

葫芦素 B 固体分散体的制备

程佳慧， 武 倩， 刘喜纲*
(承德医学院中药研究所，河北省中药研究与开发重点实验室，河北 承德 067000)

摘要：目的 制备葫芦素 B 固体分散体。**方法** 溶剂法制备固体分散体后，以溶出度为评价指标筛选药物-载体 (PVP K30) 比例。扫描电子显微镜 (SEM)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、差示扫描量热 (DSC)、X 射线衍射 (XRD) 进行表征。**结果** 药载比为 1 : 11 时，60 min 内溶出度为 62.01%。葫芦素 B 可能以无定形态分散于载体中。**结论** 该方法简便可行，葫芦素 B 制成固体分散体后体外溶出度明显提高。
关键词：葫芦素 B；固体分散体；制备；溶剂法
中图分类号：R944 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2020)03-0570-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.03.004

Preparation of cucurbitacin B solid dispersions

CHENG Jia-hui, WU Qian, LIU Xi-gang*
(Hebei Provincial Key Laboratory for Research and Development of Traditional Chinese Medicine; Institute of Chinese Mateia Medica, Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare cucurbitacin B solid dispersions. **METHODS** For the solid dispersions prepared by solvent method, drug-carrier (PVP K30) ratio screened with dissolution rate as an evaluation index. Characterization was performed by scanning electron microscope (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD). **RESULTS** The dissolution rate within 60 min was 62.01% at the drug-carrier ratio of 1 : 11. Cucurbitacin B may be dispersed in carrier with an amorphous phase. **CONCLUSION** Cucurbitacin B demonstrated obviously enhanced *in vitro* dissolution rate after being preparaed into solid dispersions by this simple and feasible method.
KEY WORDS: cucurbit B; solid dispersions; preparation; solvent method

葫芦素 B 是葫芦科植物中提取分离得到的一种四环三萜类化合物^[1]，用于治疗肝炎、肝癌等^[2]，对卵巢癌^[3]、乳腺癌^[4]、胃癌^[5]、肺癌^[6]、直肠癌^[7]等，表现出良好的药理作用，有望成为有效的抗肿瘤药物，但它在生物药剂学分类系统中为第Ⅳ类药物，即低溶解性-低渗透性药物，在水中溶解度仅为 22 μg/mL，绝对生物利用度仅为 1.37%^[8]，极大程度限制了临床应用。目前，葫芦素 B 剂型有磷脂复合物^[9-10]、水-醇凝胶^[11]、脂肪乳注射剂^[12]、纳米混悬凝胶剂^[13]、固体脂质纳米粒^[14-15]、纳米胶束^[16]等，其中固体分散技术简单可行，易实现工业化生产。

固体分散体是指药物以分子、胶态、微晶或无定形态分散在适宜载体材料中形成的固体分散体系，对药物溶出度、生物利用度均有显著提高。本实验采用溶剂法制备葫芦素 B 固体分散体后，通过结晶抑制实验筛选载体，对其溶出度进行考察，再通过 SEM、XRD 等进行物相表征，以期对相关新剂型研发提供参考。

1 材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司)；AG-254 电子分析天平、STARe SW 11.00 热分析仪 (瑞士梅特勒-托利多公司)；RC806 溶出试验仪 (天津市天大天发科技有限公司)；SU8020

收稿日期：2019-09-13
基金项目：河北省高等学校科学技术研究项目 (QN2018057)；河北省高校重点学科建设项目 (冀教高 [2013] 4)
作者简介：程佳慧 (1994—)，女，硕士生，研究方向为中药制剂现代化。E-mail: 877492528@qq.com
* 通信作者：刘喜纲 (1978—)，男，硕士，教授，研究方向为中药制剂现代化。Tel: (0314) 2290629, E-mail: liuxg@mail@sina.com

扫描电镜（日本日立公司）；Nicolet 6700 红外光谱仪（美国 Thermo Nicolet 公司）；D8-Advance X 射线衍射仪（德国 Bruker 公司）；KQ-1000E 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

葫芦素 B 对照品（中国食品药品检定研究院，批号 111945-201301）；交联聚乙烯吡咯烷酮（北京凤礼精求医药股份有限公司，批号 95314575L0）；PEG-4000（天津市光复精细化工研究所，批号 20160310）；低取代羟丙基纤维素（湖州展望药业，批号 20160346）；PVPk30（德国 BASF 公司，批号 G53326PT0）。乙腈、磷酸为色谱纯（美国迈瑞达公司）；其他试剂均为分析纯；水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 固体分散体 采用溶剂法。按一定比例精密称取葫芦素 B、载体适量，溶于适量二氯甲烷中，超声完全溶解后混匀，50℃下减压，挥去二氯甲烷，待呈黏稠状后取出置干燥器中干燥 24 h，研成细粉，即得，密封保存。

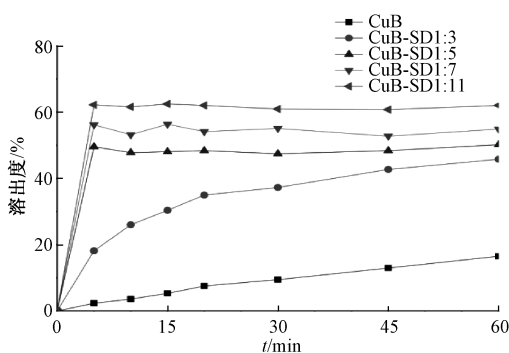
2.1.2 物理混合物 按一定比例精密称取葫芦素 B、载体适量，置于研钵中混合均匀，即得，密封保存。

2.2 处方筛选

2.2.1 色谱条件 C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μ m）；流动相乙腈-0.1% 磷酸（58：42）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；检测波长 228 nm；进样量 10 μ L。

2.2.2 药载比筛选 根据预实验结果，选择 PVP K30 作为载体，按 1：3、1：5、1：7、1：11 比例精密称取葫芦素 B、载体适量，按“2.1.1”项下工艺制备固体分散体。按照 2015 年版《中国药典》第四部通则中 0931 项下“溶出度与释放度测定法”下桨法测定溶出度，取样品（相当于原料药 3 mg）适量置于 900 mL 纯水中，介质温度（37±0.5）℃，转速 100 r/min，于 5、10、15、20、30、45、60 min 各取样 2 mL，0.45 μ m 微孔滤膜过滤，补加同体积等温溶出介质，续滤液在“2.2.1”项下色谱条件进样测定，结果见图 1。

由此可知，溶出 60 min 时固体分散体累积溶出度明显高于原料药；随着药载比升高，累积溶出度也随之增加，即 1：11 时溶出效果最优，与原料药比较提高了 277.2%，其次为 1：7。因此，选择药载比 1：11、1：7 进行物相表征。



注：CuB 为葫芦素 B，SD 为固体分散体。

图 1 样品溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves for samples

2.3 物相表征^[17]

2.3.1 扫描电子显微镜（SEM） 测定条件为电流 10 mA，加速电压 5.0 kV，观察原料药、PVP K30、固体分散体（药载比 1：7、1：11）、物理混合物（药载比 1：7、1：11）外观形貌和晶型结构，记录图像，结果见图 2。由此可知，原料药（图 2A）以棱柱状或锥状结晶存在；PVP K30（图 2B）呈球状或类球形，大小不完全相同；物理混合物（图 2D、2F）存在原料药、PVP K30 球状结构，表示只是药物和载体的简单混合；固体分散体（图 2C、2E）呈紧实的不规则团块状，与原料药、PVP K30 显微结构完全不同，而且原料药晶体形状消失。

2.3.2 傅里叶变换红外光谱（FTIR） 将原料药、PVP K30、固体分散体（药载比 1：7、1：11）、物理混合物（药载比 1：7、1：11）与适量 KBr 研磨、混匀后压片，在 4 000~500 cm^{-1} 波数范围内进行扫描，结果见图 3。由此可知，原料药存在 2 个特征峰，分别是 3 450 cm^{-1} 左右的羟基峰和 1 718、1 693 cm^{-1} 处的酮基峰；PVP K30 由于共轭效应的存在，C=O 的伸缩振动峰向低频方向移动，出现在 1 655 cm^{-1} 左右；物理混合物在 3 450 cm^{-1} 左右仍存在原料药特征峰，同时 PVP K30 C=O 的伸缩振动峰也清晰可见，表明它是两者简单叠加；固体分散体中原料药羟基峰向低频方向移动至 3 420 cm^{-1} ，酮基峰由 1 718、1 693 cm^{-1} 合并为单峰，向低频方向移动而且峰变宽，与载体羰基峰基本重合，出现在 1 650 cm^{-1} 处，未出现其他特征峰，表明原料药与 PVP K30 可能发生氢键相互作用。

2.3.3 差示扫描量热（DSC） 取原料药、PVP K30、固体分散体（药载比 1：7、1：11）、物理混

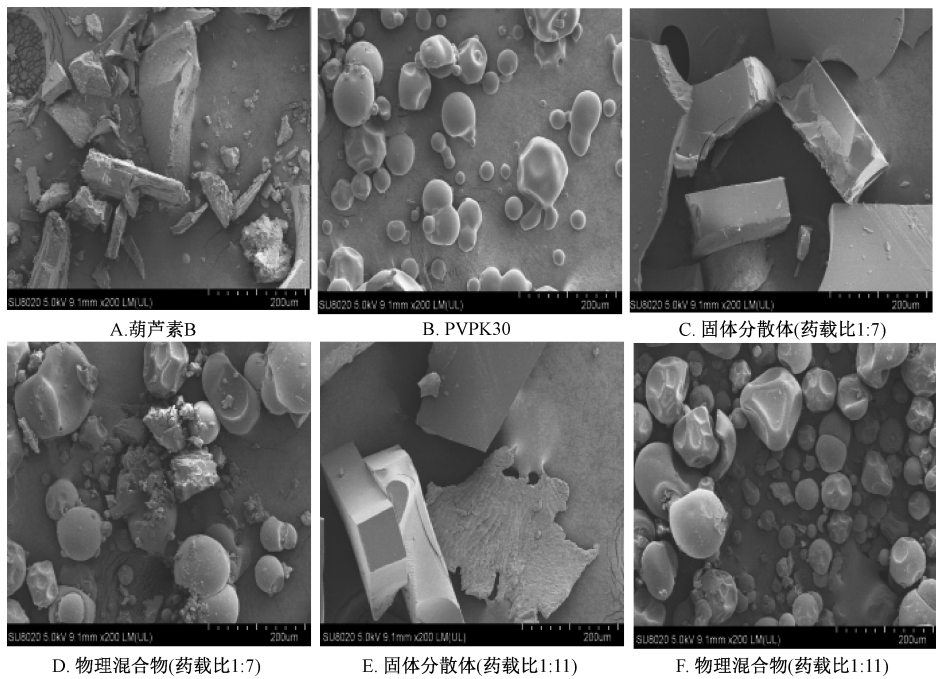
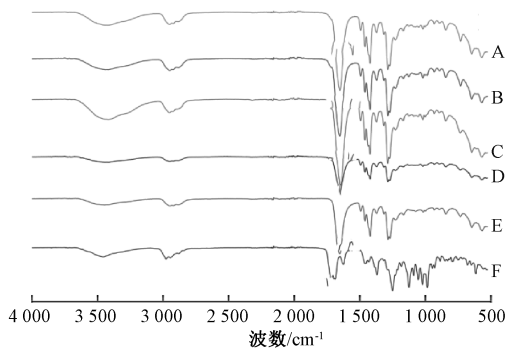
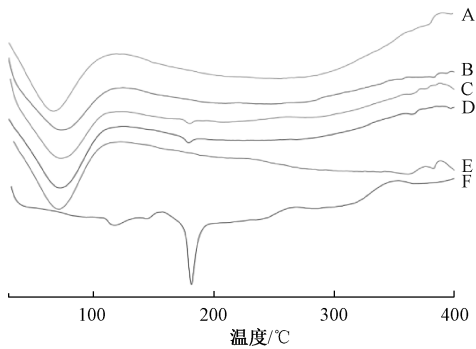


图 2 样品 SEM 图 (×200)
Fig.2 SEM images for samples (×200)



注：A~F 分别为固体分散体（药载比 1：11）、固体分散体（药载比 1：7）、物理混合物（药载比1：11）、物理混合物（药载比 1：7）、PVP K30、原料药。

图 3 样品 FTIR 图谱
Fig.3 FTIR spectra for samples



注：A~F 分别为固体分散体（药载比 1：11）、固体分散体（药载比 1：7）、物理混合物（药载比 1：11）、物理混合物（药载比 1：7）、PVP K30、原料药。

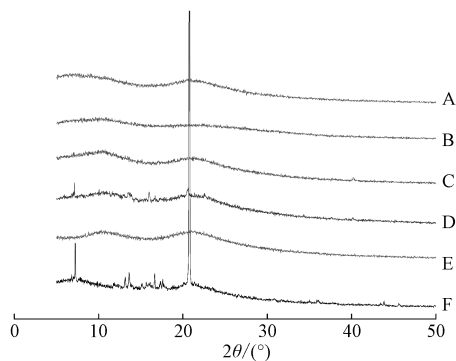
图 4 样品 DSC 曲线
Fig.4 DSC curves for samples

合物（药载比 1：7、1：11）适量，均匀放入铝盘内，测定条件为升温速度 10℃/min，扫描温度范围 30~400℃，样品气氮气，结果见图 4。由此可知，原料药特征熔点峰出现在 181.57℃，与文献报道一致；PVP K30 熔点峰出现在 71.56℃；物理混合物中原料药、PVP K30 特征熔点峰均存在，但前者强度变弱，表明其结晶度降低，但仍以晶体形式存在；固体分散体中未出现原料药特征熔点峰，仅有 PVP K30 的，表明原料药晶型发生了改变。

2.3.4 X 射线衍射 (XRD) 取葫芦素 B、PVP

K30、固体分散体（药载比 1：7、1：11）、物理混合物（药载比 1：7、1：11）适量，测定条件为波长（Cu 靶）1.540 6 nm，工作电流 40 mA，工作电压 40 kV，扫描范围 3°~50°，结果见图 5。由此可知，原料药在 6.80°、7.22°、13.15°、13.60°、16.65°、17.62°、20.77°等处均存在晶体峰；PVP K30 峰较宽而平缓，无晶型结构存在，为无定形结构；物理混合物（药载比 1：7）在 7.22°、13.15°、16.69°、17.62°、20.77°仍可见强度变弱的原料药特征峰，表明原料药仍以晶体形式存在；物理混合物（药载比 1：11）中原料药特征峰不明

显,可能是其浓度较低所致;固体分散体中未发现原料药晶体衍射峰,表明它可能以无定形状态存在。



注: A~F 分别为固体分散体 (药载比 1 : 11)、固体分散体 (药载比 1 : 7)、物理混合物 (药载比 1 : 11)、物理混合物 (药载比 1 : 7)、PVP K30、原料药。

图 5 样品 XRD 图谱

Fig. 5 XRD patterns for samples

3 讨论

葫芦素 B 难溶于水,生物利用度较低,而将其制备成固体分散体时可在一定程度上改善这些问题。本实验考察了 PVPP、PEG-4000、低取代羟丙基纤维素、PVP K30 这 4 种常用载体,通过比较四者抑晶效果,筛选出最佳载体为 PVP K30。

制备固体分散体时选择二氯甲烷作为溶剂,它对葫芦素 B 的溶解性较好,同时挥发性优于无水乙醇,故在制备过程中既能保证该成分和载体完全溶解,又可使溶剂用量较少。结果表明,葫芦素 B 制成固体分散体后溶出度高于原料药;在一定范围内其溶出度随载体比例的增大而升高,可能是因为它在载体 PVP K30 中为无定形状态,从而分散度得到提高;它可能以无定形状态存在,改变了原有晶体结构,故在很大程度上提高了累积溶出度。

综上所述,以 PVP K30 为载体、1 : 11 为药载比时,葫芦素 B 固体分散体的体外溶出度显著提高,对相关制剂开发具有一定应用价值。

参考文献:

[1] Garg S, Kaul S, Wadhwa R. Cucurbitacin B and cancer intervention: Chemistry, biology and mechanisms (Review) [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(1): 19-37.
[2] Ding Q, Bao J L, Zhao W W, et al. Ethanol enhances cucurbitacin B-induced apoptosis by inhibiting cucurbitacin B-induced autophagy in LO₂ hepatocytes[J]. *Mol Cell Toxicol*, 2016, 12 (1): 29-36.

[3] El-Senduny F F, Badria F A, El-Waseef A M, et al. Approach for chemosensitization of cisplatin-resistant ovarian cancer by cucurbitacin B[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1): 685-698.
[4] Sinha S, Khan S, Shukla S, et al. Cucurbitacin B inhibits breast cancer metastasis and angiogenesis through VEGF-mediated suppression of FAK/MMP-9 signaling axis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 77(Pt A): 41-56.
[5] Liu X W, Duan C, Ji J L, et al. Cucurbitacin B induces autophagy and apoptosis by suppressing CIP2A/PP2A/mTORC1 signaling axis in human cisplatin resistant gastric cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(1): 271-278.
[6] Khan N, Jajeh F, Khan M I, et al. Abstract 3763: Cucurbitacin B targets EGFR-mutant lung cancer cells via activation of sestrin-3 [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (14 Supplement): 3763.
[7] Chai Y T, Xiang K, Wu Y Z, et al. Cucurbitacin B inhibits the Hippo-YAP signaling pathway and exerts anticancer activity in colorectal cancer cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 9251-9258.
[8] 肖 娅. 葫芦素 B 固体分散体的制备及大鼠体内药代动力学研究[D]. 承德: 承德医学院, 2018.
[9] Cheng L, Xu P H, Shen B D, et al. Improve bile duct-targeted drug delivery and therapeutic efficacy for cholangiocarcinoma by cucurbitacin B loaded phospholipid complex modified with berberine hydrochloride [J]. *Int J Pharm*, 2015, 489 (1-2): 148-157.
[10] 万 露, 肖云芝, 程 玲, 等. 葫芦素 B 磷脂复合物制备、表征及体外抗肿瘤活性研究[J]. *中草药*, 2015, 46(1): 48-54.
[11] 盛秋双, 王绍宁, 李妍妍, 等. 葫芦素 B 水-醇凝胶的体外经皮通透性[J]. *沈阳药科大学学报*, 2009, 26(11): 849-851; 899.
[12] 赵明明, 孙亚欣, 朱 旭, 等. 葫芦素 B 脂肪乳注射液处方及制备工艺的研究 [J]. *中南药学*, 2013, 11 (6): 428-432.
[13] 陈 芳, 沈成英, 申宝德, 等. 葫芦素 B 纳米混悬凝胶剂的制备及其体外透皮研究 [J]. *解放军药科学学报*, 2015, 31(1): 49-52.
[14] 王文字, 陈大为, 邓智先, 等. 注射用葫芦素 B 固体脂质纳米粒的制备 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(3): 180-184; 212.
[15] 刘钰莹, 赵春燕, 马 越, 等. 响应面分析法优化葫芦素 B 脂质纳米粒高压均质生产工艺 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(12): 254-257; 263.
[16] Tang L, Fu L L, Zhu Z F, et al. Modified mixed nanomicelles with collagen peptides enhanced oral absorption of Cucurbitacin B: preparation and evaluation[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 862-871.
[17] 曾庆云, 祝婧云, 赵国巍, 等. 固体分散体中药物分散状态测定方法的研究进展 [J]. *中成药*, 2019, 41 (1): 146-150.