

星点设计-效应面法优化天山雪莲提取物磷脂复合物制备工艺

张雪峰¹, 杨 轲², 欧 燕¹, 何承辉³, 邢建国^{3*}

1. 新疆生产建设兵团医院 药学部, 新疆 乌鲁木齐 830002

2. 新疆维吾尔自治区人民医院 药学部, 新疆 乌鲁木齐 830001

3. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

摘要: 目的 采用星点设计-效应面法优化天山雪莲 *Saussureae Involucratae Herba* 提取物 (SIHE)-磷脂复合物 (PC) 制备工艺, 旨在提高 SIHE 的生物利用度。方法 考察反应溶剂、反应时间、SIHE 反应物质量浓度、反应温度和投料比 5 个因素对复合率的影响, 应用星点设计-效应面法设计实验, 对指标与因素进行数学模型拟合, 以效应面法预测优化并验证。利用红外光谱 (IR)、X 射线衍射 (XRD) 对 SIHE-PC 结构进行分析。结果 建立的多元二项式方程拟合度高, 预测性好。最佳制备工艺条件为 SIHE 与大豆卵磷脂 (SL) 的投料比 1 : 2.5、反应物质量浓度 10 mg/mL 及反应时间 2 h, 在此条件下绿原酸复合率可达到 96%, 芦丁复合率可达到 93%。IR、XRD 验证了 SIHE-PC 的形成。结论 采用星点设计-效应面法建立数学模型, 预测性好, 稳定可行。优化 SIHE-PC 制备工艺为中药制剂的进一步研究提供帮助。

关键词: 天山雪莲提取物; 磷脂复合物; 星点设计; 红外光谱法; X 射线衍射

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)16-2326-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.16.009

Optimization on preparation of *Saussureae Involucratae Herba* extract phospholipid complex by central composite design-response surface method

ZHANG Xue-feng¹, YANG Ke², OU Yan¹, HE Cheng-hui³, XING Jian-guo³

1. Pharmaceutical Department, Xinjiang Production and Construction Corps General Hospital, Urumqi 830002, China

2. Pharmaceutical Department, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, China

3. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China

Abstract: Objective To optimize the preparation of *Saussureae Involucratae Herba* extract (SIHE) phospholipid complex (PC) by the central composite design-response surface method, and to increase the bioavailability of SIHE. **Methods** Five main factors including reaction solvent, reaction time, SIHE concentration, reaction temperature, and ratio of reactants on this reaction were investigated. On the basis of single factor test, central composite design was further adopted to arrange experiments in search of a curve fitting model between factors and effects. The optimal formulation was predicted by response surface method and was verified as well. The structure of SIHE-PC was analyzed by infrared spectroscopic (IR) analysis and X-ray diffraction (XRD). **Results** The correlation coefficient of second-order quadratic model was high. The optimal process conditions were as follows: The ratio of SIHE and soybean lecithin was 1 : 2.5, reaction concentration was 10 mg/mL, reaction time was 2 h, chologenic acid complex molar ratio was 96%, and rutin complex molar ratio was 93%. IR analysis and XRD proved the formation of SIHE-PC. **Conclusion** Central composite design-response surface method is successfully used for the optimization on preparation of SIHE-PC, with good predictability and stability.

Key words: *Saussureae Involucratae Herba* extract; phospholipid complex; central composite design; infrared spectroscopic analysis; X-ray diffraction

收稿日期: 2014-02-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30960528); 新疆维吾尔自治区科技基础条件平台项目 (PT1304)

作者简介: 张雪峰, 男, 主管药师。Tel: (0991)2668653 E-mail: 13669929233@163.com

*通信作者 邢建国, 男, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为中西药新制剂与新剂型。Tel: (0991)2300862 E-mail: xjguodd@163.com

天山雪莲 *Saussurea involucrata* (Kar. et Kir.) Sch.-Bip. 为凤毛菊属多年生草本植物,《本草纲目拾遗》已有记载,是维吾尔常用的民族药。对于月经不调、牙痛、风湿性关节炎、阳痿、白带异常、血崩等疾病均有疗效,现已被《中国药典》2010年版收载^[1]。天山雪莲主要含有芦丁等黄酮类、紫丁香苷及绿原酸等苯丙素类、生物碱、倍半萜、挥发油等化学成分^[2]。本课题组翟科峰等^[3]已对天山雪莲提取物(*Saussurea involucratae* Herba extract, SIHE)纯化前后各部位抗炎镇痛作用进行了初步研究。通过检测发现30%乙醇洗脱液为绿原酸部位、50%乙醇洗脱液为芦丁部位,故将这2部位合并,得天山雪莲有效部位(30%~50%乙醇洗脱部位)。分别用酸水及30%、50%、70%、95%乙醇梯度洗脱液对小鼠进行实验,实验证明30%~50%乙醇洗脱部位能显著抑制醋酸所致毛细血管通透性增高和二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀,具有一定的抗炎作用;并且显著抑制醋酸所致的小鼠扭体反应次数增加和显著提高热板所致小鼠的痛阈值,具有一定的镇痛作用。这与文献报道一致^[4],同时也佐证了本实验选择指标成分(绿原酸、芦丁)的合理性,及以此指标成分提纯所得到的部位具有明确的抗炎、镇痛活性。

本实验组前期已考察了SIHE的理化性质,实验证实SIHE脂溶性不高,口服生物利用度低,从而影响药物疗效的发挥^[5]。磷脂复合物(phospholipid complex, PC)是药物与磷脂分子通过电荷迁移作用而形成的较为稳定的化合物或络合物,并具有亲脂性表面的微小球囊状结构,可改善药物亲脂性,同时改善原药的肠道吸收以增加生物利用度^[6-11]。本实验制备SIHE-PC以提高脂溶性从而提高药物口服生物利用度。

星点设计(central composite design, CCD)是在2水平因素设计的基础上加上极值点和中心点构成的多因素5水平的试验设计,与常用的正交设计、均匀设计法相比,具有非线性拟合的特点,其结果可采用集数学和统计学方法于一体的效应面法(response surface method, RSM)进行优化,实验精度高,预测值更接近真实值,实验次数少。CCD-RSM广泛应用于处方优化和制剂工艺,该实验设计法既能考察各自变量对因变量的影响及各自变量间交互作用,也能进行各自变量的最优化,建立数学模型并做出相应的三维因变量曲面图,对自变量

与因变量的关系进行直观的量化分析,CCD-RSM可较好地描述依赖变量和非依赖变量之间的关系。该方法直观性、方便性及预测性均比正交和均匀设计优化更好。

1 仪器与材料

DK-20 超级循环水浴磁力搅拌器,金坛市文华仪器有限公司;R-201D 旋转蒸发器、HH-4 恒温水浴锅,巩义市予华仪器有限公司;SHB-III 循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;PE200 型高效液相色谱仪,美国PE公司;BP211D 型电子天平,德国Sartorius公司;FTS165 型傅里叶红外光谱仪,美国BIO-RAD公司;D8 ADVANCE X 射线粉末衍射仪,德国布鲁克公司。

对照品绿原酸(批号110753-200212)、芦丁(批号100080-200707),中国食品药品检定研究院;甲醇,色谱纯,SK Chemicals公司;乙腈,色谱纯,美国霍尼韦尔 HoneywellB&J;水为去离子水,其余试剂均为分析纯。大豆卵磷脂(soybean lecithin, SL),质量分数>80%,批号121223,江苏曼氏生物科技有限公司;SIHE,批号130512,含绿原酸3.159%,芦丁7.908%,新疆自治区药物研究所。

2 方法与结果

2.1 绿原酸、芦丁定量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取绿原酸与芦丁对照品适量,精密称定,置10 mL棕色量瓶中,加甲醇配制成质量浓度为绿原酸454.5 μg/mL、芦丁629.9 μg/mL的混合储备液,精密吸取储备液5 mL置50 mL棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得含绿原酸45.45 μg/mL、芦丁62.99 μg/mL的混合对照品溶液,摇匀,经0.45 μm滤膜滤过,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取SIHE 10 mg,置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,经0.45 μm滤膜滤过,即得。

2.1.3 色谱条件 按照《中国药典》2010年版及邢建国等^[12]已确立的SIHE中绿原酸和芦丁的定量测定方法。色谱条件:色谱柱为Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 0.5 μm),流动相为乙腈-0.4%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~13 min, 12%乙腈;13~16 min, 12%~15%乙腈;16~50 min, 15%乙腈;检测波长为353 nm,柱温为35℃,体积流量为1 mL/min,进样量为10 μL。按上述色谱条件进行测定,绿原酸的保留时间为9.1 min,芦丁的保留时间为26.1 min。

2.2 磷脂复合物的制备及工艺评价

称取一定量 SIHE 与 SL, 按一定比例置于 100 mL 磨口圆底烧瓶中, 加入甲醇适量, 置 40 °C 水浴锅中充分溶解, 在恒温条件下搅拌 2 h 后, 减压蒸馏除去反应溶剂。残留物真空干燥后加入适量反溶剂正己烷完全溶解, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 收集沉淀 (沉淀为正己烷不溶物即未反应的 SIHE 和杂质)。滤液减压蒸馏, 温度 40 °C, 在恒温条件下, 真空干燥, 称定质量即得 SIHE-PC^[13]。以绿原酸复合率和芦丁复合率作为 SIHE-PC 制备工艺的评价指标。SIHE 的初始投药量 (M_1) 与沉淀量 (M_2) 的差值即为 SIHE-PC 的量, 从而计算出绿原酸复合率和芦丁复合率, 计算公式如下。

$$\text{复合率} = (M_1 - M_2) / M_1$$

2.3 影响 SIHE-PC 制备的因素

以 SIHE 与 SL 反应, 分别以 SIHE 中有效成分绿原酸的复合率和芦丁的复合率为评价标准, 先设定 SL 与 SIHE 的投料比 (质量比) 为 1.5 : 1, 反应温度为 30 °C, 反应时间为 3 h, SIHE 的质量浓度为 20 mg/mL, 从中选取最佳溶剂, 再分别对反应时间、反应温度、投料比、反应质量浓度进行单因素试验考察。

2.3.1 反应溶剂的选择 分别采用甲醇、75%乙醇、醋酸乙酯、丙酮、正己烷为反应溶剂, 考察其对复合率的影响, 结果复合率分别为 82.31%、63.47%、50.29%、28.62%、0。SIHE 与 SL 在甲醇溶液中的复合率最高, 这与 SIHE 在有机溶剂甲醇中的平衡溶解度相比其他溶剂较高有关。

2.3.2 反应时间的选择 固定其他条件, 分别考察反应时间为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 对复合率的影响, 结果复合率分别为 12.73%、71.85%、80.33%、79.89%、80.03%。可以看出, 随着反应时间的增加, SIHE 与 SL 的复合率也增加, 但反应时间到 2 h 以后, SIHE 与 SL 的复合率达到最大。

2.3.3 反应温度的选择 固定其他条件, 分别考察反应温度为 20、30、40、50、60 °C 对复合率的影响, 结果复合率分别为 80.92%、80.43%、81.91%、80.74%、69.03%。可以看出, 随着温度的增加, 对 SIHE 与 SL 的复合率影响不大, 但温度升至 60 °C 时, 复合率降低, 这是由于 SL 在高于 60 °C 时, 不稳定, 易氧化所致。故实验选定反应温度在 40 °C 即可。

2.3.4 SL 与 SIHE 的投料比 固定其他条件, 分别

考察投料比为 1 : 1、2 : 1、2.5 : 1、3 : 1、3.5 : 1 对复合率的影响, 结果复合率分别为 49.01%、80.56%、87.33%、73.33%、51.29%。可以看出, 随着 SL 与 SIHE 的投料比增加, SL 与 SIHE 的复合率先增加后减小。复合率先增加, 可能是一方面 SL 对药物有增溶作用; 另一方面 SIHE 与 SL 形成复合物, SL 与 SIHE 的质量投料比增加到一定比例时形成的复合物达到饱和, 随着 SL 的不断增多, 复合率必然降低。当 SL 与 SIHE 的质量投料比为 3.5 : 1 时, 过量的 SL 附着在复合物中, 形成黏稠膏状物, 制备过程中不利于干燥。

2.3.5 SIHE 的反应质量浓度 固定其他条件, 分别考察反应质量浓度为 5、10、20、30、35 mg/mL 对复合率的影响, 结果复合率分别为 79.83%、83.27%、76.48%、45.27%、33.19%。可以看出, 随着 SIHE 反应质量浓度增加, SIHE 与 SL 的复合率先增加后减小。SIHE 反应质量浓度过低会导致实验中甲醇溶剂的浪费, SIHE 反应质量浓度过高, 容易使 SIHE 以晶体形式析出。

2.4 星点设计效应面法优化制备工艺^[14-16]

2.4.1 星点设计实验 根据预试验的结果, 确定影响 SIHE-PC 制备工艺的因素以及各因素所取得水平范围。本实验以绿原酸复合率 (Y_1 , %)、芦丁复合率 (Y_2 , %) 为考察指标, SL 与 SIHE 的投料比 (X_1)、反应物 SIHE 的质量浓度 (X_2 , mg/mL) 及反应时间 (X_3 , h) 为考察因素, 3 个自变量取值范围分别为 X_1 1.5 : 1~3 : 1, X_2 5~30 mg/mL, X_3 0.5~3.0 h。根据星点设计的原理, 每个因素设 5 水平, 水平代码及其所代表的实际操作物理量见表 1。以 SIHE 中有效成分绿原酸、芦丁与 SL 复合率 (Y_1 、 Y_2) 为考察指标进行星点设计-效应面优化, 并对实验结果拟合, 分析结果见表 1。

2.4.2 模型拟合 以评价指标 Y_1 、 Y_2 为因变量见表 1, 使用 Design-expert 8.0.6 软件对实验结果进行多元线性回归和二项式拟合, 以相关系数 (r) 和置信度 (P) 评定模型的优劣, 以 r 值越大和较优 P 拟合的模型越好, 得多元线性回归方程分别为 $Y_1 = -27.295\ 87 + 39.116\ 97\ X_1 - 0.826\ 67\ X_2 + 14.355\ 43\ X_3$ ($r^2 = 0.542\ 6$, $P = 0.004\ 9$); $Y_2 = -31.447\ 17 + 37.658\ 57\ X_1 - 0.760\ 16\ X_2 + 15.740\ 51\ X_3$ ($r^2 = 0.516\ 0$, $P = 0.007\ 6$); 二元多项式方程为 $Y_1 = -438.895\ 29 + 378.294\ 44\ X_1 - 2.761\ 44\ X_2 + 88.023\ 69\ X_3 + 1.112\ 69\ X_1X_2 - 7.976\ 28\ X_1X_3 + 0.289\ 49\ X_2X_3 - 76.598\ 02$

表 1 星点设计-效应面法优化实验设计及结果

Table 1 Design and results of central composite design-response surface method

批次	X_1	$X_2 / (\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	X_3 / h	$Y_1 / \%$	$Y_2 / \%$	批次	X_1	$X_2 / (\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	X_3 / h	$Y_1 / \%$	$Y_2 / \%$
1	1.82 : 1 (-1)	10.28 (-1)	1.03 (-1)	22.051 5	20.000 9	11	2.25 : 1 (0)	5.00 (-1.73)	1.75 (0)	90.959 2	87.751 7
2	2.68 : 1 (1)	10.28 (-1)	1.03 (-1)	62.029 2	58.986 0	12	2.25 : 1 (0)	30.00 (1.73)	1.75 (0)	82.300 6	78.018 9
3	1.82 : 1 (-1)	24.72 (1)	1.03 (-1)	46.064 9	32.201 3	13	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	0.5 (-1.73)	88.958 5	85.989 2
4	2.68 : 1 (1)	24.72 (1)	1.03 (-1)	97.769 3	94.217 5	14	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	3 (1.73)	89.332 0	86.383 8
5	1.82 : 1 (-1)	10.28 (-1)	2.47 (1)	48.915 4	44.451 4	15	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	65.699 0	61.196 9
6	2.68 : 1 (1)	10.28 (-1)	2.47 (1)	88.319 0	87.330 9	16	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	69.561 7	64.230 1
7	1.82 : 1 (-1)	24.72 (1)	2.47 (1)	89.014 5	86.683 6	17	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	50.288 8	46.053 0
8	2.68 : 1 (1)	24.72 (1)	2.47 (1)	87.982 8	85.983 8	18	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	89.643 4	86.599 1
9	1.50 : 1 (-1.73)	17.50 (0)	1.75 (0)	74.873 4	70.849 5	19	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	12.539 6	12.019 9
10	3.00 : 1 (1.73)	17.50 (0)	1.75 (0)	81.797 7	74.758 3	20	2.25 : 1 (0)	17.50 (0)	1.75 (0)	89.351 9	86.847 3

$X_1^2 - 0.030\ 725\ X_2^2 - 17.367\ 89\ X_3^2$ ($r^2 = 0.927\ 7$, $P = 0.000\ 1$), $Y_2 = -447.384\ 40 + 369.991\ 24\ X_1 - 2.560\ 90\ X_2 + 103.585\ 22\ X_3 + 1.217\ 66\ X_1X_2 - 8.162\ 32\ X_1X_3 + 0.255\ 40\ X_2X_3 - 75.412\ 83\ X_1^2 - 0.039\ 599\ X_2^2 - 21.128\ 30\ X_3^2$ ($r^2 = 0.923\ 9$, $P = 0.000\ 2$)。多元线性回归 r 和 P 均较差, 表示模型拟合度不高, 自变量和因变量之间线性相关性较差, 而二元多项式回归拟合方程 r 和 P 较好, 表明实验因素对效应值的影响不是简单的线性关系, 最后选择多元二项式拟和模型, 并且实际值与预测值基本吻合, 有较好的预测作用。

2.4.3 效应面优化与预测 根据上述拟合所得二项式方程, 应用 Design-expert 8.0.6 软件分别绘制自变

量效应指标 Y_1 、 Y_2 分别与其中 2 个自变量的三维效应图 (另外 1 个自变量设为中心点), 筛选较佳工艺水平。三维效应图能形象反映各因素对效应指标 (复合率) 的影响, 见图 1、2。

由三维效应图 1 可见, 影响 Y_1 、 Y_2 的 3 个考察因素中, X_1 与 X_3 影响显著, 表现曲线较陡; X_2 影响较小, 表现曲线较平滑。同时, Y_1 与 Y_2 同时随 X_1 的增加, 复合率越高; 随 X_3 的增大而增大; 随 X_2 的增时加而减小趋势。但实验表明, 当 X_1 比例大于 2.6 : 1, 反应得到的产物难以完全干燥, 影响实验结果, 因此选定 X_1 最佳取值范围是 2.4 : 1~2.6 : 1; 考虑生产成本, X_2 取值 10~11 mg/mL, X_3 取值 2.0~2.2 h^[17]。

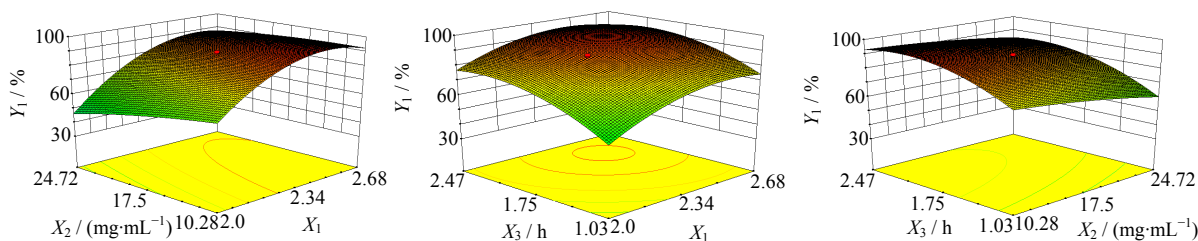


图 1 各因素对绿原酸复合率影响的三维效应面图

Fig. 1 Three-dimensional response surface graphs of effects of various factor on inclusion rate of chlorogenic acid

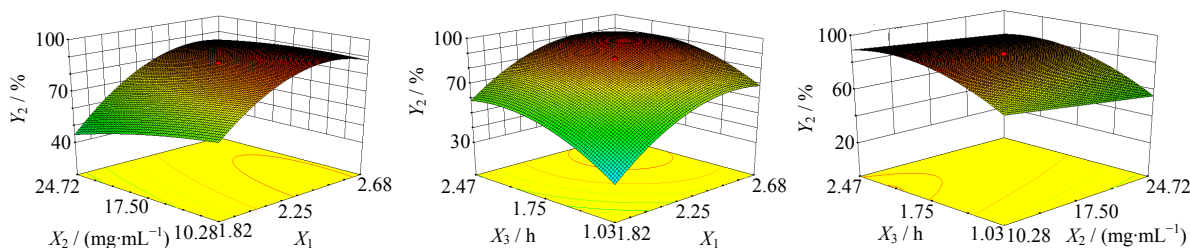


图 2 各因素对芦丁复合率影响的三维效应面图

Fig. 2 Three-dimensional response surface graphs of effects of various factors on inclusion rate of rutin

2.4.4 验证试验 通过软件分析并结合回归模型的数学分析可知, SIHE-PC 最优制备工艺条件: SL 与 SIHE 质量之比为 2.43:1, 反应物 SIHE 质量浓度 10.28 mg/mL, 搅拌时间 2.05 h。为检验 RSM 方法的可靠性, 采用上述最优制备工艺条件进行制备, 同时考虑到实际操作的情况, 将最优提取条件修正为 SIHE 与 SL 质量之比 1:2.5, 反应物 SIHE 的质量浓度 10 mg/mL, 搅拌时间 2 h, 重复 3 次求得实测值与预测值之间的误差, 结果见表 2。可见, 指标误差 [误差=(预测值-实际值)/预测值] 均小于 5%, 说明采用星点设计-响应面优化法得到的制备工艺条件参数准确可靠, 重复性好。

2.4.5 工艺放大试验 为进一步考察优化工艺条件的稳定性, 以原处方放大 10 倍与 40 倍, 按确定的工艺条件, 制备 4 批 SIHE-PC, 测定绿原酸和芦丁

的复合率, 进行工艺放大试验, 结果见表 3。放大 10 倍 3 批磷脂复合物的平均绿原酸复合率 95.36%、芦丁复合率为 92.42%, RSD 值均小于 5%; 放大 40 倍磷脂复合物的绿原酸复合率 95.53%, 芦丁复合率为 92.89%。工艺放大试验结果表明, 所选工艺条件在放大数十倍后仍能制得复合率较高、黏性大的天山雪莲提取物磷脂复合物, 为工业化生产奠定基础。

表 3 工艺放大实验结果 ($n=3$)

Table 3 Experimental results of technology enlarge ($n=3$)

样品号	$Y_1 / \%$	$Y_2 / \%$
20140101 (放大 10 倍)	95.33 ± 0.02	92.67 ± 0.02
20140102 (放大 10 倍)	95.28 ± 0.02	92.17 ± 0.02
20140103 (放大 10 倍)	95.47 ± 0.02	92.41 ± 0.02
20140104 (放大 40 倍)	95.53 ± 0.02	92.89 ± 0.02

表 2 Y_1 和 Y_2 预测值与实测值的比较

Table 2 Comparison on predicted and measured values of Y_1 and Y_2

响应值	预测值 / %	实测值 / %	误差 / %
Y_1	98.05	96.35	1.73
		95.93	2.16
		95.78	2.32
Y_2	94.92	93.02	2.00
		92.94	2.13
		92.98	2.04

3 磷脂复合物的表征

3.1 磷脂复合物红外光谱 (IR) 研究

磷脂复合物在红外光区的吸收特征峰, 根据吸收峰的变化 (如降低、发生位移或消失) 判断磷脂复合物是否形成。将 SIHE、SL、二者混合物及 SIHE-PC 溴化钾压片后在 $4\ 000 \sim 400\ \text{cm}^{-1}$ 内进行 IR 扫描, IR 图见图 3。

SIHE-PC 与混合物均保留了 SIHE 中 $1\ 800 \sim 1\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰 ($\text{C}=\text{O}$)、芳香族化合物苯环振动

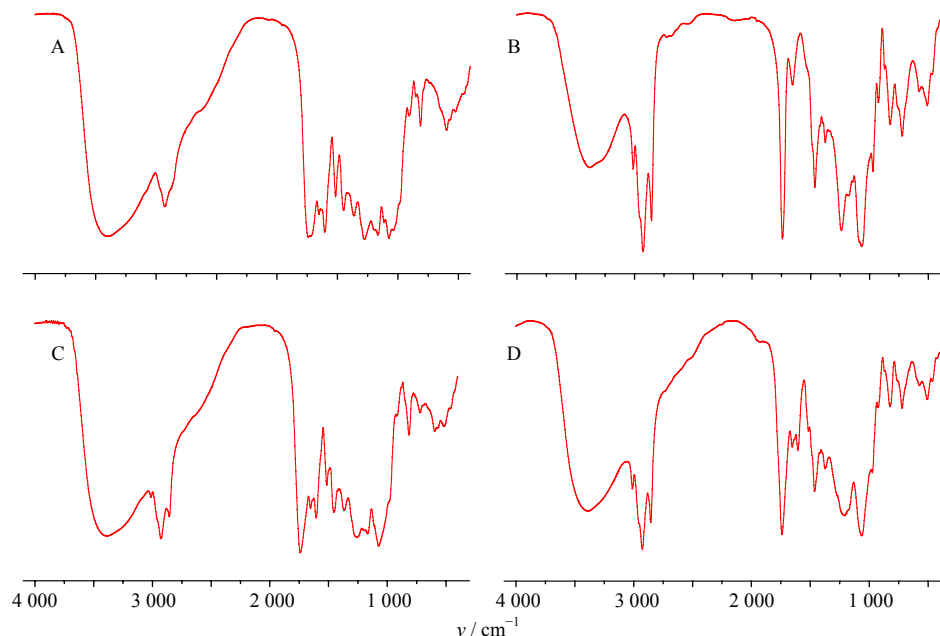


图 3 SIHE (A)、SL (B)、SIHE 与 SL 混合物 (C)、SIHE-PC (D) 的 IR 图

Fig. 3 IR spectra of SIHE (A), SL (B), mixture of SIHE and SL (C), and SIHE-PC (D)

骨架 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 、 $\nu(\text{NO}_2)$ 的特征峰; SIHE-PC 与混合物均保留了大豆磷脂 $3\,100\sim 2\,800\text{ cm}^{-1}$ 的 3 个峰和 $1\,000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 的 3 个峰,并减弱了由于磷脂产生的 722.31 cm^{-1} 处的峰。

在图 3-C 中,SL 的几个特征峰和 SIHE 的特征吸收峰均有很好的体现,物理混合物(图 3-C)与 SIHE(图 3-A)相比, $2\,000\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 处这些峰的峰变宽了,在近峰顶部位的分裂现象不是很明显,且各峰波数均保持不变。可以看出混合物的图谱就是雪莲提取物和 SL 的加和。

在图 3-D 中,复合物不再保留 SIHE 中 $1\,164.38$

cm^{-1} 处的峰,为酚 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 振动伸缩、 $1\,275.06\text{ cm}^{-1}$ 处 C-O-C 的特征峰;而是被 SL $1\,065.44\text{ cm}^{-1}$ 处的峰和 $1\,239.22\text{ cm}^{-1}$ 处峰所掩盖,且在 $1\,208.71\text{ cm}^{-1}$ 处形成新的吸收峰,峰的形状和宽度以及峰的强度发生变化,说明 SIHE 的官能团和 SL 分子某些部分发生了相互作用。

3.2 磷脂复合物 X 射线衍射(XRD)分析

XRD 分析检测条件:石墨单色器单色化 $\text{CuK}\alpha$ 辐射;管电压 40 kV ;管电流 40 mA ,扫描角度 $5^\circ\sim 80^\circ$,步长 0.02° ,步速 $0.2^\circ/\text{min}$ 。分别将 SIHE、SL、二者混合物及 SIHE-PC 进行 XRD 分析,结果见图 4。

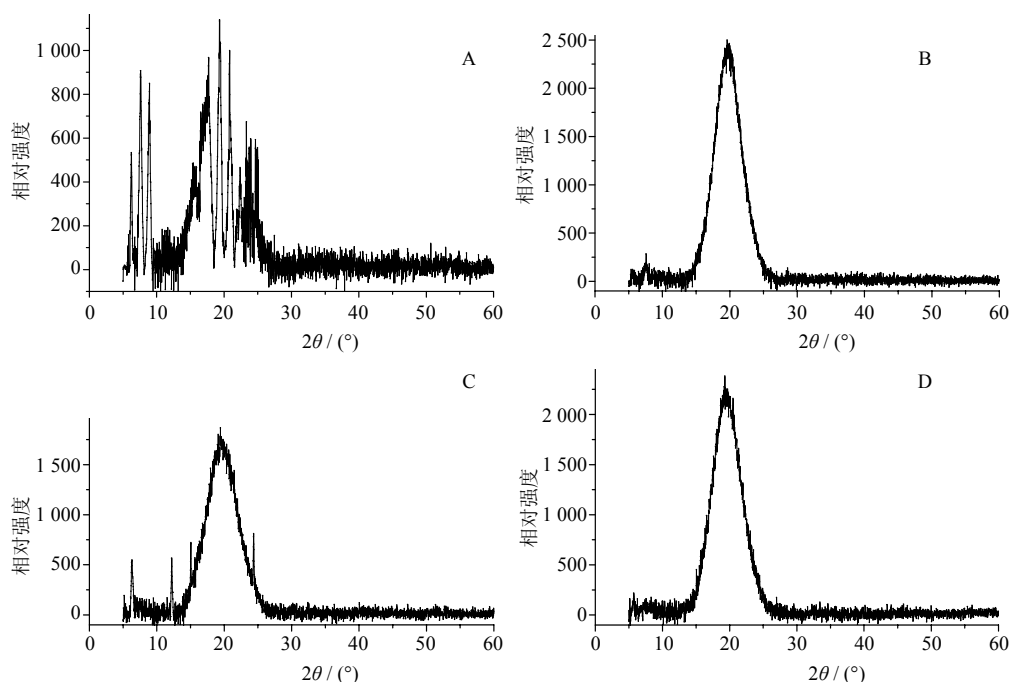


图 4 SIHE (A)、SL (B)、SIHE 与 SL 混合物 (C)、SIHE-PC (D) 的 XRD 图

Fig. 4 XRD spectra of SIHE (A), SL (B), mixture of SIHE and SL (C), and SIHE-PC (D)

4 讨论

目前,国内外对 SIHE 实验研究表明,SIHE 结构较为复杂,其主要有效成分为绿原酸和芦丁。SIHE 与 SL 反应形成 SIHE-PC 时,SL 不仅与 SIHE 中有效成分绿原酸和芦丁结合,也可能与 SIHE 中其他成分结合形成 PC。本实验研究表明,SIHE-PC 中 SL 与 SIHE 中有效成分绿原酸和芦丁充分结合可形成 PC,对 SIHE 中其他成分并未进行具体考察。

在 SIHE-PC 的图谱中不再保持 C-O-C 和 C-O 振动伸缩等基团的特征峰。混合物主要表现了 SL 的吸收特征,这是与参与反应的 SL 比例有关。与物理混合物相比,复合物的 IR 图谱发生一定的变化。首先,SIHE 的酰胺羰基的伸缩振动峰 $1\,652.53$

cm^{-1} ,物理混合物表现为 $1\,652.30\text{ cm}^{-1}$,复合物表现为 $1\,652.89\text{ cm}^{-1}$,峰强也增加。当分子间形成氢键后,由于键力常数变化以及分子结构不对称性增大,SIHE 的酰胺羰基及相邻的双键形成的共轭体系的共同平面性受到破坏,都将使羰基的吸收峰向高波数移动;同时,振动时偶极矩的变化增大,会造成吸收强度增加,提示复合物中有氢键的存在。比如:SIHE 在 $1\,740$ 、 $1\,275$ 、 $1\,515$ 、 $1\,166\text{ cm}^{-1}$ 4 个吸收峰的形状和宽度都发生了一定的变化。说明 SIHE 的一些官能团与 SL 分子的某些部分发生了相互作用。复合物图谱也保留了 SL 的 $3\,011\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,856\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰,但形状、宽度以及吸收峰的强度发生了一定的变化。这说明 SL 的结构受到了

SIHE 的影响,可能是 SL 分子中的极性端与 SIHE 的羟基和酰胺基团发生相互作用,形成了复合物。复合物的图谱较单一成分及物理混合物发生明显变化,表明复合物的形成是 SIHE 中分子与 SL 极性端之间发生相互作用的结果,而非简单物理混合物^[18]。

SIHE 中含有晶型衍射峰并具有晶型特征;SL 显示无特定形式特征;SIHE 与 SL 的物理混合物表现为两者 XRD 峰的叠加,虽然物理混合物部分衍射峰仍能表现出 SIHE 中的晶型衍射峰,但是由于 SL 的无定形吸收峰,通过物理手段将 SIHE 中的大多数特征峰掩盖。在 SIHE-PC 的衍射图谱中可以看到 SIHE 中的晶型衍射峰几乎完全消失,表明 PC 形成以后,SIHE 与 SL 由于受极性定向结合,使两者形成一种高度分散的状态,使 SIHE 晶型衍射峰受到 SL 的宽峰所掩盖,说明 PC 的形成并非简单物理混合物,而是以一种无定形形式存在于 SL 中。

本实验通过 CCD-RSM 优化 SIHE-PC 制备工艺,通过二项式拟合描绘三维效应面,精度高、预测性好的特点,尤其适合对影响因素比较敏感的指标优化。实验设计有较高的可靠性,得到的工艺条件稳定、重复性好,可用于扩大工业化生产。中药 PC 技术的深入研究,有着良好的开发研究前景,对于提高天然药物及中药新药的开发和利用、加速传统中药制剂的现代化进程,提高中药制剂技术水平及临床用药质量,均具有重要的理论和实际意义^[19]。

参考文献

- [1] 赵莉,王晓玲. 新疆雪莲的化学成分、药理作用及其临床应用 [J]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2003, 29(4): 424-428.
- [2] 肖皖,李 宁,波拉提·马卡比力,等. 雪莲化学成分和药理活性研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(5): 344-348.
- [3] 翟科峰,段 红,邢建国,等. 天山雪莲提取物纯化前后各部位抗炎镇痛作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(5): 374-377.
- [4] 袁晓凡,赵 兵,王玉春. 雪莲的研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(12): 1424-1426.
- [5] 邢建国,谢 敏,王新春,等. 天山雪莲提取物平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(1): 26-28.
- [6] Hao H, Jia Y, Han R, *et al.* An effective approach to enhance the oral bioavailability of active constituents extracted from plants [J]. *Chin Pharm Sci*, 2013, 22(5): 385-392.
- [7] Yue P F, Yuan H L, Li X Y, *et al.* Process optimization, characterization and evaluation *in vivo* of oxymatrine-phospholipid complex [J]. *Int J Pharmaceut*, 2010, 387(1/2): 139-142.
- [8] 吴慧仪,龙晓英,陈 莉,等. 磷脂复合物及其对中药活性成分透过生物膜的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 393-397.
- [9] Zhang Z W, Huang Y, Gao F, *et al.* Daidzein-phospholipid complex loaded lipid nanocarriers improved oral absorption: *in vitro* characteristics and *in vivo* behavior in rats [J]. *Pharmazie*, 2011, 3(4): 1780-1787.
- [10] Jin X, Zhang Z H, Sun E, *et al.* Preparation of a nanoscale baohuoside I-phospholipid complex and determination of its absorption: *in vivo* and *in vitro* evaluations [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7(3): 4907-4916.
- [11] Qiang P, Zhang Z R, Sun X, *et al.* Mechanisms of phospholipid complex loaded nanoparticles enhancing the oral bioavailability [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(2): 565-575.
- [12] 邢建国,翟科峰,何承辉,等. 大孔吸附树脂纯化天山雪莲中有效成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1062-1066.
- [13] 田 慧,王亚静,孙士真,等. 芒果苷磷脂复合物的制备工艺研究 [J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 81-85.
- [14] 罗娅君,张 琦,李辉容,等. 染料木素磷脂复合物的制备及其光谱性质研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(20): 1562-1566.
- [15] 王 博,任晓文,李洪起,等. 星点设计-效应面优化银杏酮酯包和物的制备工艺 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 262-265.
- [16] 林小玲,田成旺,张铁军. 星点设计-效应面法优选参芪消岩颗粒渗漉提取工艺 [J]. 中草药, 2013, 44(4): 430-433.
- [17] 李素云,姜梦丽,张丽红,等. 星点设计-效应面法优选组分中药芳冰鼻吸剂的制备 [J]. 药学报, 2013, 48(4): 573-579.
- [18] 柳 珊,谭群友,王 红,等. 吴茱萸碱磷脂复合物的制备、表征及体外抗肿瘤活性的研究 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(7): 517-523.
- [19] 史亚军,吴品江,许润春,等. 黄芩苷磷脂复合物基本性质研究 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 78-82.