

[制 剂]

大黄酸磷脂复合物及其固体分散体的制备和体内药动学研究

曹伶俐¹, 杨宁辉², 张智强³
(1. 郑州卫生健康职业学院, 河南 郑州 450005; 2. 河南医学高等专科学校, 河南 新郑 451191; 3. 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300301)

摘要: **目的** 制备大黄酸磷脂复合物和磷脂复合物固体分散体, 并考察其体内药动学。**方法** 溶剂挥发法制备磷脂复合物及其固体分散体, X-射线衍射分析晶型, 测定溶出率及累积溶出度。大鼠灌胃给药后, HPLC 法测定大黄酸血药浓度, 计算主要药动学参数。**结果** 大黄酸在磷脂复合物及其固体分散体中均以无定型状态存在, 溶出率和累积溶出度有所增加, 在后者中更明显。与原料药比较, 磷脂复合物及其固体分散体 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim\infty}$ 显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 以后者更明显 ($P<0.05$), 两者相对生物利用度分别提高到 271.43%、468.83%。**结论** 磷脂复合物及其固体分散体均可促进大黄酸口服吸收, 后者效果更佳。
关键词: 大黄酸; 磷脂复合物; 固体分散体; 制备; 体内药动学; 溶剂挥发法; HPLC
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)12-2833-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.001

Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of rhein phospholipid complex and its solid dispersions

CAO Ling-li¹, YANG Ning-hui², ZHANG Zhi-qiang³
(1. Zhengzhou Health Vocational College, Zhengzhou 450005, China; 2. Henan Medical College, Xinzheng 451191, China; 3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300301, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare rhein phospholipid complex and its solid dispersions, and to investigate their *in vivo* pharmacokinetics. **METHODS** For the phospholipid complex and its solid dispersions prepared by solvent evaporation method, X-ray powder diffraction (XRPD) was used to study crystal form, dissolution rate and accumulative dissolution rate were determined. Rats were given intragastrical administration, after which HPLC was adopted in the plasma concentration determination of rhein, and main pharmacokinetic parameters were calculated. **RESULTS** Rhein existed in an amorphous state in the phospholipid complex and its solid dispersions, whose dissolution rate and accumulative dissolution rate were enhanced, especially for those in the latter. Compared with raw medicine, the phospholipid complex and its solid dispersions demonstrated significantly increased $C_{\max}$, $AUC_{0\sim t}$ and $AUC_{0\sim\infty}$ ($P<0.05$, $P<0.01$), especially for the latter ($P<0.05$), whose relative bioavailabilities were increased to 271.43% and 468.83%, respectively. **CONCLUSION** Both phospholipid complex and its solid dispersions can promote the oral absorption of rhein, and the latter displays a better effect.
KEY WORDS: rhein; phospholipids complex; solid dispersions; preparation; *in vivo* pharmacokinetics; solvent evaporation method; HPLC

大黄酸广泛存在于蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的根茎、豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 的荚、百合科植物麝香萱 *Hemerocallis thunbergii* Bak. 的根、芸香科植物芸香 *Ruta graveolens* L. 的全草等^[1-2], 现代药理研究表明, 其功效为保肝、抗炎、抗氧化、降血脂、调节

肾功能、抗肿瘤^[3-6]。但该成分水溶性很差^[7]，胃肠道吸收有限，导致在体内口服生物利用度很低^[8]，故有必要采用制剂技术对其进行研究。

磷脂复合物是难溶性药物与磷脂在一定条件下形成的一种复合物，不仅有助于提高难溶性药物水溶性，也可改善其脂溶性，进而促进药物顺利吸收进入血液循环系统^[9-14]，但其黏性较大，在水相中分散性很差，溶出速率低，而且给药不方便。固体分散体^[15-18]是将药物以微粒、无定型状态高度分散于亲水性高分子材料中，可改善药物润湿性及亲水性，显著提高其溶出速率。本实验首先将大黄酸制成磷脂复合物，再以 PVP K30 为载体制备其固体分散体，并对两者进行体内外评价，以期为该成分制剂学研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器 ZA305AS 型电子分析天平（上海赞衡仪器有限公司）；Agilent 1260 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司，配置 DAD 检测器）；Bellennium 型加热磁力搅拌器（上海书俊仪器有限公司）；THZ-92A 型恒温振荡器（翠柳市实验仪器有限公司）；XW-80A 型漩涡混合仪（上海医科大学仪器厂）；XD-5000A 型真空旋转蒸发仪（上海贤德实验仪器有限公司）；JOYN-DCY-12S 型氮气吹扫仪（上海乔越电子科技有限公司）；D8 型 X 射线粉末衍射仪（德国布鲁克公司）。

1.2 试药 大黄酸原料药（批号 160515，陕西森弗生物技术有限公司）；大黄酸对照品（批号 110757-201504，含量>98%，中国食品药品检定研究院）；磷脂酰胆碱（批号 AL15018，含量>95%，辅必成上海医药科技有限公司）；聚乙烯吡咯烷酮（PVP K30，批号 25000240379，亚什兰集团公司）。

1.3 动物 清洁级 SD 大鼠，体质量 240~280 g，购自河南省动物实验中心，动物生产许可证号 SCXK（豫）2016-0001。

2 方法与结果

2.1 大黄酸含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.2% 磷酸-乙腈（45：55）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 35℃；检测波长 254 nm。

2.1.2 方法学考察 大黄酸经干燥处理后精密称取 25.0 mg，置于 25.0 mL 棕色量瓶中，甲醇超声溶解后定容，得到 1.0 mg/mL 贮备液，流动相逐步

稀释成 0.5、2.5、5.0、10.0、12.5、25.0 μg/mL，以峰面积（Y）对溶液质量浓度（X）进行回归，得方程为 $Y=0.091\ 1X+0.357\ 1$ （ $r=0.999\ 8$ ），在 0.5~25.0 μg/mL 范围内线性关系良好。取 0.5、12.5、25.0 μg/mL 对照品溶液，日内精密度试验显示其峰面积 RSD 均<0.86%，日间精密度试验显示均<1.59%；溶液 5 d 内峰面积 RSD 为 1.03%；各质量浓度下加样回收率在 99.12%~99.76% 之间。

2.2 磷脂复合物制备 大黄酸经干燥处理后，采用溶剂挥发法制备。取大黄酸 60 mg、磷脂酰胆碱 85 mg（摩尔比约 1：1.1），加到 80 mL 四氢呋喃中，设置磁力搅拌器温度为 45℃，持续搅拌 4 h 至溶液体系澄清，真空旋蒸（45℃）除去有机溶剂，即得，置于干燥器中保存。再将磷脂复合物粗品加到 50.0 mL 二氧六环中，过滤后精密量取续滤液 1.0 mL 置于 100 mL 量瓶中，混匀后定容，作为供试品溶液。

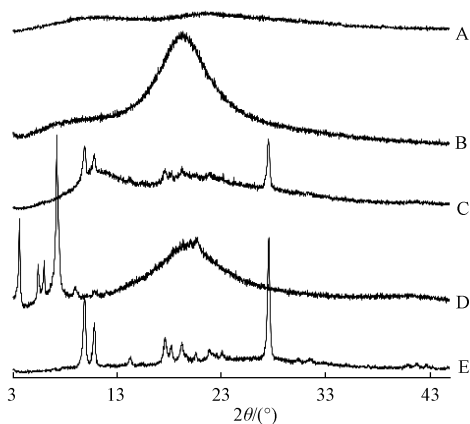
然后，HPLC 法测定续滤液中药物含量（ M_1 ），即为形成磷脂复合物的量，它与初始大黄酸投料量（ M_0 ）的比值即为复合率（ $M_1/M_0\times 100\%$ ）。结果，3 批样品复合率接近 100%。

2.3 固体分散体制备 取 1.0 g 磷脂复合物和 6.0 g PVP K30，置于圆底烧瓶中，加入 100 mL 无水乙醇，50℃下持续搅拌 5 h，真空旋蒸除去无水乙醇，得到米黄色颗粒状残留物，研磨成细粉，即得。

2.4 X-射线衍射分析 扫描条件为铜靶，范围 3°~45°，速度 8°/min，管压 40 kV。取大黄酸、磷脂复合物、固体分散体适量，玻璃片压制平整后进行扫描，结果见图 1。由图可知，大黄酸以典型的结晶状态存在，制成磷脂复合物后转变为无定型状态，进一步制成固体分散体后亦然；在大黄酸、物理混合物图谱中可明显观察到大黄酸典型结晶峰，表明磷脂复合物固体分散体与物理混合物有所区别。

2.5 溶解度、体外溶出度测定 采用饱和溶剂法^[19]，在 25℃下测定溶解度。结果，大黄素制成磷脂复合物后其溶解度由 6.82 μg/mL 提高至 8.69 μg/mL，而将后者制成固体分散体后则进一步提高至 31.47 μg/mL。

取大黄素、磷脂复合物、固体分散体适量（5.0 mg，以大黄酸计），2.0 mL 蒸馏水配制成混悬液，分别置于透析袋中（8 000~14 000 Da），固定于搅拌桨上。蒸馏水超声处理后取 900 mL 作为



注：A~E 分别为固体分散体、磷脂复合物、物理混合物、磷脂、大黄酸

图 1 样品 XRPD 图谱

Fig. 1 XRPD patterns for samples

释放介质，转速 100 r/min，温度 37 ℃。于预定时间点各取样 3 mL，同时补加 3 mL 蒸馏水至溶出杯中，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液测定大黄酸含量，结果见图 2。由图可知，磷脂复合物在一定程度上提高了溶出速率，但效果不理想，这与其分散性较差、疏水性较强有关；将其进一步制成固体分散体后，120 min 内累积溶出度达到 90% 以上，可大大提高其溶出率及累积溶出度。

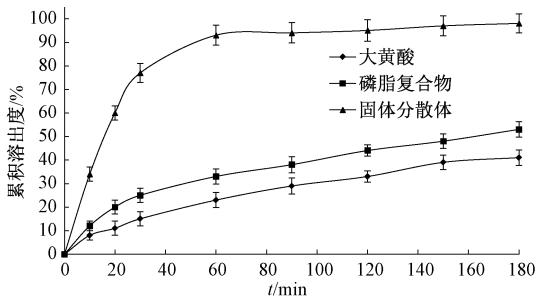


图 2 样品体外溶出曲线

Fig. 2 In vitro dissolution curves for samples

2.6 体内药动学研究

2.6.1 灌胃液制备 取大黄素、磷脂复合物、固体分散体适量，0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 (CMC-Na) 配制成 15.0 mg/mL 混悬液 (以大黄素计)，即得。

2.6.2 给药及血样采集^[13] 18 只大鼠随机分为 3 组，每组 6 只，按 30 mg/kg 剂量灌胃给予大黄素、磷脂复合物、固体分散体混悬液，给药前禁食 12 h，取血过程中补充适量生理盐水，于 0.083、0.167、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h 眼眶取血各 0.3 mL 至肝素浸润离心

管中，振荡后离心 2 min (转速 3 000 r/min)，分离血浆，置于 -20 ℃ 冰箱中。

2.6.3 血浆样品处理 吸取解冻后血浆样品 100 μL、乙腈 1.0 mL 至离心管中，涡旋 5 min，12 000 r/min 离心 5 min 后转移上层有机相，45 ℃ 氮气缓慢吹干，加入“2.1.1”项下 200 μL 流动相复溶，转移至进样瓶的内衬管中。

2.6.4 线性关系考察 取“2.1.2”项下 10.0 μg/mL 大黄素对照品溶液，流动相逐步稀释成 10.0、5.0、2.5、1.0、0.1 μg/mL，各取 100 μL，45 ℃ 氮气缓慢吹干后加入 100 μL 空白血浆，按“2.6.3”项下方法处理。以溶液质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归，得方程为 $Y = 0.101\ 4X + 0.298\ 4$ ($r = 0.992\ 3$)，在 0.1~10.0 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.6.5 方法学考察 取低 (0.1 μg/mL)、中 (5.0 μg/mL)、高 (10.0 μg/mL) 质量浓度血浆对照品溶液，日内精密度峰面积 RSD ($n = 3$) 分别为 9.33%、8.61%、8.07%，日间精密度峰面积 RSD ($n = 3$) 分别为 10.92%、8.72%、8.90%；血浆样品于 6 d 内每天进样 1 次，发现其峰面积无明显变化；取 100 μL 空白血浆，按“2.6.4”项下方法制备 0.1、5.0、10.0 μg/mL 血浆样品溶液，测得加样回收率在 89.94%~95.69% 之间。

2.6.6 血药浓度 在“2.1”项色谱条件下测定各时间点血药浓度，绘制血药浓度-时间曲线 (图 3)，DAS2.0 软件计算药动学参数，结果见表 1。由此可知，磷脂复合物及其固体分散体的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 与 大黄酸 比较具有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，其中磷脂复合物 t_{max} 延后；与磷脂复合物比较，其固体分散体 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 显著升高 ($P < 0.05$)，表明它能进一步促进大黄酸体内吸收；磷脂复合物及其固体分散体相对生物利用度分别提高到 271.43% 和 468.83%。

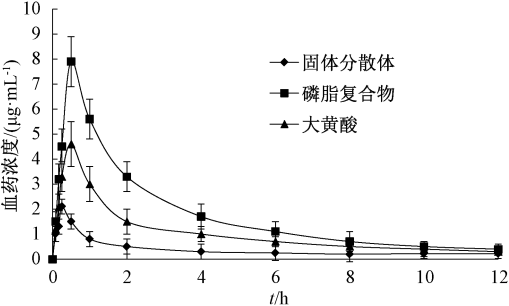


图 3 样品血药浓度-时间曲线

Fig. 3 Plasma concentration-time curves for samples

表 1 样品主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 1 Main pharmacokinetic parameters for samples ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

参数	单位	大黄酸	磷脂复合物	固体分散体
$t_{\max}$	h	0.26±0.08	0.48±0.12 [△]	0.31±0.08
$C_{\max}$	μg·mL ⁻¹	2.14±0.32	4.57±0.83 [△]	7.82±1.14 ^{△△*}
$AUC_{0\sim t}$	μg·mL ⁻¹ ·h	2.31±0.46	6.27±1.14 ^{△△}	10.83±2.02 ^{△△*}
$AUC_{0\sim \infty}$	μg·mL ⁻¹ ·h	2.43±0.51	6.42±1.25 ^{△△}	11.19±2.38 ^{△△*}

注:与大黄酸比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与磷脂复合物比较,* $P<0.05$

3 讨论

口服制剂进入胃肠道后需释放、溶解,并经胃肠道黏膜吸收进入体循环,才能发挥其各种药理作用,对难溶性药物来说,提高其溶解度、溶出速率、累积溶出度有助于改善吸收、增加体循环量,进而为提高口服吸收生物利用度奠定基础。本实验将大黄酸制成磷脂复合物后,发现其由结晶型状态转变为无定型状态,可使药物无需克服晶格能作用而提高溶解度;在磷脂复合物、物理混合物中均观察不到磷脂特征峰,可能是由于大黄酸与磷脂酰胆碱形成复合物时两者极性端定向结合,使各自晶型特征被抑制^[20];物理混合物中由于PVP K30用量约为磷脂酰胆碱的10倍,导致后者特征峰被掩盖。

体内药动力学研究结果显示,磷脂复合物可将大黄酸生物利用度提高到271.43%,同时其 $t_{\max}$ 有一定延后,这是由于磷脂复合物不仅可增加药物溶解度,也能改善药物脂溶性,在透膜吸收时因其较强的脂溶性而暂时储存于其中,Singh等^[10]对利福平磷脂复合物药动学的研究中也观察到类似现象。药物亲脂性的改善可能是磷脂复合物中磷脂分子的2条长链对药物进行包裹,从而使其更多地表现出磷脂本身的亲脂特性^[9],但由于其疏水性较强,导致大黄酸溶出较慢(图2),在一定程度上限制了生物利用度的提高,将其制成固体分散体后,在亲水性材料PVP K30的协助下大黄酸溶出速率、累积溶出度均得到显著改善,有助于促进药物吸收,提高生物利用度。与磷脂复合物比较,其固体分散体 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim \infty}$ 明显升高,大黄酸生物利用度提高到468.83%,但 $t_{\max}$ 与原料药相比无显著差异,可能是由于磷脂复合物经黏膜吸收进入体循环过程中对大黄酸 $t_{\max}$ 的延后作用所致。

综上所述,联用不同制剂技术可克服单一制剂技术某些方面的不足,为高生物利用度中药制剂的研发提供了借鉴^[13,17-18]。同时,本实验也可为大黄酸相关制剂的开发提供参考。

参考文献:

[1] 邬博,刘彦晶,连丽. 大黄的药理作用研究进展[J]. 2836

中国中医药现代远程教育,2015,13(20):152-154.

[2] 武超,曹红燕,孙明瑜. 大黄酸在肝病中的应用研究[J]. 辽宁中医杂志,2015,42(12):2382-2387.

[3] He Z H, He M F, Ma S C, et al. Anti-angiogenic effects of rhu-barb and its anthraquinone derivatives[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 121(2): 313-317.

[4] 钱文斌. 大黄酸对乳腺癌肿瘤细胞 HER-2 蛋白表达的影响研究[J]. 中华中医药学刊,2015,33(1):224-226.

[5] 葛玉红,陈云志,曹峰,等. 大黄活性成分抗肿瘤机制研究进展[J]. 贵阳中医学院学报,2018,40(2):86-90.

[6] Cho J H, Chae J I, Shim J H. Rhein exhibits antitumorigenic effects by interfering with the interaction between prolyl isomerase Pin1 and c-Jun[J]. Oncol Rep, 2017, 37 (3): 1865-1872.

[7] 钦富华,蔡雁,俞佳丹. 大黄酸平衡溶解度和油水分配系数的测定[J]. 医药导报,2018,37(1):88-91.

[8] 张锦雯,孙建国,王广基,等. 大黄酸在大鼠和比格犬体内的吸收动力学研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2010,15(5):511-518.

[9] Hao H J, Jia Y Z, Han R. Phytosomes: an effective approve to enhance the oral bioavailability of active constituents extracted from plants[J]. J Chin Pharm Sci, 2013, 22(5): 85-392.

[10] Singh C, Bhatt T D, Gill M S, et al. Novel rifampicin-phospho-lipid complex for tubercular therapy: synthesis, physicochemical characterization and in-vivo evaluation[J]. Int J Pharm, 2014, 460(1-2): 220-227.

[11] 崔晓鸽,曹伶俐,侯佳威,等. 白杨素磷脂复合物的制备及其药动学行为[J]. 中成药,2017,39(5):934-939.

[12] 公雯,朱家璧. 匹多莫德磷脂复合物的制备及鉴别[J]. 中国现代应用药学,2016,33(10):1289-1293.

[13] 徐凯,魏永鸽. 高乌甲素磷脂复合物纳米粒的制备、表征及药动学研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(5):870-874.

[14] 魏永鸽,徐凯. 青藤碱磷脂复合物的制备、表征及体外透皮研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(8):1449-1453.

[15] 陈娇婷,林乐迎,黄浩,等. 聚乙二醇1000维生素E琥珀酸酯在蛇床子素固体分散体制备中的应用[J]. 医药导报,2016,35(3):299-301.

[16] 李晓芳,江萍,郭波红. 应用固体分散技术提高黄豆苷元溶出速率[J]. 医药导报,2016,35(7):769-772.

[17] 刘蒸生,郝海军,马进安. 高乌甲素磷脂复合物及其固体分散体在大鼠体内的药动学[J]. 医药导报,2018,37(4):449-452.

- [18] 吴先闯, 郝海军, 张永州, 等. 姜黄素磷脂复合物不同制剂对 SD 大鼠口服生物利用度的影响[J]. 中成药, 2015, 37(10): 2163-2166.
- [19] 韩 刚, 王传胜, 索 炜, 等. 大黄酸固体分散体的制备[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(13): 1090-1093.
- [20] 孙文霞, 钟家亮, 侯佳威, 等. 高乌甲素磷脂酰胆碱复合物的性质考察[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(1): 78-81.

苏叶黄连汤抗流感活性成分提取工艺的优化及目标相关性分析

鲁银均, 严云良, 吴巧凤*
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 优化苏叶黄连汤抗流感活性成分提取工艺, 并进行目标相关性分析。**方法** 以液料比、提取温度、提取时间、提取次数为影响因素, 迷迭香酸含量、盐酸小檗碱含量、浸膏得率、流感病毒抑制率为评价指标, 均匀设计-多目标遗传算法优化提取工艺。然后, Pearson 分析考察流感病毒抑制率与各目标之间的相关性。**结果** 最佳条件为液料比 28 : 1, 提取温度 97 ℃, 提取时间 108 min, 提取次数 3 次, 迷迭香酸含量、盐酸小檗碱含量、浸膏得率、流感病毒抑制率分别为 2.41 mg/g、30.92 mg/g、28.3%、66.8%。流感病毒抑制率与 2 种成分含量呈显著正相关 ($P<0.05$)。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于提取苏叶黄连汤抗流感活性成分。
关键词: 苏叶黄连汤; 抗流感活性成分; 提取; 均匀设计; 多目标遗传算法; 目标; 相关性分析
中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)12-2837-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.002

Extraction process optimization for active anti-influenza components from Suye Huanglian Decoction and correlation analysis among objectives

LU Yin-jun, YAN Yun-liang, WU Qiao-feng*
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the extraction process for active anti-influenza components from Suye Huanglian Decoction, and to perform correlation analysis among objectives. **METHODS** With liquid-solid ratio, extraction temperature, extraction time and extraction frequency as influencing factors, rosmarinic acid content, berberine hydrochloride content, extract yield and inhibitory rate on influenza virus as evaluation indices, the extraction process was optimized by uniform design- (multi-objective) genetic algorithm. Subsequently, Pearson analysis was applied to investigating the correlations between inhibitory rate on influenza virus and various objectives. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 28 : 1 for liquid-solid ratio, 97 ℃ for extraction temperature, 108 min for extraction time, and three times for extraction frequency, the rosmarinic acid content, berberine hydrochloride content, extract yield and inhibitory rate on influenza virus were identified to be 2.41 mg/g, 30.92 mg/g, 28.3% and 66.8%, respectively. The inhibitory rate on influenza virus demonstrated significant positive correlations with the contents of two constituents ($P<0.05$). **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the extration of active anti-influenza components from Suye Huanglian Decoction.
KEY WORDS: Suye Huanglian Decoction; active anti-influenza components; extraction; uniform design; multi-objective genetic algorithm; objectives; correlation analysis

收稿日期: 2019-01-04
基金项目: 国家自然科学基金 (81473335/H2803); 浙江省自然科学基金 (LY18H280007)
作者简介: 鲁银均 (1993—), 男, 硕士生, 从事中药活性成分研究及新药开发
* 通信作者: 吴巧凤 (1963—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质研究。E-mail: wqfyjm@sina.com