备固体分散体, 考察其体外释药性能, 并利用扫描电子显微镜 (SEM)、红外光谱 (IR) 等表征手段对固体分散体的结构特征进行分析研究。结果 以 PVP K30 为载体制备的固体分散体的体外溶出率优于其他载体制备的固体分散体, 且以药物-载体比例 1:2 为最佳。SEM 与 IR 结果表明, 固体分散体中药物以无定形形式存在于载体中。结论 固体分散体技术能显著提高水蜈蚣总黄酮的体外溶出度。

关键词: 水蜈蚣总黄酮; 固体分散体; 溶出度; 扫描电子显微镜; 红外光谱

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)14-2018-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.14.011

Paparation of solid dispersion of *Kyllinga brevifolia* total flavonols and its properties

SUN Cai-xia, YIN Rong-li, ZHAO Jun-xia, SU Jian-chun, GAN Lin-jian, YU Quan-yi

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To prepare the solid dispersion of *Kyllinga brevifolia* total flavonols (KBTF) for improving the dissolution rate of KBTF. **Methods** The solid dispersion was prepared by the melted and dissolved method with the carriers of PVP K30, PEG 6000, PEG 4000, and Poloxamer 188 and the *in vitro* dissolution of KBTF solid dispersions was performed. The structure of the solid dispersion was characterized by SEM and IR. **Results** The solid dispersion prepared with PVPK30 as carrier is better to improve the dissolution than those with other carriers, and drug-carrier (1:2) is the best. The results of SEM and IR showed that KBTF in solid dispersion took amorphous form. **Conclusion** The solid dispersion technology can significantly increase the dissolution of KBTF *in vitro*.

Key words: *Kyllinga brevifolia* total flavonols; solid dispersion; dissolution; SEM; IR

水蜈蚣 *Kyllinga brevifolia* Rottb. 系莎草科多年生草本植物水蜈蚣的全草, 其味辛、微苦、甘, 性平, 具有消肿、消炎、止痛、治疗乳糜尿等功效。近年研究发现水蜈蚣全草中不仅含挥发油、有机酸、酚性等成分, 还含有黄酮类化合物^[1]。临床上使用的水蜈蚣颗粒是水蜈蚣的单味药提取精制而成的制剂, 主要有效成分为总黄酮, 用于治疗乳糜尿^[2]。水蜈蚣总黄酮 (*Kyllinga brevifolia* total flavonols, KBTF) 在水中的溶解度差, 导致其体外溶出速率小, 口服生物利用度低。

固体分散技术是指制备制剂时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^[3]。因此, 为了提高 KBTF 在水中的溶解度和溶出速率, 本实验首次将 KBTF 与聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30)、聚乙二醇 (PEG) 4000、PEG 6000、泊洛沙姆 188 (F68) 分别制成固体分散体, 考察其体外溶出速率, 并采用扫描电子显微镜 (SEM) 和红外光谱 (IR) 鉴别药物在固体分散体中存在的状态, 为进一步制备理想的 KBTF 制剂奠定基础。

收稿日期: 2014-01-10

基金项目: 国家“重大新药创制”科技专项 (2009zx09103-355, 2012zx09102201-006)

作者简介: 孙彩霞 (1987—), 女, 硕士研究生, 主要从事药物新剂型、新技术方向的研究。Tel: 18780296624 E-mail: cdzyydx4524@163.com

*通信作者 尹蓉莉 (1952—), 教授, 博士生导师, 主要从事药物新制剂、新剂型、新技术的研究。

Tel: 13689056666 E-mail: yinronglili@163.com

1 仪器与材料

UV—1102 型紫外分光光度计, 上海天美科学仪器有限公司; FESEM—SIRINO—100 扫描电镜, 美国 FEI 公司; 能谱型号: GENESIS400, 美国 EDAX 公司; 红外光谱仪 Spectrum one, 美国 PerkinElmer 公司; ZRS—8G 型智能溶试验仪, 天津天大天发科技有限公司; 79HW—1 型恒温磁力搅拌器, 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂; DGG—9240 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海森信实验仪器有限公司。

芦丁对照品, 中国食品药品检定研究院, 批号 100080-200707; KBTF 提取物, UV 法测得质量分数 $\geq 85\%$ (以芦丁计), 南京泽朗医药科技有限公司; PEG 6000、PEG 4000、PVP K30、F68, 均购自成都市科龙化工试剂厂; 水为脱气蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 KBTF 的定量测定

2.1.1 最大吸收波长的选择 分别精确称取芦丁、KBTF 提取物适量, 溶于 50%乙醇溶液中, 配成一定质量浓度, 分别加入 5%亚硝酸钠 0.8 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 10%硝酸铝 0.8 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加入 4%氢氧化钠 10 mL, 50%乙醇定容摇匀, 放置 15 min, 以空白试剂为参比, 在 400~800 nm 进行扫描。结果对照品溶液和样品溶液均在 507 nm 处有最大吸收峰, 此外, 同样使用 50%乙醇制备 4 种载体溶液, 并对其进行紫外扫描, 在 507 nm 处 4 种载体对 KBTF 中黄酮的测定均无干扰, 因此, 选择 507 nm 作为测定波长。

2.1.2 标准曲线的绘制 准确吸取芦丁对照液 (0.2 mg/mL) 1、2、3、4、5、6 mL 于 25 mL 量瓶中, 分别加入 5%亚硝酸钠 0.8 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 10%硝酸铝 0.8 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加入 4%氢氧化钠 10 mL, 50%乙醇定容摇匀, 放置 15 min, 以试剂空白为参比, 在 507 nm 处测定吸光度 (A) 值, 以芦丁质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线进行线性回归, 得回归方程 $Y=11.568X-0.0006$, $r=0.9998$ 。结果表明芦丁在 8~48 $\mu\text{g/mL}$ 与 A 值呈现良好线性关系。

2.2 溶剂的选择

经预试验发现, KBTF 在无水乙醇中的溶解度可达 69 g/L, PEG 4000、PEG 6000、F68、PVP K30 易溶于无水乙醇, 且无水乙醇毒性很小, 故本实验选用无水乙醇作为制备固体分散体的溶剂。

2.3 固体分散体的制备

2.3.1 溶剂法制备固体分散体^[4] 称取处方量的主药与载体 PVP K30, 分别用适量无水乙醇溶解后, 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上搅拌, 混合均匀, 待混合物至澄清状态后, 旋转蒸发除去无水乙醇, 并将所得产物置干燥器中平衡数日, 粉碎, 过 80 目筛, 即得 KBTF PVP K30 固体分散体, 置干燥器中备用。

2.3.2 溶剂-熔融法制备固体分散体^[5] 分别称取处方量的主药和 PEG 6000、PEG 4000、F68, 主药用适量的无水乙醇溶解, 载体置蒸发皿中在 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上熔融后, 将主药缓慢加入载体中, 边加边搅拌, 使其混合均匀, 在 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上剧烈搅拌使有机溶剂挥发除去, 待混合物至黏稠状态且没有乙醇味时转入冰浴中, 剧烈搅拌至完全固化。放入冰箱冷却 12 h, 置干燥器中干燥数日, 粉碎, 过 80 目筛, 备用。

2.4 溶出度测定

按照《中国药典》2010 年版二部附录 XC 溶出度测定法第二法 (桨法) 进行测定^[6], 设定转速为 (100 ± 1) r/min, 水浴温度 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 溶出介质脱气纯化水 900 mL。分别精密称取 KBTF 提取物、固体分散体适量 (约相当于 KBTF 100 mg), 自药物粉末接触溶出介质开始计时, 分别于 5、10、15、30、45、60、90、120 min 取样 5 mL, 同时补充等体积同温溶出介质, 立即用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 于 507 nm 处测定 A 值, 计算样品在不同时间的累积溶出率。

2.5 不同载体考察

分别以 PEG 6000、F68、PEG 4000、PVP K30 为载体, 以药物-载体比例 1:2 制备 KBTF 固体分散体, 测体外溶出度, 结果见图 1。可知, KBTF 2 h 累积溶出率为 27%, PVP K30、PEG 6000、F68、PEG 4000 固体分散体累积溶出率全部达到 85%以上, 可见载体的加入极大地改善了 KBTF 的溶出行为, 且以 PVP K30 为载体制备的固体分散体的体外溶出优于其他载体制备的固体分散体, 故选择 PVP K30 作为制备固体分散体的载体材料。

2.6 药物-载体比例考察

以 PVP K30 为载体, 分别制备 KBTF 固体分散载体 1:1、1:2、1:3、1:4 的固体分散体, 考察其体外溶出度, 见图 2。结果表明, 药物-载体比从 1:1 到 1:2, 随着载体比例的增加, KBTF 的溶出度逐渐增大, 但固体分散体在药物-载体比例为 1:

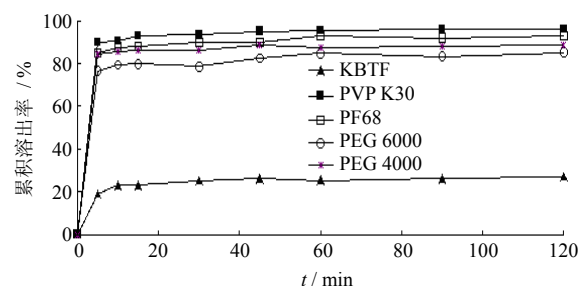


图1 不同载体的 KBTF 固体分散体的溶出曲线图

Fig. 1 Dissolution curves of solid dispersions with different carriers

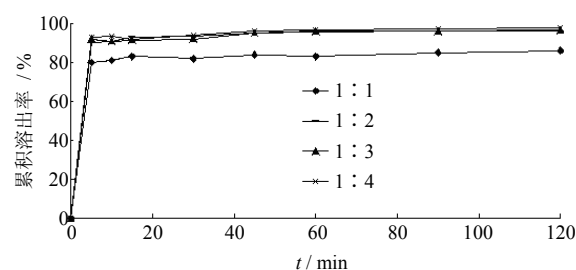


图2 PVP K30 不同载药比固体分散体体外溶出度曲线

Fig. 2 Dissolution curves of solid dispersions with different drug/PVPK30

2、1:3 与 1:4 时溶出度比较无明显差异, 从经济角度考虑, 宜选择药物与载体比例为 1:2。

2.7 固体分散体的物相鉴别

2.7.1 SEM 观察 取 KBTF 固体分散体、原料药, 用导电胶带黏结固定后喷金, 并固定在样品台上, 对准架台的槽沟送入到停止点为止, 抽真空在 20 kV 电压下观察外观形态。从 SEM 图 (图 3) 中可以看到, 原料药与固体分散体的表面结构完全不同。原料药以大小不一的药物晶体存在, 而固体分散体中已经没有晶体存在, 药物以无定形的形式均匀地分散在载体中, 这表明原料药与载体之间存在着一定的相互作用, 导致药物晶型消失。此外, 固体分散体的表面分布很多小孔, 分析原因在在溶剂法制备固体分散体的时候, 由于乙醇的蒸发造成的。这些微孔的存在, 增加了固体分散体的表面积, 也有利于药物的溶出。

2.7.2 IR 分析 取原料药、PVP K30、物理混合物、固体分散体样品进行 IR 测定, 测试条件: 扫描波数范围 $400 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$, 扫描次数 32, KBr 压片。由图 4 可见, KBTF 原料药图谱中, 在 $3\,411\text{ cm}^{-1}$ 处呈现 O-H 的伸缩振动峰, $1\,655\text{ cm}^{-1}$ 处呈现 C=O 伸缩振动峰, PVP K30 图谱中, 在 $3\,453\text{ cm}^{-1}$ 处有 O-H 伸缩振动产生的吸收峰, 在 $1\,662\text{ cm}^{-1}$ 处有

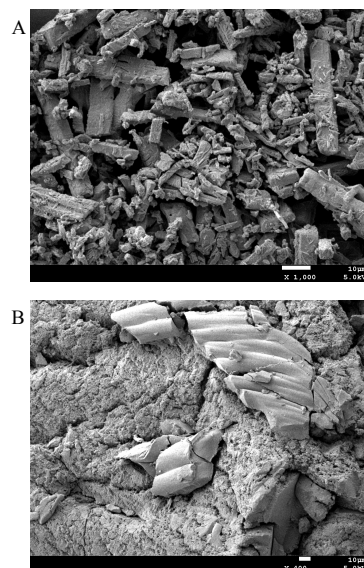


图3 原料药 (A) 与固体分散体 (B) 的 SEM 照片

Fig. 3 SEM photos of crude drug (A) and solid dispersion (B)

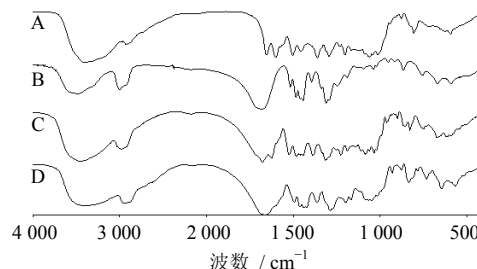


图4 KBTF (A)、PVP K30 (B)、物理混合物 (C) 和固体分散体 (D) 的 IR 谱图

Fig. 4 IR spectra of KBTF (A), PVP K30 (B), physical mixture (C), and solid dispersions (D)

C=O 伸缩振动产生的吸收峰。在物理混合物中, 羧基和羰基伸缩振动峰清晰可辨, 表明二者并未发生相互作用, 其图谱只是原料药与 PVP K30 图谱的简单叠加。固体分散体图谱中, 在固体分散体中, O-H 伸缩振动吸收峰由原药 $3\,411\text{ cm}^{-1}$ 移动到 $3\,400\text{ cm}^{-1}$, 吸收峰变宽变钝, $1\,601\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰消失, 故可以推断固体分散体中原料药与 PVP K30 之间发生了氢键效应, 使特征结构消失, 对应图谱发生改变。

3 讨论

溶出度实验显示, 载体材料种类及药物载体比例对 KBTF 的溶出具有不同的影响, 以 PVP K30 为载体制备的固体分散体的体外溶出度优于其他载体固体分散体。PVP K30 的熔点较高, 能溶于水及多种有机溶剂。故宜用溶剂法制备同体分散体, 而不用熔融法制备。

结合 SEM 和 IR 结果,可以推测出 KBTF 固体分散体中溶解度增加可能是以下原因: PVP K30 为无定形高分子聚合物,在溶液中呈网状结构,在与药物共蒸发溶剂时,由于氢键作用(药物分子沿着 PVP 链,以氢键形式与 PVP K30 相结合)或络合作用及在固化时黏度较大,阻滞了 KBTF 聚集结晶,使药物形成具有较高能量的非结晶型无定形物,增加了药物在溶出介质中的释放速率;对于难溶性药物而言,利用水溶性载体制备的固体分散物,不仅可以保持药物的高度分散状态,而且对药物具有良好的润湿性。这在提高药物溶解度,加快药物溶出速度,提高药物的生物利用度方面具有重要的意义。载体可以提高 KBTF 的润湿性,在分散体中,总黄酮分子被载体分子包围,与水接触后,载体分子迅速溶解,药物润湿,从而增加了溶出速率。

参考文献

- [1] 杨艳俊,王亚红,曲小姝,等.微波辅助提取水蜈蚣总黄酮工艺研究 [J]. 吉林化工学院学报, 2012, 29(9): 62-65.
- [2] 王亚莉,程 龙.水蜈蚣颗粒质量标准研究 [J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(6): 14-15.
- [3] Urbanetz N A, Lippold B C. Solid dispersions of nimodipine and polyethylene glycol 2000: dissolution properties and physico-chemical characterisation [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59(1): 107-118.
- [4] 陈国广,张柯萍,李学明,等.灯盏花素缓释固体分散体的制备及溶出度的研究 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22(2): 169-171.
- [5] 王 敏,王淑君,侯 巍.杨梅素固体分散体的制备以及体外溶出试验 [J]. 实用药物与临床, 2012, 15(5): 281-283.
- [6] 中国药典 [S]. 二部. 2010.

更 正

《中草药》杂志 2013, 44 (16): 2727~2731, 刊发论文“天然药物材料白及胶制备生物支架材料的实验研究”标注基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(2010ZRA02011); 由于作者本人的疏忽, 所附基金项目有误, 应作者要求, 更正为“山东省自然基金联合专项(ZR2010HL014)”, 特此更正。

《中草药》杂志编辑部