

无水磷酸氢钙固化姜黄素磷脂复合物

张焕焕^{1,2}, 刘艺², 张兰², 范君婷^{3*}, 鞠建明^{2*}

(1. 安徽中医药大学, 安徽合肥 230031; 2. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏南京 210028; 3. 南京医科大学药学院, 江苏南京 211166)

摘要: 目的 以无水磷酸氢钙为载体, 固化姜黄素磷脂复合物。方法 扫描电子显微镜 (SEM)、差示扫描量热法 (DSC)、X 射线衍射 (XRD)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 对磷脂复合物和无水磷酸氢钙固化粉末进行表征; 固定漏斗法测定固化粉末休止角; 以体外溶出度和体内药动学为指标, 比较固化前后姜黄素溶出速率和生物利用度。结果 磷脂复合物经无水磷酸氢钙固化后, 流动性得到明显改善, 固化粉末溶出速率在磷酸盐缓冲液 (pH 1.2、pH 6.8) 中明显提高, 相对口服生物利用度有一定程度的增加。结论 无水磷酸氢钙可用于改善姜黄素磷脂复合物的流动性和溶出速率。

关键词: 姜黄素; 磷脂复合物; 无水磷酸氢钙

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)01-0020-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.005

Solidification of curcumin phospholipid complex with anhydrous calcium hydrogen phosphate

ZHANG Huan-huan^{1,2}, LIU Yi², ZHANG Lan², FAN Jun-tin^{3*}, JU Jian-ming^{2*}

(1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2. The Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 3. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

KEY WORDS: curcumin; phospholipid complex; anhydrous calcium hydrogen phosphate

姜黄素是从姜黄干燥根茎中提取纯化出的一种酚类化合物^[1], 具有多种药理活性, 如抗癌、预防动脉粥样硬化、抗菌等^[2-4], 被认为是一种安全的植物成分, 没有显著毒性和致畸性, 亚洲许多国家和地区广泛用作香料、膳食补充剂、药物成分^[5-6]。但姜黄素水溶性差, 并且代谢迅速和全身消除快速, 导致该成分生物利用度较低, 从而限制了临床应用^[7-8]。

现代研究表明, 姜黄素、石杉碱甲、小檗碱等多种难溶性成分的磷脂复合物能有效地提高其溶解度、溶出率、口服生物利用度^[9-11]。磷脂是细胞膜

的基本成分之一, 跨膜能力强, 药物与其结合后亲脂性和跨膜吸收能力增加^[12], 同时它可提高水溶性、脂溶性药物溶解度^[13]。但磷脂复合物黏性大, 影响药物释放, 不利于工业化生产, 故必须使用适当的辅料来改善其流动性和可压缩性。

无水磷酸氢钙是白色单斜晶系结晶粉末, 具有低吸湿性及良好的流动性、可压缩性, 常用于药物制剂的辅料, 如直接压片赋形剂、润滑剂, 以改善片剂压缩特性和流动性^[14], 但目前尚无应用其作为赋形剂固化磷脂复合物以改善流动性、溶出度的报道。因此, 本实验拟采用无水磷酸氢钙作为载体

收稿日期: 2019-07-10

基金项目: 江苏省中医药局科技项目 (FY201507); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才培养对象科研项目 (2015-YY-011)

作者简介: 张焕焕 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药新剂型新工艺及中药材质量控制研究。Tel: 18226205402, E-mail: 18226205402@163.com

* 通信作者: 范君婷 (1983—), 女, 博士, 讲师, 从事天然药物活性成分及其作用机制研究。Tel: 18913816546, E-mail: juntingfan@njmu.edu.cn;

鞠建明 (1972—), 男, 博士, 研究员, 从事中药新剂型新工艺及中药材质量控制研究。Tel: 13951876731, E-mail: jjm405@sina.com

材料,将姜黄素磷脂复合物固化成粉末,并对其流动性、体外溶出度、生物利用度进行评价,以期确定其可行性。

1 材料

1.1 仪器 DSC449F3 差示扫描量热仪(德国 Netzsch 公司);6390LV 扫描电镜(日本电子株式会社);红外光谱仪(美国 Ominic 公司);D/max 2500/PC 转靶 X 射线衍射仪(日本理学株式会社);Waters 高效液相色谱仪(配置 Alliance 2695 四元泵及自动进样系统、Waters 2996 PDA 检测器);RCZ8M 溶出仪(天津天大天发科技有限公司);纯化水装置(美国 Millipore 公司);AT201 电子天平(十万分之一,瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

1.2 试剂与药物 姜黄素(质量分数>97%,大连美仑生物科技有限公司);无水磷酸氢钙(上海昌为医药辅料技术有限公司);卵磷脂(西安泰华医药科技有限公司)。无水乙醇(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);乙腈为色谱纯(美国天地公司);其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

1.3 动物 SD 雄性大鼠,体质量 180~220 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,动物生产许可证号 SCXK(苏)2014-0001。

2 方法

2.1 磷脂复合物制备 称取适量姜黄素和磷脂(1:2)于烧杯中,加入 10 mL 无水乙醇,37℃下磁力搅拌 2 h,完全溶解后转移至圆底烧瓶中,60℃下蒸去无水乙醇,刮下半固体,即得,置于干燥器中备用。

2.2 固化粉末制备 采用溶剂蒸发法^[15]。称取适量磷脂复合物和无水磷酸氢钙(1:2)于烧杯中,加入 10 mL 无水乙醇,37℃下磁力搅拌 2 h,转移至圆底烧瓶中,60℃下蒸去无水乙醇,刮下固体,即得,置于干燥器中备用。

2.3 物理混合物制备 称取适量姜黄素、磷脂、无水磷酸氢钙(1:2:6),置于研钵中混合均匀,过 50 目筛,即得,置于干燥器中用。

2.4 样品表征

2.4.1 扫描电子显微镜(SEM) 称取适量姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末,在其表面真空镀金 70 s,再通过 SEM 观察样品表面和晶体结构。

2.4.2 差示扫描量热法(DSC) 以空铝钳锅为参比物,在另一铝锅中放入一定量样品,载气氮

气,升温速率 20℃/min,升温范围 0~300℃,对姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末进行 DSC 分析。

2.4.3 X 射线衍射(XRD) 测试条件为 Cu 靶(40 kV, 25 mA),步进扫描 0.01°/步,扫描范围 5°~70°,扫描速度 4°/min,对姜黄素、无水磷酸氢钙、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末进行 XRD 分析。

2.4.4 傅里叶变换红外光谱(FTIR) 取适量姜黄素、无水磷酸氢钙、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末,在 4 000~400 cm⁻¹ 范围内进行 FTIR 分析。

2.5 流动性 采用固定漏斗法^[16]。将漏斗置于水平表面的固定高度,固化粉末倒入漏斗中,轻微振动,滑下的粉末形成锥体,记录锥体平均直径(*D*)和粉末堆积高度(*h*),计算休止角 θ ,公式为 $\tan\theta = 2h/D$ 。

2.6 体外溶出度研究 采用 2015 年版《中国药典》四部通则中溶出度与释放度测定法中的第一法(篮法)。称取适量姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末(相当于含姜黄素 5 mg)装于空胶囊中,设定转速 100 r/min,温度(37±0.5)℃,溶出介质 900 mL 磷酸盐缓冲液(pH=1.2 或 6.8)^[17-18]。于 5、10、20、30、45、60 min 各取样 5 mL,同时补加同温等量溶出介质,13 000 r/min 离心 10 min,取上清测定姜黄素含量,计算其累积溶出率,绘制溶出曲线,平行 3 份。

2.7 体内药动学行为研究

2.7.1 血浆样品的制备 24 只大鼠随机分成 4 组,每组 6 只,实验前禁食 12 h,自由饮水,按 100 mg/kg 剂量分别灌胃给予姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末(混悬于 0.5% CMC-Na 溶液中)。于 0.17、0.33、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10 h 眼眶静脉丛取血各 0.5 mL,置于肝素化离心管中,4℃下 4 000 r/min 冷冻离心 10 min,取上清,保存于-80℃冰箱中^[19]。

2.7.2 血浆样品处理 吸取血浆样品 100 μL 于离心管中,加入 10 μg/L 内标溶液(葛根素)10 μL,涡旋 10 s,加 500 μL 乙腈,再涡旋 3 min,15 000 r/min 离心 5 min,取上清液,氮气吹干后加入 100 μL 乙腈-水(1:1)复溶,3 500 r/min 离心 5 min,取上清待测。HPLC 分析时,取 20 μL 等分试样注入。

2.7.3 数据分析 根据血药浓度-时间曲线,得到药峰浓度 (C_{max})、达峰时间 (T_{max});通过 DAS 1.1.1 软件,对血药浓度-时间数据进行非房室拟合分析,计算其他药动学参数;采用 SPSS 23.0 软件,对主要药动学参数进行独立样本 t 检验,数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 SEM 分析 图 1 显示,姜黄素、物理混合物中能发现明显晶体,而在磷脂复合物、固化粉末中消失,呈现无定形状态,表明姜黄素可与磷脂完全结合,从而使前者在磷脂复合物中从结晶态转变为非晶态。

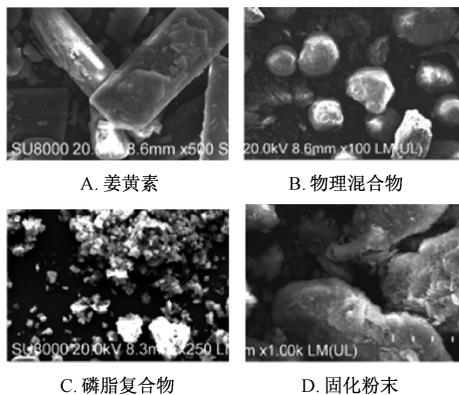


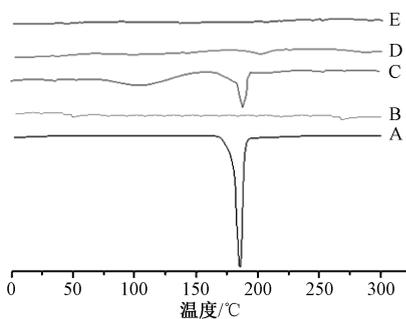
图 1 样品 SEM 图

Fig. 1 SEM images for samples

3.2 DSC 分析 图 2 显示,姜黄素、物理混合物在 183.5 °C 附近有晶体吸热峰,而无水磷酸氢钙没有;物理混合物在 115 °C 附近出现 1 个宽吸热峰,它低于姜黄素晶体峰,可能是由于有一部分受到磷脂、无水磷酸氢钙干扰,导致吸热峰有所减弱;磷脂复合物、固化粉末中上述 2 个峰均消失,表明药物以无定形或非晶体状态存在,与“3.2”项下结果一致。

3.3 XRD 分析 图 3 显示,姜黄素在 5°~35° 处具有较强的特征衍射峰,在 17.8° 处为其晶体特征峰;物理混合物中尽管大多数峰消失,但仍可观察到姜黄素特征峰,表明该成分仅与无水磷酸氢钙和磷脂物理混合,并且仍以结晶形式存在;磷脂复合物、固化粉末中姜黄素特征衍射峰均消失,提示该成分可能以无定形状态存在。

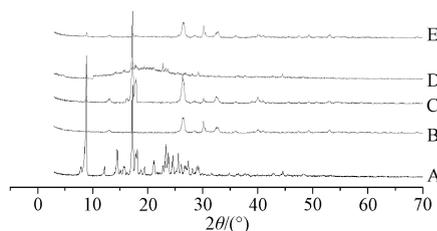
3.4 FTIR 分析 图 4 显示,姜黄素在 3 434、1 511 cm^{-1} 处有强烈的特征吸收峰,前者是该成分苯环骨架峰,而后者为酚羟基伸缩振动;无水磷酸氢钙在 1 200 cm^{-1} 处显示出特征性 P=O 吸收带;物理混合物在 1 200 cm^{-1} 处存在 P=O 吸收带,



注: A~E 分别为姜黄素、无水磷酸氢钙、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末。

图 2 样品 DSC 图

Fig. 2 DSC pattern for samples

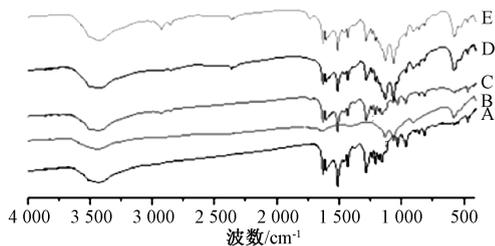


注: A~E 分别为姜黄素、无水磷酸氢钙、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末。

图 3 样品 XRD 图

Fig. 3 XRD pattern for samples

3 400 cm^{-1} 处有酚羟基吸收带;磷脂复合物、固化粉末在 3 400 cm^{-1} 处酚羟基峰吸收加强,可能是由于辅料和磷脂结构中羰基振动的叠加所致,推测后者中各物质之间没有形成新化学键,可能通过分子间作用力而结合。



注: A~E 分别为姜黄素、无水磷酸氢钙、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末。

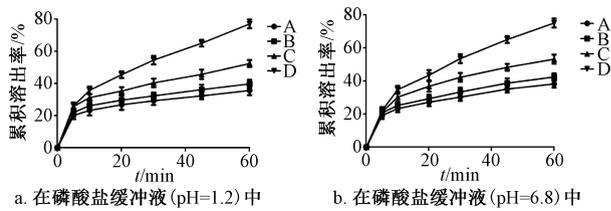
图 4 样品 FTIR 图

Fig. 4 FTIR pattern for samples

3.5 流动性考察 磷脂复合物呈不流动半固体状态,而加入无水磷酸氢钙作为载体后固化粉末休止角为 30°,更有利于生产。

3.6 溶出度考察 图 5 显示,磷酸盐缓冲液 (pH=1.2 或 6.8) 中固化粉末累积溶出率高于磷脂复合物、物理混合物、姜黄素,这是因为无水磷

酸氢钙存在较高的孔隙率，能使药物分散更均匀，溶出速率加快。

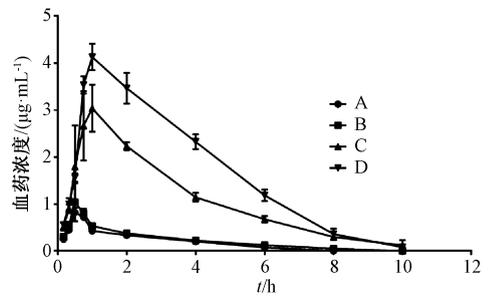


注：A~D 分别为姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末。

图 5 样品累积溶出曲线

Fig. 5 Accumulative dissolution curves for samples

3.7 生物利用度 图 6、表 1 显示，固化粉末 C_{max} 、AUC 显著高于磷脂复合物、物理混合物、姜黄素 ($P < 0.05$)， $t_{1/2}$ 显著降低 ($P < 0.05$)，相对口服生物利用度较磷脂复合物增加了 1.53 倍。



注：A~D 分别为姜黄素、物理混合物、磷脂复合物、固化粉末。

图 6 样品血药浓度-时间曲线

Fig. 6 Plasma concentration-time curves for samples

4 讨论

由于姜黄素水溶性差、生物利用度低，本实验通过将其制成磷脂复合物来增强该成分膜渗透性，但由于磷脂复合物黏性大、流动性差，故采用无水

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	姜黄素	物理混合物	磷脂复合物	固化粉末
AUC_{0-t}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	1.73 ± 0.05	2.21 ± 0.20	10.90 ± 0.33	$17.10 \pm 0.79^*$
$AUC_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	1.99 ± 0.22	2.40 ± 0.21	11.29 ± 0.58	$17.24 \pm 0.86^*$
$MRT_{0-\infty}$	h	2.99 ± 0.70	3.19 ± 0.81	3.34 ± 0.47	3.19 ± 0.13
$t_{1/2}$	min	1.98 ± 0.65	2.20 ± 0.75	1.80 ± 0.61	$1.11 \pm 0.32^*$
T_{max}	h	0.54 ± 0.12	0.54 ± 0.10	0.88 ± 0.21	1.17 ± 0.41
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.82 ± 0.04	1.13 ± 0.22	3.46 ± 0.19	$4.21 \pm 0.11^*$

注：与磷脂复合物比较，* $P < 0.05$ 。

磷酸氢钙作为载体固化磷脂复合物形成粉末，从而增加其流动性。结果显示，姜黄素与无水磷酸氢钙具有良好的相容性，前者在固化粉末中以稳定的无定形态存在，同时磷脂复合物的溶出速率也有所提高。评估了固化粉末的生物利用度，发现它与传统姜黄素磷脂复合物相比有明显的改善作用。因此，无水磷酸氢钙不仅可用于改善磷脂复合物的流动性，有利于以后固体剂型处理，而且还可增加其复合物溶出速率，从而改善口服生物利用度。

参考文献：

[1] 梁桂诚, 夏 豪. 姜黄素的心血管保护作用及其机制的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(2): 362-369.
 [2] 朱亚平, 卜淑蕊. 姜黄素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(3): 91-93.
 [3] Shin S K, Ha T Y, McGregor R A, et al. Long-term curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55(12): 1829-1840.
 [4] Adahoun M A, Al-Akhras M H, Jaafar M S, et al. Enhanced anti-cancer and antimicrobial activities of curcumin nanoparticles[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 45

(1): 98-107.

[5] Sharma R A, Gescher A J, Steward W P. Curcumin: the story so far[J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(13): 1955-1968.
 [6] Aggarwal B B, Kumar A, Bharti A C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(1A): 363-398.
 [7] Anand P, Kunnumakkara A B, Newman R A, et al. Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. *Mol Pharm*, 2007, 4(6): 807-818.
 [8] 刘 芳, 张 倩, 李 锐, 等. 表面活性剂对姜黄素类成分水溶性与抗肝纤维化作用的影响[J]. 中草药, 2018, 49(8): 1809-1815.
 [9] Shukla M, Jaiswal S, Sharma A, et al. A combination of complexation and self-nanoemulsifying drug delivery system for enhancing oral bioavailability and anticancer efficacy of curcumin[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2017, 43(5): 847-861.
 [10] Cai X, Luan Y, Jiang Y, et al. Huperzine A-phospholipid complex-loaded biodegradable thermosensitive polymer gel for controlled drug release [J]. *Int J Pharm*, 2012, 433(1-2): 102-111.
 [11] Zhang Z H, Chen Y, Deng J, et al. Solid dispersion of berberine-phospholipid complex/TPGS 1000/SiO₂: preparation, characterization and *in vivo* studies[J]. *Int J Pharm*, 2014, 465

- (1-2): 306-316.
- [12] 丁冬梅, 张振海, 蒋艳荣, 等. 中药磷脂复合物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(13): 2046-2050.
- [13] Kumar A, Habbu P V, Thimmasetty T, et al. Phytosomes as novel drug delivery system for herbal medicine-a review[J]. *Sys Rev Pharm*, 2017, 8(1): 5-7.
- [14] Kushner J 4th, Schlack H. Commercial scale validation of a process scale-up model for lubricant blending of pharmaceutical powders[J]. *Int J Pharm*, 2014, 475(1-2): 147-155.
- [15] 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 Pharm*, 2010, 387(1-2): 139-146.
- [16] 刘 胜, 何丹丹, 刘 艺, 等. 胶态二氧化硅与β-环糊精固化丁香油比较研究[J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(1): 77-80.
- [17] Li Z Y, Paulson A T, Gill T A. Encapsulation of bioactive salmon protein hydrolysates with chitosan-coated liposomes[J]. *J Funct Food*, 2015, 19(Pt A): 733-743.
- [18] Zhang Z H, Wang X P, Ayman W Y, et al. Studies on lactoferrin nanoparticles of gambogic acid for oral delivery[J]. *Drug Deliv*, 2013, 20(2): 86-93.
- [19] Wang J N, Wang L L, Zhang L, et al. Studies on the curcumin phospholipid complex solidified with Soluplus [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2018, 70(2): 242-249.

北沙参炮制工艺的优化

王凤娇, 钟凌云*, 钟国跃, 张寿文*
(江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

摘要: 目的 优化北沙参炮制工艺。方法 以润制时间、切段长度、干燥温度为影响因素, 饮片性状及补骨脂素、花椒毒素、佛手柑内酯、欧前胡素、异欧前胡素含量为评价指标, 正交试验优化生品制备工艺; 以炼蜜与水比例、闷润时间、炒炙温度、炒炙时间为影响因素, 饮片性状及补骨脂素、花椒毒素、佛手柑内酯、欧前胡素、异欧前胡素含量为评价指标, 正交试验优化蜜炙品制备工艺。结果 生品最佳制备工艺为润制 24 h 后切 5 mm 短段, 60 °C 下干燥, 其表面呈黄白色, 质坚而脆, 各成分含量稳定, RSD<1%; 蜜炙品最佳制备工艺为炼蜜与水按 1:1 比例混合后加入生品, 拌匀, 闷润 40 min 后至锅内, 150 °C (锅底温度) 下炒炙 30 min, 其表面呈深黄色, 不粘手, 具有蜜香气, 各成分含量稳定, RSD<1%。结论 该方法可为北沙参炮制工艺提供可行的依据。

关键词: 北沙参; 炮制工艺; 正交试验

中图分类号: R283 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)01-0024-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.006

Optimization of processing procedure for *Glehniae Radix*

WANG Feng-jiao, ZHONG Ling-yun*, ZHONG Guo-yue, ZHANG Shou-wen*
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

KEY WORDS: *Glehniae Radix*; processing procedure; orthogonal test

北沙参为伞形科植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq 的干燥根, 夏秋二季采挖, 除去

须根, 洗净, 稍晾, 置沸水中烫后除去外皮干燥, 或洗净直接干燥^[1], 其性甘、微苦、微寒, 归肺、

收稿日期: 2018-12-13

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-NMG-30)

作者简介: 王凤娇 (1991—), 女, 硕士生, 从事中药炮制机理及质量标准研究。Tel: 13217918627, E-mail: 1942116908@qq.com

* 通信作者: 钟凌云 (1971—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制研究。Tel: 138708990930, E-mail: ly1638163@163.com

张寿文 (1971—), 男, 博士, 教授, 从事中药资源开发与利用研究。E-mail: 546572890@qq.com