

# 穿心莲内酯磷脂复合物的制备及表征

余凤玮\*, 聂 绩, 袁 野(重庆市渝北区人民医院药剂科, 重庆 401120)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)10-1409-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.10.34

**摘要** 目的:制备穿心莲内酯磷脂复合物,优化其处方工艺并进行表征。方法:采用溶剂法制备穿心莲内酯磷脂复合物,以复合率为评价指标,考察反应溶剂、反应时间、反应温度、药物质量浓度、投料比例等单因素对复合率的影响,再结合正交试验优化投料比、反应温度和药物浓度,并进行验证。采用紫外分光光度法(UV)及差示扫描量热分析(DSC)进行表征。比较穿心莲内酯、穿心莲内酯磷脂物理混合物和穿心莲内酯磷脂复合物在水、大豆油、丙二醇单月桂酸甘油酯(Lauroglycol FCC)中的溶解性能。结果:复合物的最佳制备工艺为以四氢呋喃为反应溶剂,反应时间为4 h,反应温度为50 ℃,药物质量浓度为10 mg/ml,穿心莲内酯与磷脂的摩尔比为1:3。所制穿心莲内酯磷脂复合物的复合率为83.2%( $n=3$ ),UV与DSC分析结果均表明复合物已形成。与原料药及物理混合物比较,磷脂复合物明显提高了穿心莲内酯在水、大豆油、Lauroglycol FCC中的溶解性能。结论:成功制得穿心莲内酯磷脂复合物。

**关键词** 穿心莲内酯;磷脂复合物;制备;正交试验;表征

## Preparation and Characterization of Andrographolide Phospholipid Compound

YU Fengwei, NIE Ji, YUAN Ye (Dept. of Pharmacy, Chongqing Yubei District People's Hospital, Chongqing 401120, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare andrographolide phospholipid compound, optimize its formulation technology and characterize it. METHODS: Andrographolide phospholipid compound was prepared with solvent method. Using compound rate as index, the effects of reaction solvent, reaction time, reaction temperature, drug concentration, the ratio of reactants and other single factors on compound rate were investigated. The ratio of reactants, reaction temperature and drug concentration were optimized by orthogonal test and validated. The dissolubilities of andrographolide, andrographolide phospholipid physical mixture and andrographolide phospholipid compound in water, soybean oil and Lauroglycol FCC were compared and characterized with UV and DSC. RESULTS: The optimal preparation technology was tetrahydrofuran as reaction solvent, reaction time of 4 h, reaction temperature of 50 ℃, drug concentration of 10 mg/ml, ratio of andrographolide to phospholipid 1:3. The compound rate of andrographolide phospholipid compound was 83.2% ( $n=3$ ). Compared with raw material and physical mixture, phospholipid compound significantly improved the dissolubility of andrographolide in water, soybean oil and Lauroglycol FCC. UV and DSC showed that compound had been prepared. CONCLUSIONS: Andrographolide phospholipid compound is prepared successfully.

**KEYWORDS** Andrographolide; Phospholipid compound; Preparation; Orthogonal test; Characterization

穿心莲内酯(Andrographolide)是爵床科植物穿心莲中提取的二萜内酯类化合物,是穿心莲中主要的有效成分之一。其具有清热解毒、抗炎、抗菌、抗病毒、免疫调节、治疗心脑血管疾病等功效,临床用于治疗肺炎和上呼吸道感染等<sup>[1-2]</sup>。但由于穿心莲内酯的水溶性及脂溶性均不佳,导致口服吸收差、生物利用度低,限制了其临床应用。磷脂复合物(Phospholipid complex)是指在非质子溶剂中,药物与磷脂以一定配比结合而形成的复合物<sup>[3]</sup>,可改变母体药物的理化性质,改善药物的溶解性能,增加药物在胃肠道内的吸收,提高生物利用度<sup>[4-5]</sup>。本研究旨在通过对穿心莲内酯磷脂复合物制备工艺的研究,以期改善穿心莲内酯的溶解性能,提高其生物利用度,为穿心莲内酯口服制剂的研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

BP211D型电子天平(德国Satorius公司);R-114型旋转蒸发器(瑞士Buchi公司);LC-10AT VP型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);DSC-200PC型热流型差示扫描量热计(德国Netzsch公司);Cary100型紫外分光光度计(美国Varian公司);

\*药师,硕士研究生。研究方向:药剂学。电话:023-61800287。E-mail:yufengwei926@sina.com

TGL-16C型台式高速离心机(湖南星科科学仪器有限公司);QZX-C型空气浴振荡器(哈尔滨东明科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

穿心莲内酯原料药(五粮液集团宜宾制药厂惠赠,纯度:99.79%);穿心莲内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110797-200307,纯度:>99%);蛋黄卵磷脂E80(德国Lipoid公司);大豆油(铁岭北亚药用油有限公司);丙二醇单月桂酸甘油酯(Lauroglycol FCC,法国Gattefosse公司);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为实验用水。

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(50:50, V/V),流速:1 ml/min;柱温:35 ℃;检测波长:225 nm;进样量:20 μl。

2.1.2 方法学考察 精密称取穿心莲内酯对照品适量,加入甲醇-水(1:1, V/V)溶解制成200 μg/ml贮备液;分别精密量取贮备液0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 ml,置于10 ml棕色量瓶中,加入甲醇-水(1:1)稀释至刻度,摇匀,得到系列线性对照品溶液。精密量取各对照品溶液20 μl注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积(A)对穿心莲内酯质量浓度(c)进行线性回归,

得回归方程为  $A = 4.06 \times 10^4 c - 4.77 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ), 穿心莲内酯检测质量浓度的线性范围为  $1 \sim 32 \mu\text{g/ml}$ 。信噪比为 3 时, 测得穿心莲内酯检测限为  $0.1 \mu\text{g/ml}$ ; 信噪比为 10 时, 测得穿心莲内酯定量限为  $0.25 \mu\text{g/ml}$ 。日内、日间精密度的 RSD 均小于  $1\%$  ( $n = 5$ )。

**2.1.3 穿心莲内酯的含量测定** 精密称取复合物适量(约合穿心莲内酯  $10 \text{ mg}$ ), 置于  $50 \text{ ml}$  量瓶中, 加入甲醇-水(1:1,  $V/V$ ) 适量, 超声溶解, 稀释至刻度, 摇匀; 用  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 精密量取续滤液  $1 \text{ ml}$ , 置于  $10 \text{ ml}$  棕色量瓶中, 加甲醇-水(1:1) 稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。另取穿心莲内酯对照品, 精密称定, 同法配制成  $20 \mu\text{g/ml}$  的对照品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 计算含量。

## 2.2 复合物制备工艺评价标准的建立

以复合率来评价复合物制备工艺。穿心莲内酯不溶于正己烷, 磷脂和磷脂复合物易溶于正己烷, 故选择正己烷作为鉴定溶剂。将一定量的穿心莲内酯和磷脂在一定条件下反应后, 减压除去反应溶剂, 将剩余物用一定量的正己烷溶解, 去除上清液, 收集沉淀, 干燥称质量。穿心莲内酯的初始投药量与沉淀量之差即为穿心莲内酯磷脂复合物中穿心莲内酯的量, 以此计算复合率( $\%$ )  $= (A_i - A_d) / A_i \times 100\%$ , 式中  $A_i$  为穿心莲内酯的初始投药量,  $A_d$  为沉淀量。

## 2.3 单因素影响试验

**2.3.1 反应溶剂** 设定穿心莲内酯与磷脂的投料比为 1:1(摩尔比), 反应温度为  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 反应时间为  $2 \text{ h}$ , 穿心莲内酯质量浓度为  $10 \text{ mg/ml}$ , 考察以丙酮、四氢呋喃、1,4-二氧六环、无水乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯作为反应溶剂对复合率的影响。结果, 上述反应溶剂制得的复合物的复合率分别为  $34.1\%$ 、 $78.3\%$ 、 $75.2\%$ 、 $29.8\%$ 、 $66.4\%$ 、 $46.3\%$ 。由此可见, 四氢呋喃作为反应溶剂其复合率相对较高, 故选择四氢呋喃作为反应溶剂。

**2.3.2 反应时间** 设定四氢呋喃为反应溶剂, 其他条件同“2.3.1”项下, 考察以  $0.5$ 、 $1$ 、 $2$ 、 $4$ 、 $6 \text{ h}$  为反应时间对复合率的影响。结果, 上述反应时间制得的复合物的复合率分别为  $59.2\%$ 、 $71.6\%$ 、 $79.3\%$ 、 $81.4\%$ 、 $80.9\%$ 。由此可见, 药物与磷脂反应  $4 \text{ h}$  后基本完成, 复合率受时间影响较小。

**2.3.3 反应温度** 设定四氢呋喃为反应溶剂, 反应时间为  $4 \text{ h}$ , 其他条件同“2.3.1”项下, 考察以  $30$ 、 $40$ 、 $50$ 、 $60 \text{ }^\circ\text{C}$  为反应温度对复合率的影响。结果, 上述反应温度下制得的复合物的复合率分别为  $62.1\%$ 、 $76.7\%$ 、 $79.0\%$ 、 $77.3\%$ 。由此可见, 反应温度对复合率有一定影响, 应在  $40 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$  范围内。

**2.3.4 药物质量浓度** 设定四氢呋喃为反应溶剂, 反应时间为  $4 \text{ h}$ , 反应温度为  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 其他条件同“2.3.1”项下, 考察以  $10$ 、 $20$ 、 $30 \text{ mg/ml}$  药物质量浓度对复合率的影响。结果显示, 以上述药物质量浓度制得的复合物的复合率分别为  $78.5\%$ 、 $69.8\%$ 、 $48.3\%$ 。由此可见, 药物质量浓度对复合率有较大影响, 随药物质量浓度的增加, 复合率逐渐降低。

**2.3.5 药物与磷脂投料比例** 设定四氢呋喃为反应溶剂, 反应时间为  $4 \text{ h}$ , 反应温度为  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 药物质量浓度为  $10 \text{ mg/ml}$ , 考察以  $2:1$ 、 $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$  为穿心莲内酯与磷脂投料比对复合率的影响。结果, 以上述投料比制得的复合物的复合率分别为  $38.5\%$ 、 $78.0\%$ 、 $82.4\%$ 、 $84.3\%$ 、 $90.7\%$ 。由此可见, 药物的复合率随穿心莲内酯在体系中所占比例降低而增加, 投料比对复合率有一定影响。

## 2.4 正交设计

根据单因素影响试验结果发现, 反应温度、药物质量浓

度、投料比例对复合率有一定影响。故以复合率为指标, 对投料比(A)、反应温度(B)、药物质量浓度(C)进行 3 因素 3 水平正交设计, 反应溶剂为四氢呋喃, 反应时间为  $4 \text{ h}$ 。采用  $L_9(3^4)$  表设计试验。因素与水平见表 1, 正交试验设计与结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 因素与水平

Tab 1 Levels and factors

水平	因素		
	A(投料比)	B(反应温度), $^\circ\text{C}$	C(药物质量浓度), $\text{mg/ml}$
1	1:1	40	10
2	1:2	50	20
3	1:3	60	30

表 2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

实验号	因素			复合率, $\%$
	A	B	C	
1	1	1	1	76.7
2	1	2	2	70.6
3	1	3	3	50.4
4	2	1	2	75.8
5	2	2	3	56.9
6	2	3	1	81.2
7	3	1	3	68.2
8	3	2	1	84.3
9	3	3	2	79.4
$K_1$	197.7	220.7	242.2	
$K_2$	213.9	211.8	225.8	
$K_3$	231.9	211.0	175.5	
$k_1$	65.9	73.6	80.7	
$k_2$	71.3	70.6	75.3	
$k_3$	77.3	70.3	58.5	
R	11.4	3.2	22.2	

表 3 方差分析结果

Tab 3 Analysis results of variance

变异来源	自由度	离均差平方和	均方	F	P
A	2	195.12	97.56	12.07	
B	2	19.33	9.66	1.20	
C	2	805.33	402.66	49.83	$< 0.05$
误差(e)	2	16.17	8.08		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

Note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

由表 2 极差分析可知, 各因素作用的主次是  $C > A > B$ , 最优工艺组合是  $A_3B_1C_1$ 。由表 3 方差分析结果可知, 因素 C 有显著影响, 因素 A、B 影响不明显, 尤其是 B。综合考虑提高回流效率, 并减少较高温度引起的不稳定, 最终确定穿心莲内酯磷脂复合物的制备工艺: 四氢呋喃为反应溶剂, 反应时间为  $4 \text{ h}$ , 反应温度为  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 药物质量浓度为  $10 \text{ mg/ml}$ , 穿心莲内酯与磷脂的投料比为 1:3。按最优工艺制备 3 批样品, 其复合率分别是  $81.6\%$ 、 $84.3\%$ 、 $83.7\%$ , RSD 为  $1.7\%$  ( $n = 3$ )。

## 2.5 表征

**2.5.1 紫外分光光度法(UV)** 制备穿心莲内酯、穿心莲内酯磷脂复合物及磷脂的甲醇-水(1:1)溶液。以甲醇-水(1:1)溶液为空白, 于  $200 \sim 400 \text{ nm}$  波长范围内进行紫外扫描。结果显示, 磷脂于  $200 \sim 400 \text{ nm}$  波长区间无吸收峰, 穿心莲内酯及穿心莲内酯磷脂复合物的紫外图谱形状类似, 均在  $225 \text{ nm}$  处有吸收峰。这表明磷脂复合物中穿心莲内酯的发色团结构未发生改变, 生成的是复合物而非新化合物。光谱图见图 1。

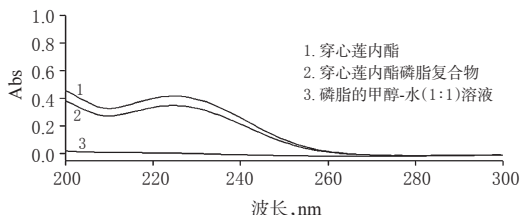


图1 紫外分光光谱图  
Fig 1 UV spectrum

2.5.2 差示扫描量热分析(DSC) 以 $Al_2O_3$ 为参比物,升温速度为 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ ,于 $0\sim 300\text{ }^\circ\text{C}$ 扫描, $N_2$ 流速为 $0.2\text{ ml}/\text{min}$ 。分别称取穿心莲内酯、磷脂、穿心莲内酯磷脂物理混合物(穿心莲内酯与磷脂的摩尔比为 $1:3$ ,恒温振荡 $24\text{ h}$ 制得)、穿心莲内酯磷脂复合物进行差热分析。结果显示,混合物在 $166.8\text{ }^\circ\text{C}$ 有1个放热峰,而复合物无该放热峰,说明复合物中穿心莲内酯与磷脂分子之间存在一定作用力,只有当外界温度升高时才会吸取能量来破坏这一种作用;混合物在 $264.4\text{ }^\circ\text{C}$ 有1个吸热峰,推测为药物的熔点,这比穿心莲内酯的略高,而复合物在此处未见相变点,可能是由于穿心莲内酯与磷脂的极性端结合,高度分散于磷脂分子中;穿心莲内酯与磷脂的物理混合物中磷脂的熔点峰仍然存在,穿心莲内酯的熔点峰受磷脂物理混合物有所变化,但是复合物中穿心莲内酯与磷脂的典型吸热峰都消失了,呈无定形特征。差示扫描量热分析图见图2。

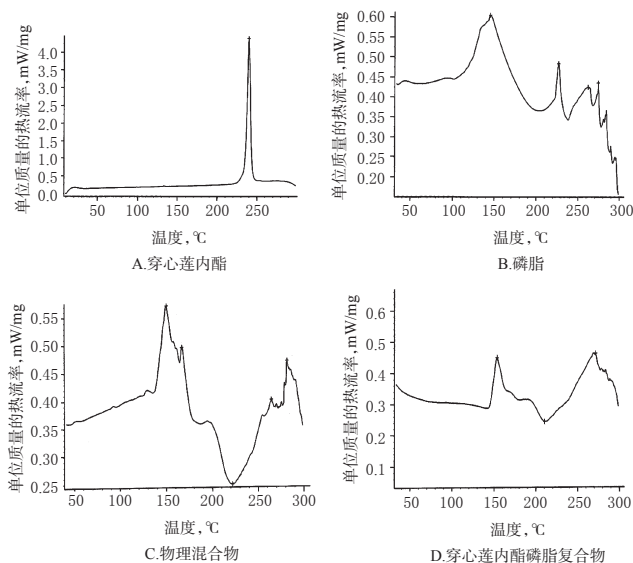


图2 差示扫描量热分析图  
Fig 2 DSC diagram

## 2.6 溶解性能的考察

分别取过量的穿心莲内酯、穿心莲内酯磷脂物理混合物及穿心莲内酯磷脂复合物于 $50\text{ ml}$ 锥形瓶中,分别加水、大豆油、Lauroglycol FCC 适量,置于 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温振荡器中,振荡 $24\text{ h}$ 。以离心半径 $6\text{ cm}$ 、转速 $8000\text{ r}/\text{min}$ 离心 $10\text{ min}$ ,取上清液过滤,取续滤液,按照“2.1.3”项下方法测定,结果见表4。

由表4可知,磷脂复合物对穿心莲内酯在相同量溶解介质中溶解量均有提高。其在水中的溶解量提高了近3倍,在大豆油中提高了近8倍,在Lauroglycol FCC中提高了近6倍,表明复合物可显著提高穿心莲内酯的溶解性能。

## 3 讨论

制备磷脂复合物一般选用介电常数小的非质子传递溶剂,如无水乙醇、丙酮、四氢呋喃、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙

表4 穿心莲内酯、物理混合物与复合物在不同溶剂中的溶解度( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )

Tab 4 The solubility of raw material, physical mixture and compound in different solvents( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )

溶剂	穿心莲内酯	物理混合物	复合物
水	75.67	101.89	174.36
大豆油	0.18	0.34	1.51
Lauroglycol FCC	0.41	0.98	2.31

酯、1,4-二氧六环等,考虑到溶剂的毒性等,优先选择介电常数小,且安全性高的非质子溶剂<sup>[6]</sup>。二氯甲烷、1,4-二氧六环属于国际协调大会(ICH)二级试剂,毒性大,本研究尝试用1,4-二氧六环与甲醇的复合溶剂作为反应溶剂,也有较好的复合率,但是由于1,4-二氧六环沸点为 $101.1\text{ }^\circ\text{C}$ ,不易完全去除易导致残留,故未选用。四氢呋喃沸点相对较低,易挥去,并且穿心莲内酯与磷脂在四氢呋喃中都有较高的溶解度,故适宜作为反应溶剂。且考虑到溶剂中残存的少量水分会对复合效率有一定影响<sup>[7]</sup>,本研究选用的四氢呋喃为无水四氢呋喃。

磷脂复合物中药物与磷脂分子通过非共价键连接,磷脂复合物可以通过多种方法来鉴别<sup>[8-9]</sup>,包括UV、红外、核磁共振、DSC、X-射线衍射法等,其中DSC是最常用的鉴别方法。本研究采用了UV与DSC法对复合物的形成进行了表征。

研究中发现物理混合物也能对穿心莲内酯的溶解性能有一定改善,可能是由于磷脂的存在对药物有一定的增溶作用,但是增溶能力也非常有限。穿心莲内酯磷脂复合物可显著提高油性溶剂中的溶解性能<sup>[10-11]</sup>,可能是由于药物在复合物中呈高度分散状态,且复合物中磷脂的极性基团与穿心莲内酯相互作用使其极性受到一定的掩蔽。

本研究探讨了一种制备穿心莲内酯磷脂复合物的方法,但是如何将其应用于制剂中还需要进一步研究。

## 参考文献

- [1] 戴桂馥,王俊峰,何帅伟.穿心莲内酯及其衍生物的药理活性研究进展[J].中成药,2006,28(7):1 032.
- [2] 李曙光,叶再元.穿心莲内酯的药理活性作用[J].中华中医药学刊,2008,26(5):984.
- [3] 郝海军,贾幼智,韩茹.磷脂复合物:一种能够提高中药活性成分口服生物利用度的有效方法[J].中国药学:英文版,2013(5):385.
- [4] 吴慧仪,龙晓英,陈莉,等.磷脂复合物对中药活性成分透过生物膜的影响[J].中草药,2012,43(2):393.
- [5] 左巨波,尚京川.中药磷脂复合物的研究进展[J].中国药房,2007,18(27):2 149.
- [6] 刘丽娟,赵学玲,李强,等.磷脂复合物形成机理探讨[J].黑龙江医药,2009,2(22):146.
- [7] 顾艳丽,王东凯.红景天提取物磷脂复合物的制备[J].中国中药杂志,2008,33(14):1 759.
- [8] 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):2 046.
- [9] 郑琴,岳鹏飞,王木生,等.栀子苷磷脂复合物的制备及表征[J].中国医药工业杂志,2011,42(3):198.
- [10] 张春燕,戈延茹.黄芩素磷脂复合物制备及理化性质研究[J].江苏大学学报:医学版,2010,20(3):226.
- [11] 许润春,林彦君,吴品江,等.黄芩苷磷脂复合物制备工艺的研究[J].中国中医药杂志,2011,26(1):132.

(收稿日期:2015-07-25 修回日期:2015-09-17)

(编辑:邹丽娟)