

血塞通片中5种成分溶出行为的研究

闫伟伟, 罗慧玉, 丁杰, 唐殿飞, 徐鹏*, 吴长年, 陈正源
(张家口市食品药品检验中心, 河北 张家口 075000)

摘要: **目的** 考察血塞通片中三七皂苷 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 的溶出行为。**方法** 采用小杯法, 以水、醋酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液为溶出介质, 转速 50 r/min。采用 HPLC 法测定 5 种成分溶出量, 相似因子法进行评价, 拟合溶出模型。**结果** 以水为溶出介质时, 各成分 60 min 时溶出达到平衡, 累积溶出量最大; 醋酸盐为溶出介质时, 各成分 60 min 后仍有释放; 磷酸盐为溶出介质时, 各成分 60 min 时溶出达到平衡。不同批次样品在水中的累积溶出度较一致, 而在另外 2 种含盐缓冲液中差异较大。Weibull 方程拟合效果最好。**结论** 不同厂家、不同批号血塞通片质量一致性较差, 需引起关注。

关键词: 血塞通片; 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; 溶出行为; 小杯法

中图分类号: R927.11

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2269-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.035

血塞通片是以三七总皂苷为有效成分的中成药制剂, 功效活血祛瘀、通脉活络, 临床可用于心脑血管疾病^[1]、抑制巨噬细胞炎症反应^[2]、去势骨质疏松性骨折^[3]等。但血塞通片现行质量标准没有溶出度测定项目^[4], 仅依靠崩解时限检查难以描述该制剂有效成分的体外溶出过程。本实验参考血塞通固体制剂的含量、溶出度测定方法^[4,9], 考察不同厂家及同一厂家不同批次血塞通片中三七皂苷 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 的溶出行为, 以期为该制剂质量评价及质量标准提升提供依据。

1 材料

1.1 试剂与药物 血塞通片(厂家A, 批号200512; 厂家B, B1 批号 20200501, B2 批号 20190702, B3 批号 20191102; 厂家C, 批号 2001035)。三七皂苷 R_1 (批号 110745-201921, 纯度 90.4%)、人参皂苷 R_{g_1} (批号 110703-201530, 纯度 91.7%)、人参皂苷 Re (批号 110754-202028, 纯度 93.9%)、人参皂苷 R_{b_1} (批号 110704-202028, 纯度 93.1%)、人参皂苷 Rd (批号 111818-201603, 纯度 92.1%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇为色谱纯; 磷酸、冰醋酸、磷酸二氢钾、醋酸钠均为分析纯; 水由超纯水机制备。

1.2 仪器 LC-2010A HT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); CPA225D 电子分析天平(德国赛多利斯公司); RCZ-8M 溶出仪(天大天发科技有限公司); Milli-Q Integral 纯水/超纯水机(美国 Millipore 公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取三七皂苷 R_1 、人参皂苷

R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、人参皂苷 Rd 对照品适量, 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度分别为 4.140 3、4.276 9、4.170 9、4.019 2 mg/mL 的贮备液; 精密称取人参皂苷 Re 对照品适量, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 0.502 2 mg/mL 的贮备液。精密量取上述贮备液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 制成含三七皂苷 R_1 0.041 4 mg、人参皂苷 R_{g_1} 0.163 4 mg、人参皂苷 Re 0.016 75 mg、人参皂苷 R_{b_1} 0.156 4 mg、人参皂苷 Rd 0.050 24 mg 的溶液, 即得。

2.1.2 供试品溶液 设定条件为溶出介质 pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH6.8 磷酸盐缓冲液、水; 溶剂体积 200 mL; 温度 37 °C; 转速 50 r/min。取本品 6 片, 投入 6 个溶出杯中并计时, 于 5、10、20、30、45、60、75、90、120 min 各取样, 每次 1 mL, 同时补充等质量同温度溶出介质, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤; 另取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定质量, 计算平均片重, 研细, 精密称取适量(约相当于三七总皂苷 25 mg), 置于具塞锥形瓶中, 加入 70% 甲醇 10 mL, 超声处理 10 min, 取出, 放冷, 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 即得。

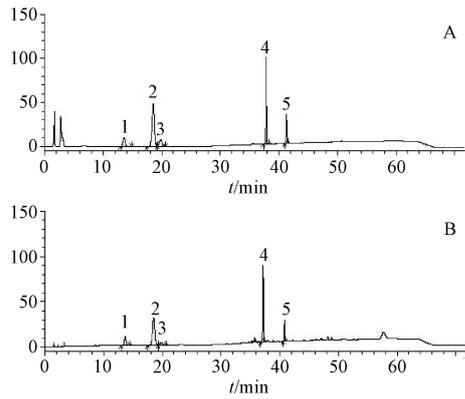
2.2 色谱条件 Thermo C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~21 min, 78% B; 21~45 min, 78%~52% B; 45~55 min, 52%~45% B; 55~60 min, 45% B; 60~62 min, 45%~78% B; 62~72 min, 78% B); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 203 nm; 进样量 20 μ L。色谱图见图 1。

2.3 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量, 甲醇稀释成 6 个质量浓度, 在“2.2”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标(Y), 质量浓度为横坐标(X)进行回归,

收稿日期: 2021-02-19

作者简介: 闫伟伟(1983—), 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为食品药品检验检测。E-mail: 254432404@qq.com

*通信作者: 徐鹏(1984—), 男, 硕士, 食品药品工程师, 研究方向为食品药品安全检验检测。E-mail: 413328944@qq.com



注：A 为对照品，B 为供试品。

1. 三七皂苷 R₁ 2. 人参皂苷 R_{g1} 3. 人参皂苷 Re 4. 人参皂苷 Rb₁ 5. 人参皂苷 Rd

图1 各成分 HPLC 色谱图

结果见表1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

成分	回归方程	R ²	线性范围/ (mg·mL ⁻¹)
三七皂苷 R ₁	Y=6 529 485.157X+11 575.514	0.999 6	0.005 18~0.207
人参皂苷 R _{g1}	Y=8 031 449.733X-51 794.421	0.999 1	0.010 7~0.534
人参皂苷 Re	Y=6 489 918.435X-3 459.042	0.999 5	0.002 51~0.050 2
人参皂苷 Rb ₁	Y=4 694 818.793X+14 057.467	0.999 4	0.013 0~1.043
人参皂苷 Rd	Y=5 840 097.410X-2 582.621	0.999 7	0.003 36~0.502

2.4 精密度试验 取“2.1.1”项下对照品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定6次，测得各成分峰面积RSD分别为三七皂苷 R₁ 0.28%、人参皂苷 R_{g1} 0.63%、人参皂苷 Re 0.56%、人参皂苷 Rb₁ 0.40%、人参皂苷 Rd 0.72%，表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 取本品（批号 200512）适量，按“2.1.2”项下方法制备3种溶出介质的供试品溶液，每种6份，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得各成分峰面积RSD均小于3.0%，表明该方法重复性良好。

2.6 稳定性试验 取本品（批号 200512）60 min 溶出液，室温下于0、2、4、8、12、24、48 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得各成分峰面积RSD均小于3.0%，表明溶液在48 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的本品（批号 200512）6份，每份约0.053 g（平均片重约为0.1063 g），置于25 mL量瓶中，加入三七皂苷 R₁ 对照品溶液 220 μL、人参皂苷 R_{g1} 对照品溶液 750 μL、人参皂苷 Re 对照品溶液 850 μL、人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 1 000 μL、人参皂苷 Rd 对照品溶液 230 μL，甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，分别取5 mL至25 mL量瓶中，稀释3份，3种溶出介质稀释至刻度，在“2.2”项色谱条件下进样测定。结果，各成分在水中的平均加样回收率为98.91%~100.02%，RSD为0.19%~0.52%；在醋酸盐中的平均加样回收率为98.96%~100.68%，RSD为0.16%~0.65%；在磷酸盐中的平均加样回收率为98.96%~99.67%，RSD为0.15%~0.59%。

2.8 溶出曲线考察

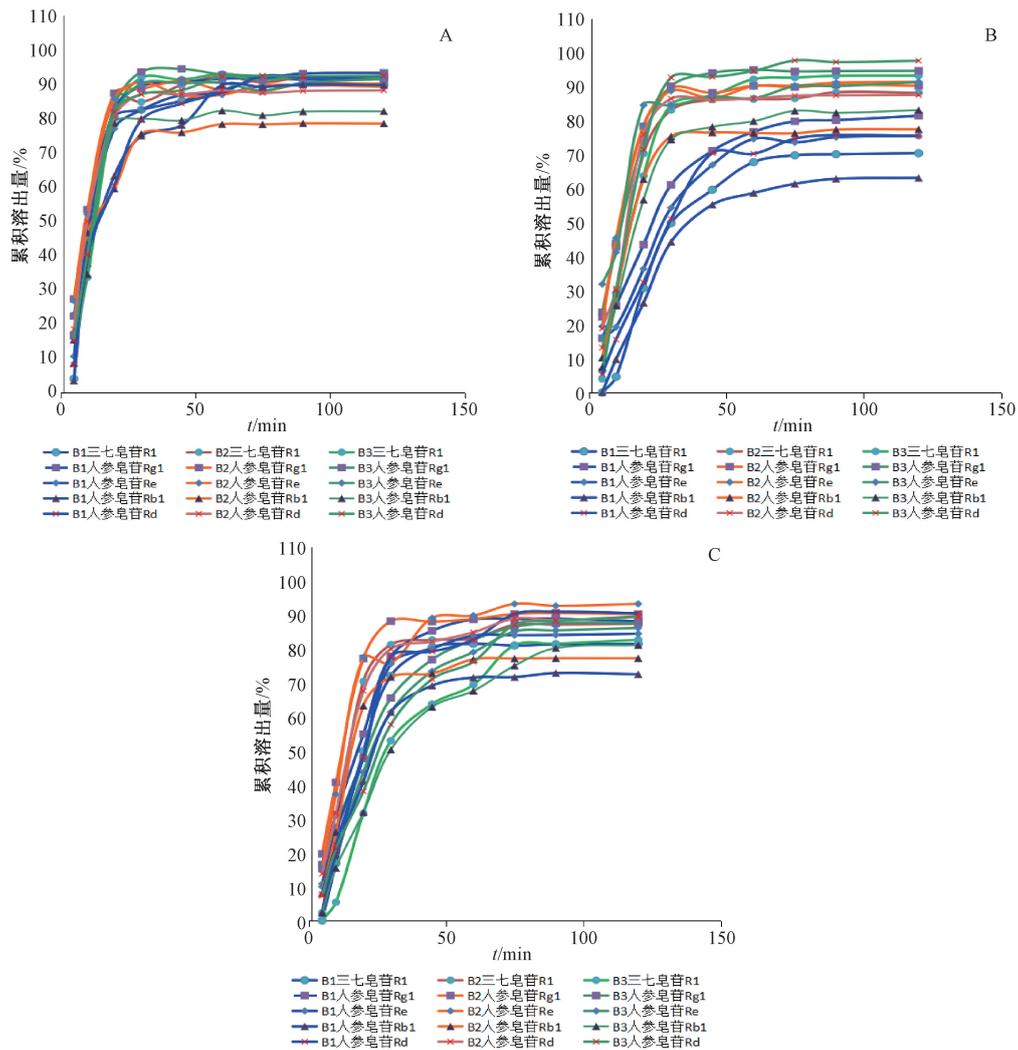
2.8.1 同一厂家不同批号 参考《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》^[10]，选择醋酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、水作为溶出介质，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，计算累积溶出量，结果见图2。由此可知，厂家B3批样品中各成分在水、磷酸盐中60 min内溶出基本达到平衡；在醋酸盐中60 min后B3厂家样品仍有缓慢释放；3批样品中各成分在水中溶出行为较一致，累积溶出量最大；在磷酸盐中溶出行为差异较大；同一批样品中各成分在3种介质中的溶出行为基本一致，即呈同步性存在。

2.8.2 不同厂家 选择醋酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、水作为溶出介质，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，计算累积溶出量，结果见图3。由此可知，厂家B样品中各成分在3种介质中60 min内可达到平衡；厂家A样品中各成分在3种介质中60 min内基本达到平衡；厂家C样品中各成分在水、磷酸盐中60 min内达到平衡，而在醋酸盐中60 min后仍在缓慢释放。

2.8.3 溶出曲线评价 选取6个时间点（5、10、20、30、45、60 min），采用非模型依赖相似因子（f₂）法对溶出曲线进行评价，结果见表2~3。由此可知，厂家B3批样品中各成分在3种溶出介质中的溶出行为存在差异，仅在水中一致性较好；不同厂家样品中各成分在同一介质中的溶出行为存在差异，而同一批次样品中各成分在同一溶出介质中的f₂差异较小。

表2 同一厂家不同批次样品中各成分f₂测定结果

溶出介质	批次	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 R _{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参皂苷 Rd
水	B1-2	53.351 6	63.336 3	52.911 5	55.006 5	48.846 2
	B1-3	53.598 4	70.850 5	64.861 0	55.438 9	49.825 6
	B2-3	58.512 8	62.657 7	56.786 9	49.730 9	66.529 5
醋酸盐缓冲液	B1-2	50.180 5	48.136 9	43.361 3	47.971 5	51.439 0
	B1-3	41.962 5	56.414 4	55.847 6	58.222 2	49.730 2
	B2-3	31.682 4	38.470 1	36.534 8	38.248 4	38.524 0
磷酸盐缓冲液	B1-2	28.466 9	32.923 4	28.678 0	30.783 9	29.237 1
	B1-3	28.656 5	32.607 8	28.127 5	32.166 2	29.325 5
	B2-3	70.222 9	71.706 7	59.777 0	72.266 1	61.561 1



注：A 为水，B 为磷酸盐缓冲液，C 为醋酸盐缓冲液。

图 2 同一厂家不同批次样品中各成分在 3 种溶出介质中的溶出曲线

表 3 不同厂家样品中各成分 f_2 测定结果

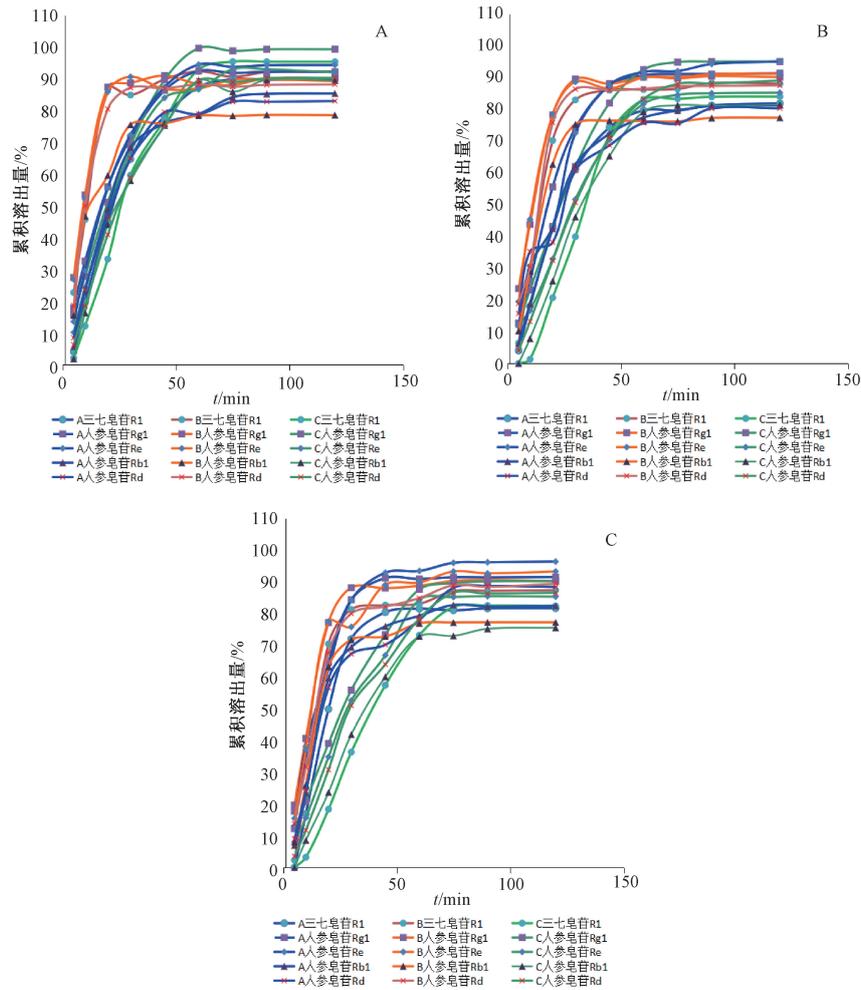
溶出介质	厂家	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R_{b1}	人参皂苷 Rd
水	A-B	31.248 9	37.685 1	36.929 4	46.478 9	34.095 9
	A-C	59.082 0	67.220 5	61.759 3	57.088 0	60.142 5
	B-C	26.449 9	33.977 3	32.317 2	38.115 5	30.374 2
醋酸盐缓冲液	A-B	50.180 5	59.691 9	56.444 3	77.331 1	50.788 2
	A-C	32.322 2	36.992 7	32.296 4	34.016 0	42.844 0
	B-C	25.103 8	31.962 2	31.155 5	32.499 4	32.262 9
磷酸盐缓冲液	A-B	39.813 2	42.515 7	38.159 4	48.091 1	34.367 5
	A-C	41.896 5	55.891 7	43.011 4	47.440 2	47.350 5
	B-C	26.271 6	34.141 2	27.760 2	32.932 7	29.619 7

2.9 溶出模型拟合 采用模型依赖法，以厂家 B 样品（批号 20200501）中各成分在水中的溶出行为为例，分别考察零级释放方程、一级释放方程、Weibull 方程、Peppas 方程、Higuchi 方程，结果见表 4，可知 Weibull 方程相关系数达 0.9 以上，表明拟合效果最好，并且药物释放速率常数与扩散系数成正比，并随着时间变化而变化。同法对该厂家样品中各成分在 3 种溶出介质中的溶出数据进行拟合，发现均以 Weibull 方程效果最好，表明其溶出机制相同。再

对不同厂家样品进行数据拟合，发现厂家 C 样品在水中释放时，三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Rd 拟合模型不同，其他厂家样品也以 Weibull 模型最佳，表明部分厂家样品中个别成分的溶出行为不一致，内在质量存在差异。

3 讨论

血栓通片中有效成分含量较低，为提高检测准确度，采用小杯法进行实验。三七总皂苷在 pH 1.0 盐酸缓冲液中不稳定^[11]，故未选取该溶液作为溶出介质。在 50、75 r/min



注：A 为水，B 为磷酸盐缓冲液，C 为醋酸盐缓冲液。

图3 不同厂家样品中各成分在3种溶出介质中的溶出曲线

表4 厂家B样品中各成分在水中溶出行为的模型拟合

成分	模型	拟合方程	R ²
三七皂苷 R ₁	零级释放	$Q=0.5285t+46.5260$	0.4769
	一级释放	$\ln(1-Q)=-0.0187t+3.8335$	0.7080
	Weibull	$\ln[1/(1-Q)]=0.7984\ln t-5.7102$	0.9574
	Peppas	$\ln Q=0.7647\ln t+1.3502$	0.6416
	Higuchi	$Q=8.1254t^{1/2}+20.0670$	0.6434
人参皂苷 R _{g₁}	零级释放	$Q=0.4653t+54.0430$	0.4568
	一级释放	$\ln(1-Q)=-0.0189t+3.6057$	0.6424
	Weibull	$\ln[1/(1-Q)]=0.8361\ln t-5.6050$	0.9313
	Peppas	$\ln Q=0.4588\ln t+2.6856$	0.7221
	Higuchi	$Q=7.2155t^{1/2}+30.3450$	0.6270
人参皂苷 Re	零级释放	$Q=0.4861t+48.5750$	0.4804
	一级释放	$\ln(1-Q)=-0.0164t+8.7885$	0.6621
	Weibull	$\ln[1/(1-Q)]=0.7201\ln t-5.5053$	0.9484
	Peppas	$\ln Q=0.5551\ln t+2.1880$	0.7013
	Higuchi	$Q=7.4899t^{1/2}+24.1300$	0.6511
人参皂苷 Rb ₁	零级释放	$Q=0.5928t+38.5240$	0.6002
	一级释放	$\ln(1-Q)=-0.0195t+4.0884$	0.7877
	Weibull	$\ln[1/(1-Q)]=0.7898\ln t-5.8960$	0.9620
	Peppas	$\ln Q=0.8265\ln t+1.0454$	0.6974
	Higuchi	$Q=8.8657t^{1/2}+10.4680$	0.7665
人参皂苷 Rd	零级释放	$Q=0.5888t+41.0900$	0.6140
	一级释放	$\ln(1-Q)=-0.0218t+4.0684$	0.8292
	Weibull	$\ln[1/(1-Q)]=0.8689\ln t-6.0367$	0.9756
	Peppas	$\ln Q=0.6504\ln t+1.7860$	0.7608
	Higuchi	$Q=8.7817t^{1/2}+13.3820$	0.7797

注：Q 为累积溶出度，t 为时间。

转速下进行实验,2种条件下各成分溶出量无显著差异,故选择50 r/min。人参皂苷 Rg_1 、 Re 相对保留时间差异较小,采用梯度洗脱程序时可实现分离度大于1.5,理论塔板数按人参皂苷 Rg_1 峰计大于6 000。采用常用模型对溶出数据进行拟合,推测其溶出机制。同厂家样品在不同介质中的溶出机制相同,以Weibull模型最佳;不同厂家样品的溶出机制略有不同,也以Weibull模型最佳,表明血塞通中5种指标成分的溶出机制基本符合该模型,但不同厂家样品质量存在差异。

溶出度可反映工艺稳定性,并可预测其在体内的起效程度,故中药固体制剂溶出度测定是中药整体质量控制体系和工艺一致性评价的重点内容之一^[12]。研究血塞通片在不同pH溶出介质中多种成分的溶出曲线。结果表明不同厂家、不同批号血塞通片在同一介质中的溶出差异较大,且存在溶出不充分现象,可能与制剂的原辅料质量优劣及生产工艺有关。本研究可促进生产企业对中药制剂生产工艺进行改进,提高产品质量,同时可为药品质量控制及质量标准提升提供依据。

参考文献:

[1] 欧阳波,杨筱倩,丁煌,等.冰片配伍黄芪甲苷和三七皂苷对脑缺血/再灌注损伤后神经血管单元的保护作用[J].中国药理学通报,2020,36(10):1470-1476.
[2] 范盎然,于雪,王旭,等.三七皂苷对小鼠巨噬细胞炎症反应的影响[J].世界中医药,2020,15(8):

1098-1101.
[3] 胡广,关智宇,张开伟.三七皂苷干预去势骨质疏松性骨折模型大鼠的作用机制[J].中国组织工程研究,2021,25(2):172-177.
[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020.
[5] 张晴,杜守颖,陆洋,等.不同血塞通胶囊的人参皂及三七皂苷溶出度对比研究[J].环球中医药,2015,8(11):1362-1366.
[6] 黄媛平.血塞通分散片溶出度的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):36-39.
[7] 李敏,叶慧,陈骁鹏,等.高效液相色谱法同时测定血塞通片中5种皂苷类成分含量[J].中国药业,2019,28(18):24-26.
[8] 侯一哲,黎翩,肖红敏,等.血塞通滴丸皂苷类成分含量测定及批次一致性评价研究[J].中草药,2019,50(11):2552-2559.
[9] 兰茜,盘正华,李萍.血塞通软胶囊溶出度的研究[J].中国药师,2015,18(3):500-503.
[10] 国家食品药品监督管理总局.普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[S].2015.
[11] 钟玲,臧志和.三七皂苷微孔渗透泵控释片体外释放度研究[J].中成药,2007,29(6):821-824.
[12] 孙国祥,孙万阳,闫慧,等.中药整体质量控制标准体系构建和中药一致性评价步骤[J].中南药学,2019,17(3):321-331.

肺癌中医证型与用药规律的研究

于弘^{1,2}, 胡倩^{1,2}, 周光飏^{2*}

(1.北京中医药大学中药学院,北京102488;2.国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室,北京100021)

摘要:目的 探讨肺癌中医证型与用药规律。方法 检索CNKI、维普、万方数据库,收集2000年至2018年肺癌相关文献,对文献中记载的证型、方名、药名、药性、药味、归经、功效、现代药理作用、近期远期疗效、用药后副作用进行分析统计。结果 共收集中药治疗肺癌的文献649篇,总结治疗肺癌有效中药方剂300首,肺癌中医证型300种。证型分布频次由高到低依次为气阴两虚证、气滞血瘀证、阴虚内热证,共涉及中药367味,总用药频次3 018次,用药频次在10次以上的单味药80味,累积频次2 264次,药性以寒、温、平为主,药味以苦、甘、辛为主,功效以清热药、补虚药、化痰止咳平喘药为主。中药复方联合放化疗的效果最好,部分中药复方单用抗癌效果也有前景。中药毒副作用较小,可减轻放化疗的部分不良反应。结论 中医在临床上治疗肺癌以清热解毒、补虚益气、化痰止咳、利水消肿为主。中药与放化疗等西医手段有协同作用,中西医结合可提高肺癌治疗效果。

关键词:肺癌;中医证型;用药规律

中图分类号:R287

文献标志码:B

文章编号:1001-1528(2022)07-2273-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.036

收稿日期:2020-12-23

基金项目:国家杰出青年科学基金(81425025)

作者简介:于弘(1990—),女,博士生,从事中药抗癌机理研究。E-mail:yudanyao@126.com

*通信作者:周光飏(1969—),男,博士,教授,从事肺癌发生机制与治疗策略研究。E-mail:gbzhou@ioz.ac.cn