

◆ 开发与分析 ◆

嘧草醚固体分散体的制备、表征及除草活性研究

程松波, 章乐乐, 王 秦, 胡 航, 徐德锋*

(常州大学药学院医学院(筹), 江苏常州 213100)

摘要: 为了制备嘧草醚固体分散体, 研究不同载体对嘧草醚的增溶效果、溶出特性及除草活性的影响, 本研究利用PEG-4000、PEG-6000、PVP-K30, 采用溶剂-熔融法和溶剂法制备嘧草醚固体分散体, 采用HPLC测定固体分散体的体外溶出度, 筛选出最佳载体及药载比, 并通过傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、X射线粉末衍射(XRD)、扫描电镜(SEM)对固体分散体结构进行表征, 并采用盆栽法测定嘧草醚固体分散体对稗草的生物活性。结果表明, 以上3种载体均可不同程度地提高嘧草醚的体外溶出, 其中以PVP-K30为载体、药载比为1:6的固体分散体溶出度最高; 药后7、15 d, 嘧草醚-PVP-K30固体分散体对稗草的生物活性高于嘧草醚可湿性粉剂。

关键词: 嘧草醚; 固体分散体; 表征; 除草活性; 稗草

中图分类号: TQ 450; TQ 457 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2022.02.006

Preparation, Characterization and Herbicidal Activity of Pyriminobac-methyl Solid Dispersion

CHENG Songbo, ZHANG Lele, WANG Qin, HU Hang, XU Defeng*

(School of Pharmacy & School of Medicine, Changzhou University, Jiangsu Changzhou 213100, China)

Abstract: In order to prepare pyriminobac-methyl solid dispersion and study effects of different carriers on its solubilizing effect, dissolution characteristics and herbicidal activity, PEG-4000, PEG-6000 and PVP-K30 were used to prepare the solid dispersion of pyriminobac-methyl by solvent-melt method and solvent method. The dissolution of pyriminobac-methyl from the system of solid dispersion was measured by HPLC, and the best carrier and drug loading ratio were screened out. The structure of solid dispersion was characterized by fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray powder diffraction (XRD) and scanning electron microscope (SEM). The biological activity of the pyriminobac-methyl solid dispersion on *Echinochloa crusgalli* was determined by the potted method. The results showed that the above three kinds of carriers could improve the dissolution of pyriminobac-methyl *in vitro* to varying degrees. Among them, the solid dispersion with the carrier PVP-K30 and drug loading ratio of 1:6 had the highest dissolution rate. The control effect of pyriminobac-methyl solid dispersion was higher than that of the pyriminobac-methyl wettable powder after 7, 15 d of application.

Key words: pyriminobac-methyl; solid dispersion; characterization; herbicidal activity; *Echinochloa crusgalli*

嘧草醚作为嘧啶水杨酸类除草剂, 是日本化学公司研制的新一代稻田除草剂, 可于杂草芽前至苗后后期施用, 通过茎叶和根被杂草吸收, 并迅速传导至全株, 抑制乙酰乳酸合成酶、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的合成, 进而影响蛋白质的合成代谢, 抑制细胞分裂和植物生长, 从而表现出杀草活性^[1]。嘧

草醚在推荐使用剂量范围内对水稻高度安全, 且没有品种敏感度差异, 可在水稻生长的各个时期施用^[2-3]。嘧草醚的水溶性差是制约其除草活性的关键因素之一, 限制了其在日常生活中的有效应用, 如何有效提高其溶解性、增加生物利用度成为目前研究的重点。

收稿日期: 2021-01-22

作者简介: 程松波(1996—), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向为绿色化学。E-mail: 1529574035@qq.com

通信作者: 徐德锋(1968—), 男, 江苏南通人, 博士, 教授, 主要从事化学及绿色制造研究。E-mail: markxu@cczu.edu.cn

为提高农药溶解性,传统方法主要将其制成水乳剂、悬浮剂、可湿性粉剂、乳油等^[4]。啞草醚在市场上的主要产品有10%啞草醚可湿性粉剂、2%啞草醚大粒剂等,但是传统剂型会用到大量有机溶剂和表面活性剂,均对环境产生污染。

固体分散体的概念最早是由Sekiguchi等^[5]在1961年提出,当时以尿素为载体,热熔法制备磺胺噻唑固体分散体。固体分散体技术是将难溶性药物以分子、无定形、微晶等形式分散在载体中,广泛用于改善难溶性药物的溶解度、溶出速率、生物利用度^[6]。目前,采用固体分散技术解决难溶药物溶解性的报道多在药学领域,通过固体分散体技术,某些难溶性农药在溶解度、生物利用率方面得到有效提高。本研究以PEG-4000、PEG-6000和PVP-K30为载体,将啞草醚制成固体分散体,通过体外溶出试验及FT-IR、XRD、SEM分析啞草醚在固体分散体中的存在状态,筛选出性能高的固体分散体。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

Agilent 1260型高效液相色谱仪,美国Agilent公司;恒温水浴锅DS-4、超声波清洗机,巩义予华仪器有限公司; Nicolet iS50型傅里叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技有限公司; Bruker SMART APE X II型X射线衍射仪,美国布鲁克公司; Supra 55型场发射扫描电镜,德国蔡司公司; 250光照培养箱,金坛市城东新瑞仪器厂。

啞草醚原药(纯度 $\geq 96\%$)、啞草醚标准品,金坛瑞平化工有限公司; 10%啞草醚微乳剂,北京新禾丰有限公司; PEG-4000(聚乙二醇4000)、PEG-6000(聚乙二醇6000),海凌峰化学试剂有限公司; PVP-K30(聚乙烯吡咯烷酮K30)、乙腈(分析纯),国药集团化学试剂有限公司; 水为实验室制蒸馏水。

1.2 HPLC分析条件

采用Agilent ZOREAX SB-C₁₈ ODS柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相A为乙腈(70%),流动相B为水(30%),流速为1.0 mL/min,进样量为10 μL,柱温为25℃,检测波长为254 nm^[7],*E*-啞草醚出峰时间是5.2 min,*Z*-啞草醚出峰时间是4.5 min,载体不出峰,对试验结果不产生影响,啞草醚原药中*E*-啞草醚纯度大于90%,因此在研究中探究*Z*-啞草醚的影响。

1.3 啞草醚标准曲线绘制

精确称取啞草醚标准品5.0 mg置于50 mL烧杯中,用乙腈溶解,并用50 mL容量瓶定容摇匀作母

液;精确移取0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mL母液于10 mL容量瓶中,用乙腈定容、摇匀,配成质量浓度分别为4.0、8.0、12.0、16.0、20.0、24.0 μg/mL的标准溶液,在1.2条件下分别测其峰面积。以各质量浓度为横坐标、对应峰面积为纵坐标作标准曲线。

1.4 固体分散体的制备

根据各载体材料的性质,分别采用溶剂-熔融法和溶剂法制备固体分散体。由于PEG-4000和PEG-6000的熔点低,因此采用溶剂-熔融法; PVP-K30熔点高且易溶于有机溶剂,采用溶剂法^[8]。

按载药质量比1:10分别取啞草醚原药30 mg与载体材料(PEG-4000、PEG-6000)300 mg置于烧杯中,载体在65℃下搅拌至熔融,啞草醚用少量乙腈溶解加入到熔融的PEG中搅拌形成均一溶液,旋转蒸发出乙腈,于低温冻干24 h,粉碎过80目筛,得到啞草醚与PEG-4000和PEG-6000的固体分散体。按质量比为1:10称取啞草醚原药和PVP-K30,将PVP-K30用乙腈溶解,65℃下加热搅拌,啞草醚用乙腈溶解,两者混合均匀,旋转蒸发出溶剂,所得产品粉碎过80目筛,即得啞草醚与PVP-K30固体分散体。

按载药质量比1:4、1:6、1:8、1:12分别称取啞草醚原药与载体PVP-K30,将PVP-K30用乙腈溶解,65℃下加热搅拌,啞草醚用乙腈溶解,两者混合均匀,旋转蒸发出溶剂,所得产品粉碎过80目筛,即得啞草醚与PVP-K30不同载药比固体分散体。

1.5 物理混合物的制备和物理混合物溶解度的测定

按载药质量比1:10,分别称取啞草醚原药与3种载体材料PEG-4000、PEG-6000和PVP-K30置于研钵中,研细过80目筛,得到啞草醚与3种载体的物理混合物。将过量啞草醚原药、3种固体分散体(载药质量比为1:10)和3种物理混合物(载药质量比为1:10)分别加入到10 mL PE管中,加适量水配成饱和溶液,置于超声波清洗机中,在25℃超声30 min,取1 mL上清液过0.45 μm微孔滤膜,通过HPLC法测定滤液中啞草醚峰面积,将所得峰面积分别代入标准曲线得到各样品中啞草醚的饱和溶解度。

1.6 啞草醚及固体分散体体外溶出度的测定

溶出度测定方法参照文献中的方法进行^[9-11]。溶出介质为水溶液250 mL,温度为(25 ± 5)℃,转速为100 r/min,取适量样品(含啞草醚7.5 mg),自药物粉末接触溶出介质开始计时,分别于5、10、20、40、60、90、120 min和4、6、12、24、48 h取样1 mL(同时

补充同温等量溶出介质),经0.45 μm微孔滤膜过滤后,用HPLC测其峰面积,计算不同时间的溶出度,并换算为累积溶出百分率。

1.7 固体分散体物相鉴别

傅里叶变换红外光谱(FT-IR)分析条件:取适量噻草醚原药、PVP-K30、噻草醚-PVP-K30、物理混合物,以溴化钾压片法进行红外光谱测定,波数范围为400~4 000 cm⁻¹,设置分离度为2 cm⁻¹,扫描次数为16次。

X射线粉末衍射(XRD)分析条件:Cu-Kα靶单色器,管电流为20 mA,管电压为30 kV,扫描范围为5~80°,扫描速度为8°/min,扫描模式为theta/2theta联动,扫描方式为continue。

场发射电子扫描电镜(SEM)分析条件:蔡司SUPRA-55场发射扫描电镜,高压5 kV,表面喷金5 min,工作距离为65 mm。

1.8 除草活性测定

采用盆栽法测定以PVP-K30为载体的噻草醚固体分散体对低叶龄稗草除草活性^[2,12],阴性对照为清水,阳性对照为10%噻草醚可湿性粉剂,3次重复,每次试验处理3组,每组试验5份,每份试验有15棵稗草。试验前,将稗草种子置于水中浸泡3 d,并放在阴暗处,每天换一次清水,待发芽移栽到小杯中并置于恒温培养箱中,到一叶期时,分别喷洒噻草醚固体分散体、可湿性粉剂与清水,保持小杯内土壤湿润。观察喷药7、15、30 d后稗草生长情况,并记录稗草死亡株数。

2 结果与分析

2.1 HPLC检测方法建立

噻草醚吸收波长为254 nm,载体PEG-4000、PEG-6000、PVP-K30在此处基本无吸收,故HPLC检测波长选择254 nm。按照1.3所述方法获得噻草醚标准曲线回归方程为 $y=20.661x-0.3177$, $R^2=0.9999$,则表明噻草醚在4.0~24.0 μg/mL质量浓度范围内线性关系良好。

2.2 噻草醚、物理混合物及固体分散体溶解度

由表1可知,噻草醚的物理混合物及固体分散体溶解度均大于噻草醚原药,则PEG-4000、PEG-6000和PVP-K30均能不同程度地提高噻草醚溶解度,载体在物理混合与制作成固体分散体的增溶效果表现为PEG-4000<PEG-6000<PVP-K30。

2.3 噻草醚-载体种类分析

分别制备噻草醚与3种载体质量比为1:10的

噻草醚固体分散体,测定其体外溶出率,结果如图1所示。由图1可知,噻草醚原药溶出率较低,12 h时累积释放质量分数为31.2%,而3种固体分散体在12 h的累积释放质量分数分别为81.7%、85.6%、91.8%,可知3种载体制备的噻草醚固体分散体均能不同程度地提高噻草醚的溶出度,其中以载体PVP-K30性能最优秀,其溶出率是未添加载体的2.9倍。

表1 噻草醚、物理混合物及固体分散体溶解度

种类	饱和溶解度/(mg·L ⁻¹)
噻草醚原药	7.8
PEG-4000物理混合物	12.7
PEG-6000物理混合物	12.8
PVP-K30物理混合物	13.4
PEG-4000固体分散体	20.2
PEG-6000固体分散体	21.3
PVP-K30固体分散体	22.7

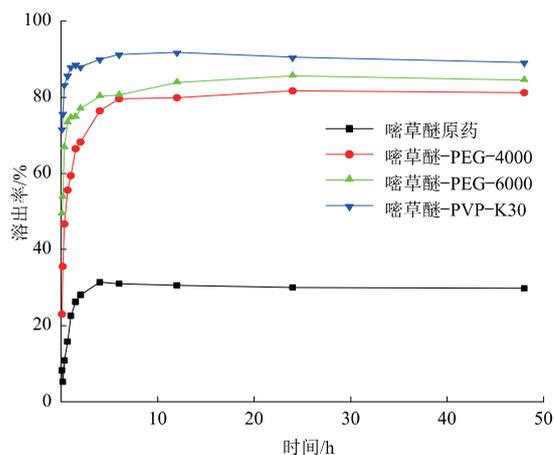


图1 噻草醚及其不同载体固体分散体溶出曲线

2.4 噻草醚-载体比例分析

鉴于以上结果,选取PVP-30为噻草醚的载体,进行药物-载体比例分析。取不同药载质量比的PVP-K30为载体固体分散体,考察其体外溶出行为,结果如图2所示。由图2可知,噻草醚与PVP-K30以不同质量比制成的固体分散体的溶出率均高于噻草醚原药,在各固体分散体中,药载质量比为1:6的固体分散体的溶出效果最好,2 h时溶出率已达95%以上。

2.5 固体分散体FT-IR分析

取噻草醚原药、PVP-K30、物理混合物和固体分散体(药载质量比为1:10),在4 000~400 cm⁻¹波数范围内进行FT-IR测试,结果如图3所示。由图3中噻草醚原药谱线可知,2 933.47 cm⁻¹处为-CH₃反对称伸伸缩振动峰,1 740.12 cm⁻¹处为C=O伸伸缩振动峰,1 597.66 cm⁻¹处为C=C为芳烃伸伸缩振动峰,1 102.55

cm^{-1} 处为C-O-C对称伸缩振动峰;PVP-K30谱线中, $1\ 633.80\ \text{cm}^{-1}$ 处为吡咯烷酮环中的C=O伸缩振动峰, $1\ 421.14\ \text{cm}^{-1}$ 处为 $-\text{CH}_2$ 弯曲振动峰, $1\ 288.92\ \text{cm}^{-1}$ 处为酰胺的特征峰; 啞草醚-PVP-K30固体分散体谱线中, 啞草醚在 $1\ 740.12\ \text{cm}^{-1}$ 处为C=O伸缩振动峰, $1\ 597.66\ \text{cm}^{-1}$ 处C=C为芳烃伸缩振动峰, $1\ 102.55\ \text{cm}^{-1}$ 处C-O-C对称伸缩振动峰被载体峰所覆盖; 物理混合物谱线中, 啞草醚 $1\ 740.12\ \text{cm}^{-1}$ 处为C=O伸缩振动峰, $1\ 597.66\ \text{cm}^{-1}$ 处C=C为芳烃伸缩振动峰, $1\ 102.55\ \text{cm}^{-1}$ 处C-O-C对称伸缩振动峰也被载体峰遮盖, 物理混合物的吸收峰要稍高于固体分散体, 说明啞草醚被PVP-K30所包裹, 形成包埋物。

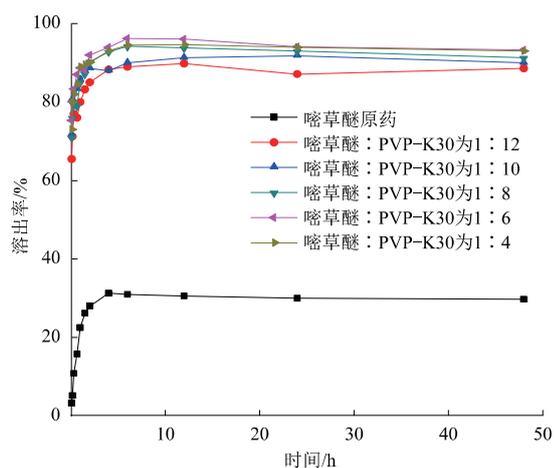


图2 啞草醚与PVP-K30不同载药比溶出曲线

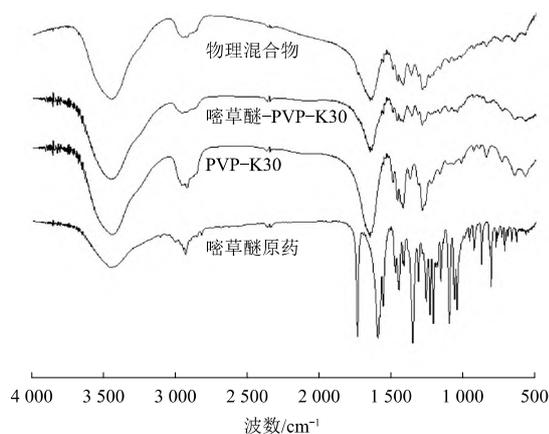


图3 样品红外光谱

2.6 XRD分析

啞草醚、PVP-K30、固体分散体(药载质量比为1:10)和物理混合物的X射线粉末衍射图如图4所示, 由图4可知, 啞草醚原药在 2θ 为 12.9° 、 13.62° 、 15.9° 、 19.38° 、 21.5° 、 24.04° 、 25.44° 处显示出清晰的衍射峰, 说明啞草醚原药以晶体形式存在。PVP-K30无特征衍射峰, 则为无定形结构。啞草醚-PVP-K30固

体分散体无明显衍射峰, 为无定形结构说明啞草醚被包裹于PVP-K30颗粒中。物理混合物在 2θ 为 12.86° 、 13.6° 、 15.86° 、 21.46° 处存在衍射峰, 说明有啞草醚晶体存在, 没有被包裹完全。

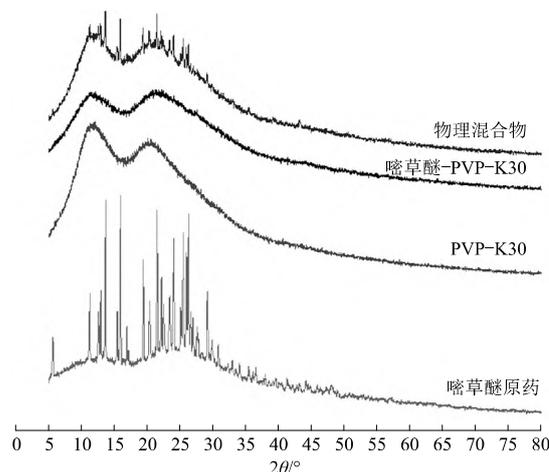
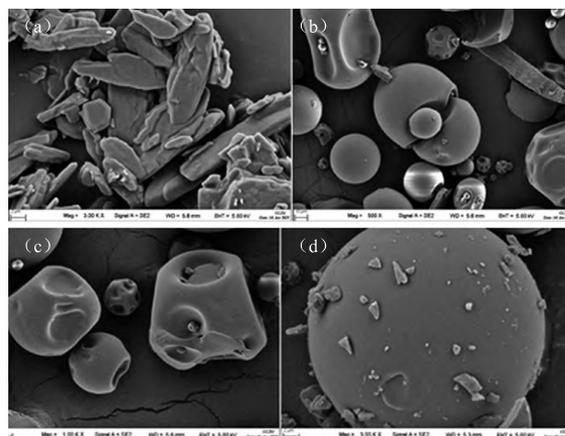


图4 X射线粉末衍射谱图

2.7 SEM分析

啞草醚、PVP-K30、物理混合物和固体分散体(药载质量比为1:10)的扫描电镜图如图5所示。由图5(a)可知, 啞草醚为片状晶体, 呈不规则分布, 宽度约数微米, 长度约为数微米至数十微米不等; 图(b)为PVP-K30扫描电镜图, PVP-K30为相对规则的球形颗粒, 直径约数十微米; 图(c)为啞草醚-PVP-K30固体分散体, 基本呈不规则球状颗粒, 未发现啞草醚的晶体结构, 这也与XRD表征结果相一致, 表明啞草醚被包裹于PVP-K30颗粒中; 图(d)为物理混合物, 可以看出啞草醚晶体吸附在载体表面。SEM分析结果显示, 啞草醚-PVP-K30固体分散体中, 啞草醚被成功包裹于PVP-K30颗粒中。



注:(a)为啞草醚原药;(b)为PVP-K30;(c)为啞草醚-PVP-K30;(d)为物理混合物

图5 样品扫描电镜图

2.8 室内活性测试结果

噻草醚-PVP-K30 固体分散体对低叶龄稗草室内除草活性结果表如 2。当质量浓度为 40 g/hm² 时, 在 7 d 时施用噻草醚-PVP-K30 固体分散体的稗草死亡率比噻草醚可湿性粉剂效果高 12.4%; 在 15 d 时, 施用噻草醚-PVP-K30 固体分散体比可湿性粉剂高 6.6%; 在 30 d 时, 固体分散体与可湿性粉剂 2 种剂型结果一致。由试验可知, 噻草醚固体分散体生物活性在 7、15 d 高于可湿性粉剂, 速效性好。

表 2 噻草醚固体分散体室内除草活性测试结果

供试药剂	用量/(g·hm ⁻²)	死亡率/%		
		7 d	15 d	30 d
噻草醚固体分散体	40	55.6	86.7	100.0
噻草醚可湿性粉剂	40	43.2	80.1	100.0
清水		0.0	0.0	2.6

3 结 论

随着固体分散技术的兴起, 其在药学领域应用比较广泛, 而在除草剂方面的应用刚开始。本文以 PEG-6000、PEG-20000 和 PVP-K30 为载体, 采用溶剂-熔融法和溶剂法制备噻草醚固体分散体, 发现噻草醚固体分散体可以显著提高其溶出度, 其中以 PVP-K30 的增溶效果最佳, 载药质量比为 1:6 时, 噻草醚的体外溶出效果最好, 约是原药溶出率的 2.9 倍。噻草醚固体分散体通过 FT-IR、XRD、SEM 等进行表征, 表明药物以无定形态分散在固体分散体中, 从而增加药物溶解度。除草活性测试表明, 药后 7、15 d, 噻草醚固体分散体活性高于噻草醚可湿性粉

剂, 具有再开发的潜力。载体 PVP-K30 经常被用来做食品澄清剂和稳定剂, 也用来做药物制剂的辅料, 其绿色环保, 符合目前我国绿色发展要求。

参考文献

- [1] 谭海军. 水稻除草剂噻草醚及其开发[J]. 精细与专用化学品, 2019, 27(3): 36-41.
- [2] 吴雄哲, 杨玉廷, 金春兰. 噻草醚对大叶龄稗草的室内防除效果及对水稻的安全性研究[J]. 现代农药, 2010, 9(4): 46-47.
- [3] LEE I Y, KWON O D, KIM C S, et al. Weeding effect of *Echinochloa oryzoides* resistant to ACCase and ALS inhibitors by the leaf stages[J]. Korean Journal of Weed Science, 2011, 31(2): 183-191.
- [4] 任鲁华, 李强, 吕育齐. 增加难溶性药物溶解度方法新进展[J]. 黑龙江医药, 2007, 20(1): 25-27.
- [5] SEKIGUCHI K, OBI N. Studies on absorption of eutectic mixture. I. a comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1961, 9(11): 866-872.
- [6] 林辉, 汪萌, 邹慧琴, 等. 固体分散技术的研究进展[J]. 中国民间疗法, 2012, 20(8): 78-79.
- [7] 刘淑杰, 吴公信, 梁敏. 噻草醚原药的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2011, 50(9): 659-660.
- [8] 卢瑞, 莫宇星, 曹莉慧, 等. 功夫菊酯固体分散体的制备及性能分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(2): 234-240.
- [9] 徐文杰, 朱颖, 孙冬梅. 布渣叶总黄酮固体分散体的制备及体外溶出度测定[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(2): 119-125.
- [10] 彭志刚, 刘高峰, 冯茜, 等. 氨基磺酸乙基纤维素微胶囊的制备及缓释性能[J]. 现代化工, 2019, 39(1): 119-122; 124.
- [11] 黄华, 王显. 表面活性剂对葛根素固体分散体体外溶出的影响[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(2): 315-317.
- [12] 周加春, 顾慧玲, 菲文军, 等. 2%噻草醚大粒剂对水稻移栽田稗草的防效[J]. 现代农业科技, 2018 (13): 70.

(责任编辑: 金兰)

(上接第 31 页)

- plant protection compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(31): 6582-6587.
- [7] NERI-BADANG M C, CHAKRABORTY S. Carbohydrate polymers as controlled release devices for pesticides[J]. Journal of Carbohydrate Chemistry, 2019, 38(1): 67-85.
 - [8] SINISI V, PELAGATTI P, CARCELLI M, et al. Green approach to copper-containing pesticides: antimicrobial and antifungal activity of brochantite supported on lignin for the development of biobased plant protection products[J]. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 2018, 7(3): 3213-3221.
 - [9] LIU W, YU H H, LI K C, et al. Synthesis, characterization and antifungal efficacy of C-coordinated O-carboxymethyl chitosan Cu(II) complexes[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 160: 97-105.
 - [10] CASIDA J E, DURKIN K A. Pesticide chemical research in toxicology: Lessons from nature[J]. Chemical Research In Toxicology, 2017, 30(1): 94-104.

- [11] 许春丽, BILAL M, 徐博, 等. 荧光介孔二氧化硅负载丙硫菌唑纳米颗粒的制备及性能研究[J]. 农药学报, 2020, 22(2): 214-224.
- [12] 陈歌, 曹立冬, 许春丽, 等. 溶剂蒸发法制备丙硫菌唑微囊及其性能研究[J]. 中国农业科学, 2021, 54(4): 754-767.
- [13] XU C L, CAO L D, BILAL M, et al. Multifunctional manganese-based carboxymethyl chitosan hydrogels for pH-triggered pesticide release and enhanced fungicidal activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 262: 117933.
- [14] 王召, 尹明明, 陈福良. 阿维菌素B₂海藻酸钠-壳聚糖包埋颗粒剂的制备及性能研究[J]. 农药学报, 2017, 19(6): 744-754.
- [15] 石凯威, 李莉, 刘丰茂. 丙硫菌唑及代谢物硫菌唑在土壤中的残留分析方法及消解[J]. 农药学报, 2016, 18(5): 659-663.
- [16] 宋丽敏, 李明, 倪雅欣, 等. 高效氯氟菊酯/海藻酸钠/壳聚糖凝胶微球的制备[J]. 应用化工, 2016, 45(11): 2118-2120; 2124.

(责任编辑: 高蕾)