

香连丸中生物碱类成分的溶出行为及影响因素分析

张倩, 谢兴亮*, 薛棱芬, 王婷, 韩玉佩
(成都医学院药学院, 成都 610083)

[摘要] 目的:建立香连丸中生物碱类成分的溶出度测定方法,揭示其体外溶出行为及影响因素。方法:采用 HPLC 测定盐酸小檗碱、盐酸巴马汀含量,流动相乙腈-磷酸二氢钾缓冲液(30:70),检测波长 350 nm。通过小杯法检测香连丸中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀在不同溶出介质 pH 和体积、搅拌浆转速条件下的溶出曲线。运用 Origin Pro 8.0 软件对溶出曲线进行威布尔分布(Weibull)模型拟合,计算 T_{50} (溶出 50% 所用时间)和 T_d (溶出 63.2% 所需时间)等溶出度参数。结果:盐酸小檗碱、盐酸巴马汀的溶出曲线均可采用 Weibull 方程成功拟合。2 种成分在 pH 1.0 介质中溶出快而完全,且随 pH 升高,溶出减慢且溶出率降低,当 pH 6.8, 7.8 时,2 种成分的累积溶出率均 < 50%。随搅拌浆转速增加,2 种成分的 T_{50} 和 T_d 均略有降低;溶出介质体积在 100~250 mL 时,2 种成分的 T_{50} 和 T_d 均无明显差异。在相同溶出条件下,盐酸巴马汀的 T_{50} 和 T_d 均小于盐酸小檗碱。结论:溶出介质 pH 对香连丸中生物碱类成分溶出有显著影响,搅拌浆转速对溶出速率有一定影响,介质体积则无明显影响。盐酸巴马汀的溶出略快于盐酸小檗碱。

[关键词] 香连丸; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; 溶出行为; 影响因素

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2; R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0024-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150414.1124.007.html>

[网络出版时间] 2015-04-14 11:24

Dissolution Behavior and Influencing Factors Analysis of Alkaloids in Xianglian Pills ZHANG Qian, XIE Xing-liang*, XUE Ling-fen, WANG Ting, HAN Yu-pei (School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China)

[Abstract] **Objective:** To establish determination method for *in vitro* dissolution of alkaloids in Xianglian pills, reveal its *in vitro* dissolution behavior and influence factors. **Method:** HPLC was used to determine contents of berberine hydrochloride and palmatine hydrochloride with mobile phase of acetonitrile-potassium dihydrogen phosphate buffer (30:70) and detection wavelength at 350 nm. Small cup method was used to determine and draw dissolution curves of berberine hydrochloride and palmatine hydrochloride in Xianglian pills under different pH and volume of dissolution medium, rotation speed of stirring paddle. Origin Pro 8.0 was used to fit dissolution curves with Weibull distribution model and calculate dissolution parameters of T_{50} (the time for dissolution 50%) and T_d (the time for dissolution 63.2%). **Result:** Dissolution curves of berberine hydrochloride and palmatine hydrochloride all fitted successfully with Weibull equation. These two components dissolved quickly and completely in dissolution medium with pH of 1.0, with increasing of pH of dissolution medium, both dissolution speed and rate decreased. When pH were 6.8 and 7.8, cumulative dissolution rate of these two components was less than 50%. With increasing of stirring speed, T_{50} and T_d of these two components slightly decreased. In volume range of 100-250 mL, both T_{50} and T_d of these two components had not significant difference. Under the same conditions, T_{50} and T_d of palmatine hydrochloride were less than these two parameters of berberine hydrochloride. **Conclusion:** Dissolution medium pH has significant influence on dissolution of

[收稿日期] 20140822(007)

[基金项目] 四川省“高等教育质量工程”建设项目(2012-1813);成都医学院校基金项目(CYZ11-011);四川省教育厅青年基金项目(10Z030)

[第一作者] 张倩,在读学士,从事药剂学研究, Tel:15828153238, E-mail:892804740@qq.com

[通讯作者] * 谢兴亮,副教授,硕士生导师,从事中药制剂研究, Tel:15828147216, E-mail:421733038@qq.com

alkaloids in Xianglian pills, rotation speed of stirring paddle has a certain effect on dissolution speed, but dissolution medium volume almost has no effect. Dissolution of palmatine hydrochloride is slightly quicker than berberine hydrochloride.

[Key words] Xianglian pills; berberine hydrochloride; palmatine hydrochloride; dissolution behavior; influencing factors

丸剂是较适宜于中药原料特点的传统特色剂型,2010年版《中国药典》一部收录了二陈丸、八珍丸、九味羌活丸等大量疗效肯定的丸剂品种^[1-2]。香连丸为治病名方,始载于《兵部手集方》^[3],应用历史悠久。该方由黄连和木香2味中药组成,方中君药黄连所含盐酸小檗碱、盐酸巴马汀等生物碱类成分具有抗菌抗炎的药理效应,是该方治疗菌痢的主要药效成分^[4-5],该类成分的溶出行为是显著影响香连丸疗效发挥的关键因素。为完善香连丸的质量评价体系,本实验选择盐酸小檗碱、盐酸巴马汀为指标成分,考察该制剂中生物碱类成分的体外溶出行为及其影响因素。

1 材料

UltiMate3000型高效液相色谱仪(美国戴安),BP211D型电子天平(德国Sartorius),RC-6型溶出测定仪(天津市国铭医药设备有限公司)。香连丸(湖北诺得胜制药有限公司,批号100901),盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号110713-200208),盐酸巴马汀对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号A0151),乙腈为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 盐酸小檗碱、盐酸巴马汀的含量测定

2.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-磷酸二氢钾缓冲液(30:70,用磷酸调节pH 3.0),检测波长350 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃。理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算均不低于5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱和盐酸巴马汀对照品适量,分别加甲醇溶解,配成质量浓度分别为11.00, 20.04 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 香连丸研细(过60目筛,下同),精密称取粉末约0.1 g,置250 mL锥形瓶中,精密加入盐酸-甲醇(1:100)混合液100 mL,称定质量,加热回流1 h,放冷,用上述混合液补足减失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL,置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 精密密度试验 精密吸取盐酸小檗碱、盐酸巴

马汀对照品溶液各10 μL,按2.1.1项下方法连续进样6次,结果盐酸小檗碱、盐酸巴马汀峰面积的RSD分别为0.1%, 0.5%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 线性关系考察 分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液4, 8, 12, 16, 20, 22 μL和盐酸巴马汀对照品溶液1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按2.1.1项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为 $Y = 76.097X + 0.029$ ($r = 0.9996$), $Y = 27.591X - 0.035$ ($r = 0.9999$),线性范围分别为0.044 ~ 0.242, 0.020 04 ~ 0.200 4 μg。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液适量,分别于制备后0, 2, 4, 6, 8, 24 h进样10 μL,按2.1.1项下方法测定,结果盐酸小檗碱、盐酸巴马汀峰面积的RSD分别为1.7%, 1.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

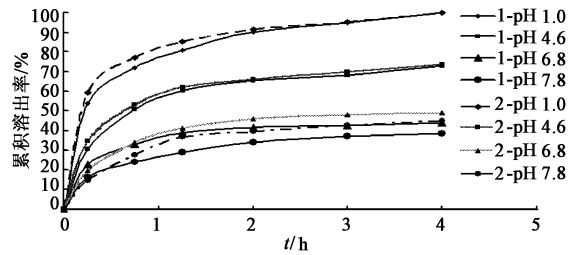
2.1.7 重复性试验 取香连丸样品5份,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法测定,计算盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均质量分数分别为47.2, 8.30 mg·g⁻¹, RSD依次为3.0%, 2.2%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取香连丸样品粉末0.05 g,共6份,各加入等量盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品溶液,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法测定,计算二者的平均回收率均分别为99.1%和98.2%, RSD依次为2.5%和3.7%。

2.2 溶出度测定 取香连丸样品0.6 g,采用《中国药典》2010年版二部附录X C第三法(小杯法),分别在不同体积和pH介质、搅拌浆转速条件下依法操作,于溶出后0.25, 0.75, 1.25, 2, 3, 4 h取样2 mL, 0.45 μm微孔滤膜滤过,取样后补加同体积同温度的溶出介质,计算盐酸小檗碱、盐酸巴马汀累积溶出度,绘制溶出曲线。采用曲线拟合软件Origin Pro 8.0^[4]对溶出曲线进行Weibull分布模型拟合,以校正决定系数(adjusted R square, R²)、残差平方和(residual sum of squares, RSS)、方差分析P值等参数判断拟合情况,据拟合方程计算T₅₀(溶出50%所用时间), T_d(溶出63.2%所需

时间)等参数。

2.2.1 溶出介质 pH 香连丸中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀在不同 pH(1.0, 4.6, 6.8, 7.8) 溶出介质中的溶出曲线见图 1, 各曲线的模型拟合及溶出度参数见表 1。结果显示各溶出曲线采用 Weibull 分布模型均能成功拟合; 介质 pH 对 2 个成分的溶出均有显著影响, 且随 pH 的增加, 溶出度明显降低。pH 4.6 介质下 2 种成分的 T_d 分别为 pH 1.0 介质下的 3.3, 4.4 倍, 溶出速率明显降低; 在 pH 1.0 和 4.6 介质条件下盐酸巴马汀的 T_{50} , T_d 均略低于盐酸小檗碱。



1. 盐酸小檗碱; 2. 盐酸巴马汀

图 1 香连丸在不同 pH 溶出介质下的溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves of Xianglian pills under different pH of dissolution medium

表 1 不同 pH 介质下溶出曲线的数学模型拟合

Table 1 Mathematic model fitting of dissolution curves under different pH of dissolution medium

pH	成分	方程拟合				溶出度参数	
		拟合方程	R^2	RSS	P	T_{50}/h	T_d/h
1.0	盐酸小檗碱	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.920 \ln(t + 0.5079) - \ln 0.9979$	0.9935	5.750	2.97×10^{-6}	-	0.490
	盐酸巴马汀	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.7006 \ln(t + 0.2781) - \ln 0.7033$	0.9918	5.346	2.45×10^{-6}	-	0.327
4.6	盐酸小檗碱	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.6691 \ln(t - 0.0273) - \ln 0.6721$	0.9925	5.355	7.24×10^{-6}	0.712	1.593
	盐酸巴马汀	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.6842 \ln(t + 0.0378) - \ln 0.6691$	0.9928	4.397	4.97×10^{-6}	0.628	1.426
6.8	盐酸小檗碱	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.8409 \ln(t + 0.1483) - \ln 0.6377$	0.9950	0.982	2.25×10^{-6}	-	-
	盐酸巴马汀	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.9172 \ln(t + 0.0717) - \ln 0.6966$	0.9998	0.096	5.37×10^{-8}	-	-
7.8	盐酸小檗碱	$\ln[1/1 - F(t)] = 1.4218 \ln(t + 0.8202) - \ln 1.9727$	0.9986	0.310	7.36×10^{-7}	-	-
	盐酸巴马汀	$\ln[1/1 - F(t)] = 0.8487 \ln(t - 0.0022) - \ln 0.7833$	0.9894	4.099	2.25×10^{-5}	-	-

2.2.2 溶出介质体积 香连丸中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀在不同体积(100, 150, 200, 250 mL) pH 1.0 溶出介质中的溶出曲线见图 2, 各溶出曲线的方程拟合及溶出度参数见表 2。结果显示不同体积介质下 2 种成分的溶出曲线均能成功拟合, 且均能溶出完全, 溶出度参数无明显差异, 表明介质体积在 100 ~ 250 mL 对 2 种成分的溶出无显著影响。在相同体积介质条件下, 盐酸巴马汀的 T_{50} 和 T_d 均低于盐酸小檗碱, 表明前者溶出快于后者。

2.2.3 搅拌浆转速 香连丸中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀在不同搅拌浆转速(25, 50, 100 $r \cdot \min^{-1}$) 下的溶出曲线见图 3, 溶出曲线的方程拟合及溶出度参数见表 3。结果发现不同搅拌浆转速下 2 种成分的溶出曲线均能成功拟合, 且均能溶出完全, 随着转速增加, 2 种成分的 T_{50} 和 T_d 均降低, 表明搅拌浆转速对二者的溶出速率有一定影响。在相同转速条件下, 盐酸巴马汀的 T_{50} 和 T_d 均低于盐酸小檗碱, 表明前者溶出快于后者。

3 讨论

本文以 Origin Pro 8.0 曲线拟合软件对溶出数据进行 Weibull 方程拟合, 可快速、准确地获取拟合参数, 并根据拟合方程可计算溶出度参数。结果表明香连丸中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀的体外溶出曲线采用 Weibull 方程均可成功拟合, 除个别条件下曲线数据点分布不合理外, 均获得了各条件下的溶出度参数, 为其他溶出曲线的方程拟合和溶出度参数计算提供参考。

本文选择香连丸中含量较高的盐酸小檗碱、盐酸巴马汀为指标, 探讨了该制剂中生物碱类成分的溶出行为及相关影响因素。结果发现香连丸中生物碱类成分的溶出行为受溶出介质 pH 影响最为显著, 在 pH 1.0 的酸性介质条件下, 2 种成分的溶出均快而完全, 但随着 pH 升高, 溶出度下降, pH 为 6.8, 7.8 时, 2 种成分均溶出极不完全; 搅拌浆转速对 2 种成分的溶出有一定影响, 转速增加, 溶出速率均加快; 介质体积在 100 ~ 250 mL 时, 2 种成分的溶出均无明显差异。因此, 香连丸中有效成分在胃部

表 2 不同体积介质下溶出曲线的数学模型拟合

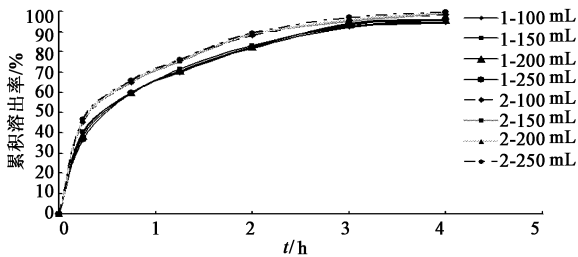
Table 2 Mathematic model fitting of dissolution curves under different volume of dissolution medium

体积/mL	成分	方程拟合			溶出度参数		
		拟合方程	R^2	RSS	P	T_{50}/h	T_d/h
100	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.2980 \ln(t + 0.7128) - \ln 1.7007$	0.9914	11.275	1.10×10^{-5}	0.500	0.918
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.3440 \ln(t + 0.8253) - \ln 1.7619$	0.9969	3.847	1.84×10^{-6}	0.358	0.735
150	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.4421 \ln(t + 0.8742) - \ln 2.0918$	0.9963	4.827	3.01×10^{-6}	0.492	0.907
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.3177 \ln(t + 0.8444) - \ln 1.7905$	0.9959	5.047	2.73×10^{-6}	0.346	0.730
200	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.3248 \ln(t + 0.6920) - \ln 1.7532$	0.9912	12.609	1.27×10^{-5}	0.526	0.930
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.2974 \ln(t + 0.8247) - \ln 1.7371$	0.9961	4.766	2.47×10^{-6}	0.336	0.716
250	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.2236 \ln(t + 0.5342) - \ln 1.5032$	0.9872	19.716	2.49×10^{-5}	0.549	0.940
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 1.4629 \ln(t + 1.0073) - \ln 2.1915$	0.9960	5.081	2.67×10^{-6}	0.329	0.710

表 3 不同搅拌浆转速下溶出曲线的数学模型拟合

Table 3 Mathematic model fitting of dissolution curves under different rotation speed of stirring paddle

转速 $/r \cdot \min^{-1}$	成分	方程拟合			溶出度参数		
		拟合方程	R^2	RSS	P	T_{50}/h	T_d/h
25	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.7957 \ln(t - 0.0850) - \ln 0.7216$	0.9972	5.189	3.78×10^{-6}	0.580	0.899
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.6882 \ln(t - 0.1381) - \ln 0.6513$	0.9974	5.181	2.99×10^{-6}	0.467	0.702
50	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.7200 \ln(t + 0.0445) - \ln 0.6976$	0.9930	7.484	5.75×10^{-6}	0.385	0.696
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.7214 \ln(t - 0.0101) - \ln 0.5848$	0.9990	1.189	2.65×10^{-7}	0.297	0.488
100	盐酸小檗碱	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.5452 \ln(t + 0.0362) - \ln 0.5173$	0.9884	6.568	3.13×10^{-6}	-	-
	盐酸巴马汀	$\ln \ln [1/1 - F(t)] = 0.3880 \ln(t - 0.1247) - \ln 0.3847$	0.9949	1.990	4.67×10^{-7}	-	-



1. 盐酸小檗碱; 2. 盐酸巴马汀

图 2 香连丸在不同体积溶出介质下的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of Xianglian pills under different volume of dissolution medium

酸性介质环境下的崩散、溶出情况是该制剂研究和质量评价需要关注的关键点,如果在胃部溶出不完全,进入小肠后,在弱碱性的肠液环境下,药物溶出将更为困难。而比较盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的溶出行为,发现后者溶出速率略快于前者,这可能与两者分子结构中苯环所连侧基不同有关。

[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: 413, 419, 429, 448, 506.

[2] 秦春梅, 刘友平, 陈鸿平, 等. 加味羌活丸(浓缩丸)质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(5): 1-3.

[3] 李胜志, 史殿龙. 香连丸的源流及衍变[J]. 中医学报, 2004, 32(3): 15-16.

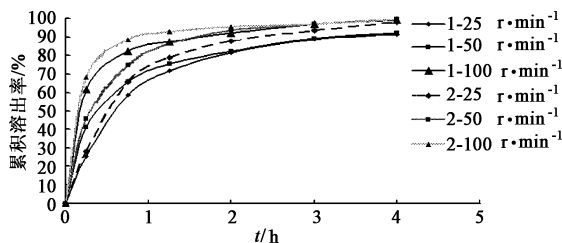
[4] 张文新, 谭晓梅, 胡元利, 等. 香连丸有效部位对小鼠急性溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 170-173.

[5] 谭晓梅, 龙群. 香连丸有效部位镇痛、止泻、抗炎及小肠推进的药理学研究[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(3): 499-500.

1. 盐酸小檗碱; 2. 盐酸巴马汀

图 3 香连丸在不同搅拌浆转速下的溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curves of Xianglian pills under different rotation speed of stirring paddle



[责任编辑 刘德文]