

基于量值传递的仁术健胃颗粒工艺过程研究

贵书琪^{1,2,3}, 郑艳萍^{3*}, 成俊^{1,3*}, 赵开军¹, 彭 雲³, 黄 芳²

(1. 南京中山制药有限公司, 江苏省中药经典名方工程技术研究中心, 江苏 南京 210046; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198; 3. 江苏弘典中药产业研究院有限公司, 南京市工程技术研究中心, 江苏 南京 210042)

摘要: **目的** 研究仁术健胃颗粒放大工艺验证过程。**方法** 仁术健胃颗粒放大生产 3 批, 关键过程节点取样, 建立 HPLC-ELSD、HPLC-PDA 法测定黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯、吉马酮的含量, 并研究饮片-中间体-成品指标成分转移率。**结果** 4 种成分在各自范围内线性关系良好 ($R^2 \geq 0.9998$), 平均加样回收率 88.18%~101.30%, RSD 1.56%~2.76%。黄芪甲苷从饮片到颗粒转移率为 48.23%~64.31%, 各个环节转移率均高于 70%; 黄芩苷从饮片到颗粒转移率为 46.16%~54.85%, 各个环节转移率均高于 60%; 甘油三油酸酯从饮片到颗粒转移率为 44.65%~50.61%, 各个环节转移率均高于 45%; 吉马酮从饮片到颗粒转移率为 20.65%~24.24%, 各个环节转移率均高于 40%。**结论** 该方法具有准确度高、重复性好的优点, 可用于仁术健胃颗粒的质量控制, 建立的生产全过程转移率能为仁术健胃颗粒大生产提供数据参考。

关键词: 仁术健胃颗粒; 量值传递; 工艺过程; 黄芪甲苷; 黄芩苷; 甘油三油酸酯; 吉马酮

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)03-0940-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.03.034

脾胃病科学带头人单兆伟教授四十余年来通过系列临床及基础研究总结提出慢性萎缩性胃炎胃黏膜癌前期病变的主要病机特点是“气虚血瘀热郁”, 制定“益气活血清热”为主要治疗法则, 开发仁术健胃颗粒^[1]。该方由炙黄芪、酒黄芩、薏苡仁、莪术、麸炒白术、白花蛇舌草、半边莲、仙鹤草组成。大量文献研究表明, 仁术健胃颗粒治疗慢性萎缩性胃炎胃黏膜癌前期病变具有良好的疗效, 该药作为江苏省中医院院内制剂已有二十余年的应用基础^[2-4]。

前期该药已转让南京中山制药有限公司, 为了更加全面保留药效成分, 提高临床药效, 经进一步制剂研究, 增加了醇提、超微粉碎^[5-7]、挥发油提取包合^[8]、喷雾制剂^[9]等先进工艺制剂技术。与此同时还开展了Ⅱ期临床试验和Ⅲ期临床验证, 证实其对慢性萎缩性胃炎胃黏膜癌前期病变具有良好的临床疗效。目前, 对仁术健胃颗粒质量和工艺相关的研究很少, 相关的成分定量分析只有黄芪甲苷的报道^[10], 无量值传递方面的文章。本研究通过对生产过程中各个环节取样, 成分分析, 研究饮片-中间体-成品药效成分的转移过程, 并与原工艺生产颗粒(江苏省中医院院内制剂仁术健胃颗粒)进行比较, 以期对仁术健胃

颗粒后续开发研究和相关制剂的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器 仁术健胃颗粒生产设备为南京中山制药有限公司中试颗粒剂生产线, 已通过《药品生产质量管理规范》(GMP) 认证, 证书编号 JS20191043。高效液相色谱系统, 包括 LC-20AT 泵、ELSD-16 蒸发光散射检测器、LC-40D 泵、SPD-M40 二极管阵列检测器、Labsolutions 工作站等(日本岛津公司); KH-500E 超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); PL602-L、ML104/02、XSR105DU/A、XPR2/A 电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); DK-98-II A 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); FLBP-250 万能高速粉碎机(上海菲力博食品机械有限公司); RODI-220A1 纯水机(厦门锐思捷水纯化技术有限公司); BT-9300H 激光粒度分布仪(丹东百特仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 黄芪甲苷(批号 110715-202118, 纯度 96.8%)、黄芩苷(批号 110715-202122, 纯度 94.2%)、甘油三油酸酯(批号 111692-202007, 纯度 99.6%)、吉马酮(批号 111665-201906, 纯度 99.8%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。仁术健胃颗粒(苏药制药 Z04001773,

收稿日期: 2023-05-10

基金项目: 江苏省科技成果转化专项资金(BA2020005); 江苏省知识产权战略推进计划项目(ZT20210180-33); 南京市高价值专利培育计划项目(2021)

作者简介: 贵书琪(1996—), 女, 硕士生, 从事中药创新药物研究。Tel: 18351928347, E-mail: gsq18351928347@163.com

* **通信作者:** 郑艳萍(1981—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药创新药物研究。Tel: (025) 52154693, E-mail: zyp611@163.com

成俊(1972—), 男, 硕士, 副主任中药师, 从事中药创新药物研究。Tel: (025) 52154693, E-mail: cj9119@sina.com

批号 2103004、2108014、2109017)。甲醇、磷酸、乙腈、二氯甲烷为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为纯化水。

炙黄芪（批号 200801）、酒黄芩（批号 200902）均购自安徽亳药千草国药股份有限公司；薏苡仁（批号 200901）、白花蛇舌草（批号 200801）均购自国药集团北京华邈药业有限公司；莪术（批号 200801）购自广西三丰现代农业有限公司；麸炒白术（批号 200904）购自安徽亳药千草中药饮片有限公司；半边莲（批号 201001）、仙鹤草（批号 201001）均购自安徽金国源中药股份有限公司，经南京中山制药有限公司质量部专家检测均符合 2020 年版《中国药典》规定，南京中山制药有限公司赵开军执业药师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 生产工艺验证研究

2.1.1 生产工艺 在仁术健胃颗粒（批件号 2003L04442）处方量基础上，放大投料，连续生产 3 批。处方中，薏苡仁、白术粉碎成超微粉；莪术水蒸气蒸馏法提取挥发油，β-环糊精包合，得到药渣 I 及水溶液另置，备用；炙黄芪、半边莲、白花蛇舌草用乙醇回流提取，提取液过滤，回收

乙醇，滤液浓缩至适量，得到清膏 I 和药渣 II；药渣 II、药渣 I 与酒黄芩、仙鹤草加水煎煮，与莪术油提取后的水溶液过滤，浓缩，得到清膏 II；清膏 I 与清膏 II 合并，浓缩成清膏 III；取清膏 III，加入薏苡仁和白术超微粉、莪术油 β-环糊精包合物，得中间体；中间体与适量糊精、甜菊糖苷混合，制成颗粒，干燥，整粒，包装，即得。

2.1.2 生产结果 根据“2.1.1”项下生产工艺流程进行生产，得到生产数据，计算清膏密度（密度计测定）、清膏得率、干膏率、超微粉粒径（激光粒度分布仪测定）、超微粉出率、包合物出率、成品率，公式为清膏得率=（清膏 III 数量/饮片投料量）×100%、干膏率=（干膏质量_{取样}/湿膏质量_{取样}）×100%、超微粉出率=（白术薏苡仁混合超微粉质量/白术薏苡仁饮片总质量）×100%、包合物出率=〔挥发油包合物量/（莪术挥发油量+β-环糊精量）〕×100%、成品率=〔成品数量/理论产量（即固体辅料总量+清膏 III 折合干膏量）〕×100%，中间体批号分别为 2102、2103、2104，颗粒相应批号分别为 210701、210702、210703，结果见表 1，可知从提取、打粉、包合到制粒整个过程生产数据相对稳定。

表 1 生产数据结果

工艺	相关参数	2102/210701	2103/210702	2104/210703
		投料或产出量/kg	投料或产出量/kg	投料或产出量/kg
提取	第 1 次醇提液	314.0	316.2	325.9
	第 2 次醇提液	385.5	383.8	381.9
	清膏 I（60℃测得）	26.7/相对密度 1.12	29.7/相对密度 1.13	29.8/相对密度 1.14
	第 1 次水提液	722.2	737.7	744.9
	第 2 次水提液	816.2	869.4	870.8
	清膏 II（60℃测得）	48.0/相对密度 1.13	35.0/相对密度 1.15	38.0/相对密度 1.14
	清膏 III（60℃测得）	25.5/相对密度 1.30	31.0/相对密度 1.30	29.9/相对密度 1.30
	清膏 III 得率/%	27.96	33.99	32.79
	清膏 III 干膏率/%	60.10	55.64	63.14
打粉	麸炒白术	20	20	20
	薏苡仁	20	20	20
	白术薏苡仁混合超微粉	35.5	36.5	37.0
	粒径/μm	16.050	16.395	17.165
	超微粉出率/%	88.75	91.25	92.50
包合	莪术挥发油体积/mL	85	89	91
	β-环糊精	0.680	0.712	0.728
	挥发油包合物	0.42	0.44	0.45
	包合物出率/%	54.90	54.93	54.95
制粒	清膏 III	25.5	31.0	29.9
	白术薏苡仁混合超微粉	26	26	26
	糊精（水分 6.5%）	8.58	6.48	4.65
	莪术油包合物	0.42	0.44	0.45
	甜菊糖苷	0.25	0.25	0.25
	成品数量	43.7	46.5	44.5
	尾料	2.0	1.6	1.8
	成品率/%	87.37	93.01	89.13

2.2 指标成分检测方法建立

2.2.1 色谱条件

2.2.1.1 条件 1（黄芪甲苷） Waters Symmetry® 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相甲醇-水（76：24）；体

积流量 1.0 mL/min；蒸发光散射检测器；漂移管温度 82℃；载气流量 1.95 L/min；柱温 30℃；进样量 20 μL。分离度大于 1.5，理论塔板数按黄芪甲苷峰计，不低于 5 000。

2.2.1.2 条件 2（黄芩苷） YMC-Pack ODS-A 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相甲醇-水-磷酸（47：53：0.2）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 35℃；进样量 10 μL；检测波长 280 nm。分离度大于 3.0，理论塔板数按黄芩苷峰计，不低于 8 000。

2.2.1.3 条件 3（甘油三油酸酯） YMC-Pack ODS-A 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-二氯甲烷（65：35）；体积流量 1.0 mL/min；蒸发光散射检测器；漂移管温度 82℃；载气流量 1.95 L/min；柱温 30℃；进样量 10 μL。分离度大于 5.0，理论塔板数按甘油三油酸酯峰计，不低于 30 000。

2.2.1.4 条件 4（吉马酮） YMC-Pack ODS-A 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.1% 磷酸水（B），梯度洗脱（0～15 min，55% A；15～40 min，55%～70% A；40～42 min，70%～85% A）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 25℃；进样量 10 μL；检测波长 215 nm。分离度大于 6.0，理论塔板数按吉马酮峰计，不低于 60 000。

2.2.2 对照品溶液制备 取黄芪甲苷对照品适量，精密称定质量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.4、0.2 mg 的对照品溶液。取黄芩苷对照品适量，60℃下减压干燥 4 h，精密称定质量，加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 20、60 μg 的对照品溶液。取甘油三油酸酯对照品适量，精密称定，加乙腈-正丁醇（65：35）制成每 1 mL 含 50、150 μg 的对照品溶液。取吉马酮对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 10、40 μg 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备

2.2.3.1 黄芪甲苷 取仁术健胃颗粒约 4 g，研细，平行 2 份，精密称定，置索氏提取器中，加甲醇 35 mL，冷浸过夜，再加甲醇适量，加热回流 4 h，提取液回收甲醇并浓缩至干，残渣加水 10 mL，微热使溶解，用水饱和正丁醇振摇提取 3 次，每次 20 mL，合并正丁醇提取液，氨液提取 2 次，每次 20 mL，弃去氨液，将正丁醇液蒸干，残渣加水 3~5 mL 溶解，放冷，通过 D101 大孔吸附树脂柱（内径 1.5 cm，长 12 cm），以 50 mL 水洗脱，弃去水液，再用 40% 乙醇 30 mL 洗脱，弃去 40% 乙醇洗脱液，再用 70% 乙醇 50 mL 洗脱，收集洗脱液，蒸干，甲醇溶解并转移至 2 mL 量瓶内，加甲醇至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。精密称取第 1 次醇提液、第 2 次醇提液、清膏Ⅰ、清膏Ⅲ适量，平行 2 份，回收溶剂并浓缩至干，其余步骤同上，得相应中间体的供试品溶液。取炙黄芪饮片适量，按照 2020 年版《中国药典》炙黄芪黄芪甲苷含量测定项下方法制备。

2.2.3.2 黄芩苷 取仁术健胃颗粒约 1 g，研细，平行 2 份，精密称定，加 70% 乙醇 40 mL，加热回流 3 h，放冷，过滤，滤液置于 100 mL 量瓶中，用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣，洗液滤入同一量瓶中，加 70% 乙醇至刻度，摇匀，精密量取 1 mL，置 10 mL 量瓶中，加 70% 乙醇至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。精密称取第 1 次

水提液、第 2 次水提液、清膏Ⅱ、清膏Ⅲ适量，平行 2 份，分别加入适量 70% 乙醇超声处理 20 min，放冷，过滤，滤液置于 100 mL 量瓶中，用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣，洗液滤入同一量瓶中，加 70% 乙醇至刻度，摇匀（其中清膏Ⅲ在此基础上稀释 10 倍后进样），0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。取酒黄芩饮片中粉约 0.3 g，平行 2 份，精密称定，其余步骤同上，即得。

2.2.3.3 甘油三油酸酯 取仁术健胃颗粒约 4 g，研细，平行 2 份，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入乙腈-正丁醇（65：35）50 mL，称定质量，浸泡 2 h，超声处理 1 h，放冷，流动相补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。精密称取白术薏苡仁混合超微粉和饮片粉末适量，平行 2 份，其余步骤同上，即得。

2.2.3.4 吉马酮 取仁术健胃颗粒约 1 g，研细，平行 2 份，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，称定质量，超声提取 45 min，放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。精密称取莪术挥发油、挥发油包合物及饮片粉末适量，平行 2 份，其余步骤同上，即得，其中挥发油续滤液稀释 50 倍后进样。

2.2.4 阴性样品溶液制备 按照仁术健胃颗粒工艺，分别制备缺炙黄芪、缺酒黄芩、缺薏苡仁、缺莪术阴性颗粒的阴性样品，再按“2.2.3”项下方法处理，即得。

2.2.5 专属性考察 精密吸取对照品、供试品（210701）、阴性样品溶液适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1，可知供试品溶液中各成分色谱峰分离度理想，阴性样品溶液在相应位置处未见色谱峰，表明该方法专属性良好。

2.2.6 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品适量，甲醇制成 1.461 7 mg/mL 对照品溶液，依次稀释至 1.169 3、0.974 5、0.779 6、0.584 7、0.389 8、0.194 9、0.097 4、0.048 7 mg/mL，在“2.2.1.1”项色谱条件下进样测定。以进样量自然对数值为横坐标（X），峰面积自然对数值^[11]为纵坐标（Y）进行回归。

精密称取黄芩苷对照品适量，70% 乙醇制成 152.886 6 μg/mL 对照品溶液，依次稀释至 129.953 6、76.443 3、57.332 5、38.221 7、19.110 8、9.555 4、4.777 7 μg/mL，在“2.2.1.2”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归。

精密称取甘油三油酸酯对照品适量，乙腈-正丁醇（65：35）制成 220.713 6 μg/mL 对照品溶液，依次稀释至 154.499 5、108.149 7、75.704 8、52.993 4、31.796 0、19.077 6 μg/mL，在“2.2.1.3”项色谱条件下进样测定。以进样量自然对数值为横坐标（X），峰面积自然对数值为纵坐标（Y）进行回归。

精密称取吉马酮对照品适量，甲醇制成 80.838 0 μg/mL 对照品溶液，依次稀释至 40.419 0、10.104 8、5.052 4、2.021 0、1.010 5、0.505 2 μg/mL，在“2.2.1.4”项色谱

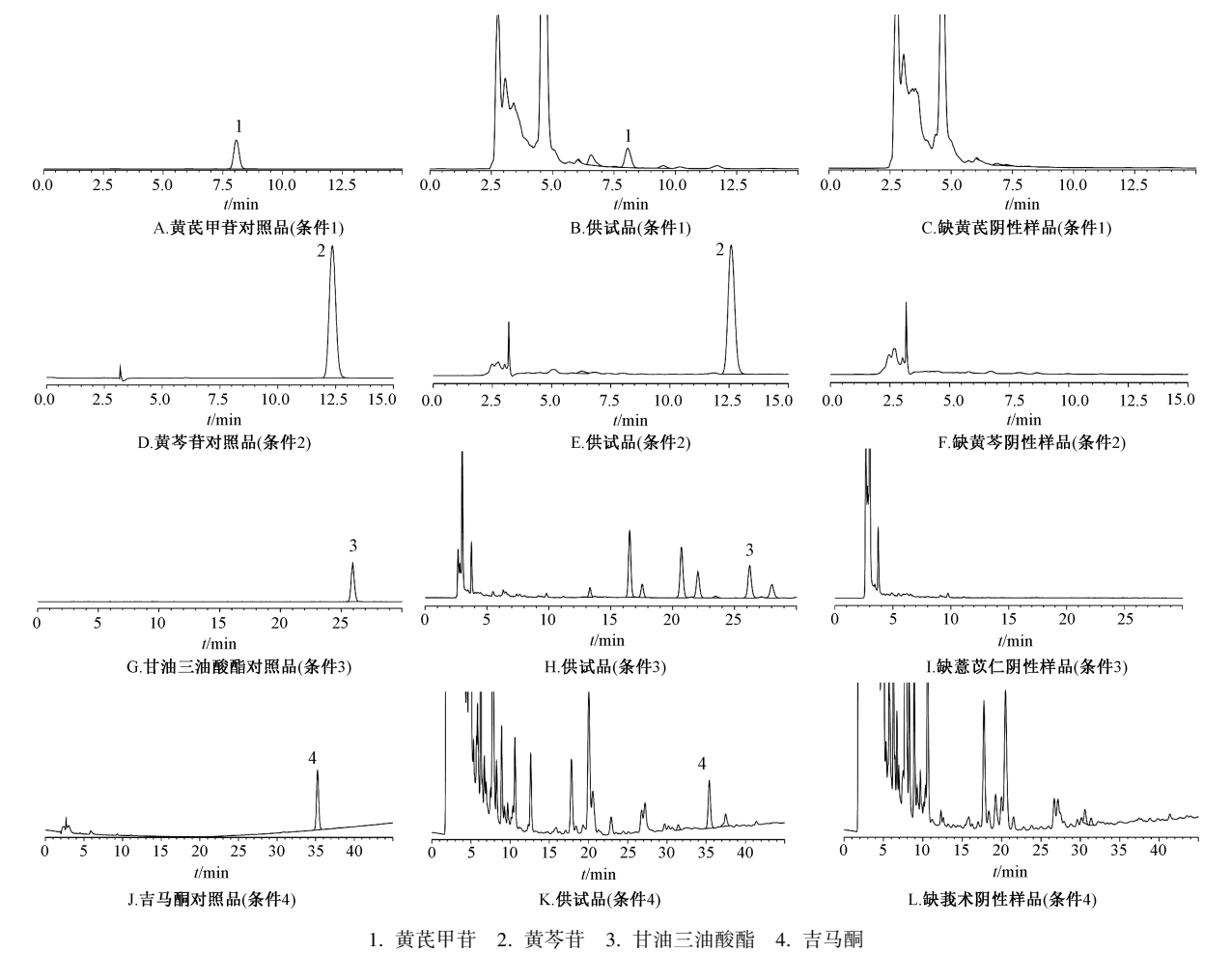


图 1 各成分 HPLC 色谱图

条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（ X ），峰面积为纵坐标（ Y ）进行回归。结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

成分	回归方程	R^2	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
黄芪甲苷	$Y=1.398\ 9X+4.949\ 6$	0.998 8	48.722 7~1 461.680 0
黄芩苷	$Y=37\ 145X-2\ 439.1$	0.999 8	4.777 7~129.953 6
甘油三油酸酯	$Y=1.790\ 1X+4.831\ 6$	0.999 9	19.077 6~220.713 6
吉马酮	$Y=32\ 370X+3\ 293.1$	0.999 9	0.505 2~80.838 0

2.2.7 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液（210701），在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯、吉马酮峰面积 RSD 分别为 2.58%、0.21%、1.72%、0.55%，表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液（210701），于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯、吉马酮峰面积 RSD 分别为 2.99%、0.35%、1.55%、1.09%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

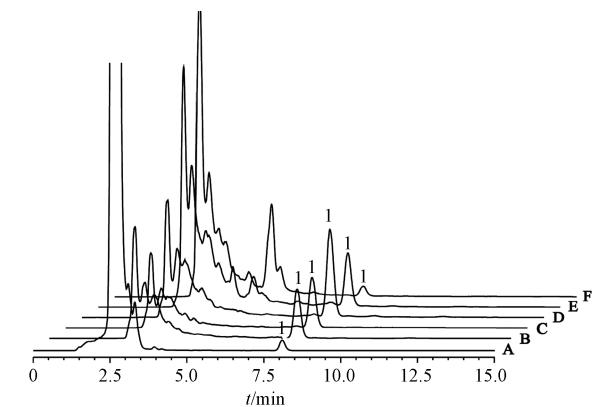
2.2.9 重复性试验 取仁术健胃颗粒（210701）适量，按

“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯、吉马酮含量 RSD 分别为 2.60%、0.66%、2.74%、1.44%，表明该方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取各成分含量已知的仁术健胃颗粒（210701）适量，按 80%、100%、120% 水平加入对照品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，平行 3 份，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯、吉马酮平均加样回收率分别为 88.18%、100.39%、94.12%、101.30%，RSD 分别为 2.03%、1.56%、2.76%、1.93%。

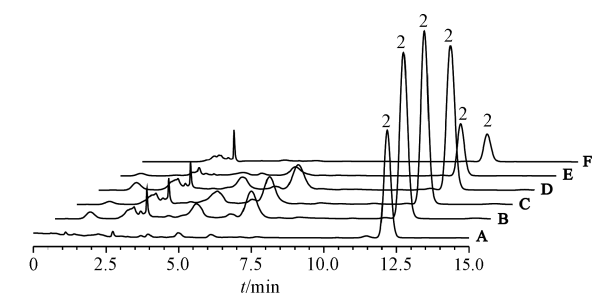
2.3 检测分析结果 按“2.1”项下生产工艺制备 3 批仁术健胃颗粒生产过程各环节取样样品，按“2.2”项下方法进行相应成分分析，图 2~5 为饮片、不同中间体以及江苏省中医院（简称“省中”）生产的仁术健胃颗粒色谱图，南京中山制药有限公司（简称“中山”）仁术健胃颗粒和阴性样品色谱图见图 1，表 3 中山和省中成品颗粒含量比较结果及其计算所得服用量。由表 3 可知，中山与省中仁术健胃颗粒对比，每次服用相同生药量（中山本品每次服用量 12 g 相当于省中本品每次服用量 20 g）的情况下，黄芩苷每次服用量相近；黄芪甲苷每次服用量中山为 3.05~

4.01 mg, 省中为 0.75~1.66 mg, 差异较大; 在中山仁术健胃颗粒中检测出甘油三油酸酯和吉马酮, 而在省中仁术健胃颗粒中则未检测到。



注: A 为黄芪饮片, B 为第 1 次醇提液, C 为第 2 次醇提液, D 为清膏Ⅱ, E 为清膏Ⅲ, F 为省中仁术健胃颗粒。

1. 黄芪甲苷
图 2 黄芪甲苷 HPLC 色谱图

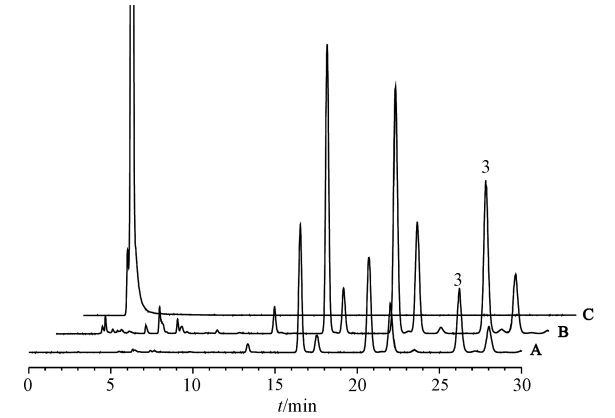


注: A 为黄芩饮片, B 为第 1 次水提液, C 为第 2 次水提液, D 为清膏Ⅰ, E 为清膏Ⅲ, F 为省中仁术健胃颗粒。

2. 黄芩苷
图 3 黄芩苷 HPLC 色谱图

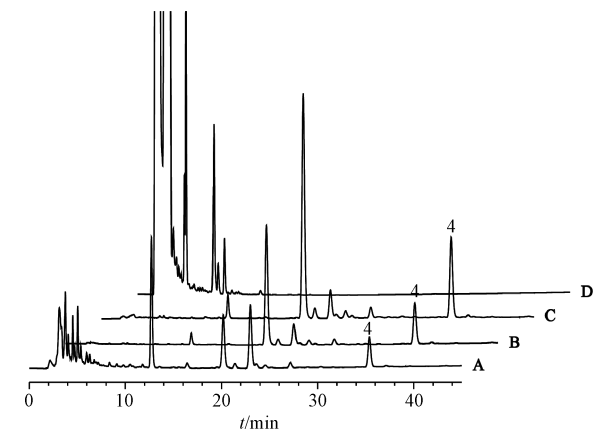
2.4 生产过程控制研究

2.4.1 转移率 炙黄芪饮片 3 批投料量均为 19.2 kg, 白术、薏苡仁饮片用量比例 1:1, 分别为白术、薏苡仁混合超微粉实际投料量/各批次超微粉出率×1/2, 其他饮片 3



注: A 为薏苡仁饮片, B 为白术薏苡仁混合超微粉, C 为省中仁术健胃颗粒。

3. 甘油三油酸酯
图 4 甘油三油酸酯 HPLC 色谱图



注: A 为莪术饮片, B 为莪术挥发油, C 为莪术油包合物, D 为省中仁术健胃颗粒。

4. 吉马酮
图 5 吉马酮 HPLC 色谱图

批投料量均为 14.4 kg, 计算成分总量、转移率, 公式为成分总量=平均含量×投料量或产出量、转移率=(当前环节成分总量/转移环节成分总量)×100%, 结果见表 4。

批号	含量/(mg·g ⁻¹)				每次服用量/mg			
	黄芪甲苷	黄芩苷	甘油三油酸酯	吉马酮	黄芪甲苷	黄芩苷	甘油三油酸酯	吉马酮
210701	0.254 1	16.305 3	1.183 0	0.084 5	3.05	195.66	14.20	1.01
210702	0.283 4	18.405 4	1.010 5	0.085 8	3.40	220.87	12.13	1.03
210703	0.334 2	17.418 4	1.173 6	0.097 9	4.01	209.02	14.08	1.17
2103004	0.083 2	9.557 4	—	—	1.66	191.15	—	—
2108014	0.037 7	8.872 5	—	—	0.75	177.45	—	—
2109017	0.040 0	9.077 2	—	—	0.80	181.54	—	—

注: 中山仁术健胃颗粒每次服用 1 袋, 每天 3 次, 规格为每袋 12 g; 省中仁术健胃颗粒每次服用 2 袋, 每天 3 次, 规格为每袋 10 g。

2.4.2 结果分析 由表 4 数据得到各指标成分转移率的变化趋势, 见图 6。仁术健胃颗粒生产过程中提取浓缩、打粉、包合、制粒各个环节转移率均相对稳定; 从清膏Ⅰ与清膏Ⅱ混合后浓缩到清膏Ⅲ黄芪甲苷转移率稳定, RSD 仅为 0.61%, 而此过程批号 2102 黄芩苷转移率仅为 61.84%,

其余批次均在 77% 以上, RSD 达 13.34%; 从清膏Ⅲ到仁术健胃颗粒黄芩苷转移率较平行, 而该过程黄芪甲苷转移率分别为 71.89%、95.12%、85.01%; 制粒过程中甘油三油酸酯转移率仅为 45%~55%; 莪术油提取阶段吉马酮的转移率均小于 50%。

表 4 转移率测定结果

成分	饮片/中间体/成品	成分总量/g			转移率/%			转移率 RSD/%
		2102/210701	2103/210702	2104/210703	2102/210701	2103/210702	2104/210703	
黄芪甲苷	炙黄芪饮片	24. 07	—	—	—	—	—	—
	总醇提液	21. 65	19. 84	22. 51	89. 95	82. 43	93. 52	6. 39
	清膏Ⅰ	17. 02	15. 26	19. 18	78. 61	76. 92	85. 21	5. 46
	清膏Ⅲ	16. 15	14. 33	18. 21	94. 89	93. 91	94. 94	0. 61
	颗粒	11. 61	13. 63	15. 48	71. 89	95. 12	85. 01	13. 86
	饮片-颗粒	—	—	—	48. 23	56. 63	64. 31	14. 26
黄芩苷	酒黄芩饮片	1 614. 15	—	—	—	—	—	—
	总水提液	1 570. 94	1 587. 48	1 559. 15	97. 32	98. 35	96. 59	0. 91
	清膏Ⅱ	1 481. 93	1 284. 87	1 324. 72	94. 33	80. 94	84. 96	7. 92
	清膏Ⅲ	916. 49	997. 57	1 054. 68	61. 84	77. 64	79. 62	13. 34
	颗粒	745. 15	885. 30	806. 47	81. 30	88. 75	76. 47	7. 53
	饮片-颗粒	—	—	—	46. 16	54. 85	49. 96	8. 66
甘油三油酸酯	薏苡仁饮片	111. 92	108. 85	107. 38	—	—	—	—
	混合超微粉	99. 25	104. 27	99. 16	88. 68	95. 79	92. 34	3. 85
	颗粒	54. 07	48. 60	54. 34	54. 48	46. 61	54. 80	8. 93
	饮片-颗粒	—	—	—	48. 31	44. 65	50. 61	6. 28
吉马酮	莪术饮片	18. 69	—	—	—	—	—	—
	莪术挥发油	8. 00	8. 15	8. 58	42. 80	43. 61	45. 91	3. 66
	莪术油包合物	5. 98	6. 32	6. 75	74. 75	77. 55	78. 67	2. 62
	颗粒	3. 86	4. 13	4. 53	64. 55	65. 35	67. 11	1. 99
	饮片-颗粒	—	—	—	20. 65	22. 10	24. 24	8. 09

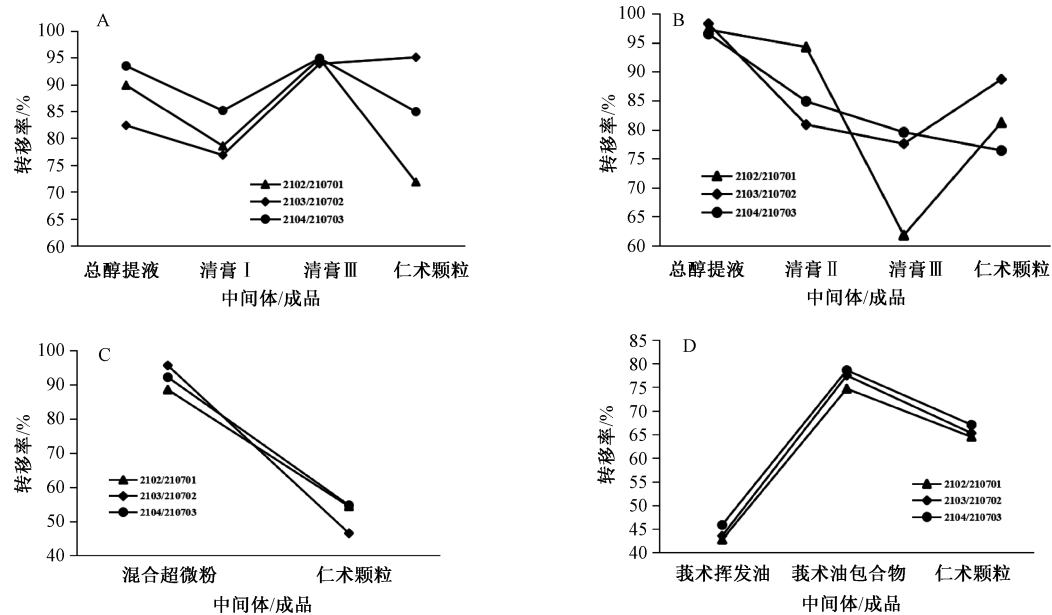


图 6 黄芪甲苷 (A)、黄芩苷 (B)、甘油三油酸酯 (C)、吉马酮 (D) 转移率变化

3 讨论

3.1 指标成分选择 就处方配伍组成而言,君药黄芪益元气健脾;黄芩清胃中湿热;薏苡仁消瘤抗癌;莪术化痰软坚。以上诸药配伍,共奏补气、活血、改善微循环之功,增强胃粘膜免疫力,阻断胃癌前病变的发展,促进肠化、异型增生的康复^[12]。另外,黄芪、黄芩、薏苡仁、莪术分别代表醇提、水提、超微粉碎、挥发油包含 4 个关键控制点。就成分选择而言,4 种成分在相应阴性样品中无干扰,较稳定,且黄芪甲苷、黄芩苷、甘油三油酸酯为 2020 年版

《中国药典》中规定的对应饮片含量测定成分^[13]。研究表明黄芪甲苷是黄芪发挥益气功效的主要物质^[14];黄芩苷具有抑菌抗炎、解热的功效^[15];薏苡仁油中甘油三油酸酯具有抗肿瘤作用^[16];吉马酮具有改善血液流变性、抗血小板聚集等作用^[17]。另外,4 种成分均能改善慢性萎缩性胃炎模型大鼠的胃黏膜病理病变,抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡^[18-23]。综上所述,本研究选取的指标成分可能为仁术健胃颗粒发挥药效的物质,并且能够较为全面反映各个环节药效成分的量值传递情况。

3.2 含量测定 本研究中 4 种指标成分极性差异较大, 故供试品溶液制备过程及色谱条件等不一。对提取溶剂、提取时间进行了考察, 对洗脱条件、载气流量等条件进行了筛选, 提高了检测成分的分离度及方法的准确度^[24]。

本研究中, 黄芪甲苷的回收率相对较低, 主要是由于仁术健胃颗粒成分复杂, 不适用 2020 年版《中国药典》黄芪中测定黄芪甲苷的前处理方法。本研究方法供试品前处理步骤繁琐, 影响因素较多, 处理过程中各个环节误差叠加, 导致回收率偏低。2020 年版《中国药典》规定, 样品中待测定成分含量在 100 μg/g、1 mg/g、10 mg/g 时, 加样回收率限度分别为 85%~110%、90%~108%、92%~105%, 结合表 3 可知本研究结果满足 4 种成分的检测需求。

3.3 转移率 黄芪甲苷和黄芩苷提取过程转移率均达到 80% 以上, 而从总醇(水)提液到清膏Ⅰ(Ⅱ)的黄芪甲苷和黄芩苷转移率均有所下降; 清膏Ⅰ与清膏Ⅱ混合浓缩到清膏Ⅲ过程中, 批号 2102 清膏Ⅲ黄芩苷的转移率相比其余批次差异较大。导致上述结果的可能原因一方面是浓缩时温度和压力控制不当, 皂苷类成分如黄芪甲苷容易起泡, 一部分成分随着溶剂进入回收溶剂罐内。另一方面, 在将浓缩液放出取样称重时, 浓缩罐内难免会残留一部分清膏。因此浓缩作为一个关键控制点, 应该严格把控。

另外, 从清膏Ⅰ与清膏Ⅱ混合后浓缩到清膏Ⅲ黄芪甲苷转移率约为 94%, 相对于该步骤黄芩苷转移率(61.84%~79.62%)明显偏高, 其原因可能为醇提后药渣Ⅱ仍含有一部分的黄芪甲苷而后继续水提最终转移至清膏Ⅲ中。

甘油三油酸酯在超微粉碎过程转移率达 88% 以上, 影响的主要因素是超微粉出率。吉马酮在莪术油包合过程中转移率也不低, 这也进一步说明超微粉碎及挥发油包合这 2 种先进的工艺技术能够充分保留药效成分。影响甘油三油酸酯总转移率的关键步骤是制粒过程, 而莪术油的提取过程是限制吉马酮量值传递的首要因素。

制粒时药液的黏度与流量、进出风口的温度等控制不当会发生粘壁现象, 底料中的白术薏苡仁超微粉和莪术油包合物以及药液中的清膏Ⅲ中成分的损耗是导致这一环节三批转移率偏低和不太稳定的主要原因, 应引起重视。

3.4 与省中院内制剂比较 结果表明, 在服用中山和省中颗粒时每次服用黄芩苷量相近, 而黄芪甲苷差异较大, 主要原因是省中在该制剂工艺中所有药材均使用水提取, 而中山根据药材成分性质, 对酒黄芩使用水提, 对炙黄芪使用醇提, 提取更为完全。超微粉碎及莪术油的提取保留了一些不溶于水的极性比较小的成分如甘油三油酸酯和吉马酮, 所以在省中本品中检测不到两者。另外, 中山工艺中对醇提后的药渣和莪术药渣还进一步用水提取, 工艺精巧巧妙而又不失科学。

4 结论

本研究对仁术健胃颗粒采用量值传递规律的方法进行研究, 此种质量控制模式依托各生产环节的衔接, 每个环

节设有“输入质量”与“输出质量”^[25], 加以科学合理的指标进行评估, 强调了中药复方研究过程的整体性和全程可追溯性。从与省中仁术健胃颗粒院内制剂比较得出, 中山在其基础上对工艺进行了深入研究, 更大程度上保留了药效成分, 提高了临床疗效, 是中药现代化制剂研究的典范, 对传统复方中成药二次开发具有指导作用。

参考文献:

[1] 杜 琳. 单兆伟教授慢性萎缩性胃炎证治经验辑要[D]. 南京: 南京中医药大学, 2005.

[2] 史淋峰. 仁术健胃颗粒对慢性萎缩性胃炎的实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.

[3] 朱萱莹, 史淋峰, 倪文澎, 等. 仁术健胃颗粒干预脾气虚证 CAG 大鼠对 COX-2 和 EGFR 表达的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(2): 236-239; 449.

[4] 李梦莹, 徐陆周, 单兆伟. 基于 NF-κB (p65) /CyclinE 通路芪竹二术二草汤干预慢性萎缩性胃炎癌前期病变的研究[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2015, 17(10): 2119-2124.

[5] Gao W J, Chen F, Wang X, *et al.* Recent advances in processing food powders by using superfine grinding techniques: A review[J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(4): 2222-2255.

[6] 金顺福, 刘美辉, 濮存海. 超微粉碎技术在仁术健胃颗粒剂中应用[J]. 中成药, 2005, 27(1): 15-18.

[7] 李艺博, 李 娟, 刘碧原, 等. 中药超微粉碎技术应用概况[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4568-4570.

[8] 罗国平, 闫梦茹, 孟会宁, 等. 复方丁香挥发油的提取和包合工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(5): 70-76.

[9] Loh Z H, Er D Z L, Chan L W, *et al.* Spray granulation for drug formulation[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(12): 1645-1661.

[10] 张 丽, 张爱华, 张晓骞, 等. HPLC-ELSD 法测定仁术健胃颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(12): 1018-1021.

[11] 杜茂波, 张 敏, 沈 硕, 等. 黄芪中黄芪甲苷含量测定的新方法探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 132-137.

[12] 张 廷, 孙惠丽, 严士海, 等. 仁术健胃颗粒含药血清对 MC 细胞增殖及凋亡相关因子表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(34): 3776-3781; 3822.

[13] 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.

[14] 雷 明. 补阳还五汤及黄芪红花“益气活血”功效物质基础的移行分析[D]. 广州: 广东药学院, 2015.

[15] 彭程程, 许清松, 朱 娜, 等. 葛根苓连汤先煎葛根后下诸药的解表清里功效相关成分分析[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(6): 1357-1360.

[16] 李晓凯, 顾 坤, 梁慕文, 等. 薏苡仁化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(21): 5645-5657.

[17] 秦宇雯, 费程浩, 张 伟, 等. 姜黄属中药活血化瘀功效关联物质研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 24-35.

- [18] 李祎群, 谢建群, 龚雨萍, 等. 黄芪甲苷对慢性萎缩性胃炎大鼠的影响[J]. 复旦学报(医学版), 2015, 42(5): 601-606.
- [19] 蔡甜甜, 潘华峰, 张成哲, 等. 黄芪甲苷保护胃癌前病变大鼠胃黏膜损伤研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 4066-4070.
- [20] 牛 静, 孙 金, 张 迪, 等. 黄芩苷对慢性萎缩性胃炎模型鼠 OPG/RANKL 轴的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(8): 1434-1437.
- [21] 苏伟贤, 朱光辉, 肖焕擎, 等. 康莱特对胃癌细胞增殖及凋亡能力的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(4): 89-90.
- [22] 曾建红, 莫炫永, 戴 平, 等. 广西莪术挥发油抗肿瘤作用的谱效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 91-94.
- [23] 王 冬, 李 勇, 赵 群, 等. 莪术油注射液在胃癌患者围手术期应用的临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(5): 378-381.
- [24] 谢晓林, 李 娟, 张德柱, 等. 经典名方当归补血汤物质基准的质量标准研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(11): 1541-1546.
- [25] 黄仕文, 颜媛媛, 嵇 晶, 等. 经典名方质量研究及其量值传递关键技术[J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(3): 446-449.

薯蓣皂苷元滴丸制备工艺优化及其体内药动学研究

段黎娟, 黄小强, 贾 安, 王 丽, 黄 涛*

(黄河科技学院, 河南 郑州 450005)

摘要: 目的 优化薯蓣皂苷元滴丸制备工艺, 并考察其体内药动学。方法 以成型率为评价指标, 单因素试验考察基质种类、基质与药物比例、冷凝温度、滴距对成型率的影响, 测定体外溶出速率和累积溶出度。HPLC 法测定薯蓣皂苷元血药浓度, 计算主要药动学参数。结果 最佳条件为基质 PEG 4000, 基质与药物比例 6:1, 冷凝温度 10℃, 滴距 8 cm, 成型率为 95.68%, 30 min 内累积溶出度达 95.68%。与原料药、物理混合物比较, 滴丸 t_{\max} 缩短 ($P<0.01$), C_{\max} 、AUC 升高 ($P<0.01$), 相对生物利用度增加至 4.53 倍。结论 滴丸可提高薯蓣皂苷元溶出度和口服生物利用度。

关键词: 薯蓣皂苷元; 滴丸; 制备工艺; 体内药动学; 单因素试验; HPLC

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)03-0947-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.03.035

薯蓣皂苷元是一种甾体皂苷元, 广泛存在于豆科和薯蓣科植物中, 近几年的研究表明, 薯蓣皂苷元具有抗肿瘤、调血脂、抗老年痴呆、抗炎等活性, 具有开发成新药的潜力^[1-4]。但薯蓣皂苷元属于生物药剂学 II 类药物, 在水中溶解度极差^[5], 不利于药物溶出, $\log P$ 为 5.7, 提示其脂溶性较强^[6], 口服吸收生物利用度仅约为 7%^[7]。目前, 有薯蓣皂苷纳米混悬剂^[8]、固体分散体^[9]等新制剂技术报道。

滴丸是将基质熔融后加入难溶性药物, 充分分散均匀后滴入不相混溶的冷凝液(如二甲基硅油、液体石蜡等), 进而收缩、凝固形成一种固体丸剂^[10-12]。该剂型用药方便、工艺成熟、生产成本低, 符合我国中药企业实际水平。本研究对薯蓣皂苷元滴丸制备工艺参数进行考察, 并对溶散时限、体外溶出、重量差异等进行检查, 并以薯蓣皂苷

元原料药为参考, 比较薯蓣皂苷元滴丸口服后体内药动学及口服生物利用度, 以期薯蓣皂苷元制剂研究提供参考。

1 材料

FA2004B 型电子天平(德国赛多利斯公司); DWJ-2000S-D 型滴丸机(烟台康达尔药业有限公司); RYX-9 型溶出仪(北京北研科仪仪器有限责任公司); Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。薯蓣皂苷元对照品(批号 111539-20016, 纯度 98.0%, 中国食品药品检定研究院); 丹参酮 II A 对照品(批号 110766-201721, 纯度 98.2%, 中国食品药品检定研究院); 薯蓣皂苷元原料药(批号 201805117, 纯度 96.0%, 南京春秋生物工程有限公司)。聚乙二醇 4000 (PEG4000, 陕西正一药用辅料有限公司); 二甲基硅油(批号 20190519, 国药集团化学试剂有限公司)。家兔, 雌雄兼具, 体质量 1.8~2.4 kg, 购自

收稿日期: 2023-01-07

作者简介: 段黎娟(1989—), 女, 硕士, 讲师, 从事中药化学成分提取分离及其作用机制研究。Tel: (0371) 55289598, E-mail: dlj13676970093@126.com

*通信作者: 黄 涛(1972—), 男, 硕士, 教授, 从事基础医学实验研究。Tel: (0371) 68787667, E-mail: 419865751@qq.com