

热熔挤出法制备槲皮素固体分散体

刘珊珊, 赵会英*, 侯振兴(北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029)

摘要: 目的 采用热熔挤出技术制备难溶性药物槲皮素的固体分散体, 提高其溶出速率。方法 以聚丙烯酸树脂(Eudragit EPO)、聚维酮(PVP-K30)、共聚维酮(PVP-VA, Kollidon VA64)为亲水性载体材料, 使用双螺杆热熔挤出机制备槲皮素固体分散体, 通过体外溶出度测定、差示扫描量热法(DSC)、傅立叶红外光谱(FTIR)和 X 射线衍射法(XRD)来表征和评价所制备的固体分散体。结果 制备的槲皮素固体分散体, 与原料药相比, 药物溶出得到显著提高, 在人工胃液中 3 min 时处方槲皮素-EPO(1:9)的药物溶出度可达到 67%, 处方槲皮素-木糖醇-PVPK30(1:3:6)的药物溶出度可达到 65%, 而在 60 min 时原料药溶出度不足 10%。XRD 图谱显示药物晶体衍射峰消失, DSC 图谱显示药物熔点吸热峰消失, 提示药物是以无定形态分散在载体材料中。结论 热熔挤出技术可用于制备槲皮素固体分散体, 使药物以无定型态高度分散在载体中, 溶出度得到显著提高。

关键词: 槲皮素; 固体分散体; 热熔挤出技术; 溶出度

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)07-0748-08

Preparation of Quercetin Solid Dispersion by Hot Melt Extrusion

LIU Shanshan, ZHAO Huiying*, HOU Zhenxing(College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve *in vitro* dissolution of the poorly water soluble drug quercetin with preparation of its solid dispersion. **METHODS** Using Eudragit EPO, PVP-K30 or PVP-VA(6:4) as hydrophilic carrier, the technology of hot melt extrusion (HME) was employed to prepare solid dispersion of quercetin. Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR), X-Ray diffraction(XRD) and differential scanning calorimetry(DSC) were employed to characterize the extrusions. **RESULTS** *In vitro* dissolution of quercetin from all solid dispersions with EPO or PVPK30 as carrier was significantly improved than that of pure drug. In simulated gastric fluid, the accumulative dissolution of formulation quercetin-EPO (1:9) reached 67% in 3 min, for formulation of quercetin-xylitol-PVPK30 (1:3:6), it reached 65% in 3min, while for pure drug, dissolution was less than 10% in 60min. The results of DSC and XRD showed quercetin was amorphously dispersed in carriers. **CONCLUSION** Hot melt extrusion can be used to prepare quercetin solid dispersion, from which drug dissolution was significantly improved.

KEY WORDS: quercetin; solid dispersion; hot melt extrusion; dissolution

槲皮素及其衍生物是植物界分布广泛, 具有多种生物活性的黄酮类化合物。它存在于许多植物的花、叶、果实中, 多以苷的形式存在, 如芦丁、槲皮苷、金丝桃苷等, 经酸水解可得到槲皮素^[1]。槲皮素具有祛痰、镇咳和止喘作用, 并具有较强的抗癌活性, 可以清除氧自由基, 抑制癌细胞增殖, 对抗致癌基因以及对糖尿病肾病有一定的保护作用等^[2-3], 但其水溶性差, 口服吸收困难, 因而限制了其在临床中的作用。近年来有报道将槲皮素制成微乳制剂和固体脂质纳米粒可提高槲皮素的口服吸收, 还有采用溶剂法、熔融法和溶剂-熔融法, 利用载体聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇 6000 制备固体分散体, 利用溶液-搅拌法制备羟丙基- β -环糊精包合物^[4-9]。

热熔挤出技术(hot-melt extrusion, HME)是近年来应用于药物制剂领域的一项新技术, 主要用于提高难溶性药物的溶出度, 制备过程是将原料药、聚合物辅料同时加到挤出机中, 使物料经历固体输送、熔融、熔体输送 3 阶段, 在捏合器和螺杆元件的强力剪切作用下, 获得高度混合分散的成型产品^[10-11]。本实验采用 HME 制备槲皮素的固体分散体, 以期改善药物的溶出性能。

1 材料与仪器

槲皮素原料药(陕西慈缘生物科技有限公司, 批号: CY110721, 纯度 $\geq 95\%$); 槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 10081-200907, 纯度: 96.5%); 聚维酮(PVPK30, 德国巴斯夫); 共聚维酮(PVP-VA, Kollidon VA64, 德国巴斯夫);

基金项目: 北京市自然科学基金项目(7092052)

作者简介: 刘珊珊, 女, 硕士生 Tel: 13720035719
(010)64446247 E-mail: hyzhao@mail.buct.edu.cn

E-mail: zy200682038@sina.com.cn

*通信作者: 赵会英, 女, 博士, 副教授 Tel:

聚丙烯酸树脂 Eudragit EPO[EPO, 甲基丙烯酸丁酯-甲基丙烯酸二甲胺基乙酯-甲基丙烯酸甲酯(1:2:1)共聚物; 德国罗姆]; 木糖醇(山东福田糖醇有限公司); 人工胃液: 取盐酸 4.5 mL, 加去离子水 500 mL 稀释即可; 盐酸, 磷酸(分析纯试剂, 北京化工厂); UV-2000 紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司); RCZ-8A 型智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂); 甲醇(色谱纯, 天津四友精细化学品有限公司); LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); HAAKE Minilab II 型热熔挤出机(赛默飞世尔科技); Nicolet 8700 红外光谱仪(美国热电公司); D/MAX 2500 VB2+PC 型 X 射线衍射仪(日本株式会社理学); TG-DTA/H 热分析仪(日本理学公司)。

2 方法

2.1 玻璃化温度/熔点与溶解度参数

用于热熔挤出的处方设计要首先考虑药物和辅料的物理、化学性质, 如熔点(T_m)或者玻璃化转变温度(T_g)、各组分的稳定性以及溶解度参数。据文献报道, 当 $\Delta\delta < 7 \text{ MPa}^{1/2}$ 时药物和辅料在熔融状态下可能会显示出良好的相容性, 当 $\Delta\delta > 35 \text{ MPa}^{1/2}$ 时, 药物和辅料被认为几乎不能相容, 当 $\Delta\delta$ 介于二者之间时药物和辅料可能具有一定的相容性^[12], 本实验采用基团贡献法计算药物和辅料的溶解度参数, 以 Eudragit EPO 为例, 它是甲基丙烯酸丁酯-甲基丙烯酸二甲胺基乙酯-甲基丙烯酸甲酯(1:2:1)共聚物, 以甲基丙烯酸丁酯-甲基丙烯酸二甲胺基乙酯-甲基丙烯酸甲酯(1:2:1)为一个单体计算, 根据其化学结构式可知 EPO 有如下基团, 其中 F_{di} 为色散力基团贡献; F_{pi} 为偶极力基团贡献; E_{hi} 为氢键力基团贡献; V 为摩尔体积, δ_t 为溶解度参数, δ_d 为色散力分量, δ_p 为偶极力分量, δ_h 为氢键力分量。结构式见图 1, 基团见表 1。

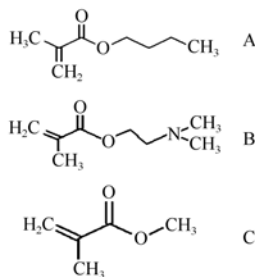


图 1 Eudragit EPO 结构

A-甲基丙烯酸丁酯; B-甲基丙烯酸二甲胺基乙酯; C-甲基丙烯酸甲酯

Fig 1 Structure of Eudragit EPO

A-butyl methacrylate; B-dimethyl aminoethyl methacrylate; C-methyl methacrylate

表 1 计算 EPO 溶解度参数

Tab 1 Solubility parameters of EPO calculated

基团	F_{di}	F_{pi}	E_{hi}	$\Sigma V/\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$
(4)C	70	0	0	-5.5
(11)CH ₂	270	0	0	16.1
(10)CH ₃	420	0	0	33.5
(2)N	20	800	5 000	-9.0
(4)COO	390	490	7 000	18.0
Σ	9 050	2 240 400	38 000	544.1

$$\delta_d = \frac{\sum F_{di}}{V} = \frac{9050}{544.1} = 16.63$$

$$\delta_p = \frac{\sqrt{\sum F_{pi}^2}}{V} = \frac{\sqrt{2240400}}{544.1} = 2.76$$

$$\delta_h = \frac{\sqrt{\sum E_{hi}}}{V} = \frac{\sqrt{38000}}{544.1} = 8.36$$

$$\delta_t = (\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2)^{0.5} = 18.82$$

根据公式先分别计算出 3 个分量, 然后求出 EPO 的溶解度参数, 其他药物和辅料也是按照上述方法计算, 不同的基团有相应的贡献分量。计算结果见表 2, PVP-VA64, PVP-K30 的溶解度参数均与药物相近, $\Delta\delta < 7 \text{ MPa}^{1/2}$, Eudragit EPO 与药物的 $\Delta\delta \approx 7 \text{ MPa}^{1/2}$, 说明药物和辅料之间具有较好的相容性。PVP-K30 的 T_g 较高, 从挤出温度以及药物稳定性的角度考虑, 需添加增塑剂来降低挤出温度, 本实验选用了木糖醇作为增塑剂, 虽然二者的溶解度参数与药物相差较大, 但考虑到它是常用的增塑剂, 并且 $\Delta\delta < 35 \text{ MPa}^{1/2}$, 另外, 文献报道一些糖醇在用热熔法制备药物的固体分散体中也起到较好作用^[13-14], 原因是药物分子上的羰基与糖醇的羟基基团之间可形成较强的氢键, 而本研究中的槲皮素分子结构中含有酮氧基和羟基基团, 也具备与糖醇形成氢键的条件, 因此把木糖醇引入到处方的辅料中作为增塑剂使用。

表 2 玻璃化温度/熔点和溶解度参数

Tab 2 T_g/T_m and solubility parameters

名称	T_g or $T_m/^\circ\text{C}$	$\delta/\text{MPa}^{1/2}$	$\Delta\delta/\text{MPa}^{1/2}$
槲皮素	320	26.7	-
EPO	95	18.8	7.9
木糖醇	95	44.7	18
PVP-VA	103	22.7	4.0
PVP-K30	168	22.5	4.2

2.2 药物热稳定性

采用热重分析法(thermo gravimetric analyzer,

TGA)考察药物的热稳定性,结果见图 2。由结果可知药物在 267.11 °C 开始放热分解,为保证药物不分解,挤出温度应控制在该降解温度以内。

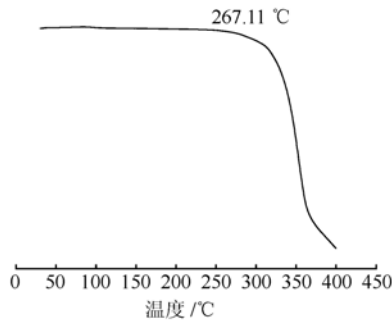


图 2 槲皮素热重分析图

Fig 2 TGA of quercetin

2.3 挤出物的制备

将药物和载体粉末分别过 80 目筛后,按表 3 所示处方比例称量并置于搅拌机中,搅拌均匀,待挤出机温度升至所需温度后,将混合均匀的物理混合物加到双螺杆挤出机中,调节螺杆转速,记录扭矩。混合物挤出后置于干净玻璃板上冷却至室温,粉碎后过 60 目筛备用。

表 3 处方 Q1~Q9

Tab 3 Formulations of Q1~Q9

处方	槲皮素	EPO	木糖醇	PVP-VA	K30
Q1	10	90	-	-	-
Q2	30	70	-	-	-
Q3	50	50	-	-	-
Q4	10	-	20	-	70
Q5	10	-	30	-	60
Q6	10	-	40	-	50
Q7	10	-	20	70	-
Q8	10	-	30	60	-
Q9	10	-	40	50	-

2.4 槲皮素的含量测定

2.4.1 标准曲线的制备 经紫外扫描发现槲皮素水溶液在 245 nm 和 374 nm 处有最大吸收,本试验选取 374 nm 为测定波长,前期试验证明处方中的辅料在该波长处均无吸收。精密称取槲皮素对照品约 10 mg 于 50 mL 量瓶中,加入 95%乙醇,超声脱气使药物溶解完全,稀释至刻度线,作为标准溶液。分别量取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL 对照品溶液于 10 mL 量瓶中,加水定容,在 374 nm 处测得吸光度 A , 得出吸光度与槲皮素含量 $C(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 之间的定量关系,建立标准曲线,得回归方程为: $C=19.38A-0.0349(r=0.9999)$ 。

2.4.2 回收率试验 精密称取槲皮素对照品及处方量的辅料,用 95%乙醇溶解完全后经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,加水稀释,配成高、中、低 3 种浓度的溶液各 3 份,测定吸光度,测得药物的平均回收率为 99.52%, $\text{RSD}=0.81\%$ 。

2.4.3 精密度实验 按“2.4.2”项下方法配制高、中、低 3 种浓度的溶液各 1 份,1 d 内每个浓度测定 5 次,用于计算日内精密度。每个浓度连续测定 5 d, 1 次 $\cdot\text{d}^{-1}$,用于计算日间精密度。测得日内精密度为 $\text{RSD}=0.091\%$, 日间精密度为 $\text{RSD}=0.12\%$ 。

2.4.4 挤出物含量测定 精密称取约相当于槲皮素 20 mg 的固体分散体 3 份,置 100 mL 量瓶中,加 95%乙醇溶解定容,摇匀,过滤,精密量取续滤液 2 mL,置 25 mL 量瓶,加水定容,摇匀,测吸光度 A ,由标准曲线方程计算槲皮素含量,平均含量为 $(99.06\pm 0.73)\%$ 。

2.4.5 高效液相法验证挤出物的稳定性 按处方比例精密称取辅料,经流动相溶解并过滤后,配制成相应浓度的空白对照溶液。取热熔挤出制剂适量进行高温灼烧使药物部分降解,精密称取适量配制成相当于药物浓度为约 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液作为灼烧物溶液。精密称取物理混合物和挤出物,溶解稀释后配成 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液,在流动相为甲醇-0.1%磷酸(58:42),检测波长 371 nm,流速为 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量为 20 μL ,柱温 25 °C 的条件下进行检测。

2.5 体外溶出度实验

分别称取原料药,挤出物适量(约含槲皮素 20 mg)投入至溶出杯中,按中国药典 2010 年版二部附录 XC 第二法,以 900 mL 人工胃液为溶出介质,转速为 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,于 1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 min 时取溶液 8 mL(并同时补充相同温度、相同体积的溶出介质),用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液稀释,在 374 nm 波长处测定吸光度,根据标准曲线方程计算药物累计溶出量。

2.6 差示扫描量热(DSC)分析

工作条件:氮气保护下进行,精密称取一定量的样品置于铝盘中,升温速度为 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,加热范围为 20~350 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.7 粉末 X-射线衍射(XRD)分析

药物槲皮素在物理混合物和挤出物中的分散状态用 XRD 进行观察分析。工作条件:铜靶,管

压 40 kV, 管流 200 mA, 扫描速度为 $5^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$, 扫描范围 $5\sim 60^{\circ}$ 。

2.8 红外光谱(FTIR)分析

红外光谱主要用于分析药物分子和辅料分子之间是否存在相互作用。测试条件: 波数范围 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$, KBr 压片。

2.9 扫描电镜观察(Scanning electron microscope, SEM)

电镜检测是为了直接观察固体分散体中槲皮素的存在状态。测试条件: 高压 20 kV, 样品撒于样品盖上喷金。

3 结果与讨论

3.1 热熔挤出结果

3.1.1 挤出温度、螺杆转速及粒径的确定 以木糖醇含量中等的处方 Q5 为基础, 考察挤出温度对挤出过程的影响, 结果见图 3A。分别在 120, 130, 140 $^{\circ}\text{C}$, 螺杆转速 $80\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下进行热熔挤出, 在 120 $^{\circ}\text{C}$ 时, 由于温度偏低, 挤出过程不易进行, 速度较慢; 130 $^{\circ}\text{C}$ 时整个挤出过程顺利, 药物、增塑剂和 高分子辅料之间得到充分的剪切混合, 挤

出物呈条带状; 140 $^{\circ}\text{C}$ 时挤出物不能呈条带状而是呈现液态, 物料之间不能得到更高层次的剪切混合, 图 3A 中的溶出曲线也表明, 130 $^{\circ}\text{C}$ 下挤出物的溶出结果较好, 因此挤出温度设为 130 $^{\circ}\text{C}$ 。

将螺杆转速分别设为 60, 80, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 考察转速对溶出的影响, 在 130 $^{\circ}\text{C}$ 下对处方 Q5 进行热熔挤出, 结果见图 3B。由结果可知, 螺杆的转速对药物的溶出影响不大, 螺杆转速为 80 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时的初期溶出速度略快, 后期 3 条溶出曲线基本一致; 另外当螺杆转速设为 60 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时挤出过程较费时, 当螺杆转速设为 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 挤出过程过快会影响药物和辅料之间的剪切混合作用时间, 不利于形成均一的状态。综上, 螺杆转速应设为 80 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

处方 Q5 的挤出物粉末分别过 40 目和 60 目筛后的溶出曲线的结果见图 3C。由结果可知, 在前 10 min 内 60 目的挤出物粉末溶解较快, 10 min 之后, 40 目粉末和 60 目粉末的药物溶出曲线基本重合, 说明本试验范围内粒径对药物的溶出度没有显著影响, 在后续实验中选用 60 目粉末。

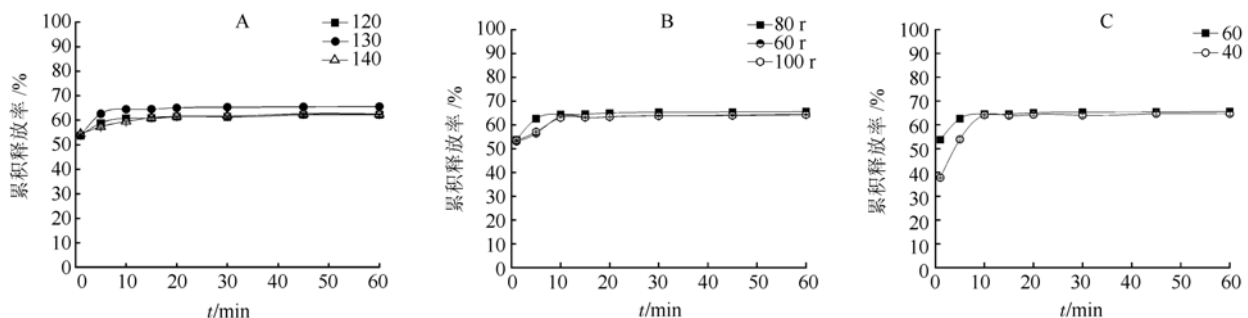


图 3 温度(A)、螺杆转速(B)和粒径(C)对药物溶出的影响

Fig 3 Effect of extrusion temperature(A), extrusion speed(B), and particle size(C) on dissolution

3.1.2 热熔挤出物的状态及扭矩 Q1~Q3 的 3 个处方中分别含有 90%, 70%和 50%的 EPO, 不含增塑剂木糖醇, 挤出扭矩均较高, 但挤出过程较顺利且挤出物均呈条带状; 其余各处方挤出过程更为顺利, 扭矩均在 20~25 N·cm 之间, 结果见表 4。

表 4 挤出扭矩

Tab 4 Extrusion torque(Ncm)

处方	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
扭矩	30	40	48	21	20	22	22	22	23

3.1.3 高效液相法验证挤出物的稳定性 高效液相色谱图见图 4。由图 4 可知, 辅料无色谱峰, 不

会干扰药物的测定; 槲皮素经高温灼烧后, 在原药保留时间处的峰面积减小, 是实际称量药量的 59.94%, 20 min 内未见其他杂质峰。物理混合物和挤出物溶液的液相分析结果显示, 药物经热熔挤出后含量无明显变化(物理混合物中槲皮素的含量为 99.05%, 挤出物药物含量为 99.55%)。该实验结果表明, 药物经热熔挤出后是稳定的, 经高温灼烧后只是药物峰浓度降低, 而没有出现杂质峰, 这意味着降解产物在该测定波长处没有吸收。由此证明前述紫外分光光度法可以用于挤出物中药物的含量测定, 方法具有专属性。

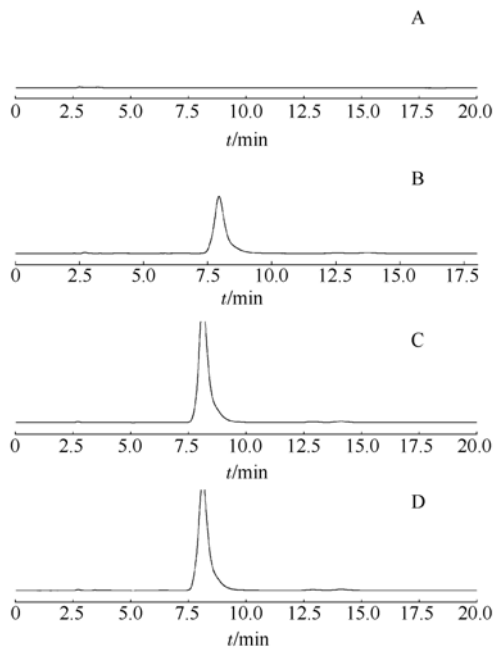


图4 高效液相色谱图

A-辅料; B-灼烧物; C-物理混合物; D-挤出物

Fig.4 HPLC chromatogram

A-excipients; B-burned extrudate; C-physical mixture; D-extrudate

3.2 溶出实验结果

3.2.1 以 EPO 为载体 处方 Q1, Q2, Q3 溶出曲线见图 5。这 3 个处方均是以 EPO 为载体, 载药量分别为 10%, 30%, 50% 依次递增。由结果可知, 在人工胃液中, 处方 Q1~Q3 挤出物与槲皮素原料药的溶出有较大提高, 原料药在 60 min 时药物溶出百分数只有 9.11%, 而处方 Q1 挤出物在 5 min 时药物溶出百分数即可达到 67%, 其他处方与原料药相比, 溶出也有显著提高, 分析原因 EPO 是胃溶型高分子材料, 易溶于人工胃液, 用它作载体能够改善药物在胃液中的溶出。由结果可知, 随着载药量的增大, 药物的溶出百分数是逐渐减小的, 后面的处方均将药物载药量定为 10%。

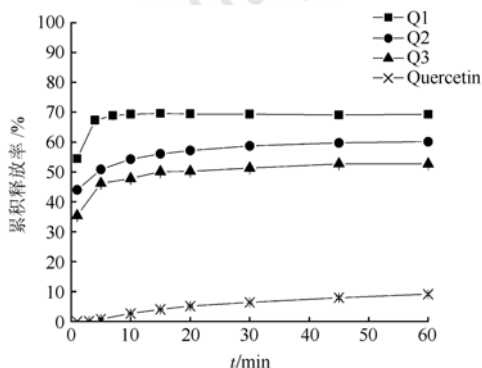


图5 槲皮素和处方 Q1-Q3 的溶出曲线

Fig 5 Dissolution profile of pure quercetin and extrudates of formulation Q1-Q3 in simulated gastric fluid

3.2.2 以 PVPK30 为载体 槲皮素-木糖醇-PVPK30 体系, 处方 Q4~Q6 的挤出物在人工胃液中的药物溶出度均远高于原料药, 处方 Q4 和 Q5 的溶出曲线相似, 在 5 min 时药物溶出百分数达到最大并稳定在 65% 左右, 是原料药平衡溶出度的 7 倍, Q6 的溶出在开始时略慢, 但在 15 min 后也达到与前 2 个处方类似的程度。表明木糖醇的含量在 20%~40% 内对挤出物的药物溶出度没有显著影响, 以木糖醇和 PVPK30 为载体制备的槲皮素固体分散体, 能够显著改善药物的溶出性能。结果见图 6 和表 5。

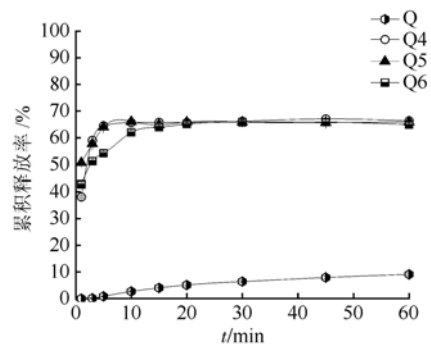


图6 槲皮素和处方 Q4-Q6 的溶出曲线

Fig 6 Dissolution profile of pure quercetin and extrudates of formulation Q4-Q6 in simulated gastric fluid

3.2.3 以 PVP-VA(6:4) 为载体 对于槲皮素-木糖醇-PVP-VA 体系, 处方 Q7~Q9 的挤出物在人工胃液中的药物溶出度要高于原料药, 药物的溶出性能有所提高, 但与前 2 种载体的处方相比, 药物溶出度偏低, 各处方挤出物溶出百分数的比较见表 5。由此可以看出, 对于槲皮素来说, 木糖醇和 PVPVA64 联合应用并不是最适宜的热熔挤出载体材料。结果见图 7。

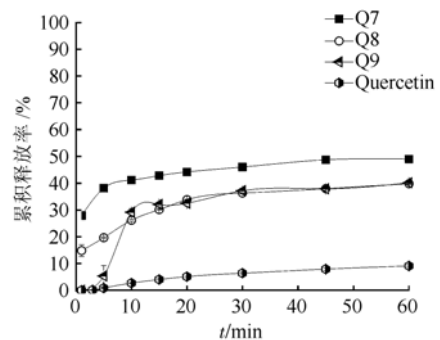


图7 槲皮素和处方 Q7-Q9 的溶出曲线

Fig 7 Dissolution profile of pure quercetin and extrudates of formulation Q7-Q9 in simulated gastric fluid

表 5 人工胃液中 5 min 和 45 min 药物溶出百分数

Tab 5 Accumulative dissolution at 4 min and 45 min in simulated gastric fluid

处方	药物溶出度/%	
	5 min	45 min
Q1	67.31±1.11	69.06±1.07
Q2	50.83±0.13	59.72±0.08
Q3	46.19±0.18	51.29±0.09
Q4	64.33±0.05	65.90±0.09
Q5	64.51±0.34	66.09±0.20
Q6	54.26±0.58	65.83±0.24
Q7	38.14±0.30	48.74±0.21
Q8	19.65±0.22	37.97±0.10
Q9	5.31±3.95	37.91±0.56

3.2.4 增大投药剂量 将处方和原料药的投药剂量增大至 120 mg·杯⁻¹，溶出曲线见图 8，可以看出，增大投药剂量后，挤出物在 20 min 时浓度可到 98.29 μg·mL⁻¹，而原料药 60 min 时其浓度仅为 12.53 μg·mL⁻¹，通过槲皮素和木糖醇 PVPK30 制成的固体分散体能够提高药物的溶解度。

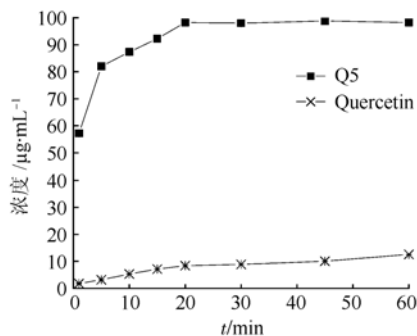


图 8 槲皮素和处方 Q5 的溶出曲线

Fig 8 Dissolution profile of pure quercetin and extrudates of formulation Q5 in simulated gastric fluid

3.3 XRD 结果分析

槲皮素原料药的 XRD 图谱见图 9。图中显示出明显的晶体衍射峰，在处方 Q1 的物理混合物中，保留了槲皮素在 2θ 角为 12.4°，18.5°，26.2°和 27.2°处的晶体衍射峰，处方 Q1 挤出物在相应的 2θ 角为 12.4°处的晶体衍射峰已经消失，在 18.5°，26.2°和 27.2°处晶体衍射峰减弱，说明挤出物中药物分子的晶格排列发生了变化，至少有一部分是以无定形态分散在载体材料中；随着处方中载药量的增加，处方 Q2 和 Q3 挤出物的 XRD 谱图中显示出越来越明显的药物晶体衍射峰，说明加大载药量不利于载体对药物的抑晶作用，不

利于药物的高度分散。图 9B 显示处方 Q4~Q6 的物理混合物中仍然保留了原料药和木糖醇的晶体衍射峰，而处方 Q4 和 Q5 的热熔挤出物中晶体衍射峰均消失，提示药物和木糖醇均是以无定形状分散在载体中，但随着处方中木糖醇百分比含量的增加，Q6 挤出物的晶体峰显现出来，说明加入木糖醇过多时对制备固体分散体是不利的，因此对于以 PVPK30 为载体的处方中木糖醇所占的比例不应超过 30%。

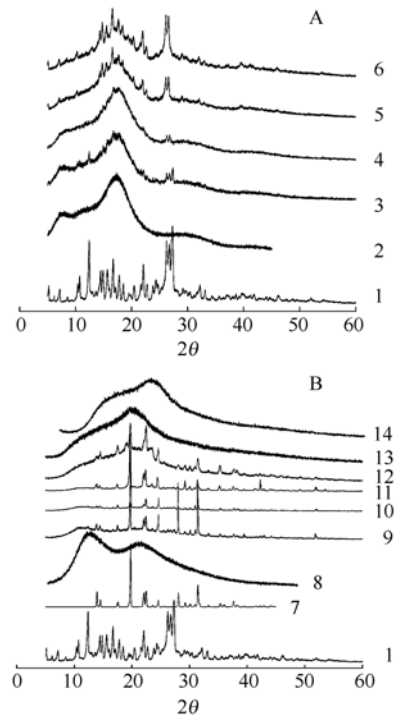


图 9 粉末 X 射线图谱: EPO(A)和 PVPK30-木糖醇载体体系(B)

1-槲皮素; 2-EPO; 3-物理混合物(Q1); 4-挤出物(Q1); 5-挤出物(Q2); 6-挤出物(Q3); 7-木糖醇; 8-PVPK30; 9-物理混合物(Q6); 10-物理混合物(Q5); 11-物理混合物(Q4); 12-挤出物(Q6); 13-挤出物(Q5); 14-挤出物(Q4)

Fig 9 XRD spectra: carriers of EPO(A) or PVPK30-xylitol(B) system

1-quercetin; 2-EPO; 3-physical mixture(Q1); 4-extrudate(Q1); 5-extrudate(Q2); 6-extrudate(Q3); 7-xylitol; 8-PVP/VA64; 9-physical mixture(Q6); 10-physical mixture(Q5); 11-physical mixture(Q4); 12-extrudate(Q6); 13-extrudate(Q5); 14-extrudate(Q4)

3.4 DSC 结果分析

DSC 图谱见图 10，可以看到槲皮素在熔点 320 °C 左右有一个尖锐的吸热峰，图 10A 中显示处方 Q1 的挤出物 DSC 图谱，未出现尖锐的药物吸热峰，说明药物和辅料有较好的相容性。图 10B 中显示木糖醇在 95 °C 有一个尖锐的吸热峰。而在处方 Q4~Q6 物理混合物和挤出物的 DSC 图谱中，

均未出现药物的吸热峰,说明在缓慢加热过程中,辅料和药物发生熔融,二者具有较好的相容性。而3个处方的物理混合物,在95℃附近有一吸热峰,其出峰位置和木糖醇的基本一致,说明在物理混合物中,部分木糖醇仍保持着晶体结构;在木糖醇含量较高的处方Q6的挤出物中,吸热峰有左移和变小的倾向,而在处方Q4和Q5的挤出物中已不显现任何尖锐的吸热峰,说明药物和木糖醇的晶体结构已不存在,均以无定形态存在。

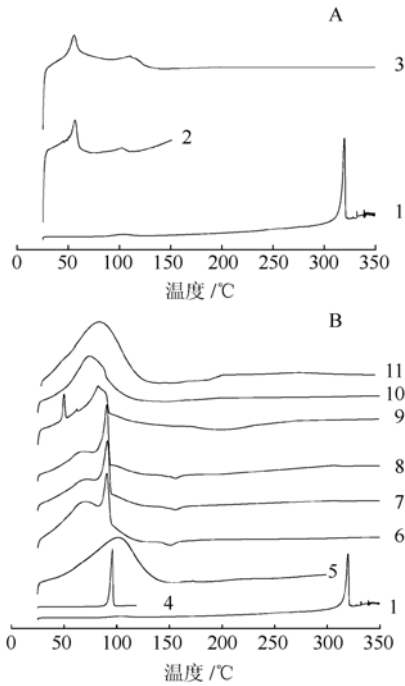


图 10 差示扫描量热图谱: EPO(A)和 PVPK30-木糖醇(B)载体体系
1-槲皮素; 2-EPO; 3-挤出物(Q1); 4-木糖醇; 5-PVPK30; 6-物理混合物(Q6); 7-物理混合物(Q5); 8-物理混合物(Q4); 9-挤出物(Q6); 10-挤出物(Q5); 11-挤出物(Q4)

Fig 10 DSC spectra: carriers of EPO (A) or PVPK30-xylitol (B) systems
1-quercetin; 2-EPO; 3-extrudate(Q1); 4-xylitol; 5-PVPK30; 6-physical mixture(Q6); 7-physical mixture(Q5); 8-physical mixture(Q4); 9-extrudate(Q6); 10-extrudate(Q5); 11-extrudate(Q4)

3.5 FTIR 分析结果

处方 Q5 的红外谱图分析见图 11。槲皮素原料药的谱图提示槲皮素分子内可能存在氢键作用,物理混合物的红外吸收图谱是槲皮素、木糖醇、PVPK30 图谱的简单叠加,在 $2\ 900\sim 3\ 000\ \text{cm}^{-1}$, $3\ 300\sim 3\ 450\ \text{cm}^{-1}$ 处(图中箭头标处)显示有游离羟基的吸收峰存在,而热熔挤出物在 $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 处有一较宽的吸收峰,提示槲皮素和木糖醇、PVPK30 之间可能存在氢键作用。

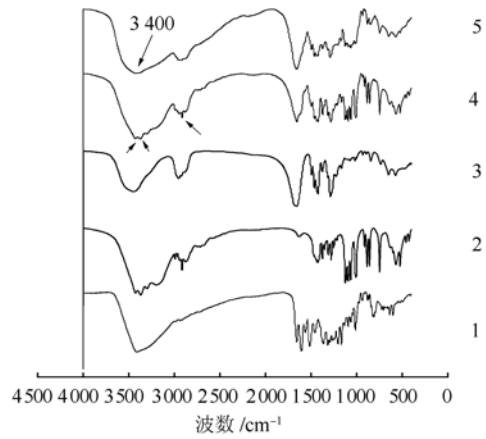


图 11 处方 Q5 的红外光谱图
1-槲皮素; 2-木糖醇; 3-PVPK30; 4-物理混合物; 5-挤出物
Fig.11 FTIR of formulation Q5
1-quercetin; 2-xylitol; 3-PVPK30; 4-physical mixture; 5-extrudate

3.6 SEM 观察结果

从图 12 可以看到槲皮素是一种棒状晶体,在处方 Q5 的物理混合物中,药物仍以晶体形式存在,但经过热熔挤出后,药物和辅料融成一个整体,晶体全部消失,这与 XRD 中药物晶体峰全部消失的结果是一致的。

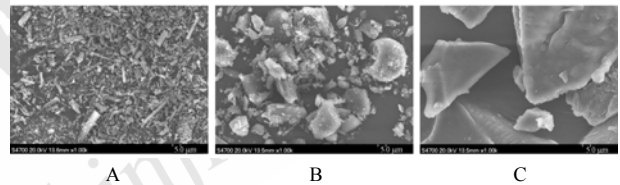


图 12 扫描电镜图
A-槲皮素; B-物理混合物; C-挤出物

Fig.12 SEM
A-quercetin; B-physical mixture; C-extrudates (Q5)

4 结论

上述结果表明,热熔挤出技术可用于制备槲皮素的固体分散体。本研究采用 EPO、PVPK30 和 PVP-VA(6:4)为主要载体,以木糖醇为增塑剂,通过热熔挤出技术所制备的槲皮素的固体分散体,均能增加药物的溶出速率,尤其以 EPO 和 PVPK30 为载体时效果最为显著,投药量为每杯 20 mg 时,药物溶出百分数在 5 min 就可以达到 65%,加大投药量之后,处方 Q5 在 20 min 浓度能够达到 $98.29\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,远好于原料药。

XRD 及 DSC 分析结果显示所制备的热熔挤出物中,药物是以无定型分散于载体内;以 PVP 为载体,以木糖醇作为增塑剂时,其加入量不应超过 30%,增塑剂含量过多不利于对药物的抑晶作用。

REFERENCES

- [1] WANG Y F, WANG X H, ZHU Y T. Advancement of researches in quercetin [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2003, 15(2): 171-174.
- [2] MENG D S, WANG S L. Antitumor effect of quercetin [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2001, 32(2): 187-189.
- [3] YU Y X, GE S R, WANG G Z. Advancement of researches in quercetin and derivative [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2003, 26(12): 902-903.
- [4] WANG Y Q. The study of quercetin microemulsion [D]. Shandong: Shandong University, 2006.
- [5] LI H L. Studies on quercetin-loaded solid lipid nanoparticle s[D]. Shandong: Shandong University, 2008.
- [6] CHANG M Q, SUN Y E, JIANG A R, et al. Preparation of solid dispersion of quercetin and its content determination [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(8): 1069-1071
- [7] LI B H, ZHANG L J. Study on the solid dispersion of quercetin-PEG6000 [J]. West China J Pharm Sci(华西药科学杂志), 2004, 19(1): 35-38.
- [8] SHAO W, XIE Q C, DENG Y F. Study on the inclusion compound of quercetin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. J Chin Med Mater(制剂与工艺), 2002, 25(2): 121-123.
- [9] REN J, FANG Z J, YIN X X, et al. Quality evaluation of quercetin proliposomes [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(1): 39-42.
- [10] GAO X F, GAO J Q. Preparation of nifedipine solid dispersion by hot-melt extrusion technology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 1002-1006.
- [11] YANG R, TANG X, HUANG H F. A preliminary evaluation of hot melt extrusion technology on improvement of silimarin dissolution [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2005, 14(11): 1305-1308.
- [12] GHEBREMESKEL A N, VEMAVARAPU C. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer-surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability [J]. Int J Pharm, 2007, 32(8): 119-129.
- [13] LANGER M, URBANETZ N A, BRABDT B. Investigations on predictability of the formation of glassy solid solutions of drugs in sugar alcohols [J]. Int J Pharm, 2003, 25(2): 167-179.
- [14] JASMINE G, CLETUS N, SHYAM V. Prediction of solubility parameters and miscibility of pharmaceutical compounds by molecular dynamics simulations [J]. J Phys Chem B, 2011, 115(1): 2014-2023.

收稿日期: 2012-11-12

利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒雾化吸入给药肺靶向性研究

徐颖颖¹, 蔡鑫君¹, 叶晓莉², 李颖芳², 王丛瑶², 李范珠^{2*} (1.浙江省杭州市红十字会医院, 杭州 310003; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 研究利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒雾化吸入给药的肺靶向性。方法 分别将利福平聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒混悬液(RFP-PLGA-NPs)和利福平注射液(RFP-Sol)以雾化吸入方式给予 SD 大鼠, 在不同时间点测定利福平在大鼠肺组织中的浓度, 计算相应药动学参数, 比较 2 种制剂在肺组织中药动学过程, 并评价靶向性。结果 RFP-Sol 和 RFP-PLGA-NPs 的 T_{max} 分别为 $(1.50 \pm 0.01)h$ 和 $(2.00 \pm 0.08)h$, C_{max} 分别为 $(0.83 \pm 0.07)mg \cdot L^{-1}$ 和 $(5.02 \pm 0.05)mg \cdot L^{-1}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 分别为 $(6.24 \pm 0.24)mg \cdot h \cdot L^{-1}$ 和 $(35.80 \pm 6.34)mg \cdot h \cdot L^{-1}$, CL 分别为 $(4.801 \pm 0.18)L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ 和 $(0.85 \pm 0.15)L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ 。通过对 r_e 和 C_e 等靶向性指标进行分析, RFP-PLGA-NPs 在肺组织中的 r_e 和 C_e 均 >1 。结论 与 RFP-Sol 相比, RFP-PLGA-NPs 经雾化吸入给药后, 明显提高了肺组织中药物的分布并且延缓消除, 有显著的缓释性, 从而降低药物对全身的不良反应, 提高对肺结核的治疗作用。

关键词: 利福平; 纳米粒; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 雾化给药; 肺靶向

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2013)07-0755-04

Targeted Study of Rifampicin Polylactic Acid/Glycolic Acid Copolymer Nanoparticles Aerosol Inhalation in Lung

XU Yingying¹, CAI Xinjun¹, YE Xiaoli², LI Yingfang², WANG Congyao², LI Fanzhu^{2*} (1. Department of pharmacy, Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310003, China; 2. School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the targeted character of rifampicin polylactic acid/glycolic acid copolymer nanoparticles in lung after nebulized inhalation in rats. **METHODS** The rifampicin nanoparticles suspension (RFP-PLGA-NPs)

基金项目: 杭州市卫生科技计划重点项目(2010Z007)

作者简介: 徐颖颖, 女, 主任药师 Tel: (0571)56109870 E-mail: xuyingying208@163.com *通信作者: 李范珠, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)86633030 E-mail: lifanzhu@zjtcn.net