

参芪麝蓉丸质量评价

赵燕, 李秋芬, 张忠亮, 李强, 吕春明, 侯婷, 张宁*

上海中医药大学, 上海 201203

摘要: **目的** 建立参芪麝蓉丸的质量评价方法。**方法** 采用 HPLC 法测定 4 个类别 10 种指标成分的量; 采用桨法测定溶出度, 并计算累积溶出率。**结果** 原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 分别在 4.14~62.1、303.8~455.8、10.0~150.0、28.2~422.4、19.0~570.0、253.2~7 596.0、6.86~205.8、46.4~1 392.0、54.0~1 620.0、10.6~318.0 μg 呈良好线性关系。 f_2 相似因子法表明 3 个不同批次参芪麝蓉丸中 10 种指标成分的溶出规律具有相似性。**结论** 所建立的方法准确可靠, 可用于参芪麝蓉丸的质量评价。

关键词: 参芪麝蓉丸; HPLC; 溶出度; 累积溶出率; f_2 相似因子法; 质量评价; 原儿茶醛; 松果菊苷; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 毛蕊花糖苷; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 毛蕊异黄酮; 芒柄花素; 隐丹参酮; 丹参酮 II_A

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)07-0942-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.07.009

Quality evaluation of Shenqi Sherong Pill

ZHAO Yan, LI Qiu-fen, ZHANG Zhong-liang, LI Qiang, LV Chun-ming, HOU Ting, ZHANG Ning

Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: **Objective** To establish a quality evaluation method of Shenqi Sherong Pill. **Methods** Four types with 10 marker components were determined by HPLC. The dissolution tests were carried out with oaring method, and the accumulative release percentage was calculated. **Results** The linear ranges of protocatechuic aldehyde, echinacoside, calycosin-7-glucoside, acteoside, rosmarinic acid, salvianolic acid B, calycosin, formononetin, cryptotanshinone, and tanshinone II_A were 4.14–62.1, 303.8–455.8, 1.0–150.0, 28.2–422.4, 19.0–570.0, 253.2–7 596.0, 6.86–205.8, 46.4–1 392.0, 54.0–1 620.0, and 10.6–318.0 μg . The f_2 similarity factor method indicated that the dissolution of Shenqi Sherong Pill with different lot numbers had similarity in the same media. **Conclusion** The method is sensitive, stable, practical, and suitable for the quality evaluation of Shenqi Sherong Pills.

Key words: Shenqi Sherong Pill; HPLC; dissolution rate; accumulative release percentage; f_2 similarity factor method; quality evaluation; protocatechuic aldehyde; echinacoside; calycosin-7-glucoside; acteoside; rosmarinic acid; salvianolic acid B; calycosin; formononetin; cryptotanshinone; tanshinone II_A

中药的质量评价和控制是中药现代化与国际化的关键问题之一, 质量控制的目的是保证中药的有效性和安全性, 因中药复方成分众多且相对复杂, 因而中药质量控制一直是中药研究的难点和热点^[1]。目前常采用对君药或用剂量较多的药味的某单一成分定量追踪对制剂间接进行质量控制。此种传统质量控制方法较为片面, 并不能完全控制复方制剂的质量。

中药固体制剂中崩解时限不能全部反映出体内的吸收和药效情况, 需要对其进行体外溶出度试验,

进而尽可能合理地预测制剂的生物利用度。因此, 中药固体制剂(特别是丸剂)采用溶出度进行评价, 是质量保证的关键^[2], 更是对其进行质量控制的切入点。本研究以参芪麝蓉丸为研究对象, 对该思路进行验证, 拟为中药制剂质量的综合评价提供实验依据。

参芪麝蓉方系上海中医药大学附属龙华医院施杞教授的临床经验方, 由黄芪、丹参、肉苁蓉、人工麝香 4 味中药组成。主要针对脊髓型颈椎病(CSM)^[3]。本实验首先将该制剂中主要活性成分进

收稿日期: 2013-10-28

基金项目: 上海教育委员会重点学科资助项目(J50302)

作者简介: 赵燕(1989—), 女, 中药学硕士生, 研究方向为中药新剂型与质量控制。E-mail: zy19891015@yeah.net

*通信作者 张宁 Tel: (021)51312384 E-mail: ningzh18@126.com

行分类,每个类别选择多个针对性指标,对多个指标进行体外定量追踪及体外溶出度试验,从2个方面多个指标成分同时对参芪麝蓉丸进行质量评价,为临床用药提供参考,为中药的质量控制提出新的思路。

1 仪器与试药

FA2004N型电子天平、Sartorius AG CP225D型电子天平,上海精密科学仪器有限公司;Agilent1200高效液相色谱系统(美国Agilent公司);Sapphire C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, Sepax Technologies, Inc.);ZQY—2型取样仪恒温控制器、RCZ—8B型药物溶出度仪、ZQY—2型智能取样仪,上海黄海药检仪器有限公司。甲醇(色谱纯, Dikma公司);聚山梨酯80(国药集团化学试剂有限公司,批号20120620);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团,批号20121009);其余试剂均为分析纯。

对照品原儿茶醛(批号110810-201007,质量分数以98.2%计)、松果菊苷(批号111670-200503,质量分数≥98%)、迷迭香酸(批号111871-201203,质量分数以98.8%计)、丹酚酸B(批号111562-201009,质量分数以96.0%计、111562-201212,质量分数以96.0%计)、隐丹参酮(批号110852-200806,质量分数以98.7%计)、丹参酮II_A(批号110766-200619,质量分数≥98%)均购于中国药品生物制品检定所;芒柄花素(批号201005,质量分数≥98%)、毛蕊异黄酮(批号120628,质量分数≥98%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号121219,质量分数≥98%)、毛蕊花糖苷(批号120804,质量分数≥98%)均购于四川省维克奇生物科技有限公司;参芪麝蓉丸(批号120201、120202、120203,规格5 g/袋,上海中药制药技术有限公司)。

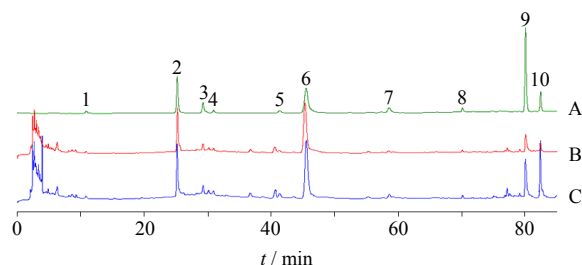
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为Sapphire C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.2%甲酸水溶液,梯度洗脱:0~12 min, 25%甲醇;12~25 min, 25%~40%甲醇;25~50 min, 40%~45%甲醇;50~60 min, 45%~55%甲醇;60~80 min, 55%~95%甲醇;80~85 min, 95%甲醇;体积流量1 mL/min;测定波长262 nm;柱温30℃。色谱图见图1。

2.2 10种指标成分的测定

2.2.1 混合对照品溶液的配制 分别精密称取原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖



1-原儿茶醛 2-松果菊苷 3-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 4-毛蕊花糖苷
5-迷迭香酸 6-丹酚酸 B 7-毛蕊异黄酮 8-芒柄花素 9-隐丹参酮
10-丹参酮 II_A
1-protocatechuic aldehyde 2-echinacoside 3-calycosin-7-glucoside
4-acteoside 5-rosmarinic acid 6-salvianolic acid B 7-calycosin
8-formononetin 9-cryptotanshinone 10-tanshinone II_A

图1 混合对照品溶液(A)、溶出实验供试品溶液(B)、定量测定供试品溶液(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substance solution (A), sample solution for dissolution test (B), and sample solution for determination (C)

苷、迷迭香酸、丹酚酸B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮II_A对照品适量,加甲醇配制成含原儿茶醛4.14 μg/mL、松果菊苷303.84 μg/mL、毛蕊异黄酮葡萄糖苷10.00 μg/mL、毛蕊花糖苷28.16 μg/mL、迷迭香酸19.04 μg/mL、丹酚酸B253.20 μg/mL、毛蕊异黄酮6.86 μg/mL、芒柄花素10.56 μg/mL、隐丹参酮46.4 μg/mL、丹参酮II_A54.00 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的配制 取参芪麝蓉丸研细,取2 g,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,加50%乙醇50 mL,封塞,称定质量,超声处理(250 W, 50 kHz)45 min,放冷,再称定质量,补足减失质量,摇匀,以0.22 μm有机系微孔滤膜滤过,取续滤液,即为供试品溶液。

2.2.3 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项混合对照品溶液2、5、10、15、20、25、30 μL,按“2.1”项下色谱条件测定,以进样量为横坐标(X),相应峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮II_A的回归方程分别为 $Y=16.0214X-9.3857$ 、 $Y=58.5521X-14.3533$ 、 $Y=16.4831X-11.4411$ 、 $Y=3.5660X-0.7797$ 、 $Y=6.6427X-6.6958$ 、 $Y=69.0578X+38.7588$ 、 $Y=13.6575X-3.9365$ 、 $Y=6.3960X-1.8107$ 、 $Y=131.0450X-138.6165$ 、 $Y=30.29021X-46.8503$; r 分别为0.9992、0.9992、0.9994、0.9992、0.9995、0.9994、

0.999 6、0.999 2、0.999 6、0.999 3; 线性范围分别为 4.14~62.1、303.8~455.8、10.0~150.0、28.2~422.4、19.0~570.0、253.2~7 596.0、6.86~205.8、46.4~1 392.0、54.0~1 620.0、10.6~318.0 μg 。

2.2.4 空白试验 分别将原方中去除黄芪、丹参、肉苁蓉药材, 按制剂工艺方法制备分别得到 3 种阴

性制剂。分别取各阴性制剂 3 g, 加 50%乙醇 25 mL 超声溶解, 按定量测定方法分析, 3 种阴性样品色谱在原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 相应保留时间位置无干扰峰。色谱图见图 2。

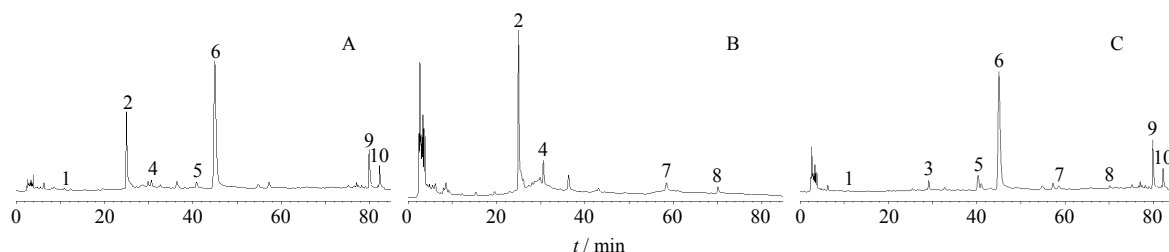


图 2 缺黄芪 (A)、缺丹参 (B) 和缺肉苁蓉 (C) 的阴性制剂的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC of samples without *Astragali Radix* (A), *Salvia Miltiorrhiza Radix et Rhizoma* (B), and *Cistanche Herba* (C)

2.2.5 精密度考察 精密吸取混合对照品溶液 5 μL , 注入高效液相色谱仪, 重复测量 6 次, 记录各成分的峰面积值, 计算得原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 值分别为 0.67%、0.57%、0.49%、1.13%、0.39%、0.28%、1.50%、0.24%、0.29%、1.09%。

2.2.6 稳定性试验 取同一样品 (批号 120203) 供试液, 按“2.1”项下色谱条件, 测定 0、2、4、6、8、10、12、24 h 样品中有效成分, 测定峰面积, 结果表明供试液中原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 在 24 h 内稳定, 其 RSD 值分别为 2.14%、0.28%、1.38%、2.75%、1.69%、0.78%、2.87%、1.96%、1.86%、1.99%, 表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批号 (批号 120203) 制剂 6 份, 研碎, 每份约 2.0 g, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法配制供试品, 按“2.1”项下色谱条件, 进样 5 μL , 记录各成分的峰面积值, 得原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 质量分数的 RSD 值分别为 0.96%、0.31%、0.52%、0.49%、0.19%、0.23%、0.54%、0.68%、0.43%、0.67%。

2.2.8 回收率试验 取同一批号 (批号 120203) 制剂 9 份, 研碎, 每份约 0.1 g, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 分别精密量取含原儿茶醛 3.68 $\mu\text{g/mL}$ 、松

果菊苷 787 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 160 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊花糖苷 104 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 88.8 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 B 1.678 mg/mL、毛蕊异黄酮 7.9 $\mu\text{g/mL}$ 、芒柄花素 13.2 $\mu\text{g/mL}$ 、隐丹参酮 51.7 $\mu\text{g/mL}$ 、丹参酮 II_A 210.8 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL 置于 9 支量瓶中 (低、中、高质量浓度各平行 3 份), 挥干溶剂, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进行测定, 计算回收率, 结果制剂中原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 的加样回收率分别为 101.31%、102.30%、100.47%、100.82%、101.98%、100.57%、100.93%、97.76%、101.66%、100.96%, RSD 值分别为 2.66%、1.12%、1.60%、1.82%、2.93%、2.82%、2.83%、0.86%、1.50%、2.07%。

2.2.9 样品测定 取参芪麝蓉丸样品 (批号 120201、120202、120203) 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 参照“2.1”项色谱条件进行测定。结果见表 1。

2.3 体外释放度考察

2.3.1 混合对照品溶液配制 同“2.2.1”项下。

2.3.2 线性关系考察 同“2.2.3”项下。

2.3.3 精密度考察 同“2.2.5”项下。

2.3.4 稳定性试验 精密吸取 240 min 时 1%聚山梨酯 80 参芪麝蓉丸溶出样品 5 μL , 测定 0、2、4、6、8、10、12、24、48 h 样品中有效成分, 测定峰面积, 结果原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异

表 1 参芪麝蓉丸中 10 种成分测定结果 ($n=3$)
Table 1 Determination of 10 constituents in Shenqi Sherong Pill ($n=3$)

批号	质量分数 / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	原儿茶醛	松果菊苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	毛蕊花糖苷	迷迭香酸
120201	27.22 $\pm$ 0.77	5 579.55 $\pm$ 32.93	130.85 $\pm$ 0.41	799.37 $\pm$ 0.95	533.81 $\pm$ 3.34
120202	44.72 $\pm$ 0.15	8 277.55 $\pm$ 7.57	186.68 $\pm$ 1.40	977.92 $\pm$ 4.53	807.45 $\pm$ 1.88
120203	36.82 $\pm$ 0.40	7 831.87 $\pm$ 25.86	160.10 $\pm$ 1.04	1 042.13 $\pm$ 8.04	888.57 $\pm$ 1.86

批号	质量分数 / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	丹酚酸 B	毛蕊异黄酮	芒柄花素	隐丹参酮	丹参酮 II _A
120201	8 753.45 $\pm$ 34.06	81.05 $\pm$ 0.46	153.74 $\pm$ 1.22	328.32 $\pm$ 3.67	1 146.71 $\pm$ 2.45
120202	17 807.59 $\pm$ 36.42	63.99 $\pm$ 0.24	123.21 $\pm$ 1.13	517.16 $\pm$ 1.65	1 908.31 $\pm$ 7.90
120203	16 782.61 $\pm$ 43.45	79.22 $\pm$ 0.50	132.33 $\pm$ 0.57	517.90 $\pm$ 0.30	2 107.43 $\pm$ 4.80

黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 值分别为 2.44%、0.79%、2.07%、3.91%、2.84%、0.96%、2.17%、2.44%、2.10%、1.23%。

2.3.5 重复性试验 取批号为 120203 参芪麝蓉丸 6 份, 每份约 10.0 g, 精密称定, 以 1%聚山梨酯 80 为溶出介质进行 240 min 溶出, 按“2.1”项下色谱条件, 进样 5 μL , 记录各成分的峰面积值, 结果原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 质量分数的 RSD 值分别为 0.87%、1.21%、0.63%、1.49%、1.09%、0.41%、0.67%、0.37%、1.93%、1.36%。

2.3.6 加样回收率试验 取批号为 120203 参芪麝蓉丸粉末 9 份, 各约 0.1 g, 精密称定, 置 9 支 10 mL 量瓶中, 分别精密量取含原儿茶醛 2.07 $\mu\text{g/mL}$ 、松果菊苷 1.10 mg/mL 、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 17.51 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊花糖苷 74.64 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 37.6 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 B 713.34 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊异黄酮 5.35 $\mu\text{g/mL}$ 、芒柄花素 12.43 $\mu\text{g/mL}$ 、隐丹参酮 49.37 $\mu\text{g/mL}$ 、丹参酮 II_A 79.63 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL 置于 9 支量瓶中 (低、中、高质量浓度各平行 3 份), 挥干溶剂, 加入 1%聚山梨酯 80 水溶液, 振摇溶解并定容, 以 0.22 μm 水系微孔滤膜滤过, 取续滤液。参照“2.1”项色谱条件进行测定。计算得 1%聚山梨酯 80 溶液样品中原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 平均回收率分别为 100.10%、100.84%、99.60%、100.21%、101.53%、98.00%、99.61%、98.65%、102.79%、99.79%, RSD 值分别为 2.16%、2.29%、1.73%、1.51%、2.72%、2.37%、2.07%、2.52%、

0.60%、1.86%。

2.4 溶出度试验

2.4.1 溶出条件选择 参考《中国药典》2010 年版二部溶出度测定法, 采用桨法: 温度恒定在 (37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 转速为 100 r/min; 240 min 内的溶出介质采用新配的 1%聚山梨酯 80 水溶液。

2.4.2 完全溶出量测定 取批号为 120203 参芪麝蓉丸粉末 2 份, 各约 10.0 g, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 各精密加入 1%聚山梨酯 80 水溶液 200 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (250 W, 50 kHz) 60 min, 放冷, 再称定质量, 补足减失的质量, 摇匀, 以 0.22 μm 水系微孔滤膜滤过, 取续滤液, 参照“2.1”项色谱条件进行测定。

以 1%聚山梨酯 80 为介质溶出的参芪麝蓉丸中原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、毛蕊异黄酮、芒柄花素、隐丹参酮、丹参酮 II_A 的量分别为 20.68 $\mu\text{g/g}$ 、11.04 mg/g 、175.13 $\mu\text{g/g}$ 、746.4 $\mu\text{g/g}$ 、375.99 $\mu\text{g/g}$ 、7.13 mg/g 、53.48 $\mu\text{g/g}$ 、124.26 $\mu\text{g/g}$ 、493.67 $\mu\text{g/g}$ 、796.34 $\mu\text{g/g}$ 。

2.4.3 溶出度的测定与结果 取新配制的 1%聚山梨酯 80 水溶液, 超声脱气, 精密量取 200 mL 加入至溶出杯中, 恒温至 (37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。取 4 份参芪麝蓉丸 (批号 201203), 每份约 10.0 g, 精密称定后放入溶出杯中, 盖上杯盖, 启动转桨, 转速 100 r/min。分别在启动后 5、10、15、30、45、60、90、120、180、240 min 时, 迅速同时吸取约 5 mL 溶出液 (同时补充等温空白溶出介质 5 mL), 以 0.22 μm 水系微孔滤膜滤过后进行 HPLC 检测。

对上述各时间点累积溶出量进行校正, 以校正 值与完全溶出量的比值为相对累积溶出率, 结果见

图3。

由10种成分240 min的释放曲线可知,参芪麝蓉丸中各成分在0~10 min溶出较快,在10 min后溶出曲线趋于平缓。且原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、迷迭香酸、丹酚酸B、毛蕊异黄酮、芒柄花素的溶出速率明显比隐丹参酮、丹参酮 II_A释放的快且完全。表明这8种成分可能更容易被吸收并起效。

2.4.4 溶出介质的适用性评价 将批号为120201、120202、120203的参芪麝蓉丸样品以1%聚山梨酯80水溶液为介质按“2.4.2”项下条件进行完全溶出量测定,原儿茶醛分别为19.57、22.65、20.12 μg/g,

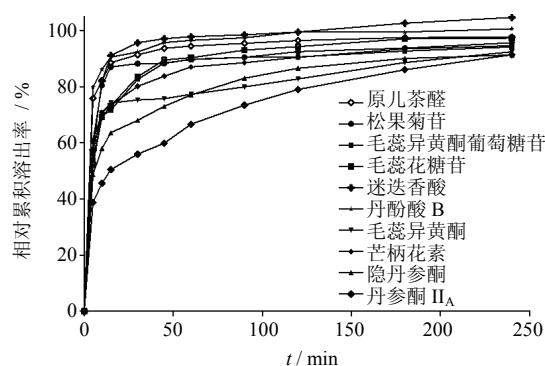


图3 以1%聚山梨酯80水溶液为介质时各指标性成分溶出曲线 ($n=4$)

Fig. 3 Dissolution curves of each component in Shenqi Sherong Pill in 1% polysorbate 80 solution ($n=4$)

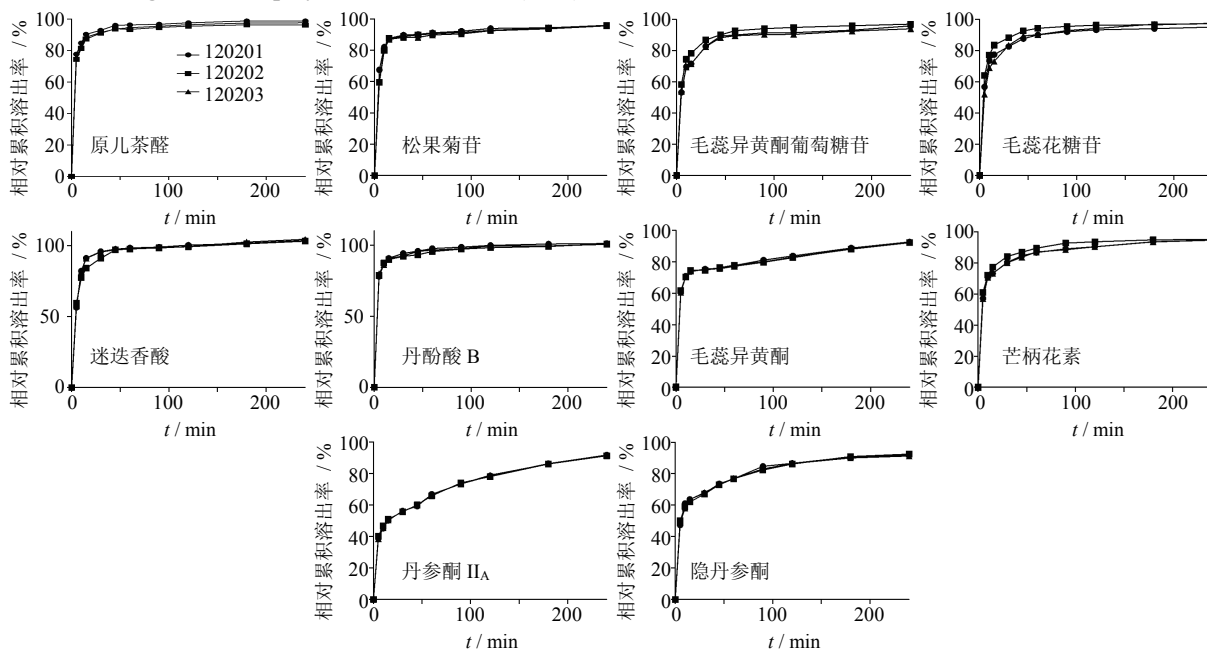


图4 在1%聚山梨酯80水溶液中不同批号参芪麝蓉丸中各成分相对累积溶出率 ($n=4$)

Fig. 4 Cumulative dissolution rates of different components in Shenqi Sherong Pill with different lot numbers in 1% polysorbate 80 solution ($n=4$)

松果菊苷 8.49、9.26、11.00 mg/g, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 141.12、165.07、173.15 μg/g, 毛蕊花糖苷 617.02、648.01、743.23 μg/g, 迷迭香酸 309.5、366.91、377.09 μg/g, 丹酚酸B 6.94、7.49、7.32 mg/g, 毛蕊异黄酮 53.21、53.71、52.89 μg/g, 芒柄花素 124.26、103.53、124.99 μg/g, 隐丹参酮 533.31、505.41、492.45 μg/g, 丹参酮 II_A 740.69、702.32、796.22 μg/g。

将批号为120201、120202、120203的参芪麝蓉丸样品以1%聚山梨酯80水溶液为介质按“2.4.3”项下的溶出条件进行溶出。各时间点累积溶出量与各完全溶出量的比值为相对累积溶出率,结果见图4。1%聚山梨酯80水溶液作为溶出介质时,测得不同批次的参芪麝蓉丸中各成分溶出趋势相似,可认为1%聚山梨酯80水溶液介质作为芪麝丸的溶出介质具有可行性和实用性。

2.5 溶出曲线相似性评价^[4]

本实验采用美国FDA有关口服固体药物利用度和生物等效性研究指南中推荐使用的 f_2 相似因子法^[5],评价参芪麝蓉丸中各成分间的释放度差异,计算公式如下^[6]:

$$f_2 = 50 \lg \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

T_i 为 i 时间参比成分累积释放率, R_i 为 i 时间受试成分累积释放率; n 为取样时间点的个数

若 $50 \leq f_2 < 100$, 则表示受试成分与参比成分的释放行为相似, 若 $0 \leq f_2 < 50$, 则表示受试成分与参比成分的释放行为不相似。

4 个类别 10 种指标成分 f_2 相似因子评价结果见表 2。可知原儿茶醛、松果菊苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、芒柄花素、毛蕊异黄酮两两之间的 f_2 值均大于 50, 可认为这 6 种成分的溶出具有相似性。3 种水溶性成分原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B 两两之间 f_2 值大于 50, 可认为这 3 种成分的

溶出具有相似性。2 种脂溶性成分隐丹参酮、丹参酮 II_A 之间 f_2 值大于 50, 可认为这 2 种成分的溶出具有相似性。参照美国 FDA《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》(1998 年), 参比制剂从样品中选取批量最大的一批产品 (批号为 120203)。参芪麝蓉丸 2 个批次 (批号为 120201、120202) 与参比制剂 f_2 相似因子评价结果见表 3。由表可知各成分 2 个批次与参比制剂的 f_2 值均大于 50, 可认为该制剂的 3 个批次溶出具有高度相似性, 释放同步。

表 2 参芪麝蓉丸中各成分溶出相似性比较

Table 2 Comparison on dissolution similarity of different components in Shenqi Sherong Pill

成分	f_2									
	松果菊苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	毛蕊花糖苷	迷迭香酸	丹酚酸 B	毛蕊异黄酮	芒柄花素	隐丹参酮	丹参酮 II _A	
原儿茶醛	62	50	50	61	80	44	50	37	28	
松果菊苷		60	60	62	56	52	61	42	32	
毛蕊异黄酮葡萄糖苷			86	51	46	57	81	52	37	
毛蕊花糖苷				53	46	53	73	50	36	
迷迭香酸					58	42	49	37	50	
丹酚酸 B						41	46	35	27	
毛蕊异黄酮							63	58	41	
芒柄花素								50	38	
隐丹参酮									51	

表 3 不同批次参芪麝蓉丸中各成分溶出相似性比较

Table 3 Comparison on dissolution similarity of various constituents in different batches of Shenqi Sherong Pill

批号	f_2									
	原儿茶醛	松果菊苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	毛蕊花糖苷	迷迭香酸	丹酚酸 B	毛蕊异黄酮	芒柄花素	隐丹参酮	丹参酮 II _A
120201	87	79	97	79	97	93	96	99	91	99
120202	95	95	70	61	76	92	97	76	94	95

3 讨论

本实验分别对 5 种不同的提取溶媒 (甲醇、75% 甲醇、乙醇、75% 乙醇、50% 乙醇)、3 种不同的提取方法 (温浸提取法、热回流提取法、超声提取法)、溶媒体积 (30、40、50、60 mL) 及提取时间 (15、30、45、60 min) 进行了比较, 结果表明以 50% 乙醇 50 mL 为提取溶媒超声提取 45 min 为最佳条件。

本实验采用 DAD 检测器对本制剂多种成分的最佳吸收波长进行了考察, 最终确定检测波长为 262 nm, 与文献报道^[7-9]中的测定成分参考值对应。在此基础上, 对流动相种类及条件进行了考察, 最后选定甲醇-0.2% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 各成分与杂质可达到较好分离。经验证该方法的精密度、准确度和重复性均良好, 可直观表达各成

分的量。

本实验中研究对象为中药复方制剂, 其成分种类相对复杂, 以单一类别或单个指标成分进行实验不足以完全代表该制剂活性成分的实际溶出度。所以本实验对该制剂的多类成分及多个指标进行同时检测, 拟较全面地表达该制剂活性成分的实际溶出情况。最终选择酚酸类 (原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B), 苯丙素苷类 (松果菊苷、毛蕊花糖苷) (简单苯丙素类), 黄酮类 (毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素)、醌类 (隐丹参酮、丹参酮 II_A) 为指标。黄芪作为该制剂的君药, 常以黄芪甲苷作为指标性成分, 由于黄芪甲苷在紫外区的末端吸收, 最大吸收波长在 203 nm 左右, 在本实验条件下未能检测出该成分。

对于难溶性或不溶性药物,对其释放特性进行研究时,为满足所需的“漏槽”条件,需加入表面活性剂或有机溶剂,本实验虽酚酸类成分易溶于水,但其他几类成分极性较小,几乎不溶于水,为提高其他各类成分在释放介质中的溶解度^[10]。本实验对5种不同溶出介质(0.1 mol/L 盐酸溶液、0.5%十二烷基硫酸钠溶液、1% PEG 6000 溶液、30%乙醇溶液、1%聚山梨酯 80 溶液)进行了考察比较,结果表明1%聚山梨酯 80 溶液及30%乙醇溶液溶出效果无明显差别且明显高于其他4种溶出介质,同时也满足“漏槽”条件。根据美国FDA《口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》不建议使用水性酒精介质^[11]。故综合考虑,确定溶出介质为1%聚山梨酯 80。

实验结果表明,酚酸类3种成分在1%聚山梨酯 80 水溶液中的溶出速率快于其他成分,而醌类成分速率最慢,溶出速率趋势为酚酸类>苯丙素苷类>黄酮类>醌类。黄酮类中苷类的溶出速率快于苷元。4类成分中极性由大到小依次为酚酸类、苯丙素苷类、黄酮类、醌类。而黄酮类中苷的极性大于苷元,与溶出速率趋势相吻合。故推测在1%聚山梨酯 80 水溶液中酚酸类成分最易于溶出,其次为苯丙素苷类、黄酮类,最后为醌类成分。因所分类别中指标性成分有限,尚需增加活性指标成分以进一步验证所得结论。在采用 f_2 相似因子法评价参芪麝蓉丸中各成分间的释放度差异,结果发现在1%聚山梨酯 80 水溶液中,同类别成分释放行为相似,故笔者推测不同类别成分在同一介质中的溶出程度与其结构和极性有较大的相关性^[12]。

参芪麝蓉丸为浓缩丸,传统剂型理论中素有“丸者缓也”的论述,而本制剂在制备工艺中加入了具有促崩解作用的聚乙烯吡咯烷酮(PVP),溶散过程较为迅速,平均为6 min^[13-14]。除毛蕊异黄酮、隐丹参酮、丹参酮 II_A 外,其余7种成分在45 min内相对累计溶出率均达到85%以上,溶出速度较快。毛蕊异黄酮、隐丹参酮、丹参酮 II_A 在240 min内相对累积溶出度也达到90%以上,故该制剂不符合“丸者缓也”的论述。以上4类成分10个指标成分的溶出程度可以在一定程度上反映该丸剂的溶出水平。

中药制剂具有多成分、多靶点的特点。因而仅针对参芪麝蓉丸单个或几个成分进行定量限定,无

法实现对处方整体质量的有效控制。本实验对该制剂3个批次中4个类别10个活性成分同时进行定量研究,并对该3批制剂进行了溶出度试验,测得不同批次的参芪麝蓉丸中各成分溶出趋势相似,同时以批量最大的一批制剂作为参比制剂,其余批次制剂作为样品制剂进行 f_2 相似因子评价,结果 f_2 值均大于50,说明各批次的溶出具有相似性。提示可以通过同时控制参芪麝蓉丸不同类别多个指标成分的量及其溶出释放度的方法对其进行质量控制并达到质量可控的目的。

参考文献

- [1] 刘荣霞,叶敏,果德安. 中药质量控制研究的思路与方法 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(5): 332-337.
- [2] 赵明. 中药药物固体制剂溶出度研究概况 [J]. 安徽医药, 2007, 11(2): 171-173.
- [3] 胡劲松. 施杞教授治疗颈椎病经验 [J]. 中医正骨, 2004, 16(5): 59.
- [4] 苗爱东,王彦宗,阚秀燕,等. Excel 2010 在药物溶出曲线相似性比较中的应用 [J]. 中国医药科学, 2011, 1(10): 11-12.
- [5] 陈伟鸿,宿央央,程怡,等. f_2 因子法评价头孢克肟颗粒溶出曲线相似 [J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(9): 689-692.
- [6] 谢沐风. 溶出曲线相似性的评价方法 [J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(4): 308-311.
- [7] 杜思邈,潘一峰,张宁. HPLC 内标法同时测定芪蓉丸中9种成分 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1271-1276.
- [8] 李炜,魏玉辉. 高效液相色谱法同时测定复方丹参片6种活性成分含量 [J]. 西部中医药, 2012, 25(6): 23-25.
- [9] 王静,魏娜,赵洪芝,等. HPLC、UPLC 测定芪参益气滴丸中5个丹参活性成分含量的比较研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1678-1682.
- [10] 王慧娟,宋洪涛,彭碧文,等. 环孢素 A 眼用亚微乳含量测定及体外释放度的考察 [J]. 解放军药科学学报, 2008, 24(1): 72-75.
- [11] 张兆旺. 中药药剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [12] 李秋芬,杜思邈,周永全,等. 芪蓉丸体外释放度研究 [J]. 中草药, 2012, 44(13): 1748-1755.
- [13] 朱爱兰. 中药剂型发展概要 [J]. 安徽中医学院学报, 2000, 19(5): 48.
- [14] 平其能,郑梁元. 药用聚合物的理论和实践 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994.