

维吾尔族药毛菊苣总倍半萜滴丸溶出度测定

罗玉琴¹, 杨伟俊², 信学雷¹, 阿吉艾克拜尔·艾萨^{1*}

- (1. 中国科学院 干旱区植物资源化学重点实验室, 新疆特有药用资源利用国家重点实验室培育基地, 中国科学院 新疆理化技术研究所, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆维吾尔自治区药物研究所 新疆维吾尔药重点实验室, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的:建立毛菊苣总倍半萜滴丸中山萜苣素的溶出度测定方法。方法:采用桨法测定体外溶出度,通过单因素试验筛选溶出介质和转速,利用 HPLC 测定毛菊苣总倍半萜滴丸中山萜苣素的溶出度,流动相甲醇(A)-0.2%甲酸(B)梯度洗脱(0~30 min,28%~72% A),检测波长 256 nm。结果:选择含 0.2% 十二烷基硫酸钠的人工胃液为溶出介质,转速 100 r·min⁻¹,山萜苣素线性范围 0.015~0.075 g·L⁻¹($r=0.999$),平均回收率 101.04% (RSD 1.38%)。样品 30 min 时体外溶出度均 >80%。结论:本方法简便、准确、可靠,适用于毛菊苣总倍半萜滴丸的溶出度测定。

[关键词] 毛菊苣; 总倍半萜; 溶出度; 山萜苣素

[中图分类号] R283.6;R287;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)21-0021-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210021

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140915.1118.010.html>

[网络出版时间] 2014-09-15 11:18

Determination of Dissolution of Total Sesquiterpenes from *Cichorium glandulosum* Dropping Pills

LUO Yu-qin¹, YANG Wei-jun², XIN Xue-lei¹, Haji Akber Aisa^{1*}

- (1. Key Laboratory of Plant Resources and Chemistry of Arid Zone, State Key Laboratory Basis of Xinjiang Indigenous Medicinal Plant Resource Utilization, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China;
2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determining dissolution of lactucin in total sesquiterpenes from *Cichorium glandulosum* dropping pills. **Method:** Paddle method was adopted in which artificial gastric juice was taken as solvent with a rotating speed of 100 r·min⁻¹. Dissolution of lactucin was determined by HPLC and dissolution curves were drawn, mobile phase is made up of methanol (A) -0.2% formic acid (B) for gradient elution (0-30 min, 28%-72% A) and detection wavelength was set at 256 nm. **Result:** Lactucin was linear over the range of 0.015-0.075 g·L⁻¹ with r of 0.999 and average recovery was 101.04% with RSD of 1.38%. Taking artificial gastric juice containing 0.2% sodium dodecyl sulfate as dissolution medium, dissolution of samples were all more than 80% in 30 min. **Conclusion:** This method is simple, accurate and reliable for dissolution determination of total sesquiterpenes from *Cichorium glandulosum* dropping pills.

[Key words] *Cichorium glandulosum*; total sesquiterpenes; dissolution; lactucin

[收稿日期] 20140326(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81303307)

[第一作者] 罗玉琴, 硕士, 助理研究员, 从事中药、民族药新剂型与新技术研究, Tel:0991-6631927, E-mail: luoyq@ms.xjb.ac.cn

[通讯作者] * 阿吉艾克拜尔·艾萨, 博士, 研究员, 从事天然产物活性成分的药用研究, Tel:0991-3835679, E-mail: Haji@ms.xjb.ac.cn

菊苣为维吾尔族习用药材,维吾尔语名为卡斯纳(kasina),具有清肝利胆、健胃消食、利尿消肿之功效,用于湿热黄疸、胃痛食少、水肿尿少等^[1],卫生部颁标准《维药分册》1999 年版收录了菊苣单味药制剂——清热卡森颗粒^[2]。课题组前期采用大孔吸附树脂分离纯化技术制备了富含倍半萜类成分的毛菊苣有效部位(sesquiterpene-rich fraction, SRF)并对其进行了保肝活性评价,结果表明 SRF 对化学性肝损伤和免疫性肝损伤小鼠均具有明显的保护作用^[3]。但以山莴苣素为主要活性成分的倍半萜类在水中溶解性差,影响了药物疗效的发挥。本实验选择山莴苣素为指标成分,拟采用固体分散技术将药物分散在水溶性高的分子载体中制成毛菊苣总倍半萜滴丸^[1,4-7],以实现难溶性成分的快速溶出和释放,利于药物发挥速效作用^[8],通过考察该制剂的体外溶出效果,为毛菊苣的资源开发与利用提供思路。

1 材料

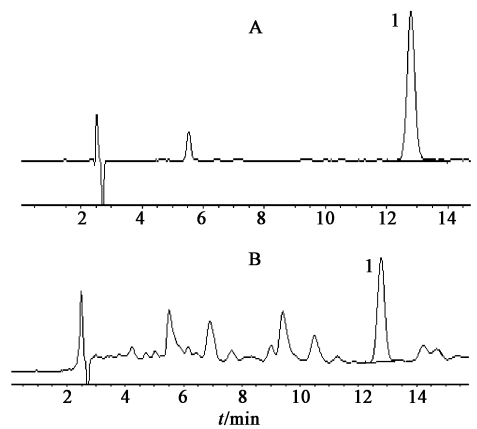
1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BS110S 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),DWJ-2000S-D 型多功能滴丸试验机(烟台百药泰中药科技发展有限公司),RC-3B 型药物溶出仪(天津大学无线电厂)。毛菊苣药材采自新疆吉木萨尔县,经中国科学院新疆生态与地理研究所张立运研究员鉴定菊科植物毛菊苣 *Cichorium glandulosum* Boiss. et Huet. 的干燥地上部位;毛菊苣总倍半萜滴丸(自制),山莴苣素对照品(自制,经 HPLC 检测纯度 98%,通过 UV, IR, MS, ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 波谱确定了结构),甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 ZorbaxSB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,流动相甲醇(A)-0.2% 甲酸(B)梯度洗脱(0 ~ 30 min, 28% ~ 72% A),进样量 10 μL,检测波长 256 nm。理论板数按山莴苣素计算 ≥ 3 000,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取山莴苣素对照品 3 mg,加 60% 甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的对照品贮备液。精密吸取该贮备液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加 60% 甲醇稀释至刻度,摇匀,得 0.03 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取毛菊苣总倍半萜滴丸,研细,取约 100 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加



A. 对照品;B. 供试品;1. 山莴苣素

图 1 毛菊苣总倍半萜滴丸 HPLC

60% 甲醇适量,超声处理(250 W, 35 kHz)30 min,加 60% 甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 溶出度的测定方法选择 采用《中国药典》2010 年版二部附录 XC 溶出度测定项下浆法。

2.4.1 溶出介质选择 分别比较了 0.1 mol · L⁻¹ 盐酸、磷酸盐缓冲液(pH 4.5)、磷酸盐缓冲液(pH 7.4)、含 0.2% 十二烷基硫酸钠的人工胃液共 4 种介质,测定过程中发现毛菊苣总倍半萜滴丸在人工胃液中溶出迅速,故确定溶出介质为含 0.2% 十二烷基硫酸钠的人工胃液。

2.4.2 转速选择 取供试品溶液适量,按浆法操作,分别选择转速 50, 70, 100 r · min⁻¹ 进行试验,结果发现 100 r · min⁻¹ 转速下的药物溶出量较高。

2.5 线性关系考察 精密吸取 2.2 项下山莴苣素对照品贮备液 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加 60% 甲醇稀释至刻度,按 2.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 15\,525X + 38.340$ ($r = 0.999\,0$),表明山莴苣素在 0.015 ~ 0.075 g · L⁻¹ 与峰面积的线性关系良好。

2.6 精密度试验 取 2.3 项下供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件在同一天重复测定 5 次,结果山莴苣素日内精密度的 RSD 1.02%;按 2.1 项下色谱条件连续测定 5 d,结果山莴苣素日间精密度的 RSD 1.12%。

2.7 稳定性试验 取同一批毛菊苣总倍半萜滴丸,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件每隔 2 h 进样 1 次,连续进样 5 次,结果山莴苣素峰面积的 RSD 1.02%,说明供试品溶液在 10 h 内

稳定。

2.8 回收率试验 采用标准添加法测定回收率。精密称取毛菊苣总倍半萜滴丸样品 50 mg,共 6 份,分别置于 10 mL 量瓶中,各精密加入 $0.075 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 山莴苣素对照品溶液 1.5 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定山莴苣素含量,计算回收率,结果见表 1,表明建立的含量测定方法稳定可靠。

表 1 毛菊苣总倍半萜滴丸中山莴苣素的回收率测定

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.152 2	0.264 2	99.56		
0.149 8	0.261 4	99.20		
0.150 2	0.264 8	101.87	101.04	1.4
0.150 1	0.264 3	101.51		
0.149 9	0.263 9	101.33		
0.149 8	0.265 4	102.76		

注:对照品加入量均为 $0.112 5 \text{ mg}$ 。

2.9 样品测定 取同一批毛菊苣总倍半萜滴丸 3 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算山莴苣素平均质量分数 $3.10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.10 体外溶出度试验 采用桨法测定,以含 0.2% 十二烷基硫酸钠的人工胃液为溶出介质,温度 $(37.0 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$,转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。精密称取毛菊苣总倍半萜滴丸 150 mg 置于 1 L 溶出介质中,分别于 1,2,5,10,20,30,45,60 min 抽取溶出介质 5 mL,随时补充同体积同温度的溶出介质,迅速经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液按 2.1 项下色谱条件测定,以山莴苣素含量作为释放指标,计算累积溶出率,结果见表 2。将累积溶出率与溶出时间按

表 2 毛菊苣总倍半萜滴丸体外溶出度试验 ($n=5$)

t/min	累积溶出率/%					平均累积溶出率 ($\bar{x} \pm s$)/%
	1	2	3	4	5	
1	13.58	13.72	12.00	12.18	12.82	12.86 ± 0.78
2	17.48	19.78	17.39	17.61	18.002	18.05 ± 0.99
5	29.33	31.54	29.10	29.22	32.07	30.25 ± 1.43
10	41.73	46.16	40.12	42.81	48.87	43.94 ± 3.53
20	66.07	65.90	68.51	64.18	71.97	67.32 ± 3.02
30	82.30	86.18	80.30	80.26	86.59	83.13 ± 3.09
45	93.83	94.96	85.26	95.55	89.71	91.86 ± 4.34
60	98.75	97.57	94.34	97.04	97.08	96.96 ± 1.62

Weibull 方程拟合,计算 T_d (溶出率 63.2% 时所需时间)。Weibull 方程为 $\ln\{1/[1-F(t)]\} = m \ln t - \ln t_0$,式中 t 表示溶出时间, $F(t)$ 表示在时间 t 时的累积溶出率, m 为形状参数, t_0 表示时间的尺度。5 组滴丸体外溶出度采用 Weibull 方程计算的 $\ln t$ 与 $\ln\{1/[1-F(t)]\}$ 见表 3。以 $\ln t$ 为横坐标, $\ln\{1/[1-F(t)]\}$ 为纵坐标进行线性回归,得标准曲线,结果见表 4。

表 3 毛菊苣总倍半萜滴丸体外溶出度 Weibull 方程拟合参数

t/min	$\ln t$	$\ln\{1/[1-F(t)]\}$				
		1	2	3	4	5
1	0.693	-1.924	-1.913	-2.056	-2.042	-1.987
2	1.099	-1.649	-1.512	-1.655	-1.641	-1.617
5	1.609	-1.058	-0.971	-1.067	-1.063	-0.950
10	2.303	-0.616	-0.480	-0.668	-0.582	-0.399
20	2.996	0.078	0.073	0.145	0.026	0.240
30	3.401	0.549	0.683	0.485	0.484	0.698
45	3.807	1.024	1.095	0.649	1.135	0.822
60	4.094	1.478	1.313	1.055	1.258	1.262

表 4 毛菊苣总倍半萜滴丸体外溶出度 Weibull 方程拟合

No.	Weibull 方程	R^2	T_d/min	T_{80}/min
1	$Y = 0.974 8 \ln t - 2.702 1$	0.990 7	15.98	26.05
2	$Y = 0.942 2 \ln t - 2.569 8$	0.994 6	15.29	25.34
3	$Y = 0.893 5 \ln t - 2.622 9$	0.993 7	18.82	32.08
4	$Y = 0.966 7 \ln t - 2.719 9$	0.992 6	16.66	27.27
5	$Y = 0.933 8 \ln t - 2.576 0$	0.994 1	15.77	26.26

注: T_{80} 为溶出率 80% 时所用时间。

3 讨论

制备的毛菊苣有效部位经 HPLC-MS 研究表明,含大量倍半萜类等脂溶性较强的化合物;对该有效部位进行粉体学和理化性质研究,结果发现其在水中溶解性低。山莴苣素是毛菊苣有效部位中非常重要的化合物之一,故选择其作为指标性成分进行毛菊苣总倍半萜滴丸质量控制,具有一定的代表性。

毛菊苣总倍半萜滴丸中山莴苣素的体外累积溶出过程符合 Weibull 方程。在 30 min 内山莴苣素的累积溶出率 $> 80\%$,推测该滴丸体外溶出迅速,说明选择固体分散技术可有效解决有效成分的体内释放问题。本文主要研究了毛菊苣有效部位滴丸的体外溶出情况,其体内吸收机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:291,附录 I K.

pH 依赖型黄连总生物碱结肠靶向微丸的 制备及其体内外释放性能评价

凌霄, 胡元利, 陈飞龙, 谭晓梅*

(南方医科大学 中医药学院, 广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

[摘要] 目的:制备用于治疗溃疡性结肠炎的 pH 依赖型黄连总生物碱靶向微丸并对其体内外释放性能进行评价。方法:采用丙烯酸树脂(eudragit)S100 和 eudragit L100-55 双层包衣制备 pH 依赖型黄连总生物碱结肠靶向微丸。以盐酸小檗碱为指标进行了体外释放度和大鼠体内释放的初步评价。结果:体外释放度试验表明盐酸小檗碱在人工胃液中 2 h 累计释放度 <0.1%,在人工小肠液中 4 h 累计释放度 <10%,在人工结肠液中 3 h 累计释放度 >90%;体内试验表明在大鼠体内包衣微丸大部分能完整到达盲肠或结肠部,并在上述部位开始崩解释放。结论:pH 依赖型黄连总生物碱靶向微丸能够实现结肠的定向释放。

[关键词] 结肠靶向微丸;黄连;总生物碱;体外释放度;盐酸小檗碱

[中图分类号] R283.6;R287;R285.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0024-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140915.1117.009.html>

[网络出版时间] 2014-09-15 11:17

Preparation of Total Alkaloids from Coptidis Rhizoma Colon Targeted Pellets and Evaluation of Its *in vivo* and *in vitro* Release Characteristics

LING Xiao, HU Yuan-li, CHEN Fei-long, TAN Xiao-mei*

(Key Laboratory of Chinese Drugs Pharmaceutics of Guangdong Province, College of Chinese Traditional Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare pH-dependent total alkaloids from Coptidis Rhizoma colon targeted pellets for treatment of ulcerative colitis and finish its *in vitro* and *in vivo* release performance evaluation. **Method:**

[收稿日期] 20140326(007)

[基金项目] 广州市白云区科技计划项目(2011-kz-64);广州市科技计划重大专项(2012Y2-00018-3)

[第一作者] 凌霄,在读硕士,从事中药药剂研究,Tel:020-62789112,E-mail:tanglima@126.com

[通讯作者] *谭晓梅,博士,研究员,从事中药新制剂研究,Tel/Fax:020-61648265,E-mail:txm@fimmu.com

- [2] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(维吾尔药分册)[S]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:189.
- [3] Yang W J, Luo Y Q, Aisa H A, et al. Hepatoprotective activities of a sesquiterpene-rich fraction from the aerial part of *Cichorium glandulosum* [J]. Chin Med, 2012, 7(1):21.
- [4] 周雅琴,陈燕军,冯青然. 中药滴丸剂的研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(2):101.
- [5] 王贞佐,呼海涛,孟庆繁,等. 当归丹参滴丸的制备工艺研究[J]. 中成药,2006,28(3):436.
- [6] 杨伟俊,薛桂蓬,邢建国,等. 秋水仙风湿滴丸的成型工艺研究及体外溶出度测定[J]. 中成药,2007,29(8):1240.
- [7] 罗玉琴,杨伟俊,徐建国,等. 复方雪莲滴丸中羌活、独活的纯化工艺考察[J]. 中国中药杂志,2008,33(21):2478.
- [8] 任秀华,李高. 固体分散体在药剂学中的应用及进展[J]. 医药导报,2003,22(2):110.

[责任编辑 刘德文]