

- [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, 鲁 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, 以期为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

河南春盈生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(豫)2021-0002, 实验动物使用许可证号 SYXK(豫)2020-0008, 适应性饲养1周。动物实验均符合黄河科技学院人体科研和实验动物伦理委员会要求(伦理号2021-0007)。

2 方法与结果

2.1 薯蓣皂苷元含量测定 采用HPLC法。

2.1.1 色谱条件 Diamonsil Plus C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.05%磷酸(85:15);体积流量1.0 mL/min;柱温35℃;检测波长206 nm;进样量10 μL。

2.1.2 供试品溶液制备 取本品20丸,研钵中研细后精密称取粉末200 mg,置于三角瓶中,加入40%乙醇50 mL,超声处理15 min,静置至室温,40%乙醇补足减失的质量,过滤,精密量取1 mL续滤液至50 mL量瓶中,流动相定容至刻度,即得。

2.1.3 对照品液制备及线性关系考察 精密称取薯蓣皂苷元对照品适量,甲醇制成质量浓度为488.40 μg/mL的贮备液,流动相依次稀释至24.42、12.21、2.44、0.244、0.122、0.0305 μg/mL,即得,在“2.1.1”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,得方程为Y=114.3X+39.86(r=0.9996),在0.0305~24.42 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 重复性试验 取本品适量,按“2.1.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得薯蓣皂苷元含量RSD为1.65%,表明该方法重复性良好。

2.1.4.2 稳定性试验 取供试品溶液适量,于0、4、8、12、16、24 h在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得薯蓣皂苷元含量RSD为0.83%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.4.3 精密度试验 取0.0305、2.44、24.42 μg/mL对照品溶液适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定6次,测得薯蓣皂苷元含量RSD分别为0.70%、0.61%、0.89%,表明仪器精密度良好。

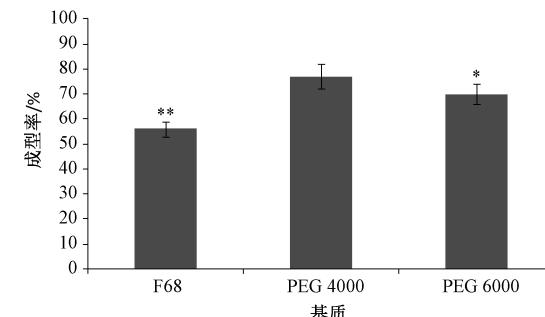
2.1.4.4 加样回收率试验 精密称取本品粉末9份,每份100 mg,置于三角瓶中,分为低、中、高3组,分别按照50%、100%、150%水平加入对照品适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,计算回收率。结果,薯蓣皂苷元平均加样回收率分别为101.65%、98.79%、99.04%,RSD分别为1.43%、0.89%、1.50%。

2.2 滴丸制备及成型率测定 参考文献[12]报道,称取适量基质至滴丸机中,在70℃下加热熔融,加入适量薯蓣皂苷元原料药粉末(过80目筛),搅拌10 min分散均匀,在一定滴距和冷凝液(二甲基硅油)温度下以(35±2)滴/min的滴速滴制,取出,滤纸吸净冷凝剂,即得,

每组平行制备约400丸。然后,筛选出外形圆整光滑的滴丸作为合格品,计数后测定成型率,公式为成型率=(合格滴丸数/总滴丸数)×100%。

2.3 单因素试验

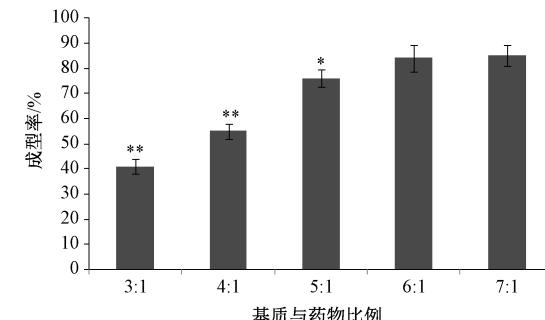
2.3.1 基质种类 固定基质与药物比例1:5,冷凝温度10℃,滴距7 cm,分别考察基质F68、PEG 4000、PEG 6000对成型率的影响,结果见图1。由此可知,以PEG 4000为基质时成型率最高,可能是由于其熔点、熔融液黏度较低,适合制备滴丸^[13];熔融状态下黏度较高的基质(F68、PEG 6000)在收缩、凝固形成滴丸时圆整度较差,从而影响成型率,故选择PEG 4000作为基质。



注:与PEG 4000比较, *P<0.05, **P<0.01。

图1 基质种类对成型率的影响(n=3)

2.3.2 基质与药物比例 固定基质PEG 4000,冷凝温度10℃,滴距7 cm,分别考察基质与药物比例3:1、4:1、5:1、6:1、7:1对成型率的影响,结果见图2。由此可知,当基质与药物比例较低时成型率较低,可能是由于药物用量会对熔融液黏度产生一定影响^[14];随着两者比较增加成型率升高,在6:1后无明显差异(P>0.05),故选择6:1作为基质与药物比例。

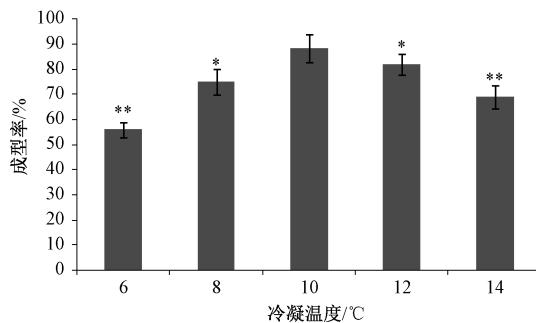


注:与6:1比较, *P<0.05, **P<0.01。

图2 基质与药物比例对成型率的影响(n=3)

2.3.3 冷凝温度 固定基质PEG 4000,基质与药物比例6:1,滴距7 cm,分别考察冷凝温度6、8、10、12、14℃对成型率的影响,结果见图3。由此可知,冷凝温度过低或过高时熔融液滴冷凝过快或过慢,导致其外观圆整度较差,为10℃时最高,故选择10℃作为冷凝温度。

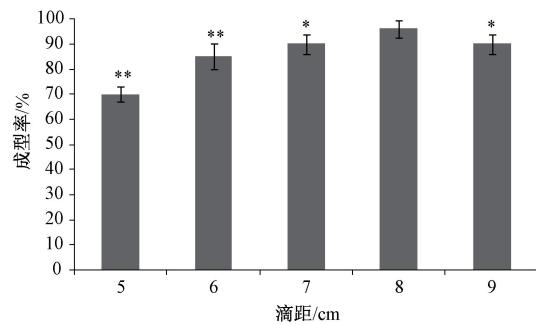
2.3.4 滴距 固定基质PEG 4000,基质与药物比例6:1,冷凝温度10℃,分别考察滴距5、6、7、8、9 cm对成型率的影响,结果见图4。由此可知,滴距较小时熔融液滴



注: 与10℃比较, *P<0.05, **P<0.01。

图3 冷凝温度对成型率的影响 (n=3)

未收缩成球形,即进入冷凝液;滴距较大时容易出现连珠或撞击冷凝液面变形,从而影响滴丸圆整度,为8 cm时最高,故选择8 cm作为滴距。



注: 与8 cm比较, *P<0.05, **P<0.01。

图4 滴距对成型率的影响 (n=3)

2.4 验证试验 根据单因素试验结果,确定最优工艺为基质PEG 4000,按照基质与药物比例6:1称取薯蓣皂苷元原料药粉末(过80目筛)和PEG 4000适量,先将后者置于滴丸机中,在70℃下加热熔融,再加入前者搅拌10 min,分散均匀,在滴距8 cm、冷凝液(二甲基硅油)温度10℃下滴制,取出,滤纸吸净冷凝剂,即得。平行制备3批,进行验证试验,测得平均成型率为95.68%,RSD为0.43%,表明该工艺稳定可行,所制备的滴丸符合预期效果。

2.5 重量差异及溶散时限检查 取本品20丸,测得平均质量 $W_{\text{平均}}$ 为0.0447 g,再精密称取每丸质量 W_i ,计算重量差异,公式为重量差异=($W_i/W_{\text{平均}}$)×100%;另取6丸,选择2.0 mm筛网,采用加挡板法测得其平均直径为4.16 mm,均符合2020年版《中国药典》规定,具体见表1。

表1 滴丸重量差异及溶散时限检查结果 (n=3)

批号	外观	最大重量差异/%	溶散时限/min
20211101	圆整,光滑	-4.06	6.9
20211102	圆整,光滑	6.85	7.3
20211103	圆整,光滑	5.73	7.1

2.6 体外溶出研究 取薯蓣皂苷元原料药约13 mg、物理混合物约90 mg(基质与药物比例6:1),装于胶囊壳中,

另取滴丸2丸,置于沉降篮中,以900 mL 0.5% SDS溶液为溶出介质^[5],在温度、转速分别为100 r/min、(37±1)℃下于5、10、15、30、45、60 min各取样5 mL,同时补液5 mL,0.45 μm微孔滤膜过滤,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,计算累积溶出度,结果见图5。由此可知,原料药累积溶出度为33.16%,物理混合物提高至39.71%,而滴丸30 min内即达95.68%,基本溶出完毕。

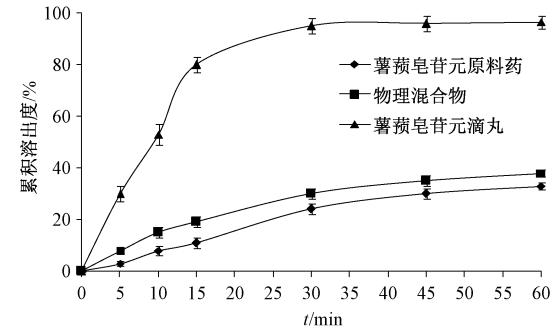


图5 薯蓣皂苷元体外溶出曲线 (n=6)

2.7 体内药动学研究

2.7.1 分组、造模与给药 取禁食12 h的家兔18只,随机分为3组,分别按10.0 mg/kg剂量温水送服原料药、物理混合物、滴丸,于0.5、1、2、3、4、6、8、12、16、18、24 h取耳静脉血各约2 mL,立即置于肝素化离心管中,3 000 r/min离心5 min,取血浆至空白离心管中,冷冻保存。

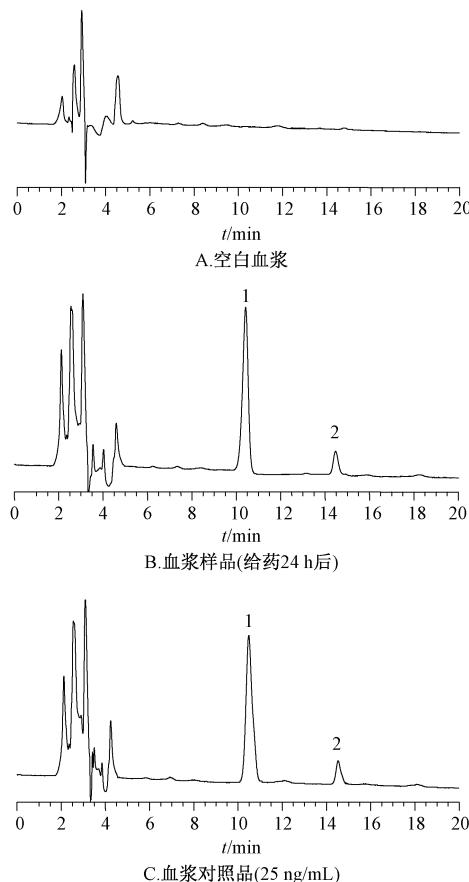
2.7.2 样品处理 参考文献[8]报道,将血浆样品在室温下解冻后精密量取200 μL,置于1.5 mL EP管中,加入内标溶液200 μL、甲醇-乙腈(1:1)混合溶剂1 mL,涡旋3 min,12 000 r/min离心10 min,取上清液,45℃N₂缓慢吹干,加入200 μL甲醇复溶,12 000 r/min离心5 min,取上清液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。

2.7.3 内标溶液制备及线性关系考察 取丹参酮ⅡA对照品适量,甲醇制成质量浓度为400 ng/mL的内标溶液。取薯蓣皂苷元贮备液适量,甲醇依次稀释至2 000、1 000、500、100、50、25 ng/mL,分别取200 μL,N₂缓慢吹除有机溶剂得残渣,加入空白血浆200 μL,涡旋5 min,制成血浆对照品溶液,按“2.7.2”项下方法处理,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为纵坐标(Y),对照品、内标峰面积比值为横坐标(X)进行回归,得方程为 $Y=0.0019X+0.0987$ ($r=0.9925$),在25~2 000 ng/mL范围内线性关系良好。

2.7.4 方法学考察

2.7.4.1 专属性试验 取空白血浆、血浆样品(给药24 h后)、血浆对照品溶液(25 ng/mL)适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,结果见图6。由此可知,血浆内源性物质不干扰测定,表明该方法专属性良好。

2.7.4.2 稳定性试验 取血浆样品适量,于0、2、4、8、12、18 h按“2.7.2”项下方法处理,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得丹参酮ⅡA、薯蓣皂苷元峰面积比



1. 内标 (丹参酮ⅡA) 2. 薯蓣皂苷元

图6 各成分HPLC色谱图

值RSD为6.62%，表明血浆样品在18 h内稳定性良好。

2.7.4.3 重复性试验 取给药12 h后血浆样品6份，按“2.7.2”项下方法处理，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得丹参酮ⅡA、薯蓣皂苷元峰面积比值RSD为8.04%，表明该方法重复性良好。

2.7.4.4 精密度试验 分别取含薯蓣皂苷元25 ng/mL(低)、500 ng/mL(中)、2 000 ng/mL(高)的血浆对照品溶液适量，按“2.7.2”项下方法处理，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定6次，测得丹参酮ⅡA、薯蓣皂苷元峰面积比值RSD分别为7.14%、4.29%、5.91%，表明仪器精密度良好。

2.7.4.5 加样回收率试验 取薯蓣皂苷元质量浓度分别为25、500、1 500 ng/mL的血浆样品适量，按“2.7.2”项下方法处理，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，薯蓣皂苷元平均加样回收率分别为91.67%、93.86%、96.72%，RSD分别为5.49%、6.07%、3.83%。

2.7.5 结果分析 血药浓度-时间曲线见图7， t_{\max} 和 C_{\max} 采用实际测定值表示，AUC采用梯形法计算，结果见表2。由此可知，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；物理混合物AUC高于原料药($P<0.05$)，可能是由于辅料PEG4000本身具有促吸收作用^[15]。

3 讨论

在前期预实验中曾采用液体石蜡作为冷凝液，调节冷凝温度、滴距等参数时仍无法形成外型圆整的滴丸制剂。可能是由于熔融液进入冷凝液形成滴丸的过程中，滴丸在

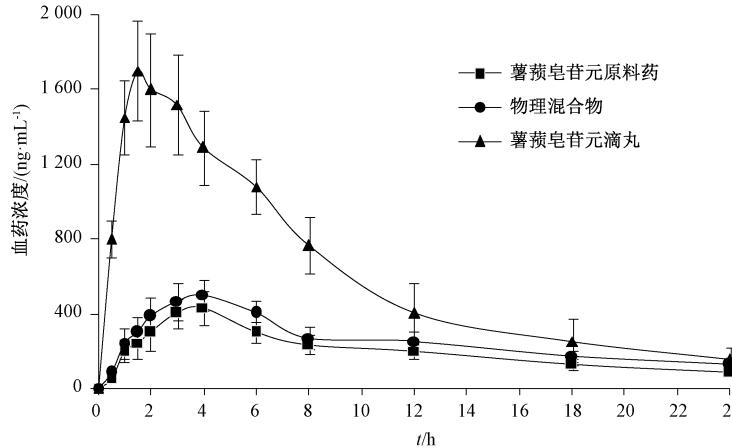


图7 薯蓣皂苷元血药浓度-时间曲线 (n=6)

表2 薯蓣皂苷元主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

参数	单位	薯蓣皂苷元	物理混合物	薯蓣皂苷元滴丸
t_{\max}	h	4.06±0.58	4.13±0.69	1.54±0.43 **##
C_{\max}	ng·mL ⁻¹	411.76±67.62	496.50±83.94	1 722.37±403.65 **##
AUC_{0-t}	ng·mL ⁻¹ ·h	4 318.43±605.81	5 490.72±841.39 *	19 578.21±1 692.76 ***##
$AUC_{0-\infty}$	ng·mL ⁻¹ ·h	4 568.06±711.45	5 625.43±139.61 *	21 315.58±1 804.13 ***##

注：与薯蓣皂苷元比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与物理混合物比较，## $P<0.01$ 。

液体石蜡中下沉速度较快，熔融态的液滴未充分冷却凝固就到达底部，从而影响滴丸成型率。二甲基硅油黏度大于

液体石蜡，可使滴丸下沉速度变慢，容易制备外形圆整的滴丸，故后续工艺考察时均选用二甲基硅油作为冷凝液。

经筛选得出的薯蓣皂苷元滴丸处方工艺, 成型率大于95%, 工艺重复性好, 滴丸表面光滑, 经溶散时限、重量差异等质量评价, 均符合2020年版《中国药典》规定。

体外溶出实验结果显示, 滴丸30 min内累积溶出度达95.68%, 溶出速率极大提高, 使薯蓣皂苷元 t_{max} 显著提前; 累积溶出度极大提高, 也使薯蓣皂苷元 C_{max} 显著上升, 大大促进了其口服吸收, 生物利用度增加至4.53倍, 推测促吸收机制可能是由于滴丸剂进入胃肠道后快速崩解、溶出, 增加了药物在胃肠道中的比表面积^[16-17], 而且基质材料PEG 4000改善了亲水性, 解决了薯蓣皂苷元吸收问题, 从而提高了进入体循环量, 推测口服吸收生物利用度的改善可能对其药效产生积极影响^[18], 后续将通过体内药效学试验进行验证。

参考文献:

- [1] 何焱, 王继双, 张鹏, 等. 薯蓣皂苷元药理作用及其机制研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2759-2765.
- [2] 张释晴, 宋雨轩, 张文雪, 等. 抗肿瘤天然产物薯蓣皂苷元的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(17): 4360-4366.
- [3] 张贻强, 祝星宇, 王晶, 等. 薯蓣皂苷元对阿尔兹海默症的作用及机制研究进展[J]. 化学工程师, 2019, 33(2): 53-56.
- [4] 刘梦萱, 张风霞, 荀丽英, 等. 薯蓣皂苷元降血脂作用及其机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(4): 798-800.
- [5] 王洋, 赵立春, 庞宇舟, 等. 不同剂量薯蓣皂苷元的大鼠体内药动学研究[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(3): 269-273; 355.
- [6] Rytting E, Lentz K A, Chen X Q, et al. Aqueous and cosolvent solubility data for drug-like organic compounds[J]. *AAPS J*, 2005, 7(1): 78-105.
- [7] Okawara M, Tokudome Y, Todo H, et al. Enhancement of diosgenin distribution in the skin by cyclodextrin complexation following oral administration[J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(1): 36-40.
- [8] 常金花, 薛禾菲, 刘沛, 等. 2种粒径的薯蓣皂苷元纳米混悬液的体外评价[J]. 中草药, 2017, 48(17): 3529-3536.
- [9] Liu P, Zhou J Y, Chang J H, et al. Soluplus-mediated diosgenin amorphous solid dispersion with high solubility and high stability: development, characterization and oral bioavailability[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14(7): 2959-2975.
- [10] 魏永鸽, 黄贺梅, 徐凯, 等. 二氢杨梅素磷脂复合物及其滴丸的制备及其体内药动学比较[J]. 中成药, 2021, 43(12): 3270-3274.
- [11] 张丽华, 张月芬, 唐小峦. 双水相体系提取东革阿里及滴丸的制备[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(22): 2308-2312.
- [12] 果秋婷, 张小飞. 汉防己甲素滴丸的制备工艺优化及溶出度考察[J]. 中草药, 2018, 49(5): 1056-1060.
- [13] 刘晓虎, 杨静. 和厚朴酚滴丸的制备与体外溶出度研究[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(1): 86-89.
- [14] 杜卓, 叶泉英, 林洁诚, 等. 正交设计优选丁香酚滴丸的制备工艺[J]. 医药导报, 2021, 40(8): 1100-1104.
- [15] 史月姣. 药用辅料对岩黄连生物碱肠道吸收影响的研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [16] 连震芳, 陈丹, 廖淑彬, 等. 珊瑚果黄酮降脂滴丸大鼠体内口服生物利用度及药动学研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(13): 1171-1176.
- [17] 周莹, 谷元, 张思瑶, 等. 银杏内酯滴丸在健康受试者体内的药动学研究[J]. 中草药, 2020, 51(9): 2472-2480.
- [18] 李东红, 肖芷灵, 徐翠珊, 等. 复方麝香黄芪滴丸的体外及体内血清化学成分分析[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(6): 582-589.