

胡椒酸乙酯固体分散体的制备及体外溶出度研究

王艳丽^{1*}, 王艳杰², 博·格日勒图^{3#}(1.内蒙古自治区生物技术研究院, 呼和浩特 010070; 2.中国农业科学研究院作物科学研究所, 北京 100081; 3.内蒙古大学蒙药化学研究所, 呼和浩特 010021)

中图分类号 R944.2⁴ 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)22-3132-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.22.32

摘要 目的:研究胡椒酸乙酯固体分散体的制备及体外溶出度。方法:采用溶剂熔融法。选择聚乙二醇6000(PEG-6000)为载体,考察不同药载质量比(1:1、1:5、1:7、1:10、1:15、1:18、1:20)对胡椒酸乙酯固体分散体溶出度的影响;考察胡椒酸乙酯原料药在85℃时的稳定性;采用差示扫描量热法、X射线粉末衍射表征胡椒酸乙酯在固体分散体中的存在状态。结果:胡椒酸乙酯与PEG-6000药载质量比为1:15时胡椒酸乙酯的溶出度显著提高,且在85℃制备条件下稳定;胡椒酸乙酯PEG-6000固体分散体中药物以无定形或分子形式存在。结论:胡椒酸乙酯与PEG-6000(1:15)混合制备固体分散体可显著提高药物溶出度,且在85℃条件下稳定。本研究为胡椒酸乙酯制剂制备工艺研究提供了依据。

关键词 胡椒酸乙酯;固体分散体;聚乙二醇6000;溶出度

Study on Preparation and *in vitro* Dissolution of Ethyl Pepper Solid Dispersion

WANG Yanli¹, WANG Yanjie², Bo · Geriletu³ (1.Inner Mongolia Autonomous Region Institute of Biotechnology, Hohhot 010070, China; 2.Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3.Institute for Chemical Research of Mongolia Medicine, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the preparation and *in vitro* dissolution of ethyl pepper solid dispersion. METHODS: Solvent-melting method was adopted. Using polyethylene glycol 6000 (PEG-6000) as carrier, the effects of different drug-loading ratios (1:1, 1:5, 1:7, 1:10, 1:15, 1:18, 1:20) on the dissolution of ethyl pepper solid dispersion was investigated. The stability of crude drug ethyl pepper at 85℃ was determined. Furthermore, differential scanning calorimetry and X-ray powder diffraction method were used to identify the existence of ethyl pepper in the solid dispersion. RESULTS: The dissolution of ethyl pepper could be improved by mixing ethyl pepper and PEG-6000 in a ratio of 1:15, and the preparation was maintained stable at 85℃. The drugs part of ethyl pepper-PEG-6000 solid dispersions existed in the form of amorphous or molecular. CONCLUSIONS: The dissolution of ethyl pepper solid dispersion can be improved significantly by mixing ethyl pepper and PEG-6000 (1:15), and the dispersion keeps stable at 85℃. The study can provide reference for further study of the preparation technology of ethyl pepper preparation.

KEYWORDS Ethyl pepper; Solid dispersion; PEG-6000; Dissolution

胡椒酸乙酯(Ethyl pepper)是由胡椒碱合成的具有显著降血脂活性的化合物^[1-2],在未来降血脂药物领域有很大的应用潜力^[3]。但本品几乎不溶于水,提高其溶出率成为提高药物生物利用度的关键。固体分散体系指药物以分子、无定形、微晶或胶态等形式均匀分散在固体载体中形成的分散体系^[4-6]。以水溶性载体制备的固体分散体可以增加难溶性药物的溶解度和溶出速率、促进吸收、提高药物的生物利用度、增强药物疗效^[7-10]。常用的固体分散体技术包括熔融法、溶剂蒸发法、溶剂熔融法、超临界二氧化碳(CO₂)萃取法等^[11]。本研究利用固体分散技术制备胡椒酸乙酯固体分散体,选择聚乙二醇6000(PEG-6000)为载体,采用溶剂熔融法,将药物与载体按一定的比例分别制成不同浓度的胡椒酸乙酯固体分散体,并对胡椒酸乙酯与胡椒酸乙酯固体分散体进行体外溶出度试验,以筛选出较优的制备工艺和处方,增加药物溶出度。

1 材料

* 工程师,硕士。研究方向:药物化学。电话:0471-5262056。E-mail:yuya2009@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:天然药物化学与蒙药研究。电话:0471-4992511。E-mail:13704750866@163.com

1.1 仪器

UV-1601紫外分光光度计(日本岛津公司);78X-2B片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器有限公司);AE240电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];Q/IYS002-94电热三用水箱(北京市医疗设备厂);Milli-Q Integra纯水仪(德国Millipore公司);PYX-DHS隔水式电热恒温培养箱(上海市跃进医疗器械厂);STA409pc差示扫描量热仪(德国耐驰公司);D/MAX-RB型X射线粉末衍射仪(日本理学公司)。

1.2 药品与试剂

胡椒酸乙酯对照品(内蒙古大学自制,批号:200805,纯度:≥99.7%);PEG-6000(江西益生药业有限公司,批号:070410,规格:20 kg/袋,纯度:≥99%);无水乙醇(批号:20080812)、正己烷(批号:20080703)、乙酸乙酯(批号:20080916)、乙醇(批号:20081203)、丙酮(批号:20070616)、盐酸(批号:20081012)、二甲亚砜(批号:20080503)、氢氧化钾(批号:20080518)均为分析纯,均购自天津北联精细化学品开发有限公司;甲醇(批号:20080806)为分析纯,购自天津市光复精细化工研究所;胃蛋白酶(批号:H19999562)购自陕西麦

克制药有限公司;十二烷基硫酸钠(批号:20080401,规格:20 kg/袋)为药用级,购自湖南九典制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶解度试验

2.1.1 人工胃液的配制 参照2010年版《中国药典》(二部)附录XA中方法配制人工胃液^[12]。取浓盐酸23.4 ml加水100 ml配制成稀盐酸,吸取1.64 ml,加水约80 ml、胃蛋白酶1 g混匀,加水稀释成100 ml,即得。

2.1.2 试验方法 称取研成细粉的胡椒酸乙酯,于(25±2)℃下分别溶于一定量的乙酸乙酯、乙腈、氯仿、二甲亚砜、甲醇、乙醇、丙酮、水、盐酸溶液(0.1 mol/L)、氢氧化钾溶液(0.1 mol/L)和人工胃液中,每隔5 min强力振荡30 s,观察30 min内的溶解情况,无目视可见的溶质颗粒或液滴时,即视为完全溶解。易溶系指1 g(ml)溶质能在1~<10 ml溶剂中溶解;略溶系指1 g(ml)溶质能在30~<100 ml溶剂中溶解;几乎不溶或不溶系指1 g(ml)溶质在10 000 ml溶剂中不能完全溶解。

2.1.3 试验结果 胡椒酸乙酯易溶于丙酮、乙酸乙酯、乙腈、氯仿、二甲亚砜;略溶于甲醇、乙醇;几乎不溶或不溶于水、盐酸、氢氧化钾和人工胃液。由于胡椒酸乙酯几乎不溶于水、盐酸溶液、氢氧化钾溶液和人工胃液,所以笔者采用固体分散技术以提高胡椒酸乙酯的溶出度。

2.2 样品的制备

2.2.1 固体分散体的制备 采用溶剂熔融法制备胡椒酸乙酯固体分散体,按胡椒酸乙酯与PEG-6000质量比分别为1:1、1:5、1:7、1:10、1:15、1:18、1:20称取。先将PEG-6000置于85℃水浴条件下熔融;另取胡椒酸乙酯和十二烷基硫酸钠溶于适量无水乙醇中,微热使胡椒酸乙酯全溶,加入到PEG-6000熔融液中,搅拌使无水乙醇挥干,于-20℃冷冻固化。固化8 h后将产品置于40℃真空干燥箱中干燥,干燥12 h后粉碎过100目筛,即得到胡椒酸乙酯固体分散体。

2.2.2 物理混合物的制备 按胡椒酸乙酯与PEG-6000质量比为1:15的比例称取,混合均匀,过80目筛,即得到胡椒酸乙酯物理混合物,置于干燥器中备用。

2.3 含量测定

2.3.1 测定波长的确定 精密称定胡椒酸乙酯对照品50 mg,置于50 ml量瓶中,加乙腈稀释至刻度。精密量取2 ml,置于50 ml量瓶中,以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为介质定容后作为待测液。以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为空白对照,在230~410 nm波长范围内对其进行紫外扫描,紫外光谱图见图1。结果,胡椒酸乙酯在345 nm波长处有最大吸收值。

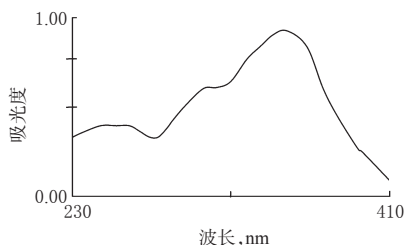


图1 胡椒酸乙酯的紫外光谱图

Fig 1 UV spectrogram of ethyl pepper

2.3.2 片剂空白辅料干扰考察 按照配方比例配制空白粉末,称取空白粉末150 mg(相当于主药10 mg)置于50 ml量瓶中,用0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液稀释至刻度,摇匀后过

滤,取续滤液0.5 ml置于25 ml量瓶中,用0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液稀释至刻度。以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为空白对照,进行紫外扫描,详见图2。结果,在230~410 nm波长范围内及345 nm波长处辅料吸光度值为0.000,不干扰样品测定。

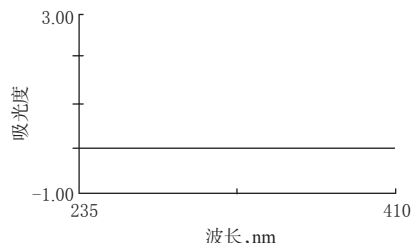


图2 胡椒酸乙酯片剂空白辅料的紫外光谱图

Fig 2 UV spectrogram of blank excipients of ethyl pepper tablet

2.3.3 标准曲线的绘制 精密称定胡椒酸乙酯对照品50 mg,置于50 ml量瓶中,加乙腈稀释至刻度;精密量取2 ml,置于50 ml量瓶中,以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为介质定容后作为待测液。分别精密量取待测液0、2.5、5、10、15 ml,置于25 ml量瓶中,以0.5%十二烷基硫酸钠水溶液稀释至刻度。以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为对照,于345 nm波长处测定吸光度,结果见表1。

表1 胡椒酸乙酯溶液吸光度值测定结果

Tab 1 Determination results of absorbance value of ethyl piperate solution

项目	1	2	3	4	5
质量浓度, μg/ml	0	4	8	16	24
吸光度	0	0.424	0.860	1.612	2.408

以胡椒酸乙酯对照品的质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、吸光度值(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=0.0997x+0.0242$ ($r=0.9994$)。结果表明,胡椒酸乙酯在0~24 μg/ml范围内线性关系良好。

2.3.4 精密度试验 以0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液为溶剂对胡椒酸乙酯待测液进行稀释,分别制备质量浓度为4、8、24 μg/ml的低、中、高3种质量浓度的胡椒酸乙酯对照品溶液,在345 nm波长处,于第2、4、6、8、10 h时进样测定,考察日内精密度;第2、3 d连续进样测定,考察日间精密度。结果显示,低、中、高3种质量浓度的胡椒酸乙酯溶液的日内精密度RSD值在0.52%~0.85%之间,日间精密度RSD值在1.24%~1.76%之间,表明本试验精密度良好。

2.3.5 回收率试验 按“2.3.4”项下方法制备低、中、高3种质量浓度的胡椒酸乙酯对照品溶液,按处方比例加入辅料,分别于345 nm波长处测定吸光度值并计算回收率。结果平均回收率为99.44%, RSD=1.26%(n=9)。

2.3.6 稳定性试验 取“2.3.5”项下溶液,室温(25℃)条件下分别在0、1、2、4 h于345 nm波长处测定吸光度值。结果,吸光度值的RSD=0.126%,表明本试验溶液稳定性良好。

2.4 体外溶出度试验

采用2010年版《中国药典》(二部)附录XC第一法(篮法)进行体外溶出度测定^[12]。测定方法如下:称取5 mg胡椒酸乙酯原料药和相当于胡椒酸乙酯5 mg的固体分散体直接投入溶出杯中,溶出介质为0.5%十二烷基硫酸钠的水溶液900 ml,温

度为(37±0.5)℃,转数为150 r/min。于5、10、20、30、40、50、60 min时分别量取溶出液5 ml,并补充同温等量溶出介质。溶出液以6 000 r/min离心沉降5 min,精密量取上清液适量,测定吸光度,计算药物浓度及累积溶出百分率,结果见表2,溶出曲线见图3。

表2 原料药与不同质量比固体分散体的累积溶出百分率(%)
Tab 2 Accumulative dissolution percentage of solid dispersion with different proportions and crude drug(%)

质量比	取样时间						
	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
1:1	16.2	19.4	22.7	23.3	23.4	23.5	23.7
1:5	16.9	21.2	28.5	31.5	32.2	32.5	32.8
1:7	17.1	25.0	33.4	35.3	36.6	37.5	38.2
1:10	18.0	35.0	56.9	60.8	62.9	63.4	63.6
1:15	20.2	40.3	67.6	74.2	75.1	76.8	78.0
1:18	20.6	41.2	68.8	75.3	76.3	77.1	78.2
1:20	20.7	41.6	68.9	76.6	77.0	77.6	78.4
原料药	0	0	0	0	0	0	0

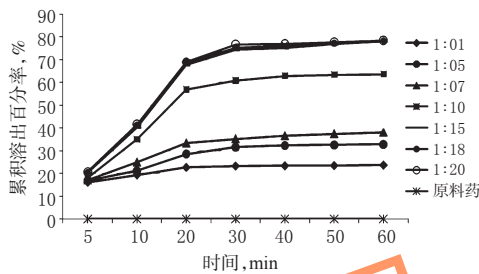


图3 原料药与不同质量比固体分散体溶出度曲线
Fig 3 Dissolution curves of crude drug and solid dispersion with different proportions

由图3可知,所有固体分散体溶出速率均显著提高,且固体分散体的累积溶出百分率随着载体PEG-6000量的增加而增大,当质量比达到1:15及以上时固体分散体的累积溶出百分率增加不明显。考虑到片型的大小以及制备工艺的影响,确定主药与载体的质量比为1:15。

2.5 胡椒酸乙酯原料药的稳定性研究

制备固体分散体时,胡椒酸乙酯乙醇溶液要加入到85℃的PEG-6000熔融液中,因此,有必要对胡椒酸乙酯在85℃时的稳定性进行研究。试验方法如下:取胡椒酸乙酯原料药1 g溶解在20 ml的无水乙醇中,在85℃的水浴中加热20 min,观察其性状,测定胡椒酸乙酯及杂质含量,结果见表3。

表3 胡椒酸乙酯原料药的稳定性试验结果

Tab 3 Stability test of ethyl pepper crude drug

温度,℃	时间,min	性状	胡椒酸乙酯含量,%	杂质含量,%
25	0	淡黄色液体	99.66	0.34
85	20	淡黄色液体	99.55	0.45

由表3可知,胡椒酸乙酯的乙醇溶液在85℃的高温下加热20 min仍可以稳定存在,表明上述条件制备固体分散体可行。

2.6 固体分散体的表征

2.6.1 差示扫描量热法(DSC)^[13] 采用差示扫描量热仪。以空铝坩埚为参比物,另一铝坩埚中放入样品。升温速度为10℃/min,扫描范围为30~400℃,氮气流速为20 ml/min。分别测定胡椒酸乙酯、PEG-6000和固体分散体(胡椒酸乙酯和PEG-6000的质量比为1:15)的DSC谱图,详见图4。

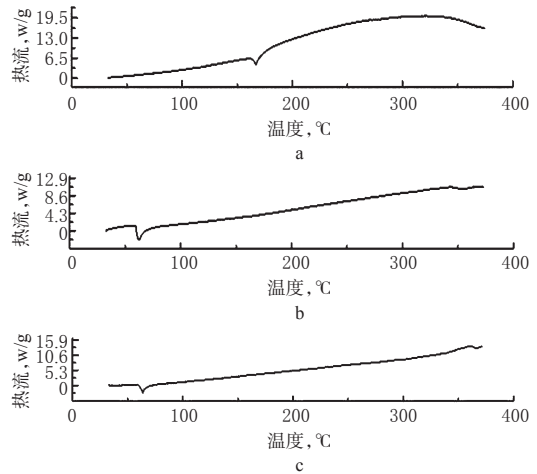


图4 DSC图谱

a.胡椒酸乙酯;b.PEG-6000;c.固体分散体

Fig 4 DSC spectra

a. ethyl pepper; b. PEG-6000; c. solid dispersion

由图4可知,胡椒酸乙酯在30~400℃温度范围有1个明显的吸热峰,温度为167℃,说明胡椒酸乙酯在167℃有1个物相的转变;而PEG-6000在63℃有1个吸收峰,为其熔点值;固体分散体仅在63℃处有1个吸收峰(PEG-6000的吸收峰),167℃处没有吸收峰,而在369℃处出现了新的吸收峰,说明在固体分散体中胡椒酸乙酯以非晶形存在,均匀分散在载体PEG-6000中,这可能是其体外溶出度升高的一个重要原因。

2.6.2 X-射线衍射法(XRD)^[14] 采用X射线粉末衍射仪。以Cu靶,高压强度为36 kV,管电流为20 mA,衍射角为0.02°/min,扫面范围为5~80°。取研细过100目筛的胡椒酸乙酯、PEG-6000、固体混合物(胡椒酸乙酯和PEG-6000的质量比为1:15)和固体分散体(胡椒酸乙酯和PEG-6000的质量比为1:15),分别进行XRD分析,结果见表4、图5。

表4 胡椒酸乙酯、PEG-6000、物理混合物和固体分散体的XRD结果

Tab 4 XRD results of ethyl pepper, PEG-6000, physical mixture and solid dispersions

样品	编号	衍射角,°	动能,eV	强度,%	
胡椒酸乙酯	A	6.839	1.404	16.6	
	B	9.615	1.968	60.1	
	C	18.357	3.754	28.3	
	D	19.031	3.890	31.0	
	E	20.316	4.150	99.1	
	F	22.056	4.484	42.7	
PEG-6000	G	19.221	3.929	88.8	
	H	23.369	4.766	99.2	
	I	26.212	5.336	12.7	
	J	11.839	2.427	78.4	
	物理混合物	A	6.990	1.441	18.4
		C	18.417	3.766	21.0
D		19.091	3.903	19.9	
F		22.093	4.509	24.3	
固体分散体		1	19.060	3.896	80.0
		2	21.211	4.331	21.5
	3	23.285	4.749	98.1	

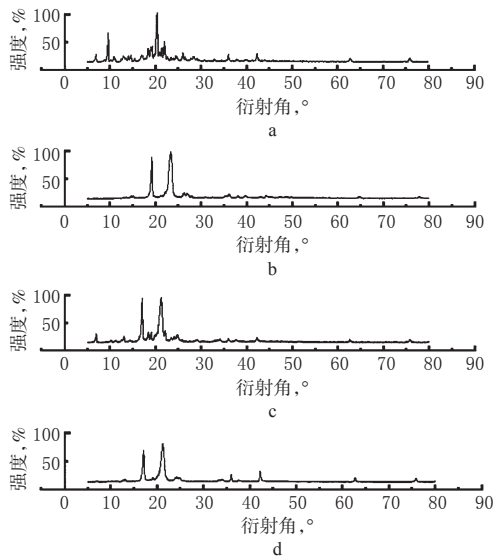


图5 XDR图谱

a.胡椒酸乙酯;b.PEG-6000;c.物理混合物;d.固体分散体

Fig 5 XDR spectra

a. ethyl pepper; b. PEG-6000; c. physical mixture; d. solid dispersion

由图5可知,胡椒酸乙酯在6.839°、9.615°、18.357°、19.031°、20.316°、22.056°处有尖锐的衍射角特征衍射峰;同时物理混合物在6.990°、18.417°、19.091°、22.093°处也显示了胡椒酸乙酯的特征衍射峰,证明在物理混合物中PEG-6000的存在不会影响胡椒酸乙酯的结晶性;而固体分散体中胡椒酸乙酯的特征衍射峰消失或很大程度地降低并且有新的峰产生,只有PEG-6000的特征峰,这说明在固体分散体中胡椒酸乙酯经载体PEG-6000的分散后,晶型已完全不同于纯的胡椒酸乙酯晶体,而是结合形成了新的物相。胡椒酸乙酯在固体分散体中以无定形或是分子形式存在,这可能是固体分散体中胡椒酸乙酯溶出度升高的另一个重要原因。

3 讨论

通过溶解度试验可知,胡椒酸乙酯几乎不溶于水、盐酸溶液、氢氧化钾溶液和人工胃液,因此,笔者采用固体分散技术以提高胡椒酸乙酯的溶出度。固体分散体技术是将药物高度分散在载体中、增加药物的溶出、提高其生物利用度或延缓其释放的一种制剂技术,溶出率的升高或下降取决于载体的性质和药物在固体分散体中的分散状态^[15]。

PEG-6000在常温状态下是2列平行的螺旋状的晶体,加热熔融后,聚乙二醇的长链会无规则延伸,此时加入溶解在乙醇中的胡椒酸乙酯后,药物分子会均匀地分散在聚乙二醇的熔融物或聚乙二醇的乙醇溶液中。经过冷却、固化后,由于PEG-6000对药物的包夹与分子间作用力阻碍了药物分子结晶析出,可以得到均匀分散在载体中的无定形状态药物的固体分散体。由于载体的亲水性和高度的水溶性,当固体分散体溶解于水时,包夹在载体中的无定形药物分子会以微米级或纳米级的小颗粒悬浮于水相,因此固体分散体可以提高难溶性药物的溶解度、膜透过率与吸收度从而提高药物的生物利用度。

差示扫描量热法、X射线粉末衍射法的结果表明,固体分散体中胡椒酸乙酯以非晶形、无定形或是分子形式存在,均匀

分散在载体PEG-6000中,从而提高了体外溶出度。

综上所述,胡椒酸乙酯与PEG-6000药载质量比为1:15时的固体分散体能显著提高药物溶出度,达到药典要求的溶出度,且稳定性试验表明胡椒酸乙酯固体分散体可以在85℃条件下制备,这为胡椒酸乙酯制剂制备工艺的研究提供了依据。

参考文献

- [1] Lu Y, Bao N, Borjihan G, *et al.* Contribution of carboxylesterase in hamster to the intestinal first-pass loss and low bioavailability of ethyl piperate an effective lipid-lowering drug candidate[J]. *Drug Metab and Dispos*, 2011, 39(5):796.
- [2] Borjihan G, Zhao R, Na R, *et al.* Application of piperinic ester species in preparing antilipidic medicine or health products: China, ZL200510125976.2[P]. 2008-03-26.
- [3] 领小, 乌云索德, 包力尔. 胡椒酸乙酯与牛血清白蛋白的相互作用及金属离子的影响[J]. *发光学报*, 2012, 33(11):1268.
- [4] 张惠平, 向大雄, 罗杰英, 等. 固体分散技术在药剂学中的研究进展[J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(11):807.
- [5] Desai J, Alexander K, Riga A. Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release[J]. *Int J Phan*, 2006, 308(1/2):115.
- [6] 朱盛山. 药物新剂型[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 31.
- [7] 姜树立, 吴丽伟. 论阿司匹林的临床应用[J]. *黑龙江医药*, 2010, 23(2):255.
- [8] Redondo S, Santos-Gallego CG, Ganado P, *et al.* Acetylsalicylic acid inhibits cell proliferation by involving transforming growth factor- β [J]. *Circulation*, 2003, 107(4):626.
- [9] 崔福德. 药剂学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 347-348.
- [10] Dhirendra K, Lewis S, Udupa N, *et al.* Solid dispersions: a review[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2009, 22(2):234.
- [11] Joshi HN, Tejwani RW, Davidovich M, *et al.* Bioavailability enhancement of a poorly water-soluble drug by solid dispersion in polyethylene glycol-polysorbate 80 mixture[J]. *Int J Pharm*, 2004, 269(1):251.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录86-87.
- [13] 姚薇薇. 水飞蓟宾固体分散体的热力学研究及模拟[D]. 苏州: 苏州大学, 2005.
- [14] Parmar KR, Satapara VP, Shah SR, *et al.* Improvement of dissolution properties of lamotrigine by inclusion complexation and solid dispersion technique[J]. *Pharmazie*, 2011, 66(2):119.
- [15] 李标. 固体分散体在药剂学中的应用[J]. *中国药房*, 2009, 20(10):790.

(收稿日期:2015-08-10 修回日期:2016-06-15)

(编辑:刘明伟)