

红花提取物磷脂复合物的制备及其透膜性研究

王 瑜, 史亚军*, 邹俊波, 张小飞, 邵 佳, 梁玉琳, 周 晓, 杨艳君, 王瑞杰

陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

摘 要: 目的 优化红花提取物磷脂复合物的制备工艺并研究其透膜性能。方法 在单因素实验基础上, 利用响应曲面分析法, 以红花提取物与磷脂形成的磷脂复合物的复合率为指标, 优化制备工艺。利用紫外-可见吸收光谱和红外光谱方法进行表征。采用改良 Franz 扩散池, 评价红花提取物及不同药脂比的磷脂复合物的体外透膜性能。**结果** 红花提取物磷脂复合物的最佳制备工艺为以甲醇为复合溶剂, 红花提取物的质量浓度为 5.0 mg/mL, 与磷脂质量比为 1 : 1, 反应时间为 1.5 h, 反应温度为 55 ℃。透膜实验结果显示, 红花提取物及药脂比分别为 2、1、0.5 的磷脂复合物 24 h 累积渗透量 (Q_{24}) 分别为 (15.07 ± 1.24) 、 (15.61 ± 0.92) 、 (21.94 ± 1.54) 、 (21.05 ± 1.39) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。**结论** 优选的制备工艺合理可行, 红花提取物磷脂复合物能明显改善其透膜性能。

关键词: 红花; 羟基红花黄色素 A; 响应曲面优化; 磷脂复合物; 透膜; 响应曲面分析法; 累积渗透量

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4084-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.012

Preparation and membrane permeability of phospholipid complex from extract of *Carthamus tinctorius*

WANG Yu, SHI Ya-jun, ZOU Jun-bo, ZHANG Xiao-fei, TAI Jia, LIANG Yu-lin, ZHOU Xiao, YANG Yan-jun, WANG Rui-jie

College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To optimize the preparation technology of phospholipid complex of *Carthamus tinctorius* (safflower) extract and investigate its permeability. **Methods** On the basis of single factor experiment, the preparation process was optimized by using the response surface analysis method, taking the compound rate of phospholipid complex of safflower extract as the index. It was characterized by UV-vis absorption spectrum and infrared spectrum. The modified Franz diffusion cell was used to evaluate the membrane permeability of safflower extract and phospholipid complex of safflower extract with different drug-lipid ratios *in vitro*. **Results** The optimum preparation technology of phospholipid complex of safflower extract was as follows: methanol was used as compound solvent, the concentration of safflower extract was 5.0 mg/mL, and the mass ratio of phospholipid to phospholipid was 1 : 1, the reaction time was 1.5 h, and the reaction temperature was 55 ℃. The results of transmembrane experiment showed that the 24-hour cumulative permeability (Q_{24}) of safflower extract phospholipid complex with drug-fat ratio of 2, 1, and 0.5 was (15.07 ± 1.24) , (15.61 ± 0.92) , (21.94 ± 1.54) , and (21.05 ± 1.39) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively. **Conclusion** The optimized preparation process is reasonable and feasible, and the phospholipid complex of safflower extract can obviously improve its membrane permeability.

Key words: *Carthamus tinctorius* L.; hydroxysafflor yellow A; response surface optimization; phospholipid complex; transmembrane; response surface analysis; cumulative permeability

红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花, 具有活血通经、散瘀止痛的作用^[1], 是临床上常用的活血化瘀药^[2]。红花中含有黄酮类、

甾体类、酚酸类、双醇类、木脂素类、查耳酮类、炔类以及挥发油等化学成分。其中黄酮类化合物主要成分为羟基红花黄色素 A (HSYA)^[3-5]。现代研

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 陕西省重点研发计划 (2017ZDXM-SF-008); 陕西省中药制药重点学科资助 (303061107); 陕西省中医药管理局中药制药工程重点学科资助 (132018004); 陕西省重点研发计划 (2018SF-314); 陕西中医药大学学科创新团队项目 (2019-YL11)

作者简介: 王 瑜 (1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术研究。Tel: (029)38183689 E-mail: 217030112145@email.sntcm.edu.cn

*通信作者 史亚军 (1976—), 男, 中药学博士, 教授, 研究方向为中药新剂型与新技术研究。Tel: (029)38183689 E-mail: 2051004@sntcm.edu.cn

究表明^[6-9], 红花具有良好的抗心血管疾病、调血脂、调节代谢等多种药理作用, 在中成药中多以其水提取物为用, 但由于其脂溶性较差, 导致其生物利用度较低^[10]。因此, 有必要通过制剂学手段改善红花提取物的脂溶性, 提升和拓展其临床价值。

磷脂复合技术作为一种新的改善药物脂溶性的有效途径, 在改善药物的溶解性、提升吸收性能方面取得了显著成效^[11-13]。将红花提取物制备成磷脂复合物可通过增强 HSYA 脂溶性促进透膜吸收, 进一步提高其生物利用度^[14]。本研究在前期基础上, 采用单因素实验结合 Box-Behnken 法优化红花提取物磷脂复合物的制备工艺, 并对其体外透膜性能进行考察。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Thermo Scientific Dionex UIMate 3000 高效液相色谱仪, 配有四元泵、DAD 检测器, 美国 Thermo-Fisher 公司; 色谱柱为 BD Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); AR1140 电子天平, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; DZF-6050 真空干燥箱, 上海欣齐科学仪器有限公司; KH-400KDE 型高功率数控超声清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; RE-3000 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; HJ-4 多头磁力加热搅拌器, 常州国华电器有限公司; TP-6 智能透皮扩散仪, 天津市精拓仪器科技有限公司; WD-A 型药物稳定性检查仪, 天津药典标准仪器厂。

1.2 试药

HSYA 对照品 (批号 MUST-18082905, 质量分数 99.88%), 成都曼斯特生物科技有限公司; 红花提取物 (批号 2018-10-1) 实验室自制; 甲醇、乙腈均为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 水为蒸馏水; 生理盐水; 大豆卵磷脂, 批号 180701, 磷脂酰胆碱 (PC) ≥50%, 江苏曼氏生物科技股份有限公司。

牛蛙, 体质量 (500±10)g, 批号 NW-20190316, 由成都达硕生物有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 磷脂复合物的制备及复合率的测定

2.1.1 红花提取物的制备^[15] 取红花药材适量, 加 8 倍量水于 90 °C 温浸提取 2 次, 每次 60 min, 滤过, 合并提取液。滤液减压浓缩至相对密度为 1.06~1.10 (60 °C) 的清膏, 喷雾干燥, 进口温度 125~135 °C, 出口温度 60~70 °C, 即得红花提取物, HSYA 质量分数为 2.27%。

2.1.2 磷脂复合物的制备及复合率测定 取红花提取物与大豆卵磷脂置于圆底烧瓶内, 加入复合溶剂, 置于恒温磁力搅拌器上, 在规定温度下复合一定时间, 减压回收复合溶剂, 收集沉淀物, 减压干燥, 即得红花提取物磷脂复合物。

利用红花提取物难溶于三氯甲烷, 而大豆卵磷脂和磷脂复合物易溶于三氯甲烷的特性, 精密称定 1 g 红花提取物磷脂复合物, 加入 20 mL 三氯甲烷, 每隔 5 min 振荡 1 次, 持续 30 min, 使其充分溶解, 溶液滤过, 收集沉淀, 称定质量。

$$\text{复合率} = (A_1 - A_2) / A_1$$

A_1 为初始投药的红花提取物磷脂复合物质量, A_2 为未反应的药物沉淀质量

2.2 单因素考察

2.2.1 反应溶剂的考察 设定红花提取物与大豆卵磷脂的投料比为 0.5, 反应温度 55 °C, 反应时间为 1.5 h, 红花提取物的质量浓度为 2.5 mg/mL, 分别考察四氢呋喃、无水乙醇、甲醇、醋酸乙酯 4 种反应溶剂对复合率的影响。结果分别为 (77.84±1.35) %、(76.74±2.91) %、(91.75±1.81) %、(49.37±1.73) %。结果提示, 以甲醇为反应溶剂的复合率最高, 因此, 选择甲醇为反应溶剂。

2.2.2 不同药脂比的考察 以甲醇为反应溶剂, 反应温度为 50 °C, 反应时间为 1.5 h, 反应系统中红花提取物的质量浓度为 2.5 mg/mL, 分别考察红花提取物与大豆卵磷脂投料比为 2.0、1.0、0.5 时的磷脂复合物复合率。计算得复合率分别为 (80.73±1.98) %、(85.60±0.94) %、(91.82±1.81) %。结果提示, 磷脂所占比例越大, 复合率越高。

2.2.3 药物质量浓度的考察 以甲醇为反应溶剂, 药物投料比例为 0.5, 反应温度为 50 °C, 反应时间为 1.5 h, 分别考察反应系统中红花提取物质量浓度为 2.5、5.0、8.0 mg/mL 时的磷脂复合物复合率情况。计算得复合率分别为 (92.50±1.31) %、(84.53±1.40) %、(79.12±1.76) %。结果提示, 药物质量浓度对复合率影响较大, 药物质量浓度越小, 复合率越高。

2.2.4 反应温度的考察 以甲醇为反应溶剂, 药物投料比为 0.5, 反应系统中药物质量浓度为 2.5 mg/mL, 反应时间为 1.5 h, 分别考察反应温度为 40、50、60 °C 时药物磷脂复合物复合率情况。计算得复合率分别为 (90.64±1.31) %、(92.70±1.26) %、(93.23±1.03) %。结果提示, 当反应温度高于 50 °C

时, 复合率趋于稳定。

2.2.5 反应时间的考察 以甲醇为反应溶剂, 药物投料比为 0.5, 反应系统中药物质量浓度为 2.5 mg/mL, 反应温度为 50 °C, 分别考察反应时间为 1.5、2.0、2.5 h 时磷脂复合物复合率情况。计算得复合率分别为 (91.11±0.99) %、(91.80±0.45) %、(92.07±0.85) %。结果提示, 复合时间超过 1.5 h 时对复合率的影响较小。

2.3 Box-Behnken 法优化红花提取物磷脂复合物制备工艺

通过单因素实验结果, 筛选出不同药脂比(A)、反应温度(B)、药物质量浓度(C) 3 个因素作为考察对象, 采用 Design Expert 8.0.6.1 统计分析软件的 Box-Behnken 响应面法^[16]设计 3 因素 3 水平, 以复合率(Y) 为指标优选最优工艺并验证, 因素与水平安排见表 1, 试验安排与结果见表 1。

以 Y 为响应值进行模型拟合, 得出拟合方程 $Y=113.27-21.44 A-0.522 B-6.33 C+0.02 AB+0.84 AC+0.01 BC+10.27 A^2+0.006 B^2+0.12 C^2$, ($r^2=0.977 8$, $P<0.000 1$, 失拟度 $P=0.089 0>0.05$), 说明该模型预测值与实测值之间具有较高的相关性, 且模型失拟度没有显著性差异, 说明该方

程能够反映实际情况。

根据方差分析结果(表 2)可知, 模型的 1 次性项 A 和 C 对结果均有显著性影响 ($P<0.000 1$), 方程的交互项 AC、AB、BC 均对结果无显著影响, A、B、C 3 个因素之间无交互作用。

表 2 试验结果方差分析
Table 2 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	离差平方和	F 值	P 值
模型	1 311.73	9	145.75	34.25	<0.000 1
A	430.68	1	430.68	101.20	<0.000 1
B	26.55	1	26.55	6.24	0.041 1
C	690.90	1	690.90	162.35	<0.000 1
AB	0.12	1	0.12	0.03	0.872 9
AC	12.00	1	12.00	2.82	0.137 1
BC	0.45	1	0.45	0.11	0.753 7
A ²	140.50	1	140.50	33.02	0.000 7
B ²	1.58	1	1.58	0.37	0.562 0
C ²	3.64	1	3.64	0.86	0.385 7
残差	29.79	7	4.26		
失拟项	23.02	3	7.67	4.54	0.089 0
净误差	6.76	4	1.69		
总离差	1 341.52	16			

表 1 Box-Behnken 响应面法试验方案及结果

Table 1 Scheme and results of Box-Behnken response surface methodology test

序号	A	B/°C	C/(mg·mL ⁻¹)	Y/%
1	2.0 (-1)	50 (0)	2.50 (-1)	80.519 2
2	0.5 (+1)	60 (+1)	5.25 (0)	87.743 2
3	2.0 (-1)	40 (-1)	5.25 (0)	69.345 2
4	0.8 (0)	50 (0)	5.25 (0)	70.687 2
5	0.5 (+1)	40 (-1)	5.25 (0)	83.298 3
6	0.8 (0)	40 (-1)	8.00 (+1)	60.634 3
7	2.0 (-1)	50 (0)	8.00 (+1)	61.809 7
8	0.8 (0)	50 (0)	5.25 (0)	71.012 6
9	0.5 (+1)	50 (0)	8.00 (+1)	80.326 7
10	0.8 (0)	60 (+1)	2.50 (-1)	85.745 3
11	0.8 (0)	50 (0)	5.25 (0)	71.874 3
12	0.5 (+1)	50 (0)	2.50 (-1)	92.109 2
13	0.8 (0)	60 (+1)	8.00 (+1)	64.491 8
14	0.8 (0)	50 (0)	5.25 (0)	72.370 3
15	2.0 (-1)	60 (+1)	5.25 (0)	73.105 6
16	0.8 (0)	40 (-1)	2.50 (-1)	83.234 1
17	0.8 (0)	50 (0)	5.25 (0)	73.978 5

根据 2 次多项式模型方程拟合结果, 绘制效应曲面图, 见图 1。效应面的等高线图和三维效应曲面图可以直观地反映因素间交互作用。由图 1 可见, A、C 因素等高线呈椭圆形且较密集, 且其响应面 3D 图弯曲程度稍大, 说明其交互作用较强, A、C 因素为影响红花提取物磷脂复合物复合率的主要交互因素。由效应图结果可得, 当 A 因素在 1.5~2.0, B 因素在 55~60 °C, C 因素在 2.5~5 mg/mL 时, 复合率指标效果最好。Design Expert 软件优选的最佳工艺处方为红花提取物与大豆卵磷脂的比例为 1.5、反应系统中药物质量浓度为 5 mg/mL、反应温度为 55 °C、反应时间为 1.5 h 为最优制备工艺。

验证实验: 最终确定对优选出来的最佳工艺条件进行验证试验, 重复 3 次, 计算复合率。最终复合率为 (90.55±1.72) %, 表明该模型具有良好的预测性, 且工艺稳定可行。

2.4 红花提取物磷脂复合物的表征

2.4.1 紫外吸收光谱研究 取适量的 HSYA、红花提取物、红花提取物磷脂复合物 (质量比 1:1)、红花提取物与磷脂的物理混合物 (质量比 1:1)、

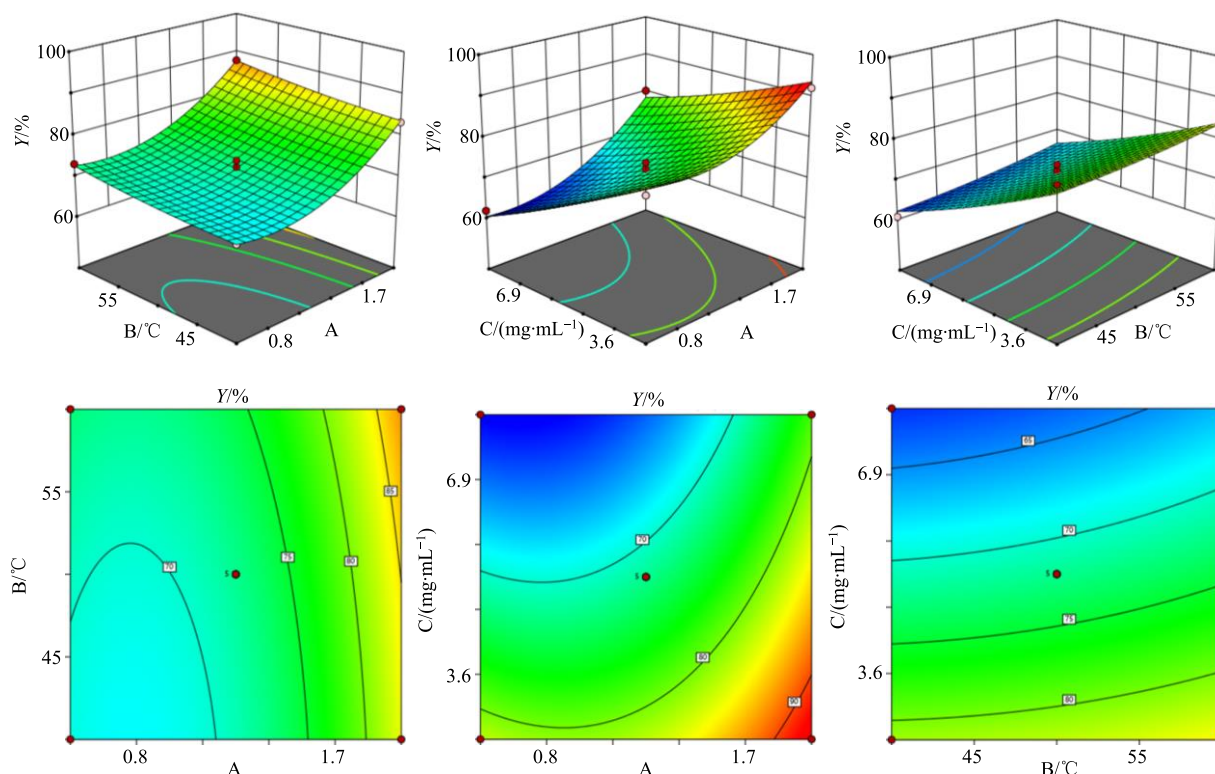


图 1 各因素的交互作用对复合率影响的等高线图及三维效应面图

Fig. 1 Three-dimensional response surface and contour of interrelated influence of various factors on recombination rate

大豆卵磷脂，分别溶于 25% 甲醇，以 25% 的甲醇为空白，在 200~800 nm 进行扫描。结果如图 2 所示。结果表明，大豆卵磷脂在 285 nm 波长处有吸收峰，HSYA 在 400 nm 处有较大吸收，其余波长均无吸收。磷脂复合物及红花提取物与物理混合物的吸收光谱形状相同，分析表明红花提取物形成磷脂复合物后发色团结构没有发生变化，说明没有新的化合物形成。

2.4.2 红外吸收光谱研究 采用 KBr 压片法，分别将红花提取物、红花提取物磷脂复合物、红花提取物大豆卵磷脂物理混合物及大豆卵磷脂和 KBr 以 1:100 研磨均匀，压片后在波长为 4 000~400 cm^{-1}

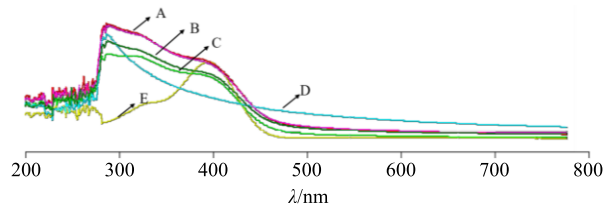


图 2 磷脂复合物 (A)、物理混合物 (B)、红花提取物 (C)、大豆卵磷脂 (D) 和 HSYA (E) 的紫外-可见光扫描图

Fig. 2 UV-visible scanning spectra of phospholipid complex (A), physical mixture (B), safflower extract (C), soybean (D), and HSYA (E)

进行傅里叶红外光谱 (FT-IR) 测定。结果见图 3。

FT-IR 光谱如图 3 所示，红花提取物的特征吸收峰为 3 415 cm^{-1} (-OH), 1 659 cm^{-1} (C=O), 1 169 cm^{-1} (C-O)。大豆卵磷脂的特征吸收峰为，3 420 cm^{-1} (-OH), 2 924 cm^{-1} 和 2 855 cm^{-1} (C-H), 在 1 738 cm^{-1} (C=O), 1 241 cm^{-1} (P=O), 1 124 cm^{-1} (P-O-C), 969 cm^{-1} [N+(CH₃)₃]。结果显示，红花提取物和大豆卵磷脂的物理混合物 FT-IR 上特征吸收峰基

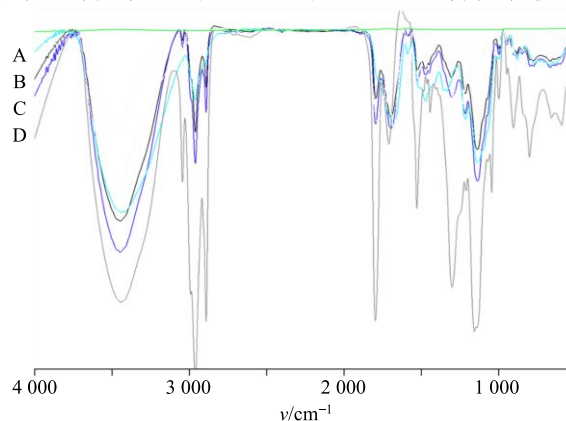


图 3 红花提取物 (A)、磷脂复合物 (B)、物理混合物 (C) 和大豆卵磷脂 (D) 的 FT-IR 图谱

Fig. 3 FT-IR spectra of safflower extract (A), phospholipid complex (B), physical mixture (C), and soybean lecithin (D)

本是两者主要峰的叠加,说明物理混合物中二者之间并未发生相互作用。

而红花提取物磷脂复合物的 FT-IR 谱图与之不同,在 $3\,415\text{ cm}^{-1}$ 处及 $1\,659\text{ cm}^{-1}$,峰的大小及峰形都发生了一定的变化,这说明在进行磷脂复合的过程中红花提取物结构中的官能团与大豆卵磷脂分子中的官能团之间发生了相互作用,表明磷脂复合物是由分子间相互作用形成的。

2.5 红花提取物磷脂复合物透膜性考察

2.5.1 含量测定及方法学验证

(1) 色谱条件: 色谱柱为 BD Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-0.7%磷酸水溶液 (26:2:72); 检测波长为 403 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 理论板数按 HSYA 峰计算均不低于 3 000。色谱图见图 4。

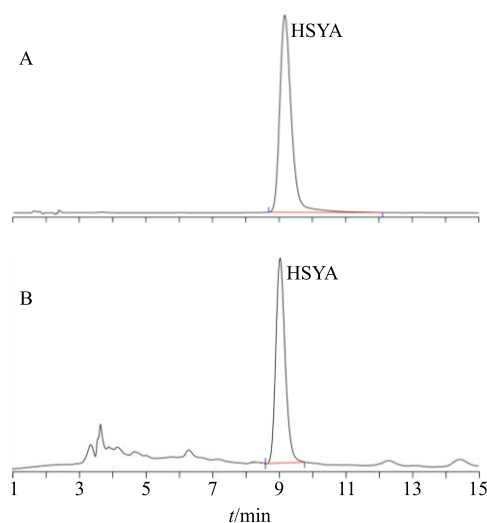


图 4 HSYA 对照品 (A) 及供试品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC of HSYA reference substance (A) and sample (B)

(2) 对照品溶液的制备: 精密称取 HSYA 对照品适量, 制成质量浓度分别为 0.025 6、0.102 4、0.409 6、1.638 4、6.552 6、13.107 2 μg/mL 的溶液, 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得 HSYA 对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备: 精密吸取红花提取物磷脂复合物在 24 h 时透膜接收液 1 mL, 于 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 作为供试品溶液。

(4) 方法学验证: 分别精密吸取上述 HSYA 对照品溶液 10 μL, 测定峰面积, 以峰面积和质量浓度进行线性回归, 得回归方程 $Y=39.266X+0.8135$, $r^2=0.9994$, 结果表明, HSYA 质量浓度在 0.025 6~

13.107 2 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

分别精密吸取 13.107 2 mg/mL 的 HSYA 对照品溶液 10 μL, 按上述液相条件重复进样 6 次, 结果峰面积的 RSD 为 1.51%, 表明精密度良好。

精密吸取红花提取物磷脂复合物在 24 h 时透膜接收液, 平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样 10 μL, 按上述色谱条件分别测定峰面积, 得 RSD 为 1.85%, 表明该方法重复性良好。

分别于 0、2、4、8、10 h 取得供试品溶液, 进样 10 μL, 按上述色谱条件分别测定峰面积, 得 RSD 为 1.64%, 表明该供试品溶液在 10 h 内稳定。

取样品溶液 0.5 mL 9 份, 分成 3 组, 分别按已知质量分数的 50%、100%、150% 等 3 个水平加入 HSYA 对照品适量, 按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 进样 10 μL, 测定含量, 计算加样回收率为 $(99.61 \pm 3.58)\%$, 回收率的 RSD 为 3.59%, 表明该方法的准确度良好。

2.5.2 体外透膜实验 用牛蛙腹部皮肤为透膜材料, 采用立式改良 Franz 扩散池为评价方法, 以 HSYA 的透膜量为评价指标, 对红花提取物磷脂复合物的透膜性进行评价^[17]。

(1) 离体皮肤的制备: 参考文献方法^[18], 利用蛙皮与黏膜结构的相似性, 故以离体牛蛙腹部皮肤为模型研究^[19]。牛蛙双毁髓处死 (用细针垂直插入牛蛙的枕骨大孔 (位于牛蛙的颈部, 用手可以摸到凹陷处))。分离牛蛙腹部皮肤, 用生理盐水反复冲洗, 至无混浊为止。用超纯水将蛙皮冲洗干净, 滤纸吸干表面的水分, -20 °C 冷藏, 备用。

(2) 药物溶液的制备: 分别称取红花提取物 1 g, 药脂比 2 的红花提取物磷脂复合物 1.5 g, 药脂比 1 的红花提取物磷脂复合物 2 g, 药脂比 0.5 的红花提取物磷脂复合物 3 g, 置于锥形瓶中, 加入 10 mL 生理盐水, 使药物充分溶解, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 作为供试品溶液。

(3) 透皮扩散实验: 取离体皮肤, 真皮层面向接收池 (内), 角质层面向供给池 (外) 固定在立式改良 Franz 扩散池上, 除去蛙皮多余部分。在接收室内加入磁力转子和氯化钠溶液 15 mL (接收池的容积为 15 mL), 将黏膜固定在接收室与供给室之间, 将扩散池置于恒温磁力搅拌器上, 将转速调为 3 000 r/min, 水浴温度为 37 °C, 平衡 20 min。分别将供试液加入到各装置的供给室内, 分别于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10、12、24.0 h, 用移液

管从接收池吸取 1 mL 溶液,同时补充 1 mL 生理盐水,使接收池中液体体积保持恒定。将所取样液于 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液作为样品溶液。以 HSYA 的含量为评价指标,计算累积渗透量 (Q_n) 和稳态透膜速率 (J_{ss})^[20]。将 Q_n 对渗透时间 t 进行回归,所得直线斜率即为 J_{ss} 。

$$Q_n = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} V_i C_i) / A$$

C_n 为第 n 个取样点质量浓度, C_i 为第 i 个取样点质量浓度, A 为渗透面积 (扩散池直径 1.3 cm, $A=5.31 \text{ cm}^2$), V 为接收室中接收液的体积, V_i 为第 i 个时间段接收室中取出接收液的体积

由透膜实验考察结果可知,磷脂复合物显著改善了红花提取物的透膜性能。红花提取物药脂比分别为 2、1、0.5 的磷脂复合物 24 h 累积渗透量 (Q_{24}) 分别为 (15.07 ± 1.24) 、 (15.61 ± 0.92) 、 (21.94 ± 1.54) 、 $(21.05 \pm 1.39) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

由图 5 可知,透膜给药初始阶段,红花提取物磷脂复合物 (2、1、0.5) 的 J_{ss} 较红花提取物无明显差异。随着给药时间的增加,红花提取物磷脂复合物的 Q_n 与 J_{ss} 逐渐增加。当药脂比为 1 时其 Q_n 与 J_{ss} 最佳,优于药脂比为 2 与 0.5 的红花提取物磷脂复合物,说明药物的透膜溶出速率并不完全随着磷脂的用量而增加。据数据分析,1:0.5 的红花提取物磷脂复合物因为磷脂的量不足,并未完全包合药物,而 1:1 与 1:2 的红花提取物磷脂复合物已

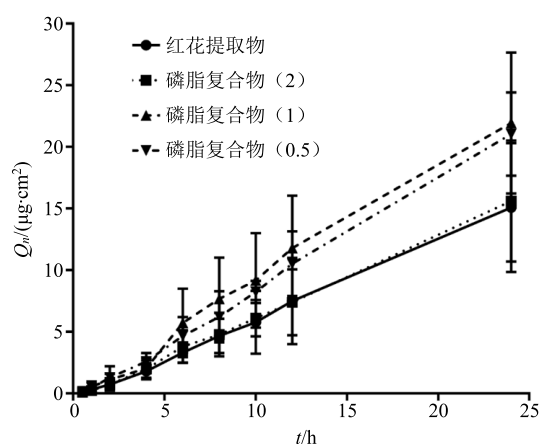


图 5 红花提取物和磷脂复合物的 Q_n - t 曲线

Fig. 5 Q_n - t curves of safflower extract and phospholipid complex

经将药物包合完,故结果无明显差异,同时,考虑到磷脂复合物中磷脂用量越大会使药物剂量也随之增加,稳定性也会受到影响,不便于药物生产贮存,因此,为了提高红花提取物的载药量,最终确定药脂比为 1:1。

由实验结果 (表 3) 可知,药物 Q_n 对时间呈良好的线性关系, r^2 均在 0.99 以上,符合一级动力学方程。当药物与磷脂的比例为 1:1 时,红花提取物磷脂复合物的 J_{ss} 较红花提取物的 J_{ss} 有明显的提高,继续提高磷脂用量对其透膜性能改善不明显,因此,选择药物与磷脂的比例为 1:1 作为红花提取物磷脂复合物制备工艺的药脂比。

表 3 HSYA 稳态透膜速率和 Q_{24} 测定结果

Table 3 Determination of steady-state membrane penetration rate and Q_{24} of HSYA

指标	回归方程	r^2	$J_{ss}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1})$	$Q_{24}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2)$
红花提取物 (HSYA)	$Y=0.646\ 3\ X-0.492\ 5$	0.998\ 3	0.646\ 3	15.07 ± 1.24
磷脂复合物 (2) (HSYA)	$Y=0.666\ 4\ X-0.483\ 0$	0.998\ 8	0.666\ 4	15.61 ± 0.92
磷脂复合物 (1) (HSYA)	$Y=0.955\ 2\ X-0.489\ 4$	0.991\ 9	0.955\ 2	21.94 ± 1.54
磷脂复合物 (0.5) (HSYA)	$Y=0.898\ 7\ X-0.640\ 9$	0.998\ 0	0.898\ 7	21.05 ± 1.39

3 讨论

课题组前期考察了红花提取物的制备工艺,溶解度实验结果提示,红花提取物水溶性好,脂溶性较差,因此,将其制成磷脂复合物改善其油水分配系数。在磷脂复合物制备工艺研究中考察了反应溶剂、药脂比、反应时间、反应温度及药物浓度等因素对复合率的影响,结果提示,以甲醇作为复合溶剂复合率较高。反应时间和反应温度对复合率并无显著性影响,选择反应时间为 1.5 h,反应温度为

55 ℃。在单因素筛选的基础上对影响较大的药脂比与药物浓度等因素,采用 Box-Behnken 效应面法进行优化,优选的制备工艺为红花提取物与大豆卵磷脂的比例为 0.5、反应系统中药物质量浓度为 5 mg/mL、反应温度为 55 ℃、反应时间为 1.5 h。结果表明,该回归模型能较好地预测磷脂复合物的符合率,偏差较小。

本研究采用响应曲面法对制备红花提取物磷脂复合物工艺参数进行优化,并通过透膜实验改善并

确定了最终工艺。红花提取物磷脂复合物透膜性能得到明显改善,有利于拓展和提升红花提取物临床效用。

参考文献

- [1] 田志伟. 红花药理分析及临床应用研究 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(80): 15833.
- [2] 汪宏雷. 红花的药理作用 [J]. 中医药临床杂志, 2014, 26(5): 519.
- [3] 瞿城, 乐世俊, 林航, 等. 红花化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1872-1877.
- [4] 刘宁, 刘媛, 潘蕾, 等. 红花的研究进展 [J]. 中国医药导刊, 2017, 19(5): 527-530.
- [5] 陈桢, 李冰韶, 王永洁, 等. 设计空间法优化红花温浸提取工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4544-4551.
- [6] 唐红, 鲁道旺, 杨詹詹, 等. 羟基红花黄色素 A 的药理学研究进展 [J]. 广州化工, 2017, 45(14): 20-22.
- [7] 刘楠, 朱琳, 李纳, 等. 红花多糖通过阻断 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞凋亡的机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4374-4379.
- [8] 李慧敏. 红花注射液联合重组组织型纤溶酶原激活剂对急性脑梗死的疗效、血液流变学和血脂的影响 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(6): 1098-1101.
- [9] 沈志方. 注射用红花黄色素联合美托洛尔治疗冠心病心力衰竭的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(6): 1357-1360.
- [10] 张海防, 郭健新, 黄罗生, 等. 羟基红花黄色素 A 的吸收机制研究 [J]. 中国药科大学学报, 2006, 32(4): 312-317.
- [11] 曾诚, 郑瑞芳, 都研文, 等. TAT 和 PEG 双修饰田蓟苷复合磷脂脂质体的工艺优化及体外评价 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5061-5069.
- [12] 顾海滨. 药物磷脂复合物的研究进展 [J]. 中国医药指南, 2015, 13(33): 33-35.
- [13] 马敏, 瞿叶清, 戈叶婷, 等. 应用复合磷脂脂质体人工皮肤膜表征香附四物汤活性部位生物药剂学性质 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1048-1055.
- [14] 张红芹, 郝海军, 樊敏伟, 等. 磷脂复合物在经皮及黏膜给药系统中的应用 [J]. 中成药, 2014, 36(1): 153-157.
- [15] 王卉, 史亚军, 邓辉, 等. 红花中羟基红花黄色素 A 的提取动力学研究 [J]. 安徽医药, 2015, 19(10): 1853-1856.
- [16] 闫丹, 江敏瑜, 王云红, 等. 积雪草总苷脂质体的制备及体外透皮研究 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2041-2048.
- [17] 史亚军, 杨明, 施俊辉, 等. 黄芩提取物磷脂复合物鼻用制剂剂型研究 [J]. 中药材, 2013, 36(10): 1697-1701.
- [18] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [19] 陈晓兰, 杜守颖, 陆洋, 等. 丹皮酚体外黏膜渗透性及影响因素的考察 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3207-3210.
- [20] 阙慧卿, 陈洪, 彭华毅, 等. 雷公藤内酯醇纳米脂质体温敏凝胶的制备与鼻腔黏膜渗透性考察 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3517-3522.