

淫羊藿治疗化疗致周围神经病变有效部位磷脂复合物的制备、表征与评价

梅 凯, 兰 海, 李 鑫, 李婷婷, 郝逗逗, 王灵敏, 王昕怡, 陈佳佳, 刘 葭, 吴 清*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要:目的 研究淫羊藿治疗化疗致周围神经病变(chemotherapy-induced peripheral neuropathy, CIPN)的有效部位, 并制备磷脂复合物以提高其渗透性, 为制剂设计提供实验依据。方法 以复合率为评价指标, 采用单因素试验结合 Box-Behnken 试验设计考察有效部位磷脂复合物的制备工艺, 对磷脂复合物的形成进行表征, 以朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷为评价指标测定其平衡溶解度与油水分配系数($\lg P$), 并考察其体外释放行为。结果 确定磷脂复合物的最佳工艺条件为无水乙醇为反应溶剂, 有效部位与大豆卵磷脂投料比为 1:2.7, 药物质量浓度为 13.5 mg/mL, 反应温度为 37 °C, 反应时间为 2 h, 复合率达到(96.21±0.22)%。紫外光谱、红外光谱、差示扫描量热分析表征验证了淫羊藿有效部位磷脂复合物的形成。有效部位通过磷脂复合物改性后, 4 种成分的溶解度提高 2~3 倍, $\lg P > 1$, 药物的溶解性和渗透性得到显著提高。体外释放结果显示, 4 种成分的 24 h 体外累积释放率处于 48%~74%, 释放过程以一级动力学为主, 释放机制为溶蚀和扩散的共同作用。结论 采用磷脂复合物技术对有效部位进行了改性, 为淫羊藿治疗 CIPN 的进一步开发与利用奠定了基础。

关键词: 淫羊藿; 化疗致周围神经病变; 朝藿定 A; 朝藿定 B; 朝藿定 C; 淫羊藿苷; 磷脂复合物

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3662-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.011

Preparation, characterization and evaluation of phospholipid complexes of effective parts of *Epimedii Folium* in treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy

MEI Kai, LAN Hai, LI Xin, LI Ting-ting, HAO Dou-dou, WANG Ling-min, WANG Xin-yi, CHEN Jia-jia, LIU Jia, WU Qing

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To study the effective parts of *Epimedii Folium* in the treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN), and prepare phospholipid complex to improve its permeability, so as to provide experimental basis for preparation design. **Methods** Taking the compound rate as evaluation index, the preparation process of phospholipid complex of effective parts was investigated by single factor test combined with box Behnken test design, and the formation of phospholipid complex was characterized. Taking epimedin A, B, C and icariin as evaluation indexes, its solubility and oil-water partition coefficient were measured, and its release behavior *in vitro* was investigated. **Results** The optimum conditions for the preparation of phospholipid complex were as follows: anhydrous ethanol was used as the reaction solvent, ratio of drug to soybean lecithin was 1:2.7, the drug concentration was 13.5 mg/mL, the reaction temperature was 37 °C, the reaction time was 2 h, and the compound rate reached (96.21 ± 0.22)%. The formation of phospholipid complex in the effective parts of *Epimedii Folium* was verified by UV, IR and differential scanning calorimetry. After the effective parts were modified by phospholipid complex, the solubility of the four components was increased by about 2—3 times, $\lg P > 1$, and the solubility and permeability of the drug were significantly improved. The results of *in vitro* release showed that the 24 h cumulative release rate of the four components was between 48% and 74%. The release process was dominated by first-order kinetics, and the release mechanism was the joint action of dissolution and diffusion. **Conclusion** The effective parts were modified by phospholipid complex technology, which laid a foundation for the further development and utilization of *Epimedii Folium* in the treatment of CIPN.

收稿日期: 2021-12-08

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目(7192109)

作者简介: 梅 凯, 硕士研究生, 主要从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: 897645214@qq.com

*通信作者: 吴 清, 教授, 博士生导师, 主要从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: qwu@vip.sina.com

Key words: *Epimedii Folium*; chemotherapy-induced peripheral neuropathy; epimedin A; epimedin B; epimedin C; icariin; phospholipid complex

化疗致周围神经病变 (chemotherapy-induced peripheral neuropathy, CIPN) 是指以奥沙利铂为代表的化疗药对癌症患者周围神经或自主神经损伤产生的神经功能紊乱的病变^[1]。

淫羊藿为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim.、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim. 或朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 的干燥叶, 性味辛、甘、温, 归肝、肾经, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效^[2]。中医临床^[3-5]和现代药理研究^[6-9]均表明淫羊藿具有治疗 CIPN 的潜力, 淫羊藿水提液能够促进鸡胚背根神经节突起的生长以及神经节 DNA、RNA 的合成; 淫羊藿提取物和淫羊藿苷皆能有效促进周围神经再生, 改善受损神经的功能。实验室前期工作基础发现淫羊藿对奥沙利铂引起的 CIPN 具有明显的保护作用^[10], 并且筛选得到 50%乙醇洗脱部位是有效部位, 液质联用分析明确其主要化学成分为朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷, 采用大孔吸附树脂法对有效部位的富集工艺进行了优化^[11]。同时实验室对淫羊藿有效部位的理化性质进行了研究, 根据生物药剂学分类系统, 有效部位主要成分朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷属于 III 类成分, 即具有高溶解性、低渗透性, 难以跨越胃肠道生物膜, 吸收较差, 影响药效发挥, 因此拟将其制备为磷脂复合物以提高其渗透性, 从而提高生物利用度。

磷脂复合物是药物和磷脂分子通过电荷迁移作用而形成的较为稳定的复合物或络合物, 可以改变药物的理化性质^[12-13], 具有高度的生物相容性和膜渗透性。本文将淫羊藿有效部位制备成磷脂复合物并进行表征, 测定 4 种主要成分朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷的平衡溶解度和油水分配系数, 考察体外释放行为, 为淫羊藿有效部位的剂型设计与进一步开发利用提供参考。

1 仪器与材料

LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; BT 125D 型电子分析天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; SHA-CA 水浴恒温振荡器, 常州澳华仪器有限公司; MX-S 涡旋仪, Dragon Lab; KQ-300V DE 双频数控超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司; TDL-5-A 离心机, 上海安亭科学仪器厂; RE-

501 旋转蒸发仪, SHB-III 循环水式多用真空泵, 北京神泰伟业仪器设备有限公司; BZF 50 型真空干燥箱, 上海 BOXUN 公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 北京科伟永兴仪器有限公司; 756PC 紫外可见分光光度计, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; Alpha II 红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; DSC3 差示扫描量热仪, 瑞士梅特勒托利多公司。

对照品朝藿定 A (批号 P10J11F118161, 质量分数 $\geq 98\%$)、朝藿定 B (批号 P19A11F121806, 质量分数 $\geq 98\%$)、朝藿定 C (批号 R01J11F117173, 质量分数 $\geq 98\%$)、淫羊藿苷 (批号 T21S8B40472, 质量分数 $\geq 98\%$)、磷酸氢二钠 (批号 Z29D9Y78929)、大豆卵磷脂 (批号 T25S11F125782)、15000MWCO 再生纤维素透析袋 (截留相对分子质量为 15 000), 上海源叶生物有限公司; 淫羊藿有效部位, 实验室自制, 总黄酮为 $(62.60 \pm 0.26)\%$, 朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷分别为 $(2.75 \pm 0.07)\%$ 、 $(14.54 \pm 0.08)\%$ 、 $(5.79 \pm 0.10)\%$ 、 $(14.59 \pm 0.20)\%$; 磷酸二氢钾 (批号 20131122), 国药集团化学试剂有限公司; 磷酸氢二钾 (批号 990315-1), 北京市红星化工厂; 磷酸二氢钠 (批号 20140212)、丙酮 (批号 20190401), 北京化工厂; 甲醇 (批号 20200920)、无水乙醇 (批号 20201210), 天津市致远化学试剂有限公司; 二氯甲烷 (批号 20200901)、四氢呋喃 (批号 20200901), 天津市大茂化学试剂厂; 正辛醇 (批号 WXBB1159V)、甲醇、乙腈, 色谱纯, Sigma 公司; 液相用水, 娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 磷脂复合物的制备工艺及评价方法

淫羊藿有效部位不溶于二氯甲烷, 而磷脂和磷脂复合物易溶于二氯甲烷, 利用此特性可以将游离的淫羊藿有效部位与磷脂复合物分离。将一定量的淫羊藿有效部位和大豆卵磷脂在一定条件下反应后, 蒸去溶剂后加入适量的二氯甲烷溶解, $0.45 \mu\text{m}$ 有机系滤膜抽滤, 滤膜上的沉淀即为未复合的游离淫羊藿有效部位, 干燥称定质量, 以复合率为指标考察磷脂复合物制备工艺。

$$\text{复合率} = (W_1 - W_2) / W_1$$

W_1 为淫羊藿有效部位初始投入量, W_2 为淫羊藿有效部位沉淀量

2.2 单因素试验

分别以反应溶剂为甲醇、无水乙醇、丙酮、二氯甲烷、四氢呋喃,反应时间为0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h,投料比为1:0.5、1:1、1:2、1:3、1:4(淫羊藿有效部位/大豆卵磷脂),药物质量浓度为2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 mg/mL,反应温度为20、30、40、50、60 °C进行单因素试验,其中固定参数为投料比为1:2,药物质量浓度为10.0 mg/mL,反应温度为40 °C,反应时间为2.0 h,反应溶剂为无水乙醇。

结果不同反应溶剂(甲醇、无水乙醇、丙酮、二氯甲烷、四氢呋喃)的复合率分别为94.73%、92.14%、0、39.63%、96.21% ($n=3$),不同反应时间(0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h)的复合率分别为89.07%、92.59%、93.90%、93.87%、93.95% ($n=3$),不同反应温度(20、30、40、50、60 °C)的复合率分别为89.63%、91.53%、94.14%、93.99%、93.81% ($n=3$),不同药物质量浓度(2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 mg/mL)的复合率分别为86.48%、93.42%、93.24%、94.00%、91.74% ($n=3$),不同投料比(1:0.5、1:1、1:2、1:3、1:4)的复合率分别为0、83.70%、94.70%、95.74%、94.42% ($n=3$),考虑到毒性问题,选择复合率高的无水乙醇作为反应溶剂;反应时间影响较小,2 h后复合率基本达到稳定(94%),因此,确定反应时间为2 h;选择对复合率影响较大的投料比、药物质量浓度、反应温度进一步优化。

2.3 Box-Behnken 效应面优化试验

2.3.1 Box-Behnken 试验设计 根据单因素试验结果,选取对复合率影响较大的投料比(X_1)、药物质量浓度(X_2)、反应温度(X_3)3个因素,以复合率为指标,采用Box-Behnken设计对淫羊藿有效部位磷脂复合物的制备工艺进行效应面优化。设计因素水平及Box-Behnken试验安排见表1,采用Design Experts 8.0.6软件对实验结果进行拟合分析。

2.3.2 模型拟合及响应面分析 采用Design-Expert 8.0.6软件对上述实验结果进行模型拟合及方差分析,方差分析及影响因素显著性分析结果见表2,响应曲面图见图1。对复合率结果进行2项式方程拟合,得模型拟合方程为 $Y=96.55+4.85 X_1+1.25 X_2+1.18 X_3-1.40 X_1X_2-2.03 X_1X_3+0.011 X_2X_3-6.03 X_1^2-1.68 X_2^2+1.47 X_3^2$,对模型回归方程进行方差分析, $P=0.0015<0.05$,表明所建立的回归方程具有统计学意义。由回归分析结果可知,投料比

表1 Box-Behnken 试验安排

Table 1 Box-Behnken test arrangement

实验号	因素			复合率/%
	X_1	X_2 (mg·mL ⁻¹)	X_3 /°C	
1	1.0(-1)	5.0(-1)	35(0)	79.27
2	4.0(+1)	5.0(-1)	35(0)	93.90
3	1.0(-1)	20.0(+1)	35(0)	86.57
4	4.0(+1)	20.0(+1)	35(0)	95.58
5	1.0(-1)	12.5(0)	20(-1)	84.02
6	4.0(+1)	12.5(0)	20(-1)	95.66
7	1.0(-1)	12.5(0)	50(+1)	92.35
8	4.0(+1)	12.5(0)	50(+1)	95.88
9	2.5(0)	5.0(-1)	20(-1)	95.86
10	2.5(0)	20.0(+1)	20(-1)	96.34
11	2.5(0)	5.0(-1)	50(+1)	96.30
12	2.5(0)	20.0(+1)	50(+1)	96.82
13	2.5(0)	12.5(0)	35(0)	96.70
14	2.5(0)	12.5(0)	35(0)	96.95
15	2.5(0)	12.5(0)	35(0)	96.91
16	2.5(0)	12.5(0)	35(0)	96.42
17	2.5(0)	12.5(0)	35(0)	95.74

表2 2项式回归模型系数显著性检验

Table 2 Significance test of binomial regression model coefficients

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	411.01	9	45.67	12.69	0.0015
X_1	188.24	1	188.24	52.30	0.0002
X_2	12.45	1	12.45	3.46	0.1052
X_3	11.19	1	11.19	3.11	0.1212
X_1X_2	7.88	1	7.88	2.19	0.1825
X_1X_3	16.44	1	16.44	4.57	0.0699
X_2X_3	0.01	1	0.01	0.01	0.9915
X_1^2	153.34	1	153.34	42.61	0.0003
X_2^2	11.91	1	11.91	3.31	0.1117
X_3^2	9.07	1	9.07	2.52	0.1564

对复合率有显著性影响,药物质量浓度与反应温度不具有显著性影响,各因素的交互作用不具有显著性影响。各因素对于复合率影响的顺序为 X_1 (投料比) $>X_2$ (药物质量浓度) $>X_3$ (反应温度)。由响应曲面图可知,复合率在投料比为1:1~1:4内先上升后下降,影响较明显,在药物质量浓度为5~20 mg/mL内,复合率也是先上升后下降,但是曲面变化幅度小,影响不显著。

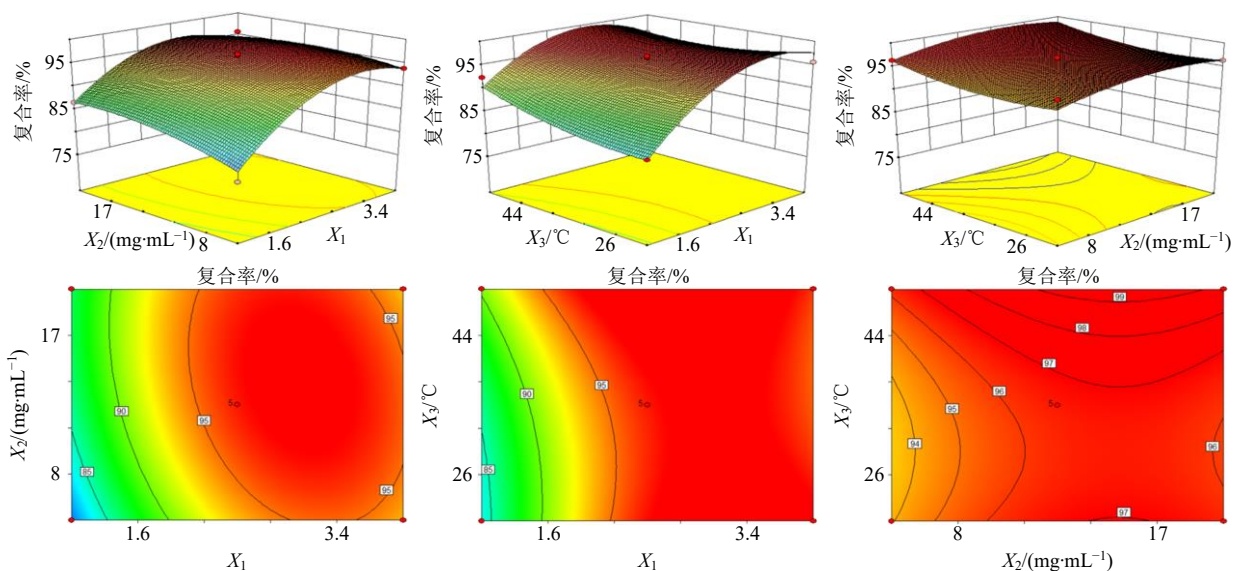


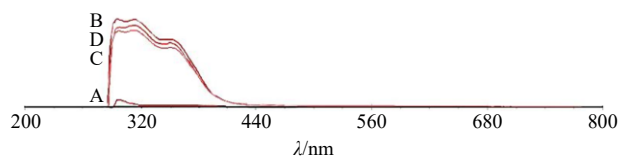
图1 投料比、药物浓度、反应温度对复合率的影响效应曲面图 (1024×768)

Fig. 1 Effect surface diagram of feed ratio, drug concentration and reaction temperature on compound rate (1024 × 768)

2.3.3 最优工艺及验证 模型预测最佳工艺为无水乙醇为反应溶剂, 投料比为 1 : 2.7, 药物质量浓度为 13.5 mg/mL, 反应温度为 37 °C, 反应时间为 2 h。对最优工艺进行验证, 重复 3 次实验, 计算偏差 [偏差=(预测值-实测值)/预测值]。结果 3 次实验中磷脂复合物的复合率分别为 95.98%、96.51%、96.14%, 平均为 96.21%, 而预测值为 97.34%, 二者偏差为 1.16%, 说明模型比较可靠, 证明淫羊藿有效部位磷脂复合物最佳制备工艺稳定可行。

2.4 磷脂复合物的表征

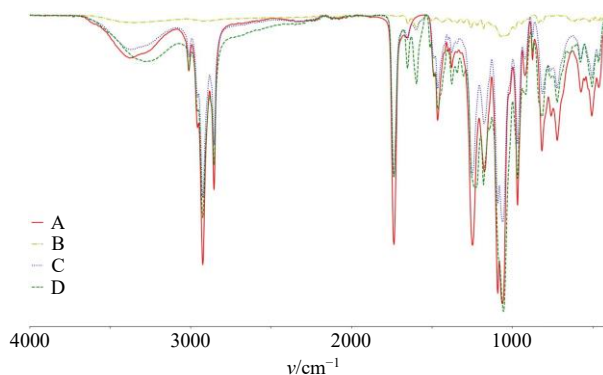
2.4.1 紫外光谱法 称取适量淫羊藿有效部位, 大豆卵磷脂、物理混合物、磷脂复合物, 适量无水乙醇稀释, 以无水乙醇为对照, 于 200~800 nm 波长范围内进行紫外扫描, 结果见图 2。由结果可知, 磷脂在 200~800 nm 内几乎无吸收, 淫羊藿有效部位、物理混合物、磷脂复合物均在 290、313、360 nm 处有吸收峰, 且光谱图相似, 表明淫羊藿有效部位和大豆卵磷脂在复合过程中没有形成新的发色团, 即药物的化学结构并未发生改变。



A-大豆卵磷脂 B-淫羊藿有效部位 C-物理混合物 D-磷脂复合物
A-soybean lecithin B-effective parts of *Epimedium Folium* C-physical mixture D-phospholipid complex

图2 紫外光谱图
Fig. 2 Ultraviolet spectrogram

2.4.2 红外光谱法 分别取适量大豆卵磷脂、淫羊藿有效部位、物理混合物、磷脂复合物, 在 400~4000 cm⁻¹ 进行红外光谱扫描, 结果见图 3。大豆卵磷脂的主要特征吸收峰是 2 922.78 cm⁻¹ (-OH)、2 853.13 cm⁻¹ (-CH)、1 735.31 cm⁻¹ (C=O)、1 246.93 cm⁻¹ (P=O)、1 061.26 cm⁻¹ (O-C)、967.24 cm⁻¹ (P-O)。与物理混合物的图谱相比, 磷脂复合物图谱中的峰数目、峰形状和宽度等都发生了一定的变化, 吸收峰 1 247.78 cm⁻¹ (P=O) 迁移至 1 234.13 cm⁻¹, 且宽度明显变宽, 强度明显变弱, 说明淫羊藿有效部位某些成分的官能团与大豆卵磷脂分子的 P=O 键之间发生了相互作用; 此外吸收峰 1 089.82 cm⁻¹ 与 1 059.40 cm⁻¹ 合并为 1 054.22 cm⁻¹, 吸收峰 1 175.24 cm⁻¹ 迁移至 1 178.43 cm⁻¹, 以上结果说明

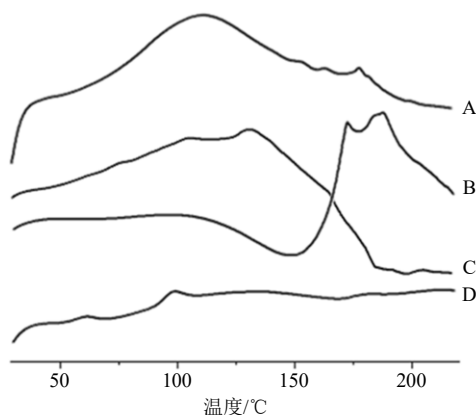


A-大豆卵磷脂 B-淫羊藿有效部位 C-物理混合物 D-磷脂复合物
A-soybean lecithin B-effective parts of *Epimedium Folium* C-physical mixture D-phospholipid complex

图3 红外光谱图
Fig. 3 Infrared spectrogram

淫羊藿有效部位的某些成分与大豆卵磷脂发生了相互作用。

2.4.3 差示扫描量热 (DSC) 分析 以空的铝坩埚作为参比, 升温速度为 10 °C/min, 扫描范围为 30~220 °C, 测定淫羊藿有效部位、大豆卵磷脂、物理混合物、磷脂复合物的差示热曲线, 结果见图 4。有效部位 (图 4-A) 熔距很宽, 没有确切的熔点, 仅在 180 °C 有 1 个不明显的吸热峰。而磷脂 (图 4-D) 在 50~200 °C 出现较多不明显的吸热峰, 可能是磷脂是一种混合物所致。磷脂复合物 (图 4-B) 与物理混合物 (图 4-C) 的图谱明显不同, 物理混合物没有明显的吸热峰, 可能是磷脂的存在使药物的相变点发生变化, 导致吸热峰变化; 磷脂复合物在 174.3、189.5 °C 处有 2 个较明显的吸热峰, 证明了磷脂复合物是一种不同于有效部位、磷脂或物理混合物的新物相, 说明磷脂复合物中药物与大豆卵磷脂分子之间存在相互作用。



A-有效部位 B-磷脂复合物 C-物理混合物 D-大豆卵磷脂
A-soybean lecithin B-effective parts of *Epimedium Folium* C-physical mixture D-phospholipid complex

图 4 差示扫描量热曲线

Fig. 4 Differential scanning calorimetry curve

2.5 淫羊藿有效部位磷脂复合物的体外评价

2.5.1 磷脂复合物平衡溶解度的测定 以最佳工艺制备淫羊藿有效部位磷脂复合物, 参照《中国药典》2020 年版四部附录的方法^[14], 分别配制 pH 值为 1.2、2.0、5.0、5.8、6.8、7.4、7.8 的磷酸盐缓冲液 (PBS), 精密移取 1 mL 水和不同 pH 值 PBS 至离心管中, 分别加入过量的磷脂复合物, 配制成相应的饱和溶液, 涡旋 5 min, 超声 10 min, 37 °C、120 r/min 恒温水浴振荡器中振荡 24 h, 保持有固体药物存在, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液经甲醇适当稀释, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按照以下 HPLC 条

件进行测定, 计算各指标成分的平衡溶解度, 结果见表 3。色谱条件: LC-20AT 高效液相色谱仪; Inertsil® ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~34 min, 25% 乙腈; 34~35 min, 25%~41% 乙腈; 35~45 min, 41%~25% 乙腈; 45~60 min, 25% 乙腈; 柱温为 30 °C; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 270 nm; 理论塔板数均大于 6000。

表 3 各指标成分在水及不同 pH 值 PBS 中平衡溶解度 (n=3)

Table 3 Solubility of each index component of *Epimedium Folium* in water and phosphate buffer with different pH (n=3)

pH 值	平衡溶解度/(mg·mL ⁻¹)			
	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	淫羊藿苷
水	0.85	4.31	1.70	3.65
1.2	0.68	3.64	1.41	3.62
2.0	0.64	3.25	1.32	2.80
5.0	0.62	2.93	1.18	2.35
5.8	0.86	4.25	1.73	3.55
6.8	2.72	13.49	5.40	11.50
7.4	3.15	16.25	6.41	14.19
7.8	3.23	16.09	6.39	14.01

磷脂复合物中 4 种成分平衡溶解度均显著提高, 在水及不同 pH PBS 中的变化趋势与原药物相似, 显著提高了有效部位的溶解性。

2.5.2 磷脂复合物油水分配系数 (lgP) 的测定 分别取适量水及不同 pH 值 PBS 于离心管中, 加入等量正辛醇溶液, 充分振摇使两相相互饱和, 3000 r/min 离心 10 min, 上层为水及不同 pH 值 PBS 饱和的正辛醇, 下层为正辛醇饱和的水及不同 pH 值 PBS, 分离, 备用。以朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷为指标, 采用经典摇瓶法测定磷脂复合物水及不同 pH 值 PBS 中的 lgP。取适量的磷脂复合物溶解于水饱和的正辛醇溶液中, 得到药物饱和的正辛醇溶液, 分别吸取 1 mL 该溶液和正辛醇饱和的水及不同 pH 值 PBS, 涡旋 5 min, 于 37 °C、120 r/min 恒温水浴振荡器中振荡 24 h, 3000 r/min 离心 10 min, 取下层水相及分配前的药物正辛醇溶液, 经甲醇适当稀释, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按照“2.5.1”项下液相色谱条件分别测定分配前正辛醇溶液中的药物质量浓度及分配后水相中的药物质量浓度, 计算各指标成分的 lgP, 结果见表 4。

表4 各指标成分在水及不同 pH 值 PBS 中的 lgP (n = 3)
Table 4 lgP of each index component in water and phosphate buffer with different pH (n = 3)

pH 值	lgP			
	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	淫羊藿苷
水	1.04	1.22	1.20	1.53
1.2	1.24	1.35	1.36	1.62
2.0	1.13	1.40	1.41	1.79
5.0	1.10	1.26	1.23	1.56
5.8	1.07	1.18	1.15	1.54
6.8	0.94	1.10	1.10	1.45
7.4	0.89	1.03	0.98	1.35
7.8	0.91	1.07	1.08	1.43

$$P_{app} = (C_0V_0 - CV) / CV$$

P_{app} 为表观渗透系数, C_0 为分配前正辛醇溶液中指标成分的质量浓度, V_0 为水饱和的正辛醇的体积, C 为分配平衡后指标成分在水及不同 pH 值 PBS 中的质量浓度, V 为正辛醇饱和的水及不同 pH 值 PBS 的体积

lgP 较小的化合物吸收差, lgP > 1 表明有较好的膜渗透性, 更易吸收^[15]。

磷脂复合物中 4 种成分在水及不同 pH 值 PBS 中 lgP 基本大于 1, 表明药物制备成磷脂复合物后具有较好的渗透性, 有利于口服吸收, 且对朝藿定 A、B、C 的 lgP 提升幅度更大, 说明磷脂复合物技术对亲水性物质渗透性的提高效果更明显。

2.5.3 磷脂复合物的体外释放考察 称取适量的淫羊藿有效部位和含有相同药物量的磷脂复合物, 分别用 5 mL PBS (pH 7.4) 分散, 装于透析袋内, 两端扎紧, 浸入装有 100 mL PBS (pH 7.4) 的锥形瓶中。37 °C 下以 100 r/min 的速率搅拌, 分别在 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、24 h 时取出 1 mL 接收液并补加等量的 PBS, 磷脂复合物样品接收液和有效部位样品接收液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按照“2.5.1”项下 HPLC 条件分别检测朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷 4 种成分的含量, 并计算各指标成分的累积释放率, 结果见图 5。

$$Q_n = (C_nV + \sum_{i=1}^{n-1} C_iV_i) / W$$

Q_n 为第 n 个时间点的累积释放率, V 为接收液体积, V_i 为取样体积, C_n 和 C_i 分别为第 n 次和第 i 次取样时接收液中药物浓度, W 为制剂中所含药物质量

从结果可知, 与有效部位原料药相比, 磷脂复合物中 4 种成分的释放均相对缓慢, 且差异没有显

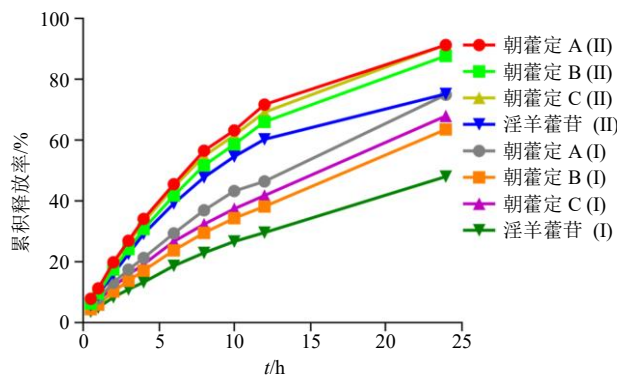


图5 磷脂复合物 (I) 与有效部位 (II) 的体外释放曲线 (n = 3)

Fig. 5 *In vitro* release curve of phospholipid complex (I) and effective parts (II) (n = 3)

著性, 说明磷脂复合物具有缓释特性。可能有 2 种原因: 一是药物分子与磷脂分子结合后相对分子质量变大, 导致分子热运动变慢; 二是药物分子结构上的部分羟基参与了复合物的形成, 使得药物分子的亲水性降低。淫羊藿苷的累积释放率明显低于其他 3 种成分, 这可能是因为淫羊藿苷亲水性差, 在释放介质中的溶解度低。

为探究磷脂复合物中朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷的释放动力学, 对数据分别进行零级、一级动力学模型拟合, 结果见表 5。一级动力学拟合的 R^2 均大于零级动力学, 说明磷脂复合物对 4 种成分的释放以一级动力学为主。

为进一步探究磷脂复合物中 4 种成分的释放机制, 分别采用 Higuchi 方程、Ritger-Peppas 方程、Hixson-crowell 方程对累积释放曲线进行模型拟合, 结果见表 5。Higuchi 方程和 Hixson-crowell 方程相关系数均很高, 说明磷脂复合物的释药机制为溶蚀和扩散协同释药。磷脂复合物中朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷的 Ritger-Peppas 方程释放指数分别为 0.675 9、0.711 1、0.669 6、0.691, 均在 0.45~0.89, 进一步说明释放过程属于非 Fick 扩散, 即释药机制为溶蚀和扩散的共同作用^[16]。

3 讨论

药物具有一定的溶解性和渗透性时才能透过生物膜被吸收。药物的平衡溶解度与油水分配系数反映了药物的溶解性与渗透性, 通过测定药物的平衡溶解度与 lgP 可以简便、快捷、准确地预测药物的吸收情况^[17-19]。淫羊藿有效部位主要成分朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷具有高溶解性和低渗透性, 难以吸收。因此有必要对其进行改性研究以增加其渗透性,

表5 磷脂复合物中朝藿定 A、B、C 及淫羊藿苷的释放曲线模型拟合

Table 5 Fitting of release curve model of epimedin A, B, C and icariin in phospholipid complex

方程名称	拟合方程	
	朝藿定 A	朝藿定 B
零级动力学方程	$Q=0.0296t+0.0883, R^2=0.9718$	$Q=0.0253t+0.0628, R^2=0.9811$
一级动力学方程	$\ln(1-Q)=-0.0555t-0.0190, R^2=0.9962$	$\ln(1-Q)=-0.0406t-0.0224, R^2=0.9986$
Higuchi 方程	$Q=0.1668t^{1/2}-0.0976, R^2=0.9899$	$Q=0.1415t^{1/2}-0.0937, R^2=0.9861$
Ritger-Peppas 方程	$\ln Q=0.6759 \ln t-2.4432, R^2=0.9945$	$\ln Q=0.7111 \ln t-2.7271, R^2=0.9959$
Hixson-crowell 方程	$(1-Q)^{1/3}=-0.0148t+0.9828, R^2=0.9979$	$(1-Q)^{1/3}=-0.0115t+0.9867, R^2=0.9982$

方程名称	拟合方程	
	朝藿定 C	淫羊藿苷
零级动力学方程	$Q=0.0267t+0.0781, R^2=0.9782$	$Q=0.0190t+0.0533, R^2=0.9767$
一级动力学方程	$\ln(1-Q)=-0.0454t-0.0296, R^2=0.9981$	$\ln(1-Q)=-0.0262t-0.0369, R^2=0.9969$
Higuchi 方程	$Q=0.1496t^{1/2}-0.0879, R^2=0.9884$	$Q=0.1067t^{1/2}-0.0653, R^2=0.9892$
Ritger-Peppas 方程	$\ln Q=0.6696 \ln t-2.5408, R^2=0.9954$	$\ln Q=0.6910 \ln t-2.9356, R^2=0.9971$
Hixson-crowell 方程	$(1-Q)^{1/3}=-0.0125t+0.9829, R^2=0.9983$	$(1-Q)^{1/3}=-0.0078t+0.9855, R^2=0.9924$

为其进一步开发利用提供基础。

磷脂复合物结构对细胞膜有较好的亲和性，可在一定程度上改善药物的溶解性和渗透性。张文华等^[20]通过磷脂复合物技术发现复合物在水中的表现溶解度是甘草黄酮原料药的 10.7 倍。樊丽雅等^[21]通过磷脂复合物技术发现苦杏仁苷磷脂复合物的油水分配系数相比于苦杏仁苷提高了 6.6 倍。又因其制备工艺简单、成本低廉，磷脂复合物在药物制剂方面的研究和应用上逐渐受到关注，特别是在中药活性成分磷脂复合物的研究与应用上具有较好的前景。淫羊藿有效部位磷脂复合物中 4 种成分的平衡溶解度和 lgP 都得到显著提高，有利于药物的口服吸收。淫羊藿富集部位微乳凝胶外用对 CIPN 具有一定的治疗作用^[22]，而淫羊藿有效部位磷脂复合物对 CIPN 的治疗效果还有待进一步研究。

本实验采用磷脂复合物技术对淫羊藿有效部位进行改性，改善了有效部位的溶解性和渗透性。但磷脂复合物分散性较差，导致药物体外溶出速率较慢，溶蚀作用可能是体外释放的限速环节。后续研究可以考虑将磷脂复合物与固体分散体、纳米给药系统、亚微乳、自微乳、胶束等制剂联用以提高磷脂复合物的分散性和稳定性，增加药物溶出度，从而进一步提高药物的生物利用度。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Kerckhove N, Collin A, Condé S, et al. Long-term effects,

pathophysiological mechanisms, and risk factors of chemotherapy-induced peripheral neuropathies: A comprehensive literature review [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 86.

[2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 340-341.
 [3] 朱太咏, 许保军, 王健智, 等. 淫羊藿注射液促进鸡胚背根神经纤维生长的初步研究 [J]. *中医正骨*, 1993, 5(2): 3-5.
 [4] 朱太咏, 宋文昭, 马克昌. 淫羊藿水煎提取液促进鸡胚背根神经节神经突起生长和 DNA、RNA 合成的实验研究 [J]. *中医正骨*, 1999, 11(9): 6-7.
 [5] Li L, Zhou Q X, Shi J S. Protective effects of icariin on neurons injured by cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Chin Med J*, 2005, 118(19): 1637-1643.
 [6] Kou Y H, Wang Z Y, Wu Z H, et al. *Epimedium* extract promotes peripheral nerve regeneration in rats [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2013, 2013: 954798.
 [7] 寇玉辉, 张培训, 党育, 等. 促周围神经再生中药复方: 复方红芪 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2013, 45(5): 830-833.
 [8] Wu F Z, Xu W J, Deng B, et al. Wen-Luo-Tong Decoction attenuates paclitaxel-induced peripheral neuropathy by regulating linoleic acid and glycerophospholipid metabolism pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 956.
 [9] 房正华, 马宝林, 宋湖平, 等. 基于 miR-223-3p 研究淫羊藿苷治疗大鼠颅脑外伤后神经损伤的作用机制 [J]. *中草药*, 2021, 52(19): 5948-5955.
 [10] Lin H M, Lin L F, Xia Z Z, et al. Neuroprotective effects

- and UPLC-Q-TOF/MS-based active components identification of external applied a novel Wen-Luo-Tong microemulsion [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(8): 1981-1991.
- [11] 兰海, 刘欣妍, 余玲, 等. 大孔树脂纯化淫羊藿中朝藿定与淫羊藿苷工艺研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(17): 4473-4481.
- [12] Amin T B S. A review on phytosome technology as a novel approach to improve the bioavailability of nutraceuticals [J]. *Int J Adv Res Technol*, 2012, 1(3): 1-5.
- [13] Gnananath K, Sri Nataraj K, Ganga Rao B. Phospholipid complex technique for superior bioavailability of phytoconstituents [J]. *Adv Pharm Bull*, 2017, 7(1): 35-42.
- [14] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 425.
- [15] 孙进. 口服药物吸收与转运 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 345.
- [16] 孙晓飞, 孙敬蒙, 景啸澜, 等. 基于缓控释技术制备布洛芬双层片的研究及释药机制评价 [J]. *长春中医药大学学报*, 2019, 35(1): 112-118.
- [17] 薛璟, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤甲素表观油水分分配系数的测定及其对吸收预测的研究 [J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(20): 1560-1563.
- [18] 刘亚丽, 孙振, 张文秀, 等. 白头翁皂苷 B₃ 的溶解度及油水分分配系数与大鼠在体肠吸收研究 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(1): 87-91.
- [19] 伍红年, 谭诗涵, 王元清, 等. 肉桂酸与桂皮醛的平衡溶解度及表观油水分分配系数的测定 [J]. *中国药师*, 2018, 21(5): 801-804.
- [20] 张文华, 张芳, 王汉卿, 等. 甘草黄酮磷脂复合物制备工艺研究 [J]. *药学研究*, 2017, 36(8): 457-459.
- [21] 樊丽雅, 燕飞宏, 张璐, 等. 苦杏仁苷磷脂复合物的制备及理化性质研究 [J]. *西北药学杂志*, 2018, 33(6): 785-789.
- [22] 刘玉娟, 刘欣妍, 李婷婷, 等. 淫羊藿富集部位微乳凝胶的制备及药效学评价 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(10): 2634-2642.

[责任编辑 郑礼胜]