

不同血塞通胶囊的人参皂及三七皂苷溶出度对比研究

张晴 杜守颖 陆洋 白洁 李鹏跃 滕会会 杜秋

【摘要】 目的 建立测定血塞通胶囊中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 及三七皂苷 R_1 溶出度的检测方法,并比较 3 种不同血塞通胶囊溶出度情况,为剂型改进提供依据。**方法** 采用 HPLC 法检测 5 种皂苷的体外溶出度,计算并绘制累积溶出曲线,通过相似因子(f_2)分别比较不同血塞通胶囊间 5 种皂苷溶出度的差异及每种胶囊中各皂苷间的溶出度差异,并采用质量权重系数法将血塞通胶囊中三七总皂苷组分的溶出曲线进行整合。**结果** 维和硬胶囊和络泰软胶囊中 5 种皂苷在 30 分钟内累积溶出率均达到 60% 以上,12 小时内均达到 85% 以上,而理洙王软胶囊各成分成分 30 分钟累积溶出率仅为 3%,12 小时内达到 40%,3 种血塞通胶囊间溶出曲线 f_2 均小于 50,各胶囊中 5 种皂苷间 f_2 均大于 50。3 种血塞通胶囊的溶出过程存在显著性差异,以油相为内容物基质的理洙王软胶囊相对于维和硬胶囊及络泰软胶囊显示出缓释作用,5 种皂苷间溶出行为无显著性差异,呈现出同步性,与整合结果趋势相同。**结论** 胶囊壳及内容物基质的不同对胶囊的溶出过程存在一定的影响,油相基质具有缓释作用,血塞通胶囊中 5 种皂苷的溶出具有同步性。

【关键词】 血塞通胶囊; 缓释; 多成分; 质量权重系数法

【中图分类号】 R286 **【文献标识码】** A doi:10. 3969/j. issn. 1674-1749. 2015. 11. 022

Comparison of dissolution of ginsenoside and notoginsenoside form different Xuesaitong capsules

ZHANG Qing, DU Shou-ying, LU Yang, et al. School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China.

Corresponding author: DU Shou-Ying, E-mail: dushouying@263. net; Lu Yang, E-mail: Landocean28@163. com

【Abstract】 Objective To establish the methods for determining the dissolution of ginsenoside R_{g_1} , R_e , R_{b_1} , R_d and notoginsenoside R_1 in Xuesaitong capsules, and study the dissolution condition of the three capsules, which can provide a basis for the improvement of dosage form. **Methods** HPLC and UV were used to detect the in vitro dissolution in the three capsules, respectively, cumulative dissolution curves were drawn and similar factors of the curves were compared. Furthermore, the multicomponent drug release curves were integrated by using Weight coefficient method. **Results** The dissolution of the five

基金项目: 国家科技重大专项(2014ZX09301306-009);北京市科技新星计划(xx2015A048)

作者单位: 100102 北京中医药大学中药学院[张晴(硕士研究生)、杜守颖、陆洋、白洁、李鹏跃、滕会会(硕士研究生)、杜秋(硕士研究生)]

作者简介: 张晴(1991-),女,2013 级在读硕士研究生。研究方向:中药新剂型与新技术研究。E-mail: zhangqing811@163. com

通讯作者: 杜守颖(1960-),博士,教授,博士生导师。研究方向:中药新剂型与制剂关键技术研究。E-mail: dushouying@263. net;陆洋(1981-),博士,副教授,硕士生导师。研究方向:中药新剂型与制剂关键技术研究。E-mail: landocean28@163. com。杜守颖与陆洋并列为本文通讯作者

saponins in Weihe hard capsule and Luotai soft capsule were all over 60% within 30 minutes, and over 85% within 12 hours. While the dissolution of the five saponins in Lixuwang soft capsule in were all over 3% within 30 minutes, and over 40% within 12 hours. The similarity factor (f_2) values of the dissolution of different capsules were all less than 50 and that of the five saponins were all more than 50. The dissolution of different *Xuesaitong* capsules has significant differences. The Lixuwang soft capsule which had oily contents showed sustained release effect compared with the other two capsules. **Conclusion** Different shells and contents have a certain influence on the dissolution of *Xuesaitong* capsules. The oily contents shows sustained release effect. The five saponins could release from the capsule synchronously.

【Key words】 *Xuesaitong* capsule; Sustained-release; Multi-component; Quality weight coefficient method

血塞通胶囊是以三七总皂苷(panax notoginseng saponins, PNS)为有效成分的中成药制剂,用于脑路瘀阻、中风偏瘫、胸痹心痛等。三七总皂苷可抑制心肌细胞凋零^[1],保护神经细胞缺血损伤^[2],促进缺血再灌注后血管新生^[3],提高免疫力^[4]等。药物的剂型不同会直接影响有效成分溶出、吸收及临床疗效。本实验通过比较 3 种不同血塞通胶囊的溶出曲线,分析了血塞通胶囊剂型因素(胶囊壳、内容物基质)对药物溶出情况的影响,为工艺改进、指导临床用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

血塞通胶囊(维和,云南维和药业股份有限公司,批号 120917);血塞通软胶囊(理洙王,昆明圣火药业,批号 20121017);血塞通软胶囊(络泰,昆明制药集团股份有限公司,批号 131009-10);三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{b_1} 、人参皂苷 Rd 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110745-200617、110703-201128、110754-201123、110704-201223、111818-201001);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司),甲醇(分析纯,北京化工厂,批号 20110114),水为娃哈哈纯净水。

1.2 仪器

Agilent1260 高效液相色谱仪;RCZ-8M 溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司);KQ 5200 DA 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);赛多利斯 BSA 224S 型电子分析天平(北京赛多利斯公司)。

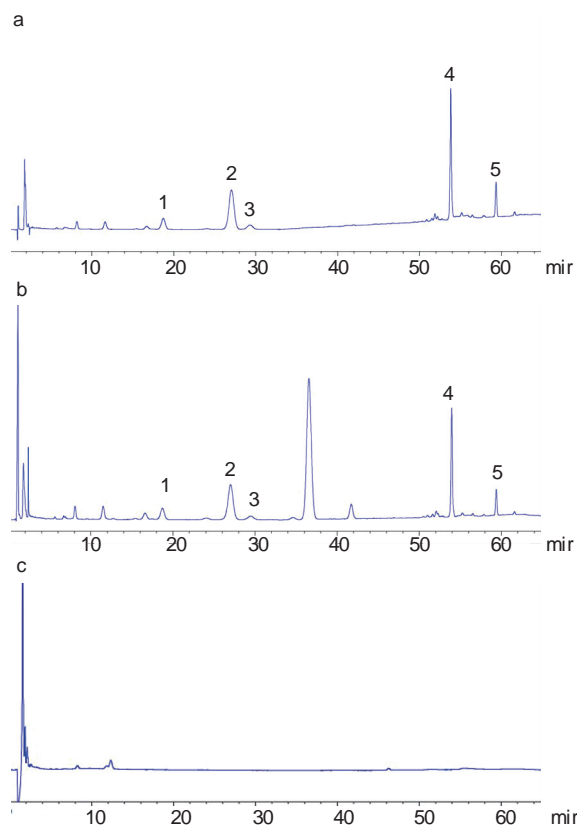
1.3 色谱条件

色谱柱:Agilent Extend- C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μ m),WATCH 预柱(柱芯型号 WATCH Y164);流动相乙腈(A)-水(B),梯度洗脱,0~25 分钟,19% A;25~50 分钟,19~45% A;50~55 分

钟,45~55% A;55~65 分钟,55~60% A。柱温 30 $^{\circ}$ C;检测波长 203 nm;流速 1.5 mL/min。对照品溶液及溶出供试品溶液的色谱图见图 1。

1.4 对照品溶液的制备

取对照品三七皂苷 R_1 4 mg、人参皂苷 R_{g_1} 22 mg、人参皂苷 Re 3 mg、人参皂苷 R_{b_1} 17 mg、人参皂苷 Rd 6 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,即得。



a 对照品溶液 b 溶出供试品溶液 c 空白溶出液;
1. 三七皂苷 R_1 ; 2. 人参皂苷 R_{g_1} ; 3. 人参皂苷 Re;
4. 人参皂苷 R_{b_1} ; 5. 人参皂苷 Rd

图 1 对照品溶液和血塞通胶囊溶出 HPLC 图

1.5 供试品溶液的制备

取血塞通胶囊 1 粒,采用溶出度测定法小杯法(《中华人民共和国药典》2010 年版二部附录 XC 溶出度测定第三法)装置,以 200 mL 水为溶出介质进行溶出实验,温度 37 ℃,转速为 50 rpm。每个时间点取样 1 mL,补液 1 mL。取样时间为 2、5、10、15、30、60、90 分钟、2、4、6、12 小时。精密移取溶出液和甲醇各 0.5 mL,混匀,即为供试液,测定各成分含量。

1.6 方法学考察

线性关系考察:精密吸取对照品储备液,依次稀释得到 6 个不同浓度的对照品溶液,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),浓度为横坐标(X),进行线性回归,三七皂苷 R_1 回归方程为 $Y=4.435X-9.652$, $r=0.9999$; 人参皂苷 R_{g1} 回归方程为 $Y=4.597X+32.934$, $r=0.9999$; 人参皂苷 R_e 回归方程为 $Y=5.511X-17.918$, $r=0.9999$; 人参皂苷 R_{b1} 回归方程为 $Y=4.531X+12.221$, $r=0.9999$; 人参皂苷 R_d 回归方程为 $Y=5.429X+8.167$, $r=0.9999$ 。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 分别在 22.28 ~ 544.00 $\mu\text{g/mL}$ 、73.06 ~ 1783.60 $\mu\text{g/mL}$ 、32.33 ~ 789.43 $\mu\text{g/mL}$ 、51.38 ~ 1254.40 $\mu\text{g/mL}$ 、15.62 ~ 381.38 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积线性关系良好。

精密实验:取“1.5”项下溶出度供试品溶液(60 分钟溶出液),重复进样检测 6 次,结果人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 及三七皂苷 R_1 的 6 次进样峰面积积分值 RSD 分别为 0.96%、2.01%、0.72%、0.60% 和 1.53%,表明仪器精密良好。

稳定性实验:取“1.5”项下溶出度供试品溶液(60 分钟溶出液)于 0、2、4、8、12、24 小时进行测定,计算各成分在各时间点峰面积 RSD 值。结果人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 及三七皂苷 R_1 这 5 种皂苷峰面积 RSD 均低于 3.0%,表明样品溶液 24 小时内稳定性良好。

重复性实验:按“1.5”项下溶出度供试品溶液(60 分钟溶出液)制备方法及样品处理方法重复制备 6 份样品,检测并计算各成分峰面积 RSD 值。结果人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 及三七皂苷 R_1 这 5 种皂苷峰面积 RSD 均低于 3.0%,表明该方法的重复性良好。

1.7 3 种血塞通胶囊溶出曲线相似因子拟合

相似因子(f_2)法是被美国 FDA 收录的作为评价制剂体外溶出曲线相似性的方法,可以推测及评价处方、工艺等因素对制剂溶出行为的影响,该方法简单易行,判定结果可靠。其计算公式如下:

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

式中 R_i 及 T_i 分别为 t 时间参比及受试制剂累积溶出率, n 为取点数目。 f_2 值越接近 100,相似程度就越高。当 f_2 值在 0 ~ 50 时,认为两制剂体外溶出行为有显著性差异。

1.8 采用质量权重系数法整合血塞通胶囊中 5 种皂苷的溶出曲线

通过质量权重系数法分别将血塞通胶囊中 PNS 组分的溶出曲线进行整合,可以将多组分制剂的溶出过程简化为一个整体行为^[5]。以组分的质量分数为整体单位计算各成分质量权重系数,根据权重系数公式:

$$\varphi_{R1} = (933.13/4737.72) \times 100\% = 19.70\%;$$

$$\varphi_{Rg1} = (801.01/4737.72) \times 100\% = 16.91\%;$$

$$\varphi_{Re} = (947.14/4737.72) \times 100\% = 19.99\%;$$

$$\varphi_{Rb1} = (1109.29/4737.72) \times 100\% = 23.41\%;$$

$$\varphi_{Rd} = (947.15/4737.72) \times 100\% = 19.99\%$$

进一步整合血塞通胶囊溶出曲线。

2 结果

2.1 溶出实验结果

取 3 种血塞通胶囊的溶出度供试品溶液,分别按照“1.2.1”项下色谱条件进行检测,计算 5 种皂苷在各时间点的累积溶出率,绘制溶出曲线,结果见图 2。

2.2 3 种血塞通胶囊溶出曲线相似因子拟合结果

采用相似因子(f_2)法比较三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 R_d 在 3 种血塞通胶囊间溶出的差异,并分别比较每种胶囊中 5 种皂苷之间的溶出差异,分析结果见表 1~4。对于 5 种皂苷的溶出,维和硬胶囊与络泰软胶囊 f_2 均在 40 ~ 45,理洙王软胶囊与其他 2 种胶囊 f_2 均小于 20。各血塞通胶囊中 5 种皂苷间的 f_2 均大于 50,因此可以判断 3 种血塞通胶囊的溶出行为存在显著性差异。而各血塞通胶囊中 5 种皂苷之间溶出过程呈现同步性,无显著性差异。

2.3 采用质量权重系数法整合血塞通胶囊中 5 种皂苷的溶出曲线结果

进一步整合血塞通胶囊溶出曲线,结果见图 3,

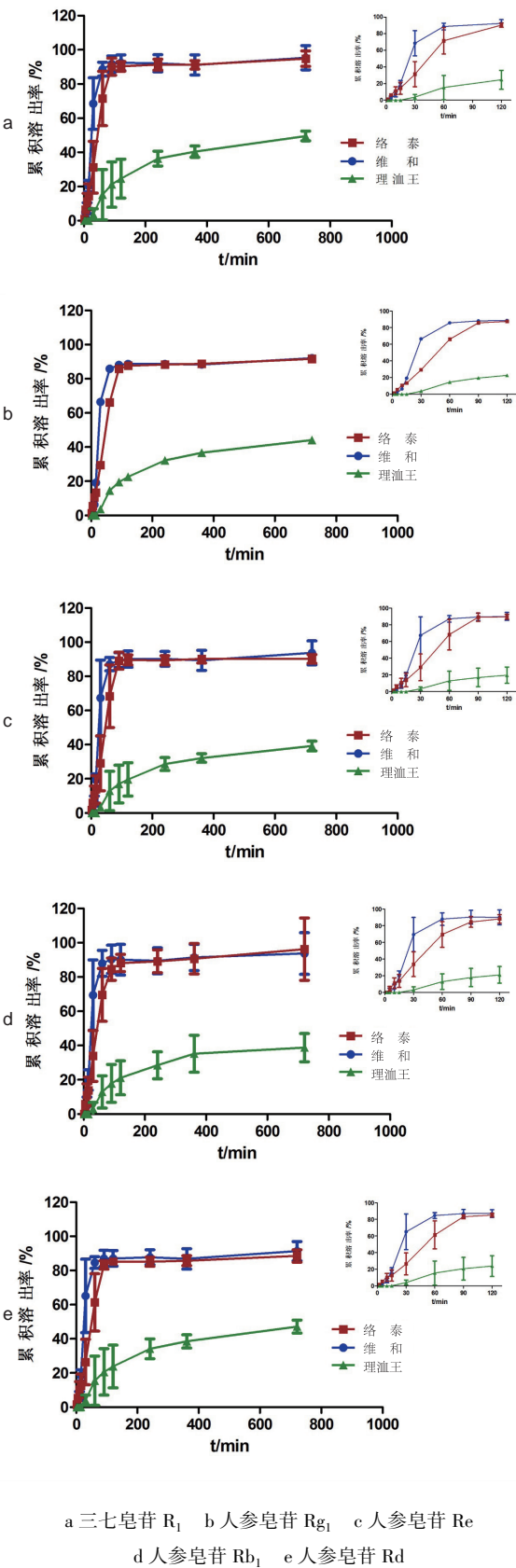


图2 5种成分在不同血塞通胶囊中的累积溶出曲线图
(小图为120分钟内累积溶出曲线放大图)

表1 5种皂苷在不同血塞通胶囊间相似因子分析表

	$R_t/\%$	$T_t/\%$		
		维和	络泰	理洫王
三七皂苷 R_1	维和	100.0	44.8	15.1
	络泰	44.8	100.0	18.0
	理洫王	15.1	18.0	100.0
人参皂苷 R_{g1}	维和	100.0	44.0	14.0
	络泰	44.0	100.0	16.6
	理洫王	14.0	16.6	100.0
人参皂苷 Re	维和	100.0	45.0	14.0
	络泰	45.0	100.0	16.8
	理洫王	14.0	16.8	100.0
人参皂苷 R_{b1}	维和	100.0	42.7	16.3
	络泰	42.7	100.0	20.2
	理洫王	16.3	20.2	100.0
人参皂苷 Rd	维和	100.0	44.7	17.2
	络泰	44.7	100.0	19.4
	理洫王	17.2	19.4	100.0

表2 维和硬胶囊中5种皂苷间相似因子分析表

$R_t/\%$	$T_t/\%$				
	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R_{b1}	人参皂苷 Rd
三七皂苷 R_1	100.0	87.1	87.1	71.9	60.2
人参皂苷 R_{g1}	87.1	100.0	90.3	82.4	66.0
人参皂苷 Re	87.1	90.3	100.0	76.7	63.5
人参皂苷 R_{b1}	71.9	82.4	76.7	100.0	76.9
人参皂苷 Rd	60.2	66.0	63.5	76.9	100.0

表3 络泰软胶囊中5种皂苷间相似因子分析表

$R_t/\%$	$T_t/\%$				
	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R_{b1}	人参皂苷 Rd
三七皂苷 R_1	100.0	82.30	79.5	63.2	65.42
人参皂苷 R_{g1}	82.30	100.0	75.8	70.8	73.8
人参皂苷 Re	79.5	75.8	100.0	66.0	68.2
人参皂苷 R_{b1}	63.2	70.8	66.0	100.0	92.6
人参皂苷 Rd	65.42	73.8	68.2	92.6	100.0

表4 理洫王软胶囊中5种皂苷间相似因子分析表

$R_t/\%$	$T_t/\%$				
	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R_{b1}	人参皂苷 Rd
三七皂苷 R_1	100.0	64.29	66.3	90.4	81.38
人参皂苷 R_{g1}	64.29	100.0	91.7	69.5	74.57
人参皂苷 Re	66.3	91.7	100.0	72.0	77.5
人参皂苷 R_{b1}	90.4	69.5	72.0	100.0	92.9
人参皂苷 Rd	81.38	74.57	77.5	92.9	100.0

维和硬胶囊及络泰软胶囊中 PNS 组分在 60 分钟内累计溶出率达到 60%, 12 小时内达到 90%。理沭王软胶囊中 PNS 组分在 60 分钟内累计溶出率仅为 13%, 12 小时内达到 45%。

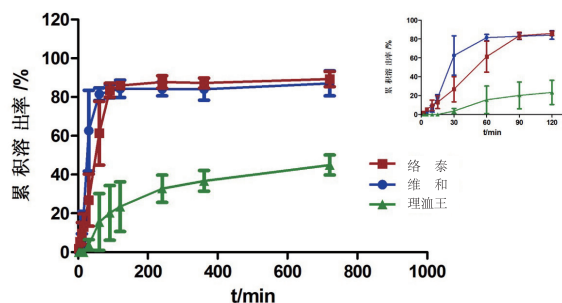


图3 血塞通胶囊中 PNS 组分释药系统的溶出曲线
(小图为 120 分钟内累积溶出曲线放大图)

3 结论与讨论

从图 2 溶出曲线可知,维和硬胶囊和络泰软胶囊中 5 种皂苷在 30 分钟内累积溶出率均达到 60% 以上,12 小时内均达到 85% 以上,而理沭王软胶囊各成分 30 分钟累积溶出率仅为 3%,12 小时内达到 40%。拟合结果显示 3 种血塞通胶囊的溶出曲线 f_2 均小于 50,可知三者的溶出过程存在显著性差异,理沭王软胶囊存在缓释现象。各胶囊中 5 种皂苷成分间 f_2 均大于 50,5 种皂苷的溶出行为无显著性差异,呈现出同步性。

采用质量权重系数法,分别对不同血塞通胶囊中 PNS 组分释药系统的溶出曲线进行整合,结果同样表明理沭王软胶囊具有缓释作用。此方法便于评价复杂的中药组分的整体溶出行为,充分体现中药整体观的理念,为中药多组分制剂的溶出评价提供新的思路。

3 种胶囊溶出过程的差异,可能跟胶囊壳和胶囊内容物的不同有关。经观察硬胶囊在水中 2~3 分钟即崩解,三七总皂苷在水中迅速溶出。软胶囊在 7~8 分钟开始崩解,故前 30 分钟软、硬胶囊的累积溶出率差异较大。络泰软胶囊内容物基质为 PEG,具有良好的水溶性,胶囊崩解后 5 种皂苷能够在介质中充分溶解,其崩解后溶出曲线和维和硬胶囊相似。理沭王软胶囊因其油性基质的存在,内容物漂浮于水面,三七总皂苷从中缓慢释放,故溶出

缓慢,溶出曲线较平缓。可见由于选用的剂型、辅料及生产工艺等的不同,可能导致血塞通有效成分体外溶出过程存在较大差异。5 种皂苷成分的溶出过程无显著性差异,从表 2~4 中可以看出,人参皂苷 Rb_1 与 Rd 、 Rg_1 与 Re 间溶出行为更接近,推测是由于其结构相似,前两者属于人参二醇型皂苷,后者属于人参三醇型皂苷。

三七总皂苷口服给药后吸收不完全,生物利用度较低^[6],一天需服用多次,因此有必要设计一种三七总皂苷的缓释制剂以提高生物利用度及患者顺应性。冯亮等^[7]通过制备三七总皂苷的骨架型凝胶缓释片后显著改善制剂的生物利用度。冯亮等^[8]发现三七总皂苷缓释片与普通片相比,在 Beagle 犬体内的达峰时间延长,峰浓度降低,平均滞留时间延长。本研究结果可知,理沭王软胶囊以油相为内容物基质同样可以起到缓释的作用,这会进一步影响药物体内吸收,提高药物在胃肠道的滞留时间,改善药物的生物利用度从而影响疗效,值得进一步深入研究,为药物剂型改进及指导临床合理用药提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] 华新宇,王晓兰,康美清,等. 三七总皂苷对慢性心力衰竭患者心功能及血浆细胞凋亡相关因子的影响[J]. 中国中医急症, 2014, 23(12): 2368-2370.
- [2] 蒋会慧,王园园,胡东华,等. 三七总皂苷对大鼠大脑缺血再灌注 VEGF 表达的影响[J]. 长江大学学报(自科版), 2015, 12(12): 1-5.
- [3] 刘英吉. 三七总皂苷对缺血损伤神经细胞的保护作用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [4] 彭芝萍. 三七总皂苷缓释片制备工艺及体内外释药研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2012.
- [5] 商宇. 三七总皂苷调节小鼠上呼吸道菌群及局部免疫的实验研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2012.
- [6] 郁丹红,贾晓斌. 基于生物药剂学性质的中药组分相似性分析方法的建立[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1847-1850.
- [7] 冯亮,蒋学华. 三七总皂苷在大鼠体内的药物动力学研究[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 46-49.
- [8] 冯亮,蒋学华,王凌. 三七总皂苷缓释片的释放性能及体内外相关性研究[J]. 中国药业, 2009, 18(21): 18-20.

(收稿日期: 2015-06-16)

(本文编辑: 蒲晓田)