

## 天麻素磷脂复合物的制备工艺考察

王蓉<sup>1</sup>, 胡容峰<sup>1\*</sup>, 丁领振<sup>1</sup>, 黄丽丹<sup>2</sup>, 王斌<sup>1</sup>, 方文悠<sup>1</sup>

(1. 安徽中医药大学 研究生部, 省部共建新安医学教育部重点实验室, 安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽省“115”新安医药研究与开发创新团队, 合肥 230038;  
2. 安徽省食品药品检验所, 合肥 230051)

**[摘要]** 目的: 优选天麻素磷脂复合物的制备工艺, 为该成分的开发应用提供参考。方法: 采用溶剂挥发法制备天麻素磷脂复合物, 以天麻素与大豆磷脂的结合率为指标, 结合单因素试验和正交试验进行系统研究, 考察了反应时间、温度、溶剂类型、药脂比、天麻素质量浓度等因素对磷脂复合物制备工艺的影响。结果: 天麻素磷脂复合物的最佳工艺条件为以四氢呋喃为反应溶剂, 反应温度 40 ℃, 反应时间 0.5 h, 天麻素与大豆磷脂的投料比 1:2, 天麻素质量浓度 20 g·L<sup>-1</sup>, 转速 100 r·min<sup>-1</sup>。复合物结合率 98.3%。结论: 建立的制备工艺稳定可行, 可为天麻素的进一步开发利用提供条件。

**[关键词]** 天麻素; 磷脂复合物; 结合率; 溶剂挥发法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)21-0014-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015210014

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150924.1050.014.html>

**[网络出版时间]** 2015-09-24 10:50

**Investigation of Preparation Technology of Gastrodin Phospholipid Complex** WANG Rong<sup>1</sup>, HU Rong-feng<sup>1\*</sup>, DING Ling-zhen<sup>1</sup>, HUANG Li-dan<sup>2</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>, FANG Wen-you<sup>1</sup> (1. Innovation Team of Anhui “115” Xin’an Pharmaceutical Research and Development, Key Laboratory of Anhui Provincial Traditional Chinese Medicine Research and Development, Key Laboratory of Xin’an Medicine Jointly Developed by Ministry of Education, Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize conditions for formation of gastrodin phospholipid complex. **Method:** The complex was prepared by solvent evaporation method. Taking binding rate of gastrodin and soybean phospholipid as index, effects of reaction solvent type, ratio of gastrodin to phospholipid, reactive temperature, reactive time and the concentration of reactant on preparation technology were studied by single factor tests and orthogonal design. **Result:** Optimum preparation conditions of gastrodin phospholipid complex were obtained as follows: tetrahydrofuran as reaction solvent, gastrodin-soybean phospholipid (1:2), reaction temperature at 40 ℃, reaction time of 0.5 h, the concentration of gastrodin 20 g·L<sup>-1</sup>, speed of 100 r·min<sup>-1</sup>. Binding rate of the complex was up to 98.3%. **Conclusion:** Optimized preparation technology in this research is stable and feasible, it can provide conditions for further study of gastrodin.

**[Key words]** gastrodin; phospholipid complex; binding rate; solvent evaporation method

天麻素是兰科植物天麻干燥块根提取物的有效成分, 具有较好的镇静、镇痛、安眠作用, 对神经衰弱、失眠、头痛等症状具有缓解作用<sup>[1]</sup>。天麻素易溶于水、甲醇、乙醇, 难溶于三氯甲烷和乙醚。由于其水溶性较好, 脂溶性较差, 造成天麻素的体内生物利用度

低, 药效不稳定, 进而限制了其临床应用。研究表明某些天然药物成分与磷脂结合后, 形成的复合物能够改善天然药物成分的油水分配系数, 提高其体内吸收利用度, 改善生物有效性<sup>[2-3]</sup>。磷脂复合物是指在非质子传递溶剂中, 磷脂与天然药物成分以一定的配比

**[收稿日期]** 20150416(018)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274100); 国家科技支撑计划项目(2012BAI26B03); 安徽省高层次人才创新创业基金项目(2009Z061); 安徽省学术和技术带头人及后备人选科研活动经费项目(皖人社秘2011-381号-26)

**[第一作者]** 王蓉, 在读硕士, 从事药物新剂型研究, Tel:15155153016, E-mail:wangrong8911@126.com

**[通讯作者]** \*胡容峰, 博士, 教授, 博士生导师, 从事药物新剂型研究, Tel:13955173051, E-mail:hurongfeng@163.com

关系结合在一起形成的复合物<sup>[4]</sup>。形成复合物后改变了药物的原有特性,使药物脂溶性增大、水溶性减小<sup>[5]</sup>,并且与母体药物相比,形成的磷脂复合物生物利用度更高、活性更强、毒副作用更小<sup>[6]</sup>。本实验以天麻素与磷脂的结合率为评价指标,通过单因素试验筛选对天麻素磷脂复合物制备工艺影响较大的考察因素,通过正交试验优选制备工艺,为天麻素磷脂复合物的制剂学研究与应用提供参考。

## 1 材料

ML204型电子天平(瑞典梅特勒-托利多公司)。天麻素(上海现代制药股份有限公司,纯度99.9%,批号070702),大豆磷脂(北京美亚斯磷脂技术有限公司,批号20120416),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 评价指标的建立

**2.1.1 洗脱溶剂的选择** 称取一定量大豆磷脂、天麻素及天麻素磷脂复合物置于不同干燥具塞锥形瓶中,依次加入等量的三氯甲烷、二氯甲烷、正己烷及乙酸乙酯<sup>[7-9]</sup>,振摇后静置,观察溶解情况,见表1。结果表明天麻素、磷脂及磷脂复合物在三氯甲烷、正己烷和乙酸乙酯中均有较好的溶解性能;而在二氯甲烷中,天麻素完全不溶,大豆磷脂和磷脂复合物均能溶解,且溶液澄清,故药物与磷脂结合率的评判标准溶剂选择二氯甲烷。

表1 不同洗脱溶剂对天麻素、磷脂及磷脂复合物的溶解情况

Table 1 solubility of different elution solvent for gastrodin, phospholipid, phospholipid complex

洗脱溶剂	天麻素	大豆磷脂	磷脂复合物
三氯甲烷	微溶	可溶	微溶
二氯甲烷	完全不溶	易溶	易溶
正己烷	微溶	微溶	微溶
乙酸乙酯	可溶	可溶	可溶

**2.1.2 天麻素磷脂复合物制备工艺的评判<sup>[7]</sup>** 由2.1.1项可知,天麻素不溶于二氯甲烷,而大豆磷脂和天麻素磷脂复合物均易溶于二氯甲烷,利用这一特性,将天麻素和磷脂在适宜条件下反应后,去除反应溶剂,向沉淀物中加入一定量二氯甲烷,使磷脂及复合物充分溶解,过滤,真空干燥并称重。天麻素的初始药量和剩余量的差值即为与磷脂结合的天麻素质量,按结合率 =  $(M_1 - M_2) / M_1 \times 100\%$  计算,式中  $M_1$  为天麻素初始药量,  $M_2$  为天麻素剩余量。

### 2.2 单因素试验考察

**2.2.1 反应溶剂** 选择四氢呋喃、乙醇、丙酮、三氯甲烷为反应溶剂<sup>[9-10]</sup>,设定天麻素与磷脂的投料比例为1:1,天麻素与大豆磷脂的相对分子质量分别

为287和788。称取天麻素500 mg(药物质量浓度  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )和大豆磷脂1.373 g各4份,分别置于锥形瓶中,依次加入不同反应溶剂25 mL,于  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  以转速  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  反应2 h,得磷脂复合物,计算复合物的结合率依次为82.2%,75.2%,13.4%,4.9%。结果表明反应溶剂为四氢呋喃时,不仅药物与磷脂的结合率较高,反应也较为完全。

**2.2.2 反应温度** 取一定量天麻素与磷脂,加入四氢呋喃,分别在20,30,40,50  $^\circ\text{C}$  下反应,其余步骤同2.2.1项,计算复合物结合率依次为89.2%,90.9%,96.1%,95.6%。结果表明反应温度对结合率影响不大。文献报道磷脂复合物易受高温破坏<sup>[11]</sup>,且磷脂在高温环境下因易被氧化而非常不稳定,故选择反应温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

**2.2.3 药物质量浓度** 以四氢呋喃为反应溶剂,反应温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ,天麻素的质量浓度分别为20,30,40,  $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其余步骤同2.2.1项,计算复合物结合率依次为100%,93.1%,71.9%,50.9%。表明天麻素质量浓度对结合率影响较大,随着天麻素质量浓度的增加,结合率呈明显下降趋势。较小药物质量浓度制备的磷脂复合物既能节约成本又能提高反应结合率,因此天麻素质量浓度控制在  $20 \sim 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.2.4 反应时间** 依照以上结果,分别设定反应时间为0.25,0.5,1,2 h,其余步骤同2.2.1项,考察不同反应时间对于结合率的影响,计算复合物结合率依次为60.8%,75.2%,76.7%,75.5%。结果表明反应0.5 h后天麻素与磷脂基本反应完全,考虑到制备工艺的简便节约,需在一个较短的时间内反应,故反应时间选择在  $0.25 \sim 1 \text{ h}$ 。

**2.2.5 药脂比** 药物与磷脂的投料比会直接影响磷脂复合物的产量,是制备过程中需要考察的一个重要因素。设定天麻素与磷脂的投料比例依次为1:3,1:2,2:3,2:1,3:1,其余条件同2.2.1项,计算复合物结合率依次为98.8%,99.4%,92.0%,85.7%,7.3%。结果表明结合率受投料比例影响较大,磷脂质量分数越大,结合率越大。故选择的天麻素与磷脂投料比应当是大豆磷脂所占的比例大于天麻素的比例,投料比控制在  $1:2 \sim 1:3$ 。

**2.2.6 搅拌速度** 以四氢呋喃为反应溶剂,天麻素与磷脂投料比例1:2,天麻素质量浓度  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,反应温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ,反应时间0.5 h,考察磁力搅拌速度为100,200,300  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  时的结合率,计算复合物结合率依次为88.7%,89.0%,91.9%。结果当搅拌速度在  $100 \sim 300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  时,药物与磷脂的结合率基

本不变,说明搅拌速度对药物的结合率影响很小。综合考虑,选择搅拌速度  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

**2.3 正交试验考察** 分别称取天麻素 500 mg,在单因素试验基础上,选取天麻素与大豆磷脂的投料比、反应时间及天麻素质量浓度为考察因素,每个因素设置 3 个水平,以天麻素与大豆磷脂的结合率为评价指标,利用  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,每组试验做 3 次重复,结合率的结果取 3 次的平均值,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 2 天麻素磷脂复合物的制备工艺正交试验分析

Table 2 Orthogonal experimental analysis of preparation technology of gastrodin phospholipid complex

No.	A 天麻素-大豆磷脂	B 反应时间/h	C 天麻素质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	D(空白)	结合率/%
1	1:2	0.25	20	1	86.6
2	1:2	0.50	25	2	100.0
3	1:2	1.00	30	3	96.8
4	1:2.5	0.25	25	3	78.7
5	1:2.5	0.50	30	1	88.2
6	1:2.5	1.00	20	2	91.5
7	1:3	0.25	30	2	75.7
8	1:3	0.50	20	3	92.5
9	1:3	1.00	25	1	87.9

表 3 天麻素磷脂复合物结合率方差分析

Tab 3 Variance analysis of binding rate of gastrodin phospholipid complex

方差来源	SS	MS	F	P
A	152.842	76.421	28.086	<0.05
B	315.042	157.521	57.891	<0.05
C	16.536	8.268	3.039	>0.05
D(误差)	5.442	2.721	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素作用主次为  $B > A > C$ 。方差分析表明 A, B 因素的影响具有显著性意义,因素 C 则无显著性影响,故选择最佳制备条件为  $A_1B_2C_1$ ,即天麻素-大豆磷脂(1:2),天麻素质量浓度  $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,反应时间 0.5 h,反应温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ,转速  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

**2.4 验证试验** 分别称取天麻素 500 mg,按最优工艺条件进行 3 次验证试验,计算复合物结合率分别为 99.3%, 96.9%, 98.6%, 平均结合率为 98.3%,表明确定的最佳制备工艺稳定可行。

### 3 讨论

三氯甲烷和丙酮的结合率较低,分析可能因为三氯甲烷是天麻素的不良溶剂,而丙酮是大豆磷脂的不良溶剂。天麻素与磷脂投料比例对结合率影响

结果为天麻素质量分数越大结合率越小,可能因为磷脂同时具有亲水和亲油基团,当投入的磷脂量增大后,磷脂分子充分与药物碰撞接触,相互结合的概率就会有所增加,这样利于磷脂复合物的形成<sup>[12]</sup>。实验中同样发现当磷脂质量分数过大时,生成的磷脂复合物黏性大,难以干燥,有失实际意义。因此,在确保反应完全及产品质量的前提下,选择天麻素与磷脂的投料比为 1:2。正交试验结果也表明投料比为 1:2 时工艺较好。

在进行正交设计时,发现在反应 1 h 后,用二氯甲烷洗脱后再抽滤时难以抽滤,分析可能是反应时间过长,生成的磷脂复合物黏连,因此在确保产品质量的情况下应尽量使反应在较短时间内完成。实验中使用的大豆磷脂为黏着物,且磷脂氧化颜色会变深,故必须将磷脂冷冻保存,这样既可以避免磷脂接触空气,还可控制温度以减少磷脂的黏着感,便于切割称量。

### [参考文献]

[1] 沈红宾. 一种天麻素注射液及其制备方法[J]. 北方药学, 2012, 9(6): 23-24.

[2] 李立. 大豆磷脂的药用价值[J]. 粮食与油脂, 2001(8): 34-36.

[3] Giorgio P, Pirgiogio A. Resveratrol-phospholipids complexes, their preparation, and pharmaceutical and cosmetic composition containing same; United States, 20040116386A 1[P]. 2004-06-17.

[4] 廉洁,王伯初. 药物磷脂复合物工艺评价标准及应用研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(5): 830-833.

[5] 翟光喜,娄红祥,邹立家,等. 药物磷脂复合物的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(12): 800-803.

[6] 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): 2149-2151.

[7] 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]. 中华中医药杂志, 2011, 26(1): 132-134.

[8] 张雪峰,杨轲,欧燕,等. 星点设计-效应面法优化天山雪莲提取物磷脂复合物制备工艺[J]. 中草药, 2014, 45(16): 2326-2332.

[9] 张胜海,王英姿,段飞鹏,等. 柿叶黄酮磷脂复合物的制备工艺研究[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3136-3140.

[10] 田慧,王亚静,孙士真,等. 芒果苷磷脂复合物的制备工艺研究[J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 83-85.

[11] 杨亮,赖可,王玲玲,等. 克拉霉素磷脂复合物制备工艺的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(4): 282-310.

[12] 刘嘉,刘汉清,李俊松,等. 丹酚酸 B 磷脂复合物制备工艺研究[J]. 医药导报, 2009, 28(9): 1189-1191.

[责任编辑 刘德文]