

HPMCAS/PVP K30 胡椒碱双载体无定型固体分散体的制备及其体外溶出测定*

梁 淇¹, 朱成豪^{1, 2}, 邓月义^{1**}, 高飞龙¹, 周振芳¹, 方裕丹¹, 张 磊¹, 高 升¹

(1. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541004; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006)

摘要:为提高胡椒碱(Piperine, Pip)的体外溶出, 本文对 Pip 的双载体无定型态固体分散体制备技术进行研究。将醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMC-AS)的 3 种异构体(HPMC-AS-HF、HPMC-AS-MF、HPMC-AS-LF, 分别简称为 HF、MF 和 LF)和聚乙烯吡咯烷酮 PVP K30(K30)按一定比例混合作为载体, 并通过超饱和和测试测定其对 Pip 溶液超饱和度的影响。使用溶剂法制备 Pip 双载体无定型态固体分散体, 并运用差示扫描热法(DSC)和红外光谱(IR)对 Pip 双载体固体分散体进行表征。实验结果显示 K30/HF、K30/LF、K30/MF 3 种组合均对 Pip 有一定的增溶作用, HF 与 MF 可以提高溶液的超饱和度。当双载体固体分散体载药量为 10% 时, 其溶出速度和稳定性按比例顺序为 K30/HF>K30/MF>K30/LF。当 MF/HF 比例为 1:1 或 4:1 时效果最佳。随着 MF 占比增大, 双载体固体分散体的溶出速度加快, 稳定性下降。因此, 双载体无定型态固体分散体对于维持胡椒碱的超饱和作用和提高体外溶出度都有显著效果。

关键词: 胡椒碱 无定型固体分散体 稳定性 体外溶出

中图分类号: R913 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2019)01-0071-07

0 引言

胡椒碱是从胡椒科植物种子中提取的一种生物碱, 是其主要活性成分。胡椒碱具有抗氧化、免疫调节和抗肿瘤功效, 而且还能促进药物吸收代谢等^[1-4]。此外, 胡椒碱还是第一个被发现的、也是最

有效的生物增强剂^[5], 可以增加许多药物的生物利用度, 如人体口服胡椒碱能大幅提高姜黄素的生物利用度^[6]。但据研究表明, 当把胡椒碱作为主药时, 由于它的难溶性导致其在体内无法达到有效治疗浓度^[7], 因此制成固体分散体是提高其疗效的重要方法。主流学者认为固体分散技术是以 20 世纪 60

*广西壮族自治区自然科学基金项目(2014GXNSFBA118052, 2016GXNSFAA380266)资助。

【作者简介】

梁 淇(1991—), 女, 硕士研究生, 主要从事药剂学研究, E-mail: hiliangqi@163.com。

【**通信作者】

邓月义(1981—), 男, 硕士生导师, 副教授, 主要从事物理药剂学研究, E-mail: dengyqust@hotmail.com。

【引用本文】

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20190123.005

梁淇, 朱成豪, 邓月义, 等.HPMCAS/PVP K30 胡椒碱双载体无定型固体分散体的制备及其体外溶出测定[J]. 广西科学院学报, 2019, 35(1): 71-77.

LIANG Q, ZHU C H, DENG Y Y, et al. Preparation of HPMCAS/PVP K30 double carrier amorphous solid dispersion and determination of its dissolution *in vitro*[J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2019, 35(1): 71-77.

年代由 Sekiguchi(1961年)制备磺胺噻唑(ST)一尿素固体分散物为起源^[8]。固体分散体(Solid dispersion, SD)指药物能够高度分散于其中,能大大提高药物生物利用度,并以固体形式存在的分散系统。在固体分散体中,可采用水溶性载体,使药物高度分散在载体中,在固体分散体溶解时可增强药物的可润湿性,从而改善药物的溶解速率,提高其口服生物利用度^[9]。根据载体的不同特点,双载体固体分散体具有可调节药物的释放速度、增加药物溶解度等优点^[10-12]。其中载体醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMC-AS)具有两个特点,它既可以作为润湿剂提高药物的可润湿性,也能抑制药物结晶、提高药物稳定性^[13]。聚乙烯吡咯烷酮PVP K30本身水溶性较好,同时可以使疏水性药物具有亲水性,从而促进药物的溶出^[14]。因此,本实验使用醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMC-AS)的3种异构体(HPMC-AS-HF、HPMC-AS-MF、HPMC-AS-LF,分别简称为HF、MF和LF)和聚乙烯吡咯烷酮PVP K30(K30)为原料,拟制得兼顾溶出速度和稳定性的双载体固体分散体,提高胡椒碱的溶出,从而提高其生物利用度。

1 材料与方法

1.1 材料

紫外分光光度计(UV-1600PC,上海美谱达仪器有限公司),恒温磁力搅拌器(中国化工),差示扫描量热仪(STA-449-F3,德国Netzsch公司);红外分光光度计(IRrestige 21,日本岛津制作所),台式高速离心机(TG16-WS,湖南湘仪仪器有限公司),恒温水浴锅(HH-6,金坛区白塔新宝仪器厂)。

Pip(阿拉丁);聚乙烯吡咯烷酮PVP K30(K30, BAS);HPMC-AS-HF(HF, Ashland);HPMC-AS-MF(MF, Ashland); HPMC-AS-LF(LF, Ashland)。氯化钠(分析纯,西陇化工),氢氧化钠(分析纯,西陇化工),无水乙醇(分析纯,西陇化工),磷酸二氢钠(分析纯,西陇化工),乙腈(色谱纯, TEDIA),二甲

基亚砷(分析纯,西陇化工),二氯甲烷(分析纯,光华化工)。

1.2 方法

1.2.1 样品的制备

按照 K30:HF= 4:1、K30:LF= 4:1、K30:MF= 4:1、MF:HF=3:1、MF:HF=2:1、MF:HF=1:1 比例制备载体。将 Pip 和载体(1:10, W:W)加入 50 mL 乙醇-二氯甲烷溶液($V_{\text{乙醇}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$)中,充分溶解。将溶液在 60℃下减压旋转蒸发至玻璃态,转移至 40℃真空干燥箱内干燥 24 h,取出研磨,过 100 目筛,即得 Pip 无定型态双载体固体分散体,置于干燥器室温保存备用。

1.2.2 线性关系考察

取 Pip 溶于无水乙醇中配制成 4 mg/mL 溶液,另外将适量载体分别溶于无水乙醇中,于 200~500 nm 波长处对上述溶液进行扫描,以无水乙醇作空白,确定 Pip 在 342 nm 处有最大吸收,且载体在此波长处无吸收,因此,选择 342 nm 为 Pip 的测定波长。配制 1~10 $\mu\text{g/mL}$ 的 Pip-乙醇溶液,在 342 nm 处用紫外分光光度计测定其对应的吸光度 A 。以吸光度 A 对浓度 C 进行线性回归, $C=9.27017A+0.22696$, $R^2=0.9998$ 。

1.2.3 热重分析

称取 3~4 mg 的 Pip 标准品或 Pip 双载体固体分散体置于标准的铝坩埚内,采用 DSC 测定 Pip 的熔点(T_M)、摩尔熔融热(ΔH_M)。升温范围 35~220℃;升温速率为 10℃/min;以氮气为保护气,氮气流为 10 mL/min。

1.2.4 X-射线粉末衍射分析

采用溴化钾压片,对样品进行红外分析。扫描范围:400~4 000 cm^{-1} 得到溴化钾背景曲线。重复 3 次,取平均值并计算其标准偏差。

1.2.5 平衡溶解度测试

称取 40 mg 载体,将其溶于 200 mL 磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌下至完全溶解,加入 100 mg Pip。分别于 24 h、48 h 取 3 mL 溶液,14 000 r/min 离心 10

min。取上层清液 0.5 mL 稀释至 4 mL。采用紫外分光光度计测定吸光度, 并按照其线性关系曲线得出浓度。重复 3 次, 取平均值并计算其标准偏差。

1.2.6 超饱和试验

将 Pip 溶解在二甲基亚砜(DMSO)中, 药物浓度为 56 mg/mL, 各种不同种类和浓度载体的 PBS 缓冲液(pH 值为 6.8)为反溶剂。在 80 mL PBS 缓冲液中加入 0.16 g 载体, 37°C 水浴下磁力搅拌至充分溶解, 加入 Pip-DMSO 溶液(56 mg/mL) 100 μ L。在第 1 min、5 min、15 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min、180 min 和 240 min 各吸取 3 mL, 14 000 r/min 离心 10 min。取上层清液 0.5 mL 稀释至 4 mL, 使用紫外可见分光光度计测定其吸光度, 随后根据线性关系曲线计算浓度。每个样品测 3 次, 取平均值并算出其标准偏差。

1.2.7 体外溶出试验

取 32 mg Pip、320 mg Pip 固体分散体(含 Pip 32 mg)分别加入 200 mL PBS 缓冲液, 37°C 水浴恒温搅拌, 于 1 min、5 min、10 min、20 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min、180 min、240 min、24 h 分别取 3 mL 溶液(取出溶液后, 立即补充 3 mL 同批次缓冲液)。将取出的溶液在 14 000 r/min 下离心 10 min, 吸取上层清液 0.5 mL 稀释至 4 mL, 使用紫外可见分光光度计按标准工作曲线测定药物浓度。重复 3 次, 取平均值并计算其标准偏差。

2 结果与分析

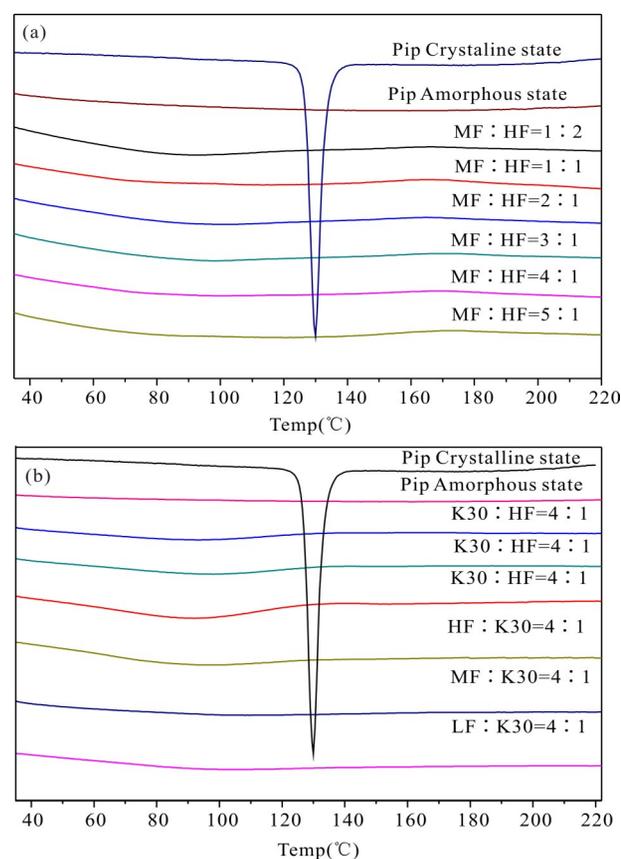
2.1 热重分析

通过 DSC 对比图(图 1)可以发现, 这些载药量为 10% 的双载体固体分散体与无定形态胡椒碱的 DSC 曲线一致, 没有结晶峰。由此可以确定这些载药量为 10% 的双载体固体分散体样品中的胡椒碱均为无定形态。

2.2 X-射线粉末衍射分析

如图 2a 所示, 结晶态 Pip 在 1 633.7 cm^{-1} 与 1 583.5 cm^{-1} 处有强吸收峰, 分别是酰胺基的特征吸收峰与苯环的特征吸收峰^[5]。而无定形态样品在这两处发生红

移, 这有可能是高分子中所含羧基与苯环共轭与酰胺基形成的氢键发生变化导致的。而对比标准品、样品和无定形态 Pip 的曲线可以发现, 所有样品的吸收峰与无定形态 Pip 位置相同, 都存在红移, 且峰形都较圆滑, 因此可以据此推断这些固体分散体样品全部为无定形态。从图 2b 中可以看到, 双载体固体分散体样品在 1 748 cm^{-1} 左右有吸收峰, 这是由于载体中羧基基团的振动吸收所引起的; 与 HF 的 1 743.9 cm^{-1} 和 MF 的 1 739.7 cm^{-1} 相比, 此处的吸收峰均发生较大偏移, 进一步表明 Pip 的酰胺基与载体的羧基可能存在氢键作用。



(a)MF/HF 双载体固体分散体, (b)K30/HF、K30/MF、K30/LF 固体分散体

(a) MF/HF various proportions of solid dispersion with double carriers, (b) K30/HF, K30/MF, K30/LF various proportions of solid dispersion with double carriers

图 1 双载体固体分散体的 DSC 图谱

Fig.1 DSC spectra of solid dispersion with double carriers 其偏离程度随着 MF 占比的增大而略有增加, 这可能与高分子 MF 中羧基基团含量更多有关。

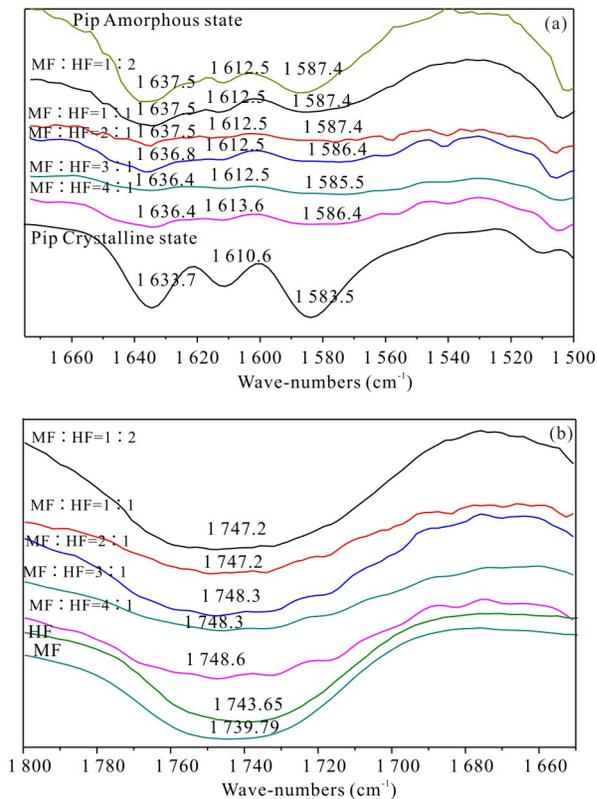


图2 同双载体固体分散体样品的红外图谱

Fig. 2 Infrared spectra of solid dispersion samples of

different double carriers

2.3 平衡溶解度测试结果与分析

如图3a所示, Pip双载体样品的平衡溶解度均高于Pip无载体样品(图3a、b中Blank), 说明载体的存在对Pip有一定的增溶作用。而在图3b中, 双载体样品平衡溶解度随载体中MF占比增大而增大, 这与高分子中的羧基含量直接相关(MF的羧基含量比HF略高)。这说明载体和药物之间存在酸碱相互作用, 从而提高Pip的平衡溶解度。而MF:HF=4:1的双载体样品平衡溶解度有所下降, 可能是HF占比过低, 抑制Pip结晶效果所致。

2.4 超饱和实验

如图4a所示, MF、HF对Pip超饱和溶液具有较好的稳定作用, 这是因为MF、HF中含有羧基, 羧基与Pip形成氢键, 从而对超饱和溶液存在稳定作用。HF、MF、LF与K30制成双载体有增溶作用, 超饱和浓度远超平衡溶解度, 这可能与K30的水溶性好有

关。但是K30与LF双载体相比于其他几种双载体效果较差, 这与LF稳定Pip超饱和溶液能力差有关。LF羧基含量最高因而疏水性最弱, 对Pip超饱和和溶液稳定性最差; 相反HF具有良好的超饱和和稳定效果, MF对超饱和和稳定效果次之。以上结果表明影响高分子载体维持药物超饱和溶液的因素包括氢键, 氢键相互作用能够维持更高的超饱和浓度, 疏水性越高对超饱和溶液稳定效果越好^[6-8]。

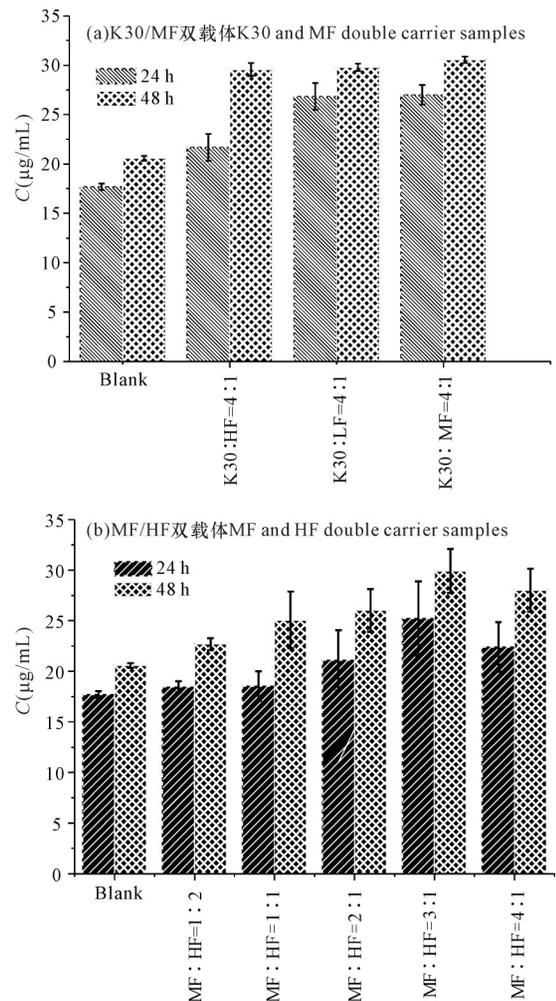


图3 不同双载体样品的平衡溶解度对比

Fig. 3 Comparison of equilibrium solubility of different double carrier samples

从图4b中可以看出HF与MF双载体固体分散体的超饱和测试中, 随着MF占比逐渐增大, 同一时间的Pip浓度均有小幅上升, 这与平衡溶解的结果类似。这些现象都与高分子载体中的羧基含量有

直接相关, MF 比 HF 羧基含量略高, 因此高分子与药物的氢键相互作用更强。

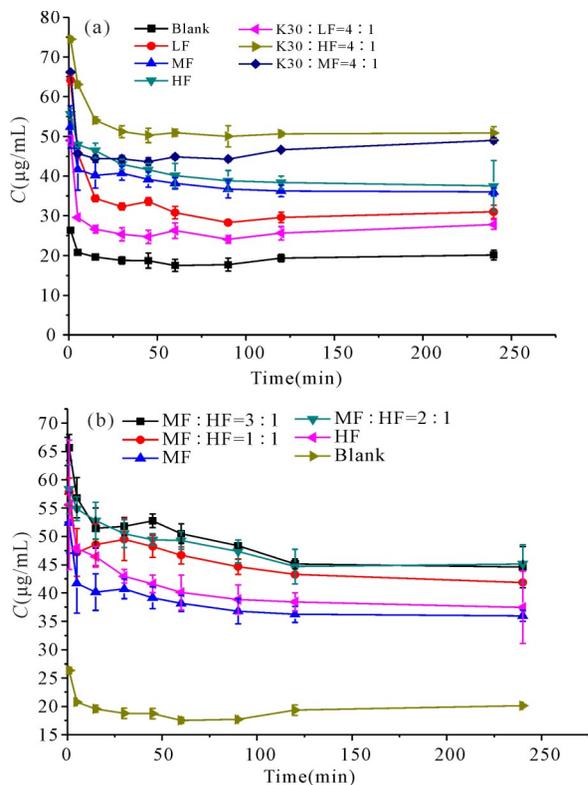


图4 不同样品的超饱和对比曲线

Fig.4 Supersaturated comparison curve of different samples

2.5 体外溶出实验

如图5所示, 有载体存在的样品溶出率均高于无载体存在的样品。随着样品中 HF 比例增加, 几种样品的溶出率均增加。这些双载体的固体分散体溶出效果从好到差依次是 K30/HF、K30/MF、K30/LF, 这与超饱和测试的结果一致。如图5a所示, 在 MF 与 HF 混合使用时, MF/HF 比例为 3:1 时药物释放速度最缓慢, 释放率最高; MF/HF 比例为 2:1 时溶出效果次之; MF/HF 比例为 1:1 时溶出效果最差, 但是均比单一载体溶出效果好, 与超饱和结果一致。

3 结论

高分子载体维持药物超饱和溶液的能力与高分子载体-药物相互作用、高分子的空间位阻等有关。Pip 的酰胺基与高分子载体的羧基存在氢键作用, 其强弱取决于高分子中羧基的含量; 另外, 高分

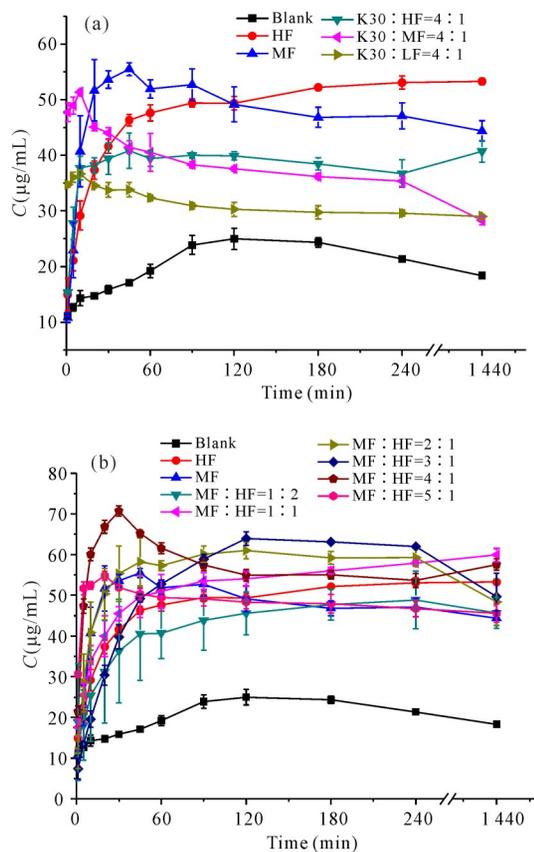


图5 不同样品的溶出曲线对比

Fig.5 Dissolution curve comparison of different samples

子载体与 Pip 间的酸碱相互作用有利于增加 Pip 的溶解度, 其增加程度与羧基的含量成正向关系。本实验选用不同羧基含量的纤维素衍生物 HF、MF、LF 和 PVP-K30 按比例组合为载体, 采用溶剂法将胡椒碱与双载体制备成固体分散体。DSC 结果表明固体分散体(载药量为 10%)中 Pip 均以无定形态分散在载体中, 且与纯药相比能显著提高药物溶出度和溶出速度, 红外分析结果显示胡椒碱与载体之间有相互作用。根据平衡溶解度、超饱和、溶出等实验结果, PVP-K30 与 LF 按一定比例所制的双载体固体分散体效果相比于单载体固体分散体效果稍差。HF 与 MF 双载体固体分散体溶出效果相比于单载体的溶出效果较好, MF/HF 比例为 3:1 时效果较好, 且随 MF 所占比例增大溶出速度增加。因此, HF 与 MF 在双载体以一定比例结合应用可以提高胡椒碱的超饱和度和溶出度。

参考文献

- [1] RAA Y B, MEDDA S, MUKHOPADHYAY S, et al. Targeting of piperine inter-calated in mannose-coated liposomes in experimental leishmaniasis, Indian[J]. J Biochem Biophys, 1999(36) :248-251.
- [2] DOUCETTE C D, HILCHIE A L, LIWSKI R, et al. A dietary phyto-chemical, inhibits angiogenesis[J]. J Nutr Biochem, 2013 (24) :231e239.
- [3] LI S, WANG C, WANG M W, et al. Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms[J]. Life Sciences, 2007, 80(15): 1373-1381.
- [4] VAIBHAV K, SHRIVASTAVA P, JAVED H, et al. Piperine suppresses cerebral ischemia-reperfusion-induced inflammation through the repression of COX-2, NOS-2, and NF- κ B in middle cerebral artery occlusion rat model. [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2012, 367(1/2): 73-84.
- [5] ATAL N, BEDI K L. Bioenhancers: Revolutionary concept to market[J]. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine, 2010, 1(2):96-99.
- [6] SINGH S, JAMWAL S, KUMAR P. Piperine enhances the protective effect of curcumin against 3-NP induced neurotoxicity: Possible neurotransmitters modulation mechanism[J]. Neurochemical Research, 2015, 40(8): 1758-1766.
- [7] PACHAURI M, GUPTA E D, GHOSH P C. Piperine loaded PEG-PLGA nanoparticles: Preparation, characterization and targeted delivery for adjuvant breast cancer chemotherapy[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015, 29:269-282.
- [8] SHIN S C. Studies on hydrophobic drug-soluble carrier coprecipitates(II) [J]. Archives of Pharmacal Research, 1979, 2(1):49-64.
- [9] KARAVAS E, KTISTIS G, XENAKIS A, et al. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2006, 63(2):103-114.
- [10] 谢燕, 邹珊珊, 李国文, 等. 醋柳黄酮固体分散体的制备研究[J]. 中草药, 2010, 41(9):1469-1473.
- [11] 宗莉, 肖衍字, 陈伶俐. 用二元载体固体分散技术提高尼索地平溶出度和调节溶出速率[J]. 中国药学杂志 2005, 40(3):203-206.
- [12] 张焯, 郑颖, 土一涛. 复方丹参制剂的质量研究[J]. 中成药, 2009, 31(12): 1855-1860.
- [13] BOGHRA R J, KOTHAWADE P C, BELGAMWAR V S, et al. Solubility, dissolution rate and bioavailability enhancement of irbesartan by solid dispersion technique[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2011, 59(4): 438-41.
- [14] 上海医药工业设计院药物制剂教研部. 药用辅料应用技术[M]. 第2版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002:72.
- [15] 李鑫, 史金儒, 羊梦诗, 等. 胡椒生物碱提取, 几何结构以及红外光谱的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(7):2082-2088.

Preparation of HPMCAS/PVP K30 Double Carrier Amorphous Solid Dispersion and Determination of Its Dissolution *in Vitro*

LIANG Qi¹, ZHU Chenghao^{1,2}, DENG Yueyi¹, GAO Feilong¹, ZHOU Zhenfang¹, FANG Yudan¹, ZHANG Lei¹, GAO Sheng¹

(1.College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2.Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China)

Abstract: In order to improve the *in vitro* dissolution of piperine (Pip), the preparation technology of Pip double-carrier amorphous solid dispersion was studied. Three isomers of hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate (HPMC-AS) (HPMC-AS-HF, HPMC-AS-MF, HPMC-AS-LF, referred to as HF, MF and LF, respectively) and polyvinyl pyrrolidone PVP K30 (K30) were mixed as a carrier in a certain ratio, and its effect on the super saturation of Pip solution was determined by super saturation test. The Pip dual-carrier amorphous solid dispersion was prepared by solvent method, and the Pip dual-carrier solid dispersion was characterized by differential scanning calorimetry (DSC) and infrared spectroscopy (IR). The experiment results showed that the combination of K30/HF, K30/LF and K30/MF all had a certain solubilization effect on Pip, and HF and MF could increase the super saturation of the solution. When the dual carrier solid dispersion was loaded at 10%, the dissolution rate and stability were in the order of K30/HF > K30/MF > K30/LF. When the MF/HF ratio was 1:1 or 4:1, the effect was the best. As the MF ratio increased, the dissolution rate of the dual carrier solid dispersion increased and the stability decreased. Therefore, the dual-carrier amorphous solid dispersion has a significant effect on maintaining the super saturation of pip and improving the dissolution *in vitro*.

Key words: piperine, amorphous solid dispersion, stability, *in vitro* dissolution

责任编辑:米慧芝



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gkxyxbjb@126.com

投稿系统网址:<http://gkx.ijournal.cn/gkxyxb/ch>