

聚维酮联用轻质碳酸钙用于槲皮素固体分散体的制备及评价

侯天凌, 张琦, 刘丽花, 郭伊霖, 王冰*

(上海中医药大学 中药学院, 教学实验中心, 上海 201203)

[摘要] **目的:**为提高槲皮素的稳定性及溶出度,以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)联用轻质碳酸钙(PCC)为载体制备槲皮素固体分散体。**方法:**采用溶剂法制备固体分散体,以电子扫描显微镜法、差示扫描量热法对槲皮素固体分散体微观结构、物理特征等进行表征分析,利用小杯法考察槲皮素固体分散体的体外溶出行为,通过稳定性影响因素试验考察其稳定性。**结果:**固体分散体中槲皮素在载体中以无定形态分散;在 15 min 时,槲皮素固体分散体[药质比 1:3, PVP-PCC(2:1)]的药物累积释放率 >90%;稳定性影响因素试验表明固体分散体中药物不受强光、高湿、高温条件的影响。**结论:**PVP 联用 PCC 作为混合载体所制备的槲皮素固体分散体具有速释效果,能显著改善槲皮素的溶出行为,且稳定性良好。

[关键词] 槲皮素; 聚维酮; 轻质碳酸钙; 固体分散体; 体外溶出; 稳定性

[中图分类号] R283.6;R284;R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0017-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100017

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170307.1616.014.html>

[网络出版时间] 2017-03-07 16:16

Preparation and Evaluation of Quercetin Solid Dispersion by Combining Povidone with Precipitated Calcium Carbonate

HOU Tian-ling, ZHANG Qi, LIU Li-hua, GUO Yi-lin, WANG Bing*

(Experiment Center for Teaching and Learning, School of Pharmacy,
Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** In order to improve the stability and solubility of quercetin, quercetin solid dispersion was prepared with the combination of polyvinyl pyrrolidone (PVP) and precipitated calcium carbonate (PCC) as carriers. **Method:** The quercetin solid dispersion was prepared by solvent evaporation method. The microscopic structure and physicochemical properties of the solid dispersion were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and differential scanning calorimetry (DSC), *in vitro* dissolution behavior and stability of the solid dispersion were also investigated by small cup method and stability test, respectively. **Result:** Quercetin in the solid dispersion was amorphous form in the carriers. The cumulative release rate of quercetin in the solid dispersion [drug-matrix (1:3), PVP-PCC (2:1)] was >90% at 15 min. The stability of quercetin solid dispersion was not affected by light, high humidity and high temperature. **Conclusion:** Quercetin solid dispersion, prepared by combining PVP with PCC as a hybrid carrier, has an immediate release effect; and it can significantly increase the dissolution behavior of quercetin with good stability.

[Key words] quercetin; povidone; precipitated calcium carbonate; solid dispersion; *in vitro* dissolution; stability

[收稿日期] 20161225(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81303233);上海中医药大学第9期大学生科创项目

[第一作者] 侯天凌,2013级药学专业,本科在读,Tel:021-51322685,E-mail:tianlinghou@hotmail.com

[通讯作者] *王冰,博士,副教授,从事中药纳米给药系统研究,Tel:021-51323123,E-mail:annabel_cn@163.com

槲皮素是一种多羟基黄酮类化合物,化学名 3,3',4',5,7-五羟基黄酮,具有很强的抗氧化性,能够清除体内的自由基,使 DNA 和细胞免受氧化损伤^[1],还具有抗菌、抗过敏和抗癌等作用^[2]。但槲皮素在水溶液中易被氧化,且水溶性差、口服生物利用度低,进而影响其药效发挥,限制了该药物的临床应用^[3]。

固体分散体能使药物具有高度润湿性,提高药物溶出度和吸收速度,改善药物的生物利用度等^[4-5]。目前,常用的固体分散体载体有聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinylpyrrolidone, PVP),泊洛沙姆 188 (F68),聚乙二醇 (polyethyleneglycol, PEG) 等^[6-9],但是以上载体材料多来自于有机合成,可能存在试剂残留问题,被用作固体分散体载体材料时,可能存在一定的安全隐患^[10-11]。轻质碳酸钙 (precipitated calcium carbonate, PCC) 为无机化学品,其颗粒形状比较规则,可被看作单分散粉体,具有粒度分布较窄、粒径较小的优点^[12],且来源丰富、价廉易得、生产工艺成熟,无臭、无刺激性和毒性,生物相容性良好,在医药领域常被用作片剂的填充剂,或作为医药产品的中和剂、缓冲剂、溶解剂及钙源补充剂等^[13-14]。

研究表明采用联合载体制备固体分散体优于单一载体^[15]。由于载体的性质差异,通过联用可达到优化载体系统理化性质的目的,使得固体分散体的稳定性、溶解度得以改善,并能够调节药物释放速度。药物性质和载体材料结构、熔点、溶解性等都是选择固体分散体制备方法时应考虑的因素,而药物在固体分散体中的分散状态则是影响药物溶出度的重要因素。表征及评价固体分散体的方法有显微镜法、差示扫描量热法及 X-射线衍射法等^[16]。随着中药难溶性药物开发利用的增多,在提高难溶性药物溶出度和生物利用度方面,固体分散技术优势十分明显。故本实验选择槲皮素为模型药物, PVP 联用 PCC 制备槲皮素固体分散体 (QU-PVP-PCC),且在处方中添加了 L(+)-抗坏血酸作为抗氧化剂以提高药物稳定性,通过扫描电镜、差式扫描量热法对其进行物相表征,结合体外溶出度、稳定性影响因素试验对其质量进行评价,为提高中药难溶性药物制剂的制备工艺及溶出度提供实验依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), BS124S 型电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司), DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器

(上海予华仪器有限公司), RCZ-6C1 型药物溶出度仪 (上海黄海药检仪器有限公司), Modulated DSC2910-1098B 型差示扫描量热仪 (美国 TA 仪器公司), S-3400N 型扫描电镜 (日本日立公司)。

聚乙烯吡咯烷酮 K-30 (PVP K-30), L(+)-抗坏血酸 (维生素 C, VC), 聚山梨酯-80 (tween-80) 和十二烷基硫酸钠 (SDS) 均购自国药集团化学试剂有限公司; 槲皮素 (武汉贝尔卡生物医药有限公司, 批号 20151120, 纯度 > 97%), 槲皮素对照品 (北京世纪奥科生物技术有限公司, 批号 15090717, 纯度 ≥ 98%), 轻质碳酸钙 (PCC, 德兴明缘化工材料有限公司, 批号 20151210), 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 槲皮素的含量测定

2.1.1 色谱条件 Alltima™ C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 流动相乙腈-0.5% 冰乙酸 (35:65), 流速设定 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长设置 360 nm, 进样量 20 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取槲皮素对照品 10 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得 2.007 g·L⁻¹ 储备液。

2.1.3 线性关系考察 分别精密吸取槲皮素对照品储备液 12.5, 50, 250, 500, 1 000, 1 500 μL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 63.623X - 145.45$ ($r = 0.9998$), 线性范围 2.509 ~ 301.1 mg·L⁻¹。

2.2 槲皮素-PVP-PCC 固体分散体及物理混合物的制备 称取槲皮素适量, 加适量乙醇溶解, 控制药物与载体质量比 1:3, 分别准确称取 PVP 与 PCC 质量比为 2:1 的辅料, 与药物乙醇溶液充分混匀, 40 ℃ 旋转蒸发除去溶剂, 真空干燥, 研细, 过 80 目筛, 同时加入 VC, 控制其与药物质量比 1:2, 得固体分散体, 备用。将槲皮素与载体 [PVP-PCC (2:1)] 按质量比 1:3 置于玛瑙研钵中研细, 混匀, 过 80 目筛, 加入 VC, 控制其与药物质量比 1:2, 得物理混合物, 置干燥器内保存备用。

2.3 固体分散体处方的单因素试验考察

2.3.1 溶出介质及抗氧化剂 预试验表明槲皮素在溶出介质中久置极易被氧化变色, 且槲皮素在水中饱和溶解度仅 2.76 mg·L⁻¹, 难以达到漏槽条件, 因此, 在溶出介质中需加入表面活性剂, 并在固体分散体处方中添加抗氧化剂。以药物累积释放率为检测指标, 对溶出介质和抗氧化剂进行筛选。取槲皮

素固体分散体(药质比 1:3, 固体分散体中药物质量分数 $250 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 分别在不同溶出介质及含不同抗氧化剂处方条件下, 根据 2015 年版《中国药典》第四部通则 0931 溶出度与释放度测定法的第二法桨法测定溶出度^[17], 溶出介质 200 mL, 转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 温度 $(37 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$, 于 60 min 取样 2 mL, 经 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 取续滤液进行 HPLC 测定, 计算累积释放率, 见表 1。

表 1 槲皮素固体分散体在不同溶出介质中 60 min 累积释放率
Table 1 Cumulative release rates of quercetin solid dispersion in different media at 60 min

溶出介质	抗氧化剂	60 min 累积释放率/%
水	叔丁基对苯二酚	1.8
水	VC	1.9
0.5% SDS	-	7.4
0.5% tween-80(通氮气)	-	36.2
0.5% tween-80	-	22.4
0.5% tween-80	VC	88.1

结果与 SDS 相比, tween-80 能够明显提高槲皮素固体分散体的累积释放率, 而 VC 的抗氧化作用也优于叔丁基对苯二酚; 以 0.5% tween-80 作为溶出介质, 其他条件不变, 在通氮气的环境下, 槲皮素固体分散体的累积释放率有明显提高; 而 VC 作为辅料加入槲皮素固体分散体中能显著提高其累积释放率, 故选择 0.5% tween-80 为溶出介质, VC 为抗氧化剂。

2.3.2 VC 用量 取槲皮素固体分散体(药质比 1:3, 固体分散体含药量 $250 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 加入不同比例的抗氧化剂(槲皮素与 VC 的质量比分别为 2:1, 1:1, 1:2), 以 200 mL 的 0.5% tween-80 溶液为溶出介质, 其他条件同 2.3.1 项, 分别于 30, 60 min 各取样 2 mL, 计算 30 min 累积释放率分别为 90.8%, 89.3%, 92.4%, 60 min 累积释放率分别为 91.8%, 95.2%, 93.4%。结果表明抗氧化剂 VC 对固体分散体的溶出度无明显影响。因此, 为达到更大载药量, 选择槲皮素与 VC 的质量比 2:1。

2.3.3 载体材料比例 称取槲皮素适量, 加适量乙醇溶解, 精密称取不同质量比的载体(PVP 与 PCC 的质量比分别为 3:0, 2:1, 1:1, 1:2, 0:3), 按 2.2 项下方法制备固体分散体, 加入 VC, 药物与其质量比 2:1, 得 5 种固体分散体。通过溶出度试验筛选最优辅料比例, 按 2.3.1 项下方法测定溶出度, 分别于 5, 10, 15, 30, 60, 90 min 各取样 2 mL, 同时补加同温度等量新鲜溶出介质, 计算累积释放率, 见图 1。结果当 PVP 与 PCC 作为联用载体, 二者质量比为 2:1 时, 制备的固体分散体可明显提高槲皮素的溶出度。

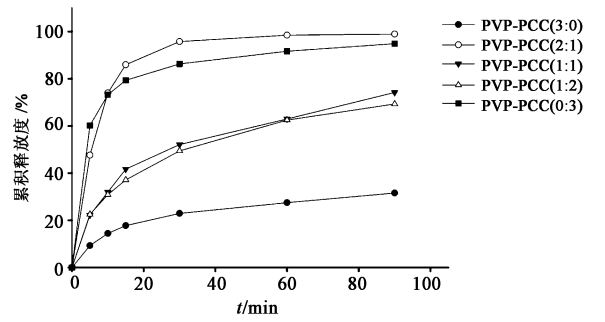


图 1 不同质量比联用载体的槲皮素-PVP-PCC 固体分散体的释放曲线

Fig. 1 Dissolution curves of quercetin-PVP-PCC solid dispersion with different mass ratio of hybrid carriers

2.3.4 药质比 称取槲皮素适量, 加适量乙醇溶解, 控制药物与载体质量比分别为 1:3, 1:5, 1:7, PVP 与 PCC 的质量比为 2:1, 分别准确称取上述载体, 与药物乙醇溶液充分混匀, 按 2.3.3 项下方法制备, 得 3 种固体分散体。取槲皮素, 含 VC 的槲皮素[槲皮素-VC(2:1)], 不同药质比的固体分散体及物理混合物[药质比 1:3, PVP-PCC(2:1), 下同], 按 2.3.1 项下方法测定溶出度, 分别于 1, 3, 5, 15, 30, 45, 60, 90 min 取样 2 mL, 同时补加同温度等量的新鲜溶出介质, 计算累积释放率, 见图 2。结果显示将 PVP 联用 PCC 作为槲皮素载体材料所制备的固体分散体可明显提高槲皮素的溶出速率和程度, 且处方中添加 VC 后其溶出度明显提高, 表明 VC 可有效改善槲皮素在液体环境中的稳定性。但随载体用量增加, 槲皮素的溶出速率仅略有提高。因此, 在保证载药量尽量大的前提下, 选择药质比 1:3。

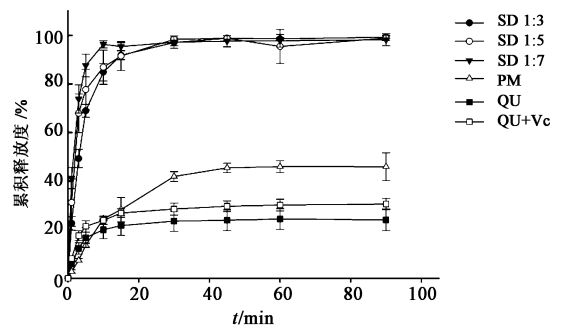


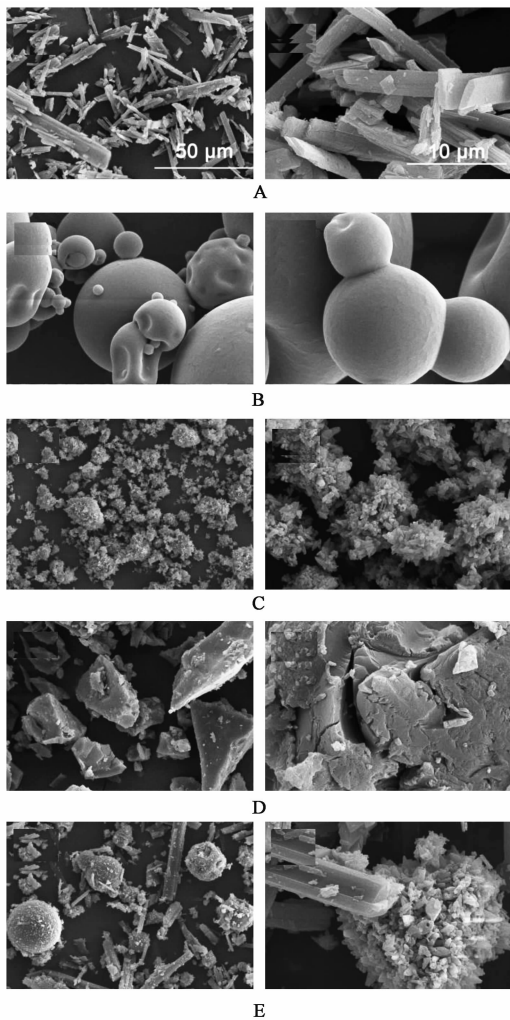
图 2 槲皮素(QU), QU 固体分散体(SD)及物理混合物(PM)的累积释放曲线

Fig. 2 Dissolution curves of quercetin (QU), quercetin solid dispersion (SD) and physical mixture (PM)

2.4 固体分散体的物相表征

2.4.1 电子扫描显微镜法(SEM) 测试条件为真空镀金 70 s, 用扫描电镜观察槲皮素, PVP, PCC, 槲

皮素-PVP-PCC 固体分散体及相应物理混合物的表面和晶体结构,见图 3。结果显示槲皮素具有明显的晶形特征,呈长针状结晶。PVP 呈皱缩的球形,其粒径约 5 ~ 100 μm 。PCC 呈不规则块状,粒径均 < 5 μm 。在物理混合物中,槲皮素的针状结晶,球状的 PVP 和 PCC 的晶粒特征均可见,且可观察到槲皮素的结晶及 PCC 的晶体在球状的 PVP 上有很强的黏附性,这也是导致物理混合物相较于槲皮素,其溶出度有显著增大的原因。相比之下,固体分散体的形态及粒径形状有很大的改变,呈不规则颗粒状,且未见槲皮素的特征晶形,表明槲皮素晶体以无定形态完全分散在载体中。



A. 槲皮素; B. PVP; C. PCC; D. 槲皮素-PVP-PCC 固体分散体; E. 物理混合物(图 4 同)

图 3 不同样品的 SEM

Fig. 3 SEM of different samples

2.4.2 差示扫描量热法(DSC) 测试条件为铝坩埚,气氛为氮气,升温速率 $10.00\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,升温范围 25 ~ 300 $^\circ\text{C}$ 。分别对槲皮素,PVP,PCC,槲皮素-

PVP-PCC 固体分散体及相应物理混合物进行 DSC 分析,见图 4。结果显示槲皮素在 129.43 $^\circ\text{C}$ 处有一吸热峰,为其特征峰。在物理混合物中槲皮素的吸热峰可见。在固体分散体中未见该槲皮素特征峰,提示槲皮素在载体中以无定形态分散。而固体分散体与物理混合物在 190 $^\circ\text{C}$ 处的一个峰可能是在高温下混合反应的产物。

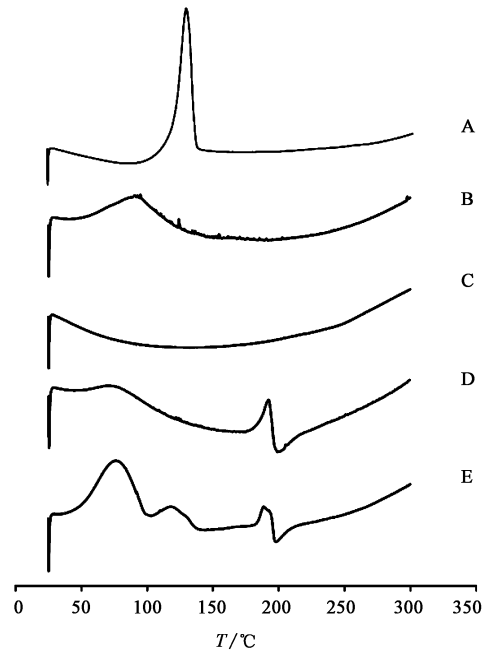


图 4 不同样品的 DSC

Fig. 4 DSC curves of different samples

2.5 固体分散体的稳定性考察 按 2015 年版《中国药典》第四部通则 9001 原料药物与制剂稳定性试验指导原则要求^[17],分别对槲皮素、固体分散体及物理混合物进行稳定性影响因素试验。将样品在高温 60 $^\circ\text{C}$,高湿[相对湿度 $(92.5 \pm 5)\%$,25 $^\circ\text{C}$]和强光照射 $(4\ 500 \pm 500)$ Lx 条件下,分别放置 10 d,分别在 0,5,10 d 取样检查性状、含量及吸湿度,判断各因素对制剂中药物稳定性的影响,见表 2。结果表明在高温条件下,槲皮素、固体分散体、物理混合物中槲皮素的含量在 10 d 内稳定,不受高温条件影响。在强光照射条件下,样品在 10 d 内槲皮素含量基本无变化。在相对湿度 $(92.5 \pm 5)\%$ 条件下,10 d 内吸收增重比均 < 0.5%,无明显吸潮现象。与 0 d 相比,第 10 天样品中槲皮素的相对质量分数均有所下降,且物理混合物中槲皮素的含量下降幅度最明显。

3 讨论

本文考察了载体材料比例、药质比对槲皮素固

表 2 高温、高湿及光照条件下对槲皮素相对质量分数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	高温		光照		高湿	
	5 d	10 d	5 d	10 d	5 d	10 d
	槲皮素	95.73 ± 0.9	99.65 ± 2.4	99.52 ± 2.7	96.96 ± 8.7	90.96 ± 8.6
固体分散体	102.85 ± 0.5	101.43 ± 1.3	98.12 ± 3.6	98.12 ± 0.9	89.50 ± 0.6	93.17 ± 4.6
物理混合物	104.90 ± 2.0	103.17 ± 1.8	99.01 ± 1.3	97.78 ± 4.0	91.34 ± 2.6	86.80 ± 4.8

体分散体制备的影响,以药物释放率为指标确定了药物与载体材料比例,从而筛选出制备槲皮素固体分散体的最佳处方。在槲皮素固体分散体的处方筛选中,发现载体材料比例对于药物释放起着决定性作用。通过比较不同比例的 PVP 与 PCC 对方剂中药物释放情况的影响,发现单用 PVP 作为载体,槲皮素固体分散体在 90 min 时的累积释放率仅 31.6%,而将 PVP 与 PCC 以不同比例联用制备槲皮素固体分散体,均明显优于单用 PVP。其中,当 PVP 与 PCC 质量比为 2:1 时,槲皮素固体分散体的累积释放率在 15 min 即可达 98.9%。

本研究还表明将 PVP 与 PCC 联用作为槲皮素固体分散体载体,并在处方中添加 VC 作为抗氧化剂时,制备的槲皮素固体分散体不仅具有较快的体外速释性能,还能提高药物在溶出介质中的稳定性,进一步提示在体内液体环境中,VC 有助于药物保持稳定。稳定性影响因素试验表明固体分散体中槲皮素含量不受光照、高湿和高温得影响,说明以 PVP 联用 PCC 作为载体,制备的槲皮素-PVP-PCC 固体分散体的稳定性良好。

本研究的固体分散体制备工艺简单、处方合理,不仅能显著提高槲皮素的溶出度,且能提高槲皮素在溶出介质液体环境中的稳定性。以上研究均表明以 PVP 联用 PCC 作为固体分散体载体的解决方案,不仅为后续以槲皮素固体分散体作为中间体而研制的制剂提供了溶出性能优良且安全性好的中间体,还为提高其他中药难溶性成分的溶出度提供了一种技术解决思路,具有一定的应用价值。

[参考文献]

[1] 余从立. 槲皮素的电分析与电氧化机理研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2006.
 [2] 孙阳,车艳新,吴勃岩. 槲皮素抗肿瘤药理作用及剂型研究进展[J]. 现代医药卫生,2016,32(20):3142-3144.
 [3] 翟光喜,娄红详,邹立家,等. 药物磷脂复合物的研究进展[J]. 中国药学杂志,2001,36(12):800-803.
 [4] Verreek G, Vandeeruys R, Conde V D, et al. The use of

three different solid dispersion formulations: melt extrusion, film-coated beads, and a glass thermoplastic system to improve the bioavailability of a novel microsomal triglyceride transfer protein inhibitor[J]. J Pharm Sci,2004,93(5):1217-1228.

[5] 董雅芬,胡滨,杨秋娅,等. 固体分散体在提高难溶性药物口服生物利用度中的应用[J]. 药学与临床研究,2015,23(1):51-54.
 [6] 李宝红,张立坚,东野广智,等. 槲皮素聚维酮固体分散体的研制[J]. 中国药房,2004,15(11):660-661.
 [7] 李宝红,张立坚,东野广智,等. 槲皮素-聚乙二醇固体分散体的研制[J]. 华西药学杂志,2004,19(1):35-37.
 [8] 浦益琼,缪凯名,王冰,等. 茜草总醌固体分散体的制备及体外溶出性能评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(15):9-13.
 [9] 刘珊珊,赵会英,侯振兴. 热熔挤出法制备槲皮素固体分散体[J]. 中国现代应用药学,2013,30(7):748-755.
 [10] 张嘉,李贻奎,李连达,等. 聚山梨酯-80 和泊洛沙姆 188 等 4 种增溶剂对小鼠的急性毒性[J]. 中国新药杂志,2008,17(17):1491-1493.
 [11] 郑惠丹,张月芬,杨权,等. 几种药用高分子辅料的体内外毒性比较[J]. 海峡药学,2016,28(3):18-21.
 [12] 王峰. 轻质碳酸钙生产新工艺、新技术与产品质量控制标准全书[M]. 北京:中国知识出版社,2006:23-28.
 [13] 韩金荣. 轻质碳酸钙的应用及其发展前景[J]. 石油化工应用,2009,28(2):4-5.
 [14] Fatehi P, Hamdan F C, NI Y. Adsorption of lignocelluloses of prehydrolysis liquor on calcium carbonate to induce functional filler[J]. Carbohydr Polym,2013,94(1):531-538.
 [15] 刘婊婊,高署,柯学,等. 难溶性药物固体分散体研究新进展[J]. 药学进展,2013,37(4):166-173.
 [16] 任秀华,李高. 固体分散体在药剂学中的应用及进展[J]. 医药导报,2003,22(2):110-112.
 [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:111-355.

[责任编辑 刘德文]