

香连丸中内酯类成分的溶出行为及影响因素分析

薛棱芬, 谢兴亮*, 张倩, 崔梅, 邹维
(成都医学院药学院, 成都 610083)

[摘要] 目的:建立香连丸中内酯类成分的溶出度测定方法,揭示其体外溶出行为及关键影响因素。方法:采用小杯法,利用 HPLC 测定香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯在不同 pH, 搅拌桨转速和聚山梨酯-80 质量分数条件下的溶出量,计算累积溶出率,绘制溶出曲线。采用软件 Origin Pro 8.0 对溶出曲线进行模型拟合,计算溶出参数。结果:在各种 pH 介质及转速条件下,香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯的 6 h 累积溶出率均 < 50%;当介质中聚山梨酯-80 质量分数 > 0.3% 时,2 种成分的 4 h 累积溶出率均 > 90%,说明已溶出完全,且随着聚山梨酯-80 质量分数的升高,2 种成分的 T_{50} (溶出 50% 所用时间)和 T_d (溶出 63.2% 所需时间)均明显缩短,溶出速率加快。结论:香连丸中内酯类成分的体外溶出不完全,介质中表面活性剂质量分数对其溶出有较为显著的影响。

[关键词] 香连丸; 木香烃内酯; 去氢木香内酯; 溶出度

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0009-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180009

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150807.0958.010.html>

[网络出版时间] 2015-08-07 9:58

Dissolution Behavior of Lactones in Xianglian Wan and Its Influencing Factors XUE Ling-fen, XIE Xing-liang*, ZHANG Qian, CUI Mei, ZOU Wei (School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination method for *in vitro* dissolution of lactones in Xianglian Wan, and reveal its dissolution behavior and key influencing factors. **Method:** Small cup method and HPLC were used to determine dissolution quantity of costunolide and dehydrocostuslactone from Xianglian Wan under different pH, rotational speed of stirring paddle and tween-80 concentration, cumulative dissolution rate was calculated and dissolution curves were drawn. Origin Pro 8.0 was used to fit dissolution curves with model and calculate dissolution parameters. **Result:** Under all pH dissolvents and rotational speeds of stirring paddle, cumulative dissolution rate of costunolide and dehydrocostuslactone in 6 hours were less than 50%. When tween-80 concentration exceeding 0.3%, cumulative dissolution rate of these two components in 4 hours both exceeded 90%. With increasing of tween-80 concentration, both T_{50} (the time for dissolution 50%) and T_d (the time for dissolution 63.2%) of these two components obviously became shorter, their dissolution speeds became quicker. **Conclusion:** *In vitro* dissolution of lactones in Xianglian Wan are not completely, the concentration of surfactant in dissolution medium has significant influence on dissolution of lactones in Xianglian Wan.

[Key words] Xianglian Wan; costunolide; dehydrocostuslactone; dissolution

香连丸为治痢名方,始载于《兵部手集方》^[1],由黄连、木香组成,用于治疗大肠湿热所致痢疾,症见大便脓血、里急后重、发热腹痛;肠炎、细菌性痢疾

见上述证候者^[2],疗效肯定。方中黄连所含以盐酸小檗碱为代表的生物碱类成分和木香中以木香烃内酯、去氢木香内酯为代表的内酯类成分,是该方发挥

[收稿日期] 20150302(008)

[基金项目] 四川省“高等教育质量工程”建设项目(2012-1813);四川省教育厅青年基金项目(10Z095);成都医学院校基金项目(CYZ11-011)

[第一作者] 薛棱芬,从事药物制剂研究, Tel:15828152390, E-mail:781856389@qq.com

[通讯作者] * 谢兴亮, 博士, 副教授, 从事中药制剂研究, Tel:028-62308652, E-mail:421733038@qq.com

清热化湿、行气止痛功效的主要药效成分^[3-4]。因此,香连丸中这2类成分的溶出性能及生物利用度是该制剂质量研究的重点。目前,关于香连丸中盐酸小檗碱的体外溶出度研究极少^[5-6],而对内酯类成分的溶出性能尚未见研究探讨,鉴于该类成分水溶性极差的性质,从制剂中能否顺利溶出以发挥作用值得深入研究,也是该制剂溶出度考察应关注的重点。本实验拟建立香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯溶出度的测定方法,比较其在不同pH介质、搅拌浆转速、表面活性剂浓度条件下的溶出情况,揭示香连丸中内酯类成分的体外溶出行为及其关键因素,为评价和控制香连丸的质量提供实验依据。

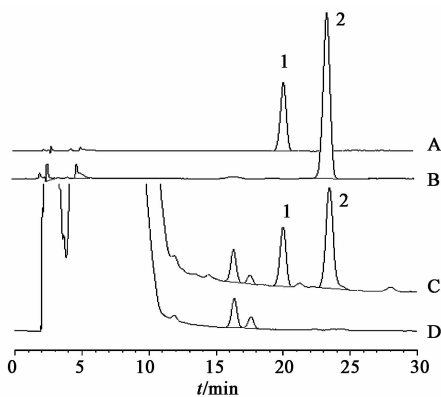
1 材料

UltiMate3000型高效液相色谱仪(美国戴安),BP211D型电子天平(德国Sartorius公司),AS5150A型超声仪(奥特赛恩斯仪器有限公司),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),木香烃内酯、去氢木香内酯对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为A0301,A0302),甲醇为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 参考2010年版《中国药典》木香[含量测定]项下条件。Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(65:35),检测波长225 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,见图1。



A, B. 对照品; C. 供试品; D. 阴性样品; 1. 木香烃内酯; 2. 去氢木香内酯

图1 香连丸 HPLC

Fig.1 HPLC chromatogram of Xianglian Wan

2.1.2 对照品溶液的制备 称取木香烃内酯、去氢木香内酯对照品 5.89, 10.88 mg, 分别置于 50 mL

量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,分别稀释 100, 20 倍,配成质量浓度分别为 1.178, 10.88 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取香连丸 10 g, 研磨成粉末(过 65 目筛,下同),混匀,精密称取粉末约 0.8 g,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇 25 mL,称定质量,放置过夜,超声提取 30 min,冷却至室温,加甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取木香烃内酯对照品溶液 8, 14, 16, 18, 20 μL 和去氢木香内酯对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μL, 按 2.1.1 项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为 $Y = 125.73X - 0.505$ ($r = 0.9996$), $Y = 62.422X - 0.119$ ($r = 0.9993$), 线性范围分别为 9.424 ~ 23.560, 21.760 ~ 108.800 ng。

2.1.5 精密度试验 分别精密吸取木香烃内酯、去氢木香内酯对照品溶液 10 μL, 按 2.1.1 项下条件连续进样 6 次,结果二者峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 0.8%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 吸取供试品溶液 10 μL 按 2.1.1 项下条件测定,结果木香烃内酯、去氢木香内酯峰面积的 RSD 分别为 2.4%, 1.6%, 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 6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下条件测定,计算木香烃内酯、去氢木香内酯平均质量分数分别为 0.79, 2.64 mg·g⁻¹, RSD 分别为 1.0%, 1.3%。

2.1.8 加样回收率试验 取香连丸样品粉末 6 份,每份约 0.4 g,精密称定,分别加入 2.1.2 项下稀释前的木香烃内酯对照品溶液 2.7 mL,去氢木香内酯对照品溶液 4.8 mL,补加甲醇至 25 mL,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下条件测定,计算回收率,结果见表 1。

2.2 溶出度测定 取香连丸样品 0.6 g,采用 2010 年版《中国药典》二部附录 X C 第三法(小杯法)测定,分别在不同条件下依法操作,于溶出后 0.25, 0.75, 1.25, 2, 3, 4, 6 h 分别取样 2 mL,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,每次取样后补加同体积同温度的溶出介质。按 2.1 项下方法测定溶出液中木香烃内酯、去氢木香内酯含量,计算累积溶出率。

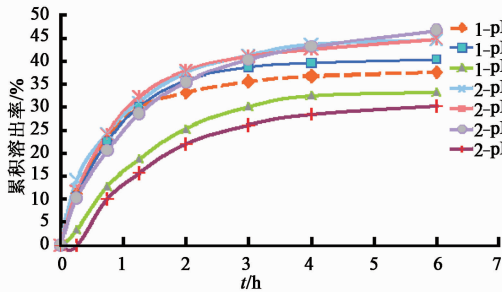
2.2.1 溶出介质 pH 考察 按 2010 年版《中国药典》二部附录中试液和缓冲液项下方法,分别配制 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液, pH 4.6 乙酸缓冲液和 pH

表 1 香连丸中木香烃内酯和去氢木香内酯的回收率测定

Table 1 Measurement of recovery of costunolide and dehydrocostuslactone in Xianglian Wan

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
木香烃内酯	0.400 5	0.316 4	0.318 1	0.633 5	99.7	100.6	3.3
	0.401 2	0.316 9	0.318 1	0.648 7	104.3		
	0.401 8	0.317 4	0.318 1	0.632 7	99.1		
	0.405 2	0.320 1	0.318 1	0.654 4	105.1		
	0.400 8	0.316 6	0.318 1	0.626 8	97.5		
	0.406 8	0.321 4	0.318 1	0.632 5	97.8		
去氢木香内酯	0.400 5	1.057 3	1.055 4	2.055 7	94.6	98.5	2.8
	0.401 2	1.059 2	1.055 4	2.122 0	100.7		
	0.401 8	1.060 8	1.055 4	2.119 3	100.3		
	0.405 2	1.069 7	1.055 4	2.119 9	99.5		
	0.400 8	1.058 1	1.055 4	2.066 0	95.5		
	0.406 8	1.074 0	1.055 4	2.135 7	100.6		

6.8, 7.8 磷酸缓冲液, 按 2.1 项下方法测定, 计算香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯在不同 pH (1.0, 4.6, 6.8, 7.8) 介质中的溶出度, 见图 2。结果表明香连丸中 2 个成分在各种 pH 介质中 6 h 累积溶出率均 < 50%, 溶出不完全, 未能进行溶出曲线的模型拟合和提取溶出度参数; 不同 pH 条件下, 除 pH 7.8 介质中 2 个成分溶出度均略低外, 其余 pH 对 2 个成分的溶出无显著影响; 在相同 pH 条件下, 除木香烃内酯在 pH 1.0 条件下未检出外, 2 个成分的溶出行为无显著差异。

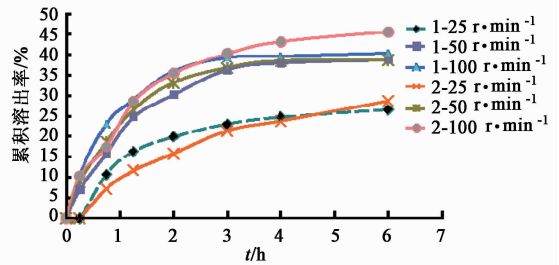


1. 木香烃内酯; 2. 去氢木香内酯

图 2 香连丸在不同 pH 溶出介质下的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of Xianglian Wan in dissolution media with different pH

2.2.2 搅拌浆转速考察 香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯在不同搅拌浆转速 (25, 50, 100 r·min⁻¹) 条件下的溶出度测定见图 3。结果表明香连丸中 2 个成分在各转速下 6 h 累积溶出率均 < 50%, 溶出不完全, 未能进行溶出曲线的模型拟合和溶出度参数的提取; 随着搅拌浆转速的增加, 2 个成分的溶出度均相应地略有增加, 且 25 r·min⁻¹ 条件下溶出度明显低于 50, 100 r·min⁻¹; 在相同转速条件下, 2 个成分的溶出行为无显著差异。



1. 木香烃内酯; 2. 去氢木香内酯

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 Wan under different rotational speed

2.2.3 表面活性剂质量分数对溶出度的影响 香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯在不同质量分数聚山梨酯-80 (tween-80) (0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%) 介质中的溶出度测定见表 2。采用曲线拟合软件 Origin Pro 8.0 对溶出曲线进行 Weibull 分布模型拟合, 以校正决定系数 (R^2), 残差平方和 (RSS), 方差分析 P 等判断拟合情况, R^2 越接近 1, RSS 越小则方程拟合度越好, $P < 0.05$ 则表示拟合有统计学意义, T_{50} 和 T_d 分别表示溶出 50%, 63.2% 所用时间, 见表 3。结果表明各溶出曲线采用 Weibull 分布模型均能成功拟合。介质中 tween-80 含量对香连丸中 2 个成分的溶出有显著影响, 随着 tween-80 质量分数增加, 溶出度显著提高, 2 个成分的 T_{50} 和 T_d 均明显缩短。当 tween-80 质量分数 > 0.3% 时, 在 4 h 内 2 个成分均基本溶出完全。在相同条件下, 木香烃内酯与去氢木香内酯的释药参数存在一定差异, 但无明显规律可循, 且远小于表面活性剂质量分数的影响。

3 讨论

脂溶性成分是中药的常见活性成分, 如穿心莲

表 2 香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯在不同质量分数 tween-80 介质中的溶出率

Table 2 Dissolution rate of costunolide and dehydrocostuslactone from Xianglian Wan in dissolution media containing different concentration of tween-80 %

tween-80 质量分数	不同时间溶出率											
	木香烃内酯						去氢木香内酯					
	0.25 h	0.75 h	1.25 h	2 h	3 h	4 h	0.25 h	0.75 h	1.25 h	2 h	3 h	4 h
0.1	23.72	40.91	51.14	61.49	71.89	73.46	21.55	38.12	49.21	59.92	70.57	72.04
0.3	33.39	51.90	65.92	74.48	83.38	90.29	27.87	47.53	62.34	72.24	83.01	91.40
0.5	35.21	57.93	68.57	77.05	85.76	92.98	32.01	56.81	73.19	82.68	90.38	94.43
0.7	37.45	60.82	69.62	79.71	88.59	98.92	34.12	58.25	74.73	84.01	90.98	96.78

表 3 香连丸中木香烃内酯、去氢木香内酯溶出曲线的模型拟合和参数

Table 3 Fitting of mathematical model on dissolution curves of costunolide and dehydrocostuslactone from Xianglian Wan and its dissolution parameters

tween-80/%	成分	拟合方程	R ²	RSS	P	T ₅₀ /h	T _d /h
0.1	木香烃内酯	$y = 0.559 2 \ln(t - 0.044 5) - 0.429 9$	0.991 6	9.367 1	2.0×10^{-5}	1.165	2.200
	去氢木香内酯	$y = 1.531 5 \ln(t + 0.642) + 0.426 2$	0.993 8	7.239 1	1.5×10^{-5}	1.281	2.151
0.3	木香烃内酯	$y = 0.702 6 \ln(t + 0.110 2) - 0.185 6$	0.995 9	5.412 7	4.7×10^{-6}	0.663	1.192
	去氢木香内酯	$y = 0.815 6 \ln(t + 0.130 6) - 0.327 4$	0.995 4	7.563 9	8.4×10^{-6}	0.823	1.363
0.5	木香烃内酯	$y = 0.638 9 \ln(t + 0.030 9) - 0.014 2$	0.993 3	8.786 6	8.7×10^{-6}	0.545	0.991
	去氢木香内酯	$y = 0.721 3 \ln(t - 0.011 8) - 0.326 7$	0.997 5	4.156 5	2.5×10^{-6}	0.553	0.912
0.7	木香烃内酯	$y = 0.824 4 \ln(t + 0.227 6) - 0.193 1$	0.974 7	36.096 1	6.4×10^{-6}	0.514	0.929
	去氢木香内酯	$y = 0.774 5 \ln(t + 0.043) - 0.255 6$	0.996 1	6.482 8	4.7×10^{-6}	0.525	0.868

注: $y = \ln \ln[1 - F(t)]^{-1}$ 。

内酯、吴茱萸内酯、五味子醇甲和丹参酮 II_A 等,但这类成分水溶性差,其溶出行为一直是中药制剂研究关注的重点。吕兴萍等^[7]研究发现六味地黄丸中丹皮酚在 4 h 的累积溶出率仅 45.74%。杜守颖等^[8]对仙灵骨葆胶囊中丹参酮 II_A 的溶出度进行研究,结果表明在不加胆酸的 3 种介质(水,0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液,pH 6.8 磷酸盐缓冲液)中 6 h 内均未监测到该成分的溶出。研究表明^[9]木香中木香烃内酯、去氢木香内酯等内酯类成分可对抗肠肌痉挛,以发挥解痉止痛作用,是其主要药效成分。本文研究发现在不加 tween-80 的各种 pH 介质、转速条件下,木香烃内酯和去氢木香内酯的溶出均极不完全,当介质中加入 tween-80 后,其溶出性能得以明显改善,且随着 tween-80 质量分数升高,溶出度明显增加,最终能溶出完全,表明介质中表面活性剂质量分数对香连丸中内酯类成分溶出有显著影响。人体消化液中含有胆酸等表面活性剂成分,因此,若进食该类食物可促进胆汁分泌增加,从而有利于提高酯类等难溶性成分的溶出和吸收^[10]。但对于腹泻、腹痛患者,常要求饮食清淡,禁食油腻。因此,要根本解决木香烃内酯、去氢木香内酯溶出度差的问题,需要针对其理化性质,合理引入微粉化、固体分散、粉体改性等制剂新技术,改进传统剂型,提高其制剂质量,以充分挖掘传统名方香连丸的临床价值^[11]。

[参考文献]

[1] 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.

[2] 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: 894.

[3] 常明向, 严劲松, 刘小平, 等. 香连丸组方抗菌作用研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(1): 7-8.

[4] 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效学研究[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(3): 499-500.

[5] 辛勋, 划萍. 香连丸溶出度的研究[J]. 中成药, 1991, 13(11): 24-25.

[6] 张倩, 谢兴亮, 王婷, 等. 香连丸中生物碱类成分的溶出行为及影响因素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 24-27.

[7] 吕兴萍, 胡容峰, 叶蕾, 等. 高效液相色谱法测定六味地黄丸的溶出度[J]. 中成药, 2014, 36(3): 652-654.

[8] 杜守颖, 陈雯, 吴清, 等. 仙灵骨葆胶囊中丹参酮 II_A 溶出度测定方法研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(13): 1706-1709.

[9] 魏华, 彭勇, 马国需, 等. 木香有效成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(3): 613-620.

[10] 印晓星, 杨帆. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 22.

[11] 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.

[责任编辑 刘德文]