

星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺[△]

苏艳莹*,雷小小,桂卉#,夏新华,周莉莉(湖南中医药大学药学院/湖南省中药现代化研究重点实验室,长沙410208)

中图分类号 R350.35 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)19-2612-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.19.05

摘要 目的:优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺,并对其进行表征。方法:采用逆相蒸发法制备山茱萸总环烯醚萜苷脂质体。采用高效液相色谱法测定山茱萸总环烯醚萜苷脂质体中马钱苷和莫诺苷含量。以总皂苷(以马钱苷和莫诺苷总和)包封率为指标,通过单因素试验筛选制备山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的主要工艺因素后,采用星点设计-效应面法优化药物与磷脂的质量比(药脂比)、胆固醇与磷脂的质量比(胆脂比)和水合介质pH值。利用达尔文激光粒径测定仪测定最优处方下所制脂质体的Zeta电位和粒径,并在透射电镜下观察其形态。结果:确定最优处方的药脂比为0.026、胆脂比为0.107、水合介质pH为5.78。所制3批脂质体的平均包封率为11.63%($n=3$),与预测值11.48%的相对误差为1.29%;平均粒径为 (80.87 ± 0.27) nm,Zeta电位为 (-13.60 ± 5.32) mV,脂质体外观呈球形或类球形。结论:优化后山茱萸总环烯醚萜苷脂质体制备工艺简单,所制脂质体粒径较小。

关键词 星点设计-效应面法;山茱萸总环烯醚萜苷;脂质体;逆相蒸发法;制备工艺

Optimization of Preparation Technology of Total Iridoid Glycosides Liposome of *Cornus officinalis* by Central Composite Design-response Surface Methodology

SU Yanying, LEI Xiaoxiao, GUI Hui, XIA Xinhua, ZHOU Lili (College of Pharmacy, Hunan University of TCM/Hunan Provincial Key Lab of TCM Modernization Research, Changsha 410208, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the preparation technology of Total iridoid glycosides liposome of *Cornus officinalis*, and to characterize it. METHODS: Total iridoid glycosides liposome of *C. officinalis* was prepared by reverse phase evaporation method. The contents of loganin and morroniside in Total iridoid glycosides liposome of *C. officinalis* were determined by HPLC. Using encapsulation rate of total saponins (total contents of loganin and morroniside) as index, main technology factors for the preparation of Total glycosides liposome of *C. officinalis* were screened by single factor test; the ratio of drug to phospholipid (drug-lipid ratio), ratio of choline to phospholipid (choline-lipid ratio), pH of hydration medium were optimized by central composite design-response surface methodology. The Zeta potential and particle size of liposome prepared by optimal prescription were determined by using Darwin laser particle size analyzer. The morphology of liposome was observed by TEM. RESULTS: The optimal prescription included that drug-lipid ratio was 0.026; cholesterol-lipid ratio was 0.107; pH of hydration medium was 5.78. The average encapsulation efficiency of liposome was 11.63% ($n=3$), the relative error of prediction value 11.48% is 1.29%, the average particle size was (80.87 ± 0.27) nm, and Zeta potential was (-13.60 ± 5.32) mV. It was spherical or spherical-like. CONCLUSIONS: The optimized technology of Total iridoid glycosides liposome of *C. officinalis* is simple, and prepared liposome has small particle size.

KEYWORDS Central composite design-response surface methodology; Total iridoid glycosides of *Cornus officinalis*; Liposome; Reverse phase evaporation method; Preparation technology

山茱萸具有补益肝肾、收敛固涩的功效^[1],是常用的补肝肾中药。环烯醚萜苷类成分是其主要活性成分,其中含量最高的是马钱苷和莫诺苷^[2-3]。现代药理研究表明,山茱萸总环烯醚萜苷可通过抑制Tau蛋白过度磷酸化而发挥神经保护作用^[4-5],同时增强胆碱能系统功能,对阿尔茨海默病等神经退行性疾病具有良好的治疗效

果^[6]。但山茱萸总环烯醚萜苷水溶性大、血脑屏障透过率低,限制了其临床应用^[7-8]。脂质体(Liposome)由磷脂和胆固醇组成,可以提高水溶性药物的稳定性,改变药物在体内的分布,增强药物的靶向性。本研究拟将山茱萸总环烯醚萜苷用脂质体包载,通过星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺,为山茱萸总环烯醚萜苷的进一步开发应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1525-Breeze2 高效液相色谱(HPLC)仪(美国 Waters 公司);Scientz-II D 新芝超声波细胞粉碎机(宁波市上

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.8157141424);长沙市科学技术局基础研究项目(No. kq1701066)

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型与新技术。E-mail: 1193386162@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:中药制剂新技术与新剂型。E-mail:guihui1993@126.com

海京工实业有限公司);HH-4智能数显恒温水浴锅、RE-20000B旋转蒸发仪(巩义市予华仪器有限责任公司);CP114电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];Master-sizer 3000E马尔文激光粒径测定仪(英国马尔文公司);JEM-F200透射电镜(日本电子株式会社)。

1.2 药品与试剂

山茱萸药材[湖南三湘中药饮片有限公司,批号:2016062806,由湖南中医药大学中药鉴定教研室周日宝教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc)的干燥成熟果肉];马钱苷对照品、莫诺苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:R23D7F27552、Y08N7Y155,纯度:经HPLC测定分别 $\geq 98\%$ 、 $\geq 97\%$);大豆卵磷脂Lipoid S100(德国Lipoid公司);胆固醇(上海化学试剂有限公司);聚乙二醇辛基苯基醚(国药集团化学试剂有限公司,表面活性剂);甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 山茱萸总环烯醚萜苷的提取与纯化

称取山茱萸药材粉末(过80目筛)5 g,置于圆底烧瓶中,加入适量10%乙醇,在95℃条件下加热回流提取2 h,收集提取液。将提取液用石油醚、乙醚依次萃取数次后,取水部位,再用水饱和的正丁醇萃取水部位数次,收集正丁醇部分,经大孔树脂纯化后,测得提取物中马钱苷和莫诺苷的含量分别为24.70、73.50 mg/g。

2.2 脂质体混悬液的制备

2.2.1 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体混悬液 采用逆相蒸发法。取适量磷脂与胆固醇,精密称定,置于250 mL茄瓶中,加入适量三氯甲烷,在40 kHz、200 W的条件下超声溶解30 min,旋转蒸发仪在设定的温度下减压除去有机溶剂,至茄型瓶内壁形成脂质薄膜(作为油相),确保磷脂和胆固醇紧密接触后,加入乙醚3 mL、纯化后的山茱萸总环烯醚萜苷适量及相应pH值的磷酸盐缓冲液(PBS,作为水相),超声水合一定时间,直到形成稳定的水包油(W/O)乳剂。将该W/O乳剂于室温下减压除去有机溶剂,至形成混悬液,通氮气进一步除去有机溶剂后,探头超声(超声时间2 s、停2 s、功率为100 W)处理10 min,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得山茱萸总环烯醚萜苷脂质体混悬液。

2.2.2 空白脂质体混悬液 同“2.2.1”项下方法制备不加山茱萸总环烯醚萜苷的空白脂质体混悬液。

2.3 马钱苷、莫诺苷含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil 100-5-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1%磷酸溶液-甲醇(72:28,V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:240 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL 。

2.3.2 溶液的制备 (1)对照品溶液的制备:取马钱苷对照品11.50 mg、莫诺苷对照品11.80 mg,精密称定,分别置于不同25 mL量瓶中,用80%甲醇溶液溶解并定

容,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得马钱苷对照品溶液(0.46 mg/mL)和莫诺苷对照品溶液(0.47 mg/mL)。(2)供试品溶液的制备:精密量取载药脂质体混悬液1.0 mL至10 mL量瓶中,加10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液破乳并定容至刻度,振摇,即得。

2.3.3 专属性考察 精密吸取马钱苷对照品溶液、莫诺苷对照品溶液、破乳后的载药脂质体混悬液(加10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液破乳)和破乳后的空白脂质体溶液(加10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液破乳)各10 μL ,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,并记录色谱。结果,马钱苷和莫诺苷对照品溶液峰型较好,供试品溶液中杂质峰与马钱苷、莫诺苷峰的分度 > 1.5 ,分离较好,杂质不影响主要成分的检测,提示色谱条件满足供试品分析,专属性较好。色谱图见图1。

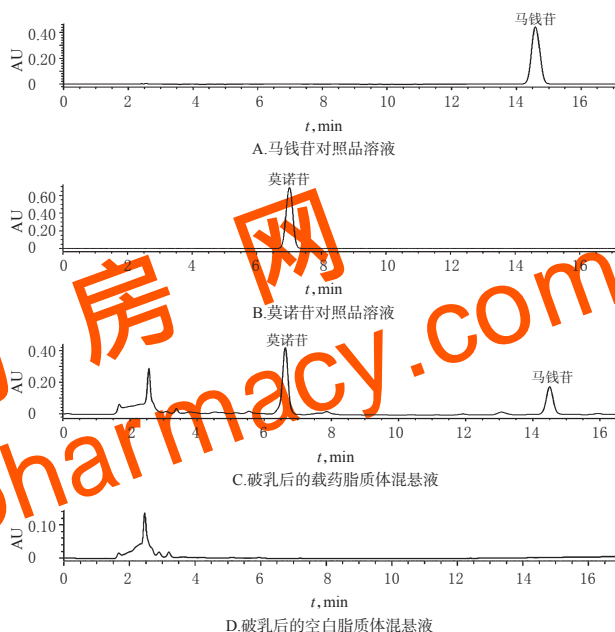


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2(1)”项下马钱苷对照品溶液0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 mL,分别置于不同10 mL量瓶中,加80%甲醇稀释至刻度,摇匀,分别按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,并记录色谱。以峰面积为纵坐标(y)、质量浓度为横坐标(x)进行线性回归,并同法绘制莫诺苷标准曲线。结果,马钱苷回归方程为 $y=2 \times 10^7 x + 396\ 628$ ($r=0.999\ 9$);莫诺苷回归方程为 $y=2 \times 10^7 x + 116\ 931$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,马钱苷在质量浓度为4.60~460 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好,莫诺苷在质量浓度为4.70~470 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

2.3.5 精密度考察 分别精密吸取马钱苷对照品溶液(0.46 $\mu\text{g/mL}$)和莫诺苷对照品溶液(0.47 $\mu\text{g/mL}$)各0.1 mL,置于不同10 mL量瓶中,分别用80%甲醇溶液稀释并定容,备用。精密吸取稀释后马钱苷对照品和莫诺苷

对照品溶液各10 μL,按“2.3.1”项下色谱条件重复进样6次,记录色谱。结果,马钱苷峰面积的RSD为1.6%($n=6$),莫诺苷峰面积的RSD为1.6%($n=6$),说明仪器的精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 分别精密移取马钱苷对照品溶液(0.46 mg/mL)、莫诺苷对照品溶液(0.47 mg/mL)和供试品溶液适量,过0.45 μm微孔滤膜,在室温条件下放置0、2、4、8、12 h后,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,并记录色谱。结果,马钱苷和莫诺苷对照品峰面积的RSD分别为1.0%、1.7%($n=5$),供试品中马钱苷和莫诺苷峰面积的RSD分别为2.5%、2.5%($n=5$),表明对照品溶液和供试品溶液均在12 h内稳定性良好,能满足测定需要。

2.3.7 加样回收试验 精密量取空白脂质体混悬液0.4 mL,共9份,置于不同10 mL量瓶中,分别加入质量浓度为0.46 mg/mL的马钱苷对照品溶液和质量浓度为0.47 mg/mL的莫诺苷对照品溶液各0.6、0.5、0.4 mL,每个浓度平行3份,用10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液破乳并定容至刻度,然后按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,并计算加样回收率。结果,马钱苷高、中、低加样量的平均回收率分别为98.93%、100.36%、99.55%,RSD分别为1.84%、2.01%、3.33%($n=3$);莫诺苷高、中、低加样量的平均回收率分别为99.99%、98.97%、97.64%,RSD分别为1.69%、1.24%、0.62%($n=3$),表明试验的准确度较好。

2.4 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体包封率的测定

采用高速离心法分离脂质体及游离药物后计算包封率。精密量取山茱萸总环烯醚萜苷脂质体混悬液1 mL,置于10 mL量瓶中,加10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液破乳并稀释至刻度,过0.45 μm微孔滤膜,然后按“2.3.1”项下色谱条件进样测定马钱苷和莫诺苷含量即加入的总的药物含量(c_0)。另精密量取1 mL载药脂质体混悬液至离心管中,离心(16 000 r/min, 30 min),分离上清液和沉淀,沉淀加10%聚乙二醇辛基苯基醚无水乙醇溶液溶解破乳并定容至10 mL,过0.45 μm微孔滤膜,得到破乳后的载药脂质体溶液,然后按“2.3.1”项下色谱条件进样测定其中马钱苷和莫诺苷含量,即为包封在脂质体中药物的含量(c_1)。根据下式计算包封率(EE, %): $EE(\%) = c_1/c_0 \times 100\%$ 。

2.5 单因素试验

根据相关文献报道^[9-10],在脂质体制备过程中,药物与磷脂的质量比(简称药脂比)、胆固醇与磷脂的质量比(简称胆脂比)、油相与水相体积比(简称油水比)、旋转蒸发温度、水合介质pH和水合时间等因素会影响药物的包封率。因此,本研究对上述6个因素进行单因素考察。并采用SPSS 17.0统计学软件对包封率结果进行方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2.5.1 药脂比 固定油水比为3,旋转蒸发温度30 ℃,胆脂比为0.062 5,水合介质pH 6.5, PBS水合时间1.0 h,

考察不同药脂比(0.01、0.02、0.04、0.08)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当药脂比为0.01、0.02、0.04、0.08时,山茱萸总环烯醚萜苷的包封率分别为8.4%、10.3%、6.3%、2.9%($P < 0.001$),说明药脂比对包封率的影响显著,且以药脂比为0.02时包封率最高。故以药脂比0.02为中心点设计星点设计-效应面试验进一步优化。

2.5.2 胆脂比 固定药脂比为0.02,油水比为3,旋转蒸发温度为30 ℃,水合介质pH为6.5, PBS水合时间为1.0 h,考察不同胆脂比(0.062 5、0.125、0.25、0.5)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当胆脂比为0.062 5、0.125、0.25、0.5时,山茱萸总环烯醚萜苷包封率分别为10.2%、9.8%、6.8%、4.3%($P < 0.01$),说明胆脂比对包封率的影响显著,且以胆脂比为0.125时包封率最高。故以胆脂比0.125为中心点设计星点设计-效应面试验进一步优化。

2.5.3 油水比 固定药脂比为0.02,旋蒸温度为30 ℃,胆脂比为0.062 5,水合介质pH为6.5, PBS水合时间为1.0 h,考察不同油水比(0.5、1、2、3)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当油水比为0.5、1、2、3时,山茱萸总环烯醚萜苷包封率分别为3.2%、3.3%、3.3%、3.5%($P = 0.043$),说明油水比对包封率也有一定影响,但暂不纳入星点设计-效应面试验中。

2.5.4 水合介质pH 固定药脂比为0.02,油水比为3,旋转蒸发温度为30 ℃,胆脂比为0.062 5, PBS水合时间为1.0 h,考察不同水合介质pH值(5、6.5、8、9.5)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当水合介质pH为5、6.5、8、9.5时,测得的山茱萸总环烯醚萜苷包封率分别为6.3%、9.3%、3.4%、1.2%($P < 0.001$),说明水合介质pH值对包封率的影响显著,且以pH为6.5时包封率最高。故以pH 6.5为中心点设计星点设计-效应面试验进一步优化。

2.5.5 旋转蒸发温度 固定药脂比为0.02,油水比为3,胆脂比为0.062 5,水合介质pH为6.5, PBS水合时间为1.0 h,考察不同旋转蒸发温度(20、30、40、50 ℃)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当旋转蒸发温度为20、30、40、50 ℃时,山茱萸总环烯醚萜苷的包封率分别为2.9%、3.1%、2.9%、2.8%($P > 0.05$),说明旋转蒸发温度对包封率的影响较小。

2.5.6 PBS水合时间 固定药脂比为0.02,油水比为3,旋转蒸发温度为30 ℃,胆脂比为0.062 5,水合介质pH为6.5,考察不同PBS水合时间(0.5、1.0、1.5、2.0 h)对山茱萸总环烯醚萜苷包封率的影响。结果,当水合时间为0.5、1.0、1.5、2.0 h时,山茱萸总环烯醚萜苷的包封率分别为3.0%、3.3%、3.0%、2.9%($P = 0.07$),说明PBS水合时间对包封率的影响较小。

2.6 星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺

2.6.1 星点试验设计 根据单因素试验结果,设定药脂比(X_1)、胆脂比(X_2)、水合介质pH(X_3)为变量,以山茱萸总环烯醚萜苷包封率(Y)为指标进行3因素5水平($-\alpha$ 、 -1 、 0 、 $+1$ 、 $+\alpha$)的设计($\alpha=1.732$)。因素与水平见表1,试验安排及结果见表2。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and Levels

水平	因素		
	X_1 (药脂比)	X_2 (胆脂比)	X_3 (水合介质pH)
$-\alpha$	0.037	0.230	8.2
-1	0.03	0.188	7.5
0	0.02	0.125	6.5
$+1$	0.01	0.063	5.5
$+\alpha$	0.003 2	0.019	4.8

表2 星点设计试验安排及结果

Tab 2 Results of central composite design

编号	X_1 (药脂比)	X_2 (胆脂比)	X_3 (水合介质pH)	Y (包封率),%
1	0.02	0.125	6.5	11.6
2	0.037	0.125	6.5	8.3
3	0.02	0.125	6.5	10.2
4	0.02	0.125	4.8	8.9
5	0.03	0.019	7.5	2.3
6	0.01	0.019	7.5	1.3
7	0.03	0.063	7.5	10.2
8	0.02	0.125	6.5	9.3
9	0.01	0.188	5.5	4.8
10	0.003 2	0.125	6.5	1.7
11	0.03	0.188	7.5	7.2
12	0.01	0.063	7.5	2.2
13	0.02	0.125	8.2	1.8
14	0.02	0.125	6.5	9.9
15	0.02	0.125	6.5	10.3
16	0.02	0.125	6.5	9.6
17	0.02	0.23	6.5	4.9
18	0.03	0.063	7.5	4.2
19	0.02	0.019	6.5	6.2
20	0.01	0.063	6.5	5.0

2.6.2 方程拟合 采用Design-Expert 10.0软件对各因素进行回归分析,得到多元二次回归模型为 $Y=10.16+1.59X_1-0.73X_2-2.13X_3-0.47X_1X_2-0.57X_1X_3+0.05X_2X_3-1.85X_1^2-1.85X_2^2-1.73X_3^2$ ($R^2=0.9586$),计算出模型 Y 失拟项的平方和为1.84, $P=0.7219>0.05$,表明本模型没有失拟现象,可用于山茱萸总环烯醚萜苷脂质体处方的分析和预测。方差分析结果见表3。

由表3可知,试验模型具有高度显著性($P<0.001$), X_1 、 X_2 、 X_3 对山茱萸总苷包封率影响均显著($P<0.05$),交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 的 P 值均大于0.05,说明这3个因素间的交互作用不大。

2.6.3 效应面分析 设定1个因素为中值,以Design-Expert 10.0软件分别绘制其他2个因素对脂质体包封率的3D效应图。结果显示,包封率随着药脂比的增加而变大,随着胆脂比的增加而变小,随着水合介质pH的增加而变小,各因素对包封率的响应面图见图2。

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis result of variance

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	P
模型	49.93	9	5.55	<0.001
X_1	68.17	1	68.17	<0.001
X_2	14.58	1	14.58	<0.05
X_3	122.93	1	122.93	<0.001
X_1X_2	3.57	1	3.57	0.088 2
X_1X_3	5.23	1	5.23	0.045 3
X_2X_3	0.04	1	0.04	0.846 4
X_1^2	98.03	1	98.03	<0.001
X_2^2	98.03	1	98.03	<0.001
X_3^2	85.38	1	85.38	<0.001

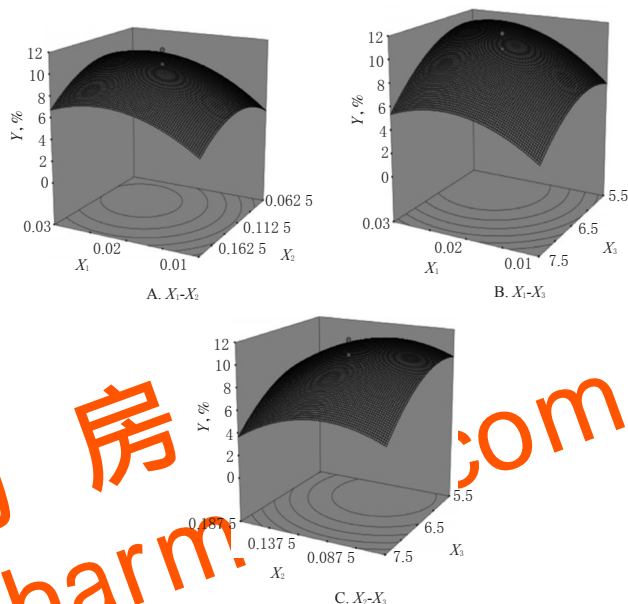


图2 各因素对包封率的效应面图

Fig 2 Response surface plot for each factor on entrapment efficiency

2.6.4 效应面优化和预测 在满足脂质体包封率最大化条件下,利用Design-Expert 10.0软件优化处方,得到最优处方为药脂比为0.026、胆脂比为0.107、水合介质pH为5.78。

2.6.5 验证试验 按最优处方制备3批山茱萸总环烯醚萜苷纳米脂质体,测定山茱萸总环烯醚萜苷的包封率。结果,3批脂质体包封率分别为11.35%、11.69%、11.86%($RSD=2.23\%$),平均包封率为11.63%,与预测值11.48%的相对误差为1.29%,低于5%,说明采用效应面分析得到的工艺准确可靠。

2.7 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的表征

2.7.1 粒径与Zeta电位 取最优处方制备的山茱萸总环烯醚萜苷脂质体混悬液40 μ L,加水稀释,用激光粒径分析仪测定其粒径和Zeta电位。结果,脂质体平均粒径为 (80.87 ± 0.27) nm,Zeta电位为 (-13.60 ± 5.32) mV。

2.7.2 透射电镜下形态观察 取山茱萸总环烯醚萜苷脂质体混悬液,滴加于铜片上,在透射电镜下观察其形态。结果,所制脂质体多为球形及类球形,外观圆整,粒

径较小,分布均匀。透射电镜图见图3。

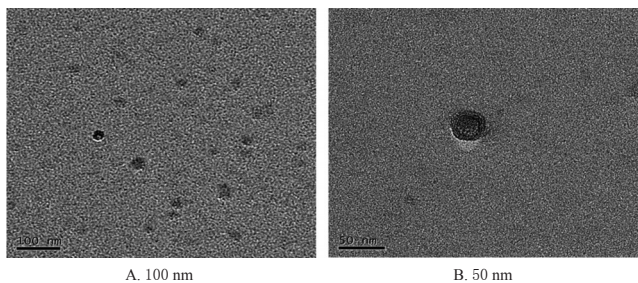


图3 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的透射电镜图

Fig 3 TEM photographs of Total iridoid glycosides liposome of *C. officinalis*

3 讨论

脂质体有多种制备方法,如薄膜分散法、乙醇注入法、逆相蒸发法等。其中,薄膜分散法对脂溶性药物往往有较高的包封率,但所制脂质体粒径较大;乙醇注入法的影响因素不可控,较难产业化^[9,11];逆相蒸发法适合包裹亲水性药物^[12-13]。前期预试验发现,采用薄膜分散法和乙醇注入法制备的山茱萸总环烯醚萜苷脂质体稳定性较差,易出现沉淀,且山茱萸总环烯醚萜苷为亲水性药物,故最终本研究选择逆相蒸发法制备山茱萸总环烯醚萜苷脂质体。

笔者在研究过程中发现,通过逆相蒸发法制备的脂质体,其粒度与分布与其处方组成和工艺条件密切相关。故在制备油相时,先将脂质溶于二氯甲烷中,后旋蒸将其除尽,目的是为了确保磷脂与胆固醇紧密结合。在加入有机溶剂成乳时,旋转蒸发仪的真空度对成功制备脂质体至关重要,通过控制旋转蒸发仪的真空度避免气泡或沸腾,可制备较小粒径的脂质体。此外,有机溶剂的残留也会影响脂质体的稳定性,故旋转蒸发回收有机溶剂后采取通入惰性气体氮气除去痕量的有机溶剂。

在药物制剂的处方和制剂工艺的筛选中,常常需要考察多个影响因素并进行优化。当因素和水平较多时,需要考虑采用次数较少、精度较高的试验设计优化方案。其中以正交试验设计、均匀设计最为常用,基本能满足一般试验要求,但试验精度不高,最佳点的取值仅仅限于试验所设定的水平值,不能很好地考察各因素之间的相互作用,而星点设计可以克服上述缺点。本研究在前期山茱萸提取纯化工艺的基础上,将得到的有效成分山茱萸总环烯醚萜苷制成脂质体,通过透射电镜观察发现,所制脂质体的外观圆整,且粒径较小、分布均匀,然而本研究所制脂质体的包封率不够高,笔者分析可能存在如下原因:磷脂头部具有磷酸根离子和季铵盐离子,由于山茱萸总环烯醚萜苷的稳定性不好,导致其在磷脂双分子内相不易保留,在储藏或高速离心过程中可能存在泄露现象,最终导致实际测量的包封率降低。对此,笔者认为有以下几种解决办法:第一,可通过加入两相调节剂(如胆固醇等)以提高脂质体的稳定性;第

二,可采用冷冻干燥法和反复冻融法进行样品处理,以利于水溶性药物的包裹;第三,可通过调节脂质体内外水相的pH值,使内外水相之间形成一定的pH梯度差,根据山茱萸总环烯醚萜苷在不同pH值中存在的状态不同,产生分子型或离子型药物浓度差,从而使药物以离子形态包封在内水相中。

综上所述,本研究通过星点设计-效应面法优化了山茱萸总环烯醚萜苷纳米脂质体的制备工艺,将优化出的最佳工艺数据代入最佳模拟方程后,获得的理论预测值与实际值相接近,表明所建立的数学模型具有较好的预测性。在最优制备工艺条件下,应用逆相蒸发法制备的山茱萸总环烯醚萜苷脂质体粒径较小,工艺简单,但是本研究所制脂质体的包封率较低,后续研究中将在此基础上进一步分析其原因。

参考文献

- [1] 张丽,赵丽红,张兰,等.山茱萸环烯醚萜苷促进成体大鼠海马神经干细胞增殖和分化的影响[J].中国新药杂志,2015,24(5):550-553.
- [2] MA ZY, YAO B, WANG L, et al. Chemical constituents from *Cornus officinalis* and their biological activity[J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 3(3):209-211.
- [3] 刘磊,戴冰,肖子曾,等.不同来源山茱萸中莫诺苷的含量测定[J].中草药,2007,38(6):494-496.
- [4] 褚思娟.山茱萸环烯醚萜苷对乙酰胆碱代谢酶系统的影响[D].北京:首都医科大学,2013.
- [5] 贺娟妮,刘晓,牟朝丽,等.山茱萸中3种环烯醚萜苷的响应曲面优化微波提取及HPLC测定[J].中药材,2011,33(7):1118-1122.
- [6] 熊山,李敬来,吕圭源,等.莫诺苷的大鼠组织分布[J].军事医学,2013,37(10):745-748.
- [7] VAN SD, DEMELLO A. Microfluidic methods for forming liposomes[J]. *Lab Chip*, 2013, 13(5):752-767.
- [8] 刘建清,张晶,赵佳丽,等.纳米结构脂质载体促进难溶性药物口服吸收机制的研究进展[J].药学实践杂志,2014,32(4):254-256.
- [9] 张文娟,陈一桢,唐兰如,等.二氢杨梅素长循环纳米脂质体的制备及大鼠体内药动学研究[J].中草药,2018,49(4):806-813.
- [10] 李泽浩.羟基积雪草苷脂质体的制备及其烫伤治愈活性评价[D].广州:华南理工大学,2016.
- [11] 伍善广,冯学珍,蒙华琳,等.双指标参数 Box-Behnken 响应面优化 α -细辛脑脂质体制备工艺[J].中药材,2014,37(3):504-507.
- [12] 王文节,唐小牛,杨江华.脂质体制备方法及相关性质的研究概况[J].现代医药卫生,2011,27(5):708-710.
- [13] 任翔,刘琨,张莉.星点设计-响应面法优化积雪草苷阳离子脂质体的处方[J].中国药房,2016,27(16):2272-2275.

(收稿日期:2018-05-09 修回日期:2018-08-27)

(编辑:林 静)