

·中药制剂与工艺·

本文引用:苏艳莹,雷小小,桂 卉.星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂的制备工艺[J].湖南中医药大学学报,2018,38(11):1331-1335.

## 星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷 脂质体凝胶剂的制备工艺

苏艳莹,雷小小,桂 卉\*

(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,湖南 长沙 410208)

**[摘要]** 目的 优选山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂的制备工艺,并对其进行质量评价。方法 以卡波姆-940用量、凝胶剂pH值、甘油用量为考察因素,以凝胶剂的外观、涂展性、均匀度、离心性的综合评价为指标,采用三因素三水平星点设计-效应面法优选脂质体凝胶剂的制备工艺。结果 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂的最佳制备工艺为卡波姆用量0.5%,pH值6.6,甘油用量15 g。根据优选的最佳工艺,平行制备3份凝胶剂,进行综合评分,综合评分结果分别为9.4、9.7、9.5。结论 运用星点设计-效应面法优选出的山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂的制备工艺简单,方法可靠。

**[关键词]** 星点设计-效应面法;山茱萸总环烯醚萜苷;纳米脂质体;凝胶剂;制备工艺

**[中图分类号]**R283.6 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.11.025

### Preparation Process of *Comus officinalis* Total Iridoid Glycoside Liposomal Gel Optimized by the Central Composite Design-Response Surface Method

SU Yanying, LEI Xiaoxiao, GUI Hui\*

(Hunan Provincial Modernization Key Laboratory of Chinese Medicine, School of Pharmacy,  
Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To optimize the preparation process for *Comus officinalis* total iridoid glycoside liposomal gel, and to evaluate the quality of the gel. **Methods** With the amount of carbomer-940 used, pH value of the gel, and the amount of glycerol used as the factors for investigation and gel appearance, spreadability, uniformity, and centrifugal property as evaluation indices, the three-factor three-level central composite design-response surface method was used to optimize the preparation process for liposomal gel. **Results** The optimal preparation process for *Comus officinalis* total iridoid glycoside liposomal gel was an amount of carbomer-940 used of 0.512%, a pH value of 6.6, and an amount of glycerol used of 15 g. Three samples of the gel were prepared using the optimal process and were then evaluated, and the comprehensive scores were 9.4, 9.7, and 9.5, respectively. **Conclusion** The preparation process for *Comus officinalis* total iridoid glycoside liposomal gel optimized by the central composite design-response surface method is simple and reliable.

**[Keywords]** central composite design-response surface method; *Comus officinalis* total iridoid glycosides; nano-liposome; gel; preparation process

山茱萸科植物山茱萸 (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的成熟干燥果实,去核后为名贵药材山萸

肉,其性味酸涩、入肝肾经,有滋肝补肾、收敛固涩的作用<sup>[1-2]</sup>。现代药理研究表明,山茱萸的主要活性

**[收稿日期]**2018-04-16

**[基金项目]**长沙市科学技术局基础研究项目(kq1701066)。

**[作者简介]**苏艳莹,女,在读硕士研究生,研究方向:药物新剂型与新技术研究。

**[通讯作者]**\*桂 卉,女,教授,硕士研究生导师,E-mail:guihui1993@126.com。

成分山茱萸总环烯醚萜苷 (corneliridoid glycoside, CIG)对阿尔兹海默症有良好的拮抗作用<sup>[3]</sup>,能改善阿尔兹海默症中胆碱能系统功能退化等症状,但由于水溶性大,难以透过血脑屏障,限制了其在临床上的使用<sup>[4]</sup>。脂质体(liposome)是磷脂和胆固醇组成的类脂质双亲性结构<sup>[5-6]</sup>,其作为一种新型给药载体,将药物包裹后,可以提高药物的血脑屏障通过率<sup>[7]</sup>。本课题组前期研究已优选出 CIG 脂质体的最佳制备工艺。凝胶剂具有稳定性高、吸收速度快、生物相容性好等优点,其作为一种新剂型具有广大的开发应用前景<sup>[8-9]</sup>。本课题拟将 CIG 脂质体制成凝胶,经鼻腔给药由鼻脑通路转运进入脑部更好的发挥治疗作用。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

智能数显恒温水浴锅(HH-4型,巩义市予华仪器有限公司);CP114型电子天平(奥豪斯仪器(上海)有限公司);离心机(M14G型,上海迈皋科学仪器有限公司);新芝超声波细胞粉碎机(scientz-IIID型,宁波市上海京工实业有限公司);旋转蒸发器(RE-20000B型,巩义市予华仪器有限公司)。

### 1.2 材料

山茱萸总环烯醚萜苷脂质体:自制(包封率11%);卡波姆-940(上海人民制药厂);泊洛沙姆(上海运宏化工制剂辅料技术有限公司);甲基纤维素(阿拉丁试剂有限公司);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司);聚乙烯吡咯烷酮(PVP,海拓国药沃凯);三乙醇胺(天津市富宇精细化工有限公司);甲醇为色谱纯;水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 药液的制备

称取山茱萸药材粉末(过80目筛)5g,置于圆底烧瓶中,加10%乙醇溶液125mL,在95℃条件下

加热回流提取2h,过滤后置于250mL容量瓶中用10%乙醇溶液定容,摇匀,得到含马钱苷0.1208mg/mL、莫诺苷0.3012mg/mL的提取液。将提取液进行纯化,测得纯化后马钱苷的含量为0.59mg/mL、莫诺苷的含量为1.47mg/mL。

### 2.2 脂质体的制备

精密称取适量磷脂与胆固醇置于250mL茄瓶中,加入适量三氯甲烷超声溶解,旋转蒸发仪上减压常温除去有机溶剂,于茄型瓶上形成脂质薄膜,确保磷脂和胆固醇紧密接触后,于瓶中加入3mL乙醚,重新溶解脂膜,加入1mL含药水相,置于超声仪中进行超声,至形成稳定W/O型乳剂;将该W/O型乳剂于室温下减压除去有机溶剂至形成性混悬液,通N<sub>2</sub>进一步除去有机溶剂后,探头超声10min(超声2s停2s),用微孔滤膜(0.45μm)滤过,即得带乳光的CIG脂质体混悬溶液。空白脂质体溶液除不加药物外,其他操作同CIG脂质体的制备。

### 2.3 凝胶剂基质筛选

考虑CIG是水溶性药物,因此我们采用水性凝胶剂。常见的凝胶基质包括卡波姆与纤维素类衍生物。实验考察的凝胶基质有:卡波姆-940、泊洛沙姆、甲基纤维素、CMC-Na、PVP。分别称取以上凝胶剂基质适量,均匀撒于蒸馏水中,室温下静置24h,使其充分溶胀。以基质的外观、涂展性、均匀度、离心性的综合评分为考察指标,筛选适宜基质。评分指标:综合评分(10分)=外观评价(2.5分)+涂展性评分(2.5分)+均匀度(2.5分)+离心性(2.5分),具体评分标准见表1,基质筛选评分结果见表2。

根据表2基质筛选评分结果及实验可知,纤维素类衍生物制备的凝胶涂布在皮肤时黏附性明显大于卡波姆凝胶,涂布效果不好。卡波姆-940的外观、涂展性、均匀度、离心性均符合凝胶剂的质量要求,综合评分最高,因此选择卡波姆-940作为CIG脂质体凝胶剂基质。

表1 基质筛选综合评分标准

指标	分值			
	优(2.0~2.5分)	良(1.0~1.9分)	中(0.3~0.9分)	差(0~0.2分)
外观(2.5分)	表面光滑平整,有亮泽	表面有亮泽	无光泽	无光泽且有颗粒感
涂展性(2.5分)	易于涂布,不粘玻棒	涂布性较好	较粗糙	粗糙
均匀度(2.5分)	细腻,无颗粒状胶团	较细腻	较粗糙	粗糙
离心性(2.5分)	均匀外观不变	无分层现象	表面有微小颗粒	分层

表 2 基质筛选综合评分结果

基质名称	质量分数/%	性状	指标评分/分				综合评分/分
			外观	涂展性	均匀度	离心性	
卡波姆-940	1.0	表面平整亮泽,触感细腻	2.4	2.3	2.4	2.2	9.3
泊洛沙姆	1.0	透明,几乎无黏度	1.5	1.6	1.8	0.3	5.2
甲基纤维素	1.0	较透明,黏度差	1.3	1.0	1.6	1.5	5.4
CMC-Na	1.0	半透明,黏稠度适中	1.9	2.0	2.0	1.8	7.7
PVP	1.0	较透明,黏度较差	1.5	1.2	1.7	1.6	6.0

## 2.4 脂质体凝胶剂的制备

称取卡波普-940 与甘油适量, 研匀后加适量 PBS 搅拌均匀, 待充分溶胀; 取“2.2”方法制成的脂质体混悬液 10 mL 加适量 PBS 稀释后, 滴加至溶胀的凝胶中; 将山梨酸 0.2 g 溶解后加入, 搅匀; 最后滴加三乙醇胺调整 pH, 加 PBS 至 100 g, 搅匀, 于 4 ℃ 密闭贮存, 得脂质体凝胶(含马钱苷 0.59 mg, 莫诺苷 1.47 mg)。空白脂质体凝胶除不加药物外, 其他条件同 CIG 脂质体凝胶剂的制备。

## 2.5 山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂制备工艺的优化

**2.5.1 单因素试验** 根据“2.3”中脂质体凝胶剂的制备方法, 对卡波姆-940 的用量、脂质体用量、甘油用量及 pH 值等因素进行考察。预实验结果发现, 对制得的脂质体凝胶剂的理化性质及成型性影响较大的三种因素是卡波姆用量、pH 值、甘油用量。因此, 本课题将卡波姆用量 ( $X_1$ )、pH 值 ( $X_2$ )、甘油用量 ( $X_3$ ) 设为因素, 进行三因素三水平星点设计-效应面试验。

**2.5.2 星点试验设计** 设定变量卡波姆用量 ( $X_1$ )、pH 值 ( $X_2$ )、甘油用量 ( $X_3$ ), 以表 1 综合评分为指标进行 3 因素 3 水平 (-1, 0, +1) 的星点-效应面法设计。在预试验的结果上确定  $0.5\% < X_1 < 1.5\%$ ,  $5.5 < X_2 < 7.5$ ,  $5 < X_3 < 15$ 。因素水平及代码、实验安排及结果见表 3。

**2.5.3 星点试验结果及分析** 对表 2 结果借助 10.0 版 Design-Expert 统计分析, 得到山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂的综合评分效应面方差分析和二次回归方程的方差分析结果, 见表 4。

对该模型方程进行方差分析和显著性检验, 从表 4 结果知模型的 F 值为 145.94,  $P < 0.000 1$ , 表明

表 3 星点设计试验安排及结果

编号	A(卡波姆用量/%)	B(pH 值)	C(甘油用量/g)	Y(综合评分/分)
1	1.5	7.5	10	3.7
2	1	6.5	10	7.4
3	1	6.5	10	7.5
4	1	6.5	10	7.6
5	0.5	6.5	5	8.6
6	0.5	6.5	15	9.6
7	1	6.5	10	7.4
8	1.5	6.5	15	4.4
9	1	6.5	10	7.1
10	0.5	5.5	10	6.3
11	1	7.5	5	6.3
12	1	5.5	15	5.9
13	1.5	5.5	10	0.8
14	0.5	7.5	10	7.5
15	1	5.5	5	5.0
16	1.5	6.5	5	3.6
17	1	7.5	15	7.5

回归模型意义是极显著的, 回归方程中三个因素因子与响应值之间的非线性方程关系是显著的, 能准确的预测实际情况。

**2.5.4 模型拟合** 二项以综合评分为指标, 使用 10.0 版 Design-Expert 对各因素进行回归分析, 得到回归模型为:

$$Y = 7.4 - 2.44X_1 + 0.887 5X_2 + 0.475X_3 + 0.425X_1X_2 - 0.05X_1X_3 + 0.05X_2X_3 - 1.24X_1^2 - 1.59X_2^2 + 0.387 5X_3^2 \quad (R = 0.997 3)$$

利用 Design-Expert 10.0 版软件计算出模型 Y 的失拟项的平方和为 0.257 5, P 值为 0.203 2, 表明无法拒绝原假设, 即可以判定本模型没有失拟现象。故此模型可用于山茱萸环烯醚萜苷脂质体凝胶剂处方的分析和预测。

**2.5.5 效应面分析** 3D 效应面仅能解释 2 因素和指标值的关系, 故设定 1 个因素为中值, 以 Design-

表 4 星点设计试验结果分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	74.58	9	8.29	145.94	<0.001
$X_1$	47.53	1	47.53	837.03	<0.001
$X_2$	6.30	1	6.30	110.97	<0.001
$X_3$	1.80	1	1.80	31.79	0.0008
$X_1X_2$	0.7225	1	0.7225	12.72	0.0091
$X_1X_3$	0.01	1	0.0100	0.1761	0.6873
$X_2X_3$	0.01	1	0.0100	0.1761	0.6873
$X_1^2$	6.45	1	6.45	113.55	<0.001
$X_2^2$	10.61	1	10.61	186.86	<0.001
$X_3^2$	0.6322	1	0.6322	11.13	0.0125
残差	0.3975	7	0.0568		
失拟误差	0.2575	3	0.0858	2.45	0.2032
净误差	0.14	4	0.0350		
总和	74.98	16			

Expert10.0 版软件分别绘制其他 2 因素对脂质体封装率的 3 维效应图。Y(综合评分)随卡波姆用量增加而变小,随 pH 值增加而先增加后变小,随甘油用量增加而增加,且影响均显著,结果见图 1。

2.5.6 效应面优化和预测 在满足脂质体含药量

最大化条件下,利用 Design-Expert 10.0 版软件优化处方,得到最优处方为卡波姆用量为 0.512%,pH 值为 6.6%,甘油用量为 15 g,此时综合评分为 9.6。

2.5.7 验证试验 按优选处方,即 0.5%卡波姆-940,15 g 甘油,pH 6.6,平行制备 3 批凝胶剂,综合评分分别为 9.4、9.7、9.5,平均值为 9.5,与预测值 9.6 的相对误差分别是 2.13%、1.03%、1.05%,标准偏差为 0.16,相对标准偏差为 1.68%,结果表明该制备工艺稳定。

2.6 凝胶剂的质量评价

对制备的凝胶剂进行外观性状、涂展性、均匀度、pH 值及离心试验等考察,发现制得的凝胶剂外观平整光滑,半透明,将其涂布于皮肤上,发现凝胶剂涂展性好,黏度适中,均匀细腻,无颗粒胶团,凝胶剂 pH 值在 6.4~6.8 之间,取样品适量,经 4 500 r/min 离心 30 min 后,发现凝胶剂无凝聚分层现象。结果表明,按优化处方制备的山茱萸总环烯醚萜苷脂质体凝胶剂工艺可行,稳定性好。

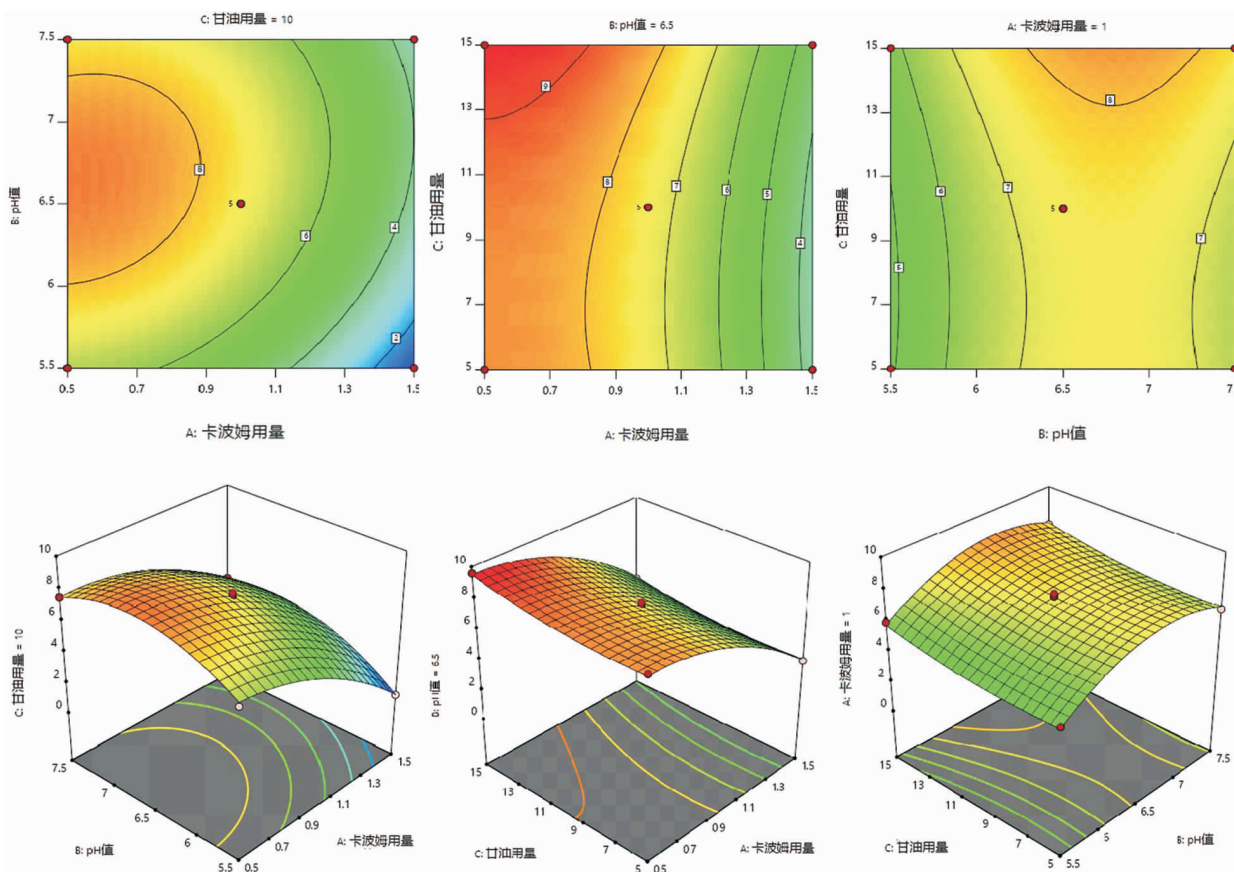


图 1 制备工艺中各因素对综合评分影响的响应曲面



### 3 讨论

本实验通过考察卡波姆-940,泊洛沙姆,甲基纤维素,CMC-Na,PVP5 种凝胶剂基质,以基质的外观、涂展性、均匀度、离心性的综合评分为指标,筛选出最佳凝胶剂基质为卡波姆-940。卡波姆是制备凝胶剂最常用的基质之一,是丙烯酸与烯丙基蔗糖交联而成的高分子聚合物,在低浓度下能形成有生物黏附性的高黏度凝胶。具有易涂展,无油腻性,对皮肤无刺激等优点,可作为凝胶基质生物黏附材料和缓控释制剂的骨架材料。

星点设计-效应面法具有试验次数少、操作简单、精度高,能分析各因素之间相互作用等优点,在药学领域中应用的越来越广泛。本实验以卡波姆-940 用量、甘油用量及 pH 值为考察因素,以综合评分为指标进行 3 因素 3 水平星点-效应面设计,对数据进行二次回归方程模型拟合及方差分析。由响应面分析可知, $Y$ (综合评分)随卡波姆用量增加而变小,随 pH 值的增加先增加后变小,随甘油用量增加而增加,影响均较显著。利用 Design-Expert 10.0 版软件优化处方得到可靠数据模型,优选出 CIG 脂质体凝胶剂的最佳制备工艺:卡波姆用量 0.512%,pH 值 6.6,甘油用量 15 g。通过对制备的凝胶剂进

行外观性状、涂展性、均匀度、pH 值及离心实验考察,发现制得的凝胶剂稳定,涂展性好,均匀细腻,外观无明显变化。结果表明,运用星点设计-效应面法优选出的 CIG 脂质体凝胶剂的制备工艺简单,方法可靠。

#### 参考文献:

- [1] 皮文霞,封晓鹏,蔡宝昌,等.山茱萸-山药对糖尿病小鼠心肌的保护作用[J].中药材,2017,40(7):1699-1703.
- [2] 贾 羲,苏成福,董诚明.山茱萸提取物抗肿瘤作用及机制探讨[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(20):117-121.
- [3] 杨明明,袁晓旭,赵桂琴,等.山茱萸化学成分和药理作用的研究进展[J].承德医学院学报,2016,33(5):398-400.
- [4] 杨 雪,季 红,刘颖男,等.山茱萸多糖提取纯化方法及药理作用研究进展[J].中国老年学杂志,2015,35(7):1984-1986.
- [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,2011,34(7):1118-1122.
- [6] 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.
- [7] 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):254-277.
- [8] 张艺馨. 甲磺酸雷沙吉兰鼻用凝胶剂的制备及其体内药动学研究[D].内蒙古医科大学,2016.
- [9] 夏爱晓,孙 渊,孟 贤.新型药物凝胶剂研究进展[J].药学实践杂志,2015,33(3):205-216.

(本文编辑 苏 维)