

· 药剂与炮制 ·

## 市售二至丸水蜜丸和配方颗粒的体外溶出度比较

金秀丽<sup>1,2</sup>, 谭乐俊<sup>3</sup>, 王萌<sup>1\*</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193; 2. 天津国际生物医药联合研究院, 天津 300457; 3. 现代中药发现与制剂技术教育部工程研究中心, 天津 300193)

**[摘要]** **目的:**考察二至丸水蜜丸和配方颗粒中5种药效活性成分的溶出情况,比较这些成分在2种剂型中的体外溶出特点。**方法:**参照《中国药典》2010年版二部附录X C溶出度测定法,采用第二法桨法,转速 $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,测试不同溶出介质(水,30%乙醇, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸和pH 4.5,6.8的磷酸盐缓冲液)。利用UPLC测定2种剂型中红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸5种药效成分的体外溶出度,比较2种制剂的溶出行为。**结果:**在各个溶出介质中,二至丸2种不同制剂中各活性成分的溶出行为差别很大,配方颗粒中红景天苷、特女贞苷、女贞苷在各个介质里都能快速溶出且溶出量高( $>85\%$ );而水蜜丸中木犀草素和齐墩果酸只能在pH 6.8磷酸盐缓冲液中溶出很少的量( $<30\%$ )。从差异因子和相似因子分析,2种制剂中相同成分的溶出曲线无相似性。**结论:**和水蜜丸相比,配方颗粒中活性成分的累积溶出量更高,且在同一种溶出介质中,能溶出更多的药效成分。说明在体外溶出方面,配方颗粒这种新型的中药形式具有更大的优势。建立的溶出度方法可以应用于二至丸制剂的质量控制。

**[关键词]** 二至丸; 配方颗粒; 水蜜丸; 体外溶出度; 红景天苷; 特女贞苷; 齐墩果酸

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)06-0001-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016060001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160126.1544.002.html>

**[网络出版时间]** 2016-01-26 15:44

## Comparison Between *in Vitro* Dissolution of Two Kinds of Commercially Available Erzhi Wan Preparations

JIN Xiu-li<sup>1,2</sup>, TAN Le-jun<sup>3</sup>, WANG Meng<sup>1\*</sup>

(1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin International Joint Academy of Biomedicine, Tianjin 300457, China; 3. Engineering Research Center of Modern Chinese Medicine Discovery and Preparation Technique, Ministry of Education, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate *in vitro* dissolution of five active ingredients in water-honeyed pills and dispensing granules of Erzhi Wan, and to compare dissolution behavior of five ingredients in these two preparations. **Method:** *In vitro* dissolution of Erzhi Wan was studied in formulations of water-honeyed pills and dispensing granules in different media (water, 30% ethanol,  $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl, PBS with pH of 4.5 and 6.8) by following the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia* through the second method (the paddle method), rotation speed was set  $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ . UPLC was developed and validated to detect simultaneously *in vitro* dissolution of five active ingredients (salidroside, specnuezhenide, nuezhenoside, luteolin, oleanolic acid). Different parameters were employed to evaluate dissolution characteristics of these two preparations. **Result:** In different dissolution media, dissolution behavior of five ingredients in these two preparations had great difference. Salidroside, specnuezhenide and nuezhenoside in dispensing granules could dissolve fast and had high dissolution percentages

**[收稿日期]** 20150628(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81202851)

**[第一作者]** 金秀丽,在读硕士,从事制剂分析方面的研究,Tel:18322693575,E-mail:zhangajinabc@163.com

**[通讯作者]** \*王萌,博士,副研究员,从事制剂分析方面的研究,Tel:13821079089,E-mail:mengwangr@163.com

( >85% ) in each medium. Luteolin and oleanolic acid in water-honeyed pills dissolved very little ( <30% ) only in PBS with pH 6.8. Form difference factor of  $f_1$  and similarity factor of  $f_2$ , the same ingredient in these two preparations had different dissolution behavior. **Conclusion:** Compared with water-honeyed pills, active ingredients in dispensing granules have a higher cumulative dissolution, and in the same medium, medicinal ingredient can be dissolved more. Dispensing granules has great advantage in the aspect of *in vitro* dissolution. This developed method can be applied for quality control of Erzhi Wan preparations.

[ **Key words** ] Erzhi Wan; dispensing granules; water-honeyed pills; *in vitro* dissolution; salidroside; specnuezhenide; oleanolic acid

二至丸是中医临床补阴剂经典名方,源自《扶寿精方》<sup>[1]</sup>,由女贞子和墨旱莲 2 味药材组成,用于治疗肝肾阴虚所致的眩晕耳鸣、腰膝酸痛、月经量多等症<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明二至丸具有保肝、降血糖、降血脂、抗氧化等作用<sup>[3-6]</sup>,治疗老年人特别是更年期妇女的骨退行性病变更好<sup>[7-9]</sup>。其主要活性成分为水溶性的环烯醚萜类化合物、脂溶性的三萜类和黄酮类化合物<sup>[10-11]</sup>,如红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸等,文献报道证实这些成分是该方的主要药效成分<sup>[8-10]</sup>。市售二至丸有水蜜丸和配方颗粒 2 种。水蜜丸是一种以蜂蜜为辅料,混合药粉或提取浸膏粉末制成的传统草药制剂;中药配方颗粒是 1993 年由国家中医药管理局提倡的中药使用新方式,用现代制药技术经水提取并干燥制成颗粒,力求最大程度上接近传统水煎煮的中药服药方式,提高服药顺应性和方便性<sup>[12-13]</sup>。溶出度是口服固体制剂进入体内吸收的关键影响因素之一,是评价药物生物利用度的重要指标和质量控制的主要研究内容。本实验选取二至丸中多种药效成分(红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸)为评价指标,建立专属性强、快速、高效的 UPLC 分析测定方法,比较二至丸的 2 种市售剂型(水蜜丸和配方颗粒)的体外溶出情况,为中药配方颗粒的评价提供参考。

## 1 材料

ACQUITY H-class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),AT7 smart 型溶出装置(瑞士 Sotax 公司),Milli-Q 型超纯水仪(美国密理博公司),H1650-W 型高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

二至丸(江西仁丰药业有限公司,批号 120901),女贞子和墨旱莲配方颗粒(华润三九医药股份有限公司,批号 1106161S),红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素、齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110818-201005, 111926-201102, 111918-201102, 111520-200504,

110709-200505),水为超纯水,乙腈、甲醇及甲酸为色谱纯,其他溶剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH Shield PR18 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B)梯度洗脱(0 ~ 6 min, 2% A; 6 ~ 20 min, 2% ~ 35% A; 20 ~ 27 min, 35% A; 27 ~ 30 min, 35% ~ 80% A; 30 ~ 37 min, 80% A)。检测波长切换(0 ~ 19 min, 220 nm; 19 ~ 37 min, 205 nm),流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35 °C,进样量 5 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,得质量浓度分别为 66.5, 66.1, 46.3, 56.3, 72.5 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取二至丸水蜜丸和配方颗粒适量,按《中国药典》2010 年版二部附录 X C 溶出度测定法第二法浆法操作,以经脱气处理的水 500 mL 和 30% 乙醇为溶出介质,转速 75 r·min<sup>-1</sup>,溶出 2 h 时取溶出液适量,离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>, 5 min, 下同),取上清液,作为供试品溶液。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 线性关系考察** 分别精密量取混合对照品储备液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列混合对照品溶液。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,得红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸的回归方程分别为  $Y = 19\ 154X + 120\ 000$  ( $r = 0.999\ 4$ ),  $Y = 16\ 920X + 27\ 649$  ( $r = 0.999\ 9$ ),  $Y = 23\ 805X - 6\ 429.2$  ( $r = 0.999\ 9$ ),  $Y = 78\ 437X + 33\ 124$  ( $r = 0.999\ 5$ ),  $Y = 9\ 667.7X - 33\ 588$  ( $r = 0.999\ 9$ ), 线性范围依次为 0.67 ~ 21.28, 0.66 ~ 21.15, 0.46 ~ 14.82, 0.56 ~ 18.02, 0.73 ~ 23.20 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.4.2 精密度试验** 取一定质量浓度的混合对照

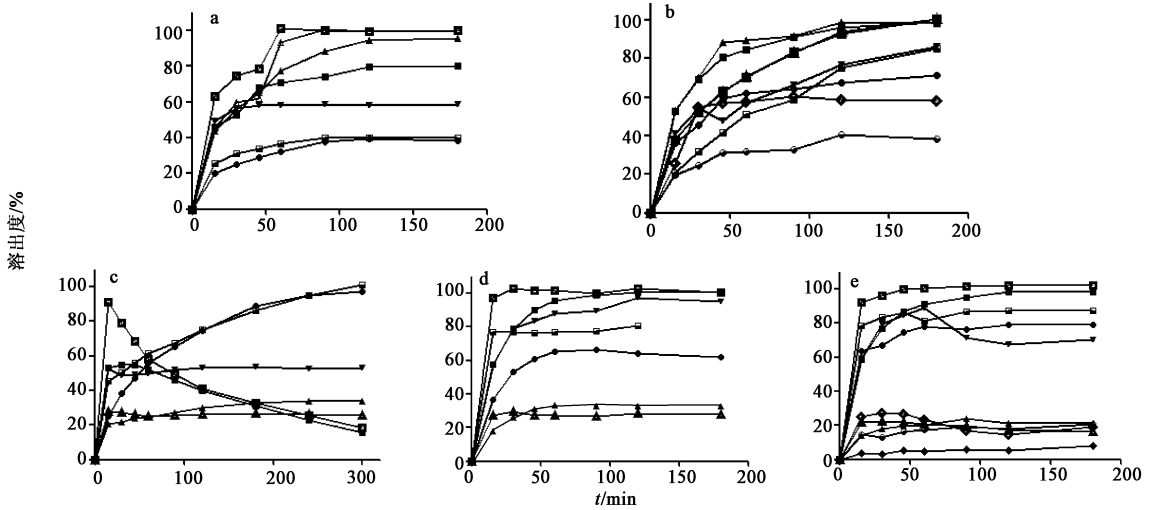
品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素、齐墩果酸峰面积的 RSD 分别为 0.1%, 0.1%, 1.1%, 0.2%, 0.1%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.3 重复性试验** 取二至丸水蜜丸和配方颗粒适量,分别以水和 30% 乙醇为介质按溶出度测定方法重复测定 6 次,取溶出 2 h 时的溶出液进行测定溶出量。结果水蜜丸中红景天苷、特女贞苷、女贞苷在水中的平均溶出量的 RSD 分别为 2.5%, 2.8%, 3.4%, 在 30% 乙醇中红景天苷、特女贞苷、女贞苷和木犀草素的 RSD 分别为 3.0%, 2.2%, 2.6%, 2.9%。配方颗粒中红景天苷、特女贞苷、女贞苷和木犀草素在水中溶出量的 RSD 分别为 2.1%, 1.9%, 2.5%, 2.2%, 在 30% 乙醇中红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸的 RSD 分别为 3.1%, 2.3%, 2.1%, 2.9%, 2.8%。表明方法重复性良好。

**2.4.4 稳定性试验** 取二至丸水蜜丸和配方颗粒分别在水和 30% 乙醇溶出 2 h 时的溶出液,分别在 0, 2,

4, 8, 12, 18, 24 h 进样测定,结果水蜜丸中红景天苷、特女贞苷、女贞苷峰面积的 RSD 分别为 1.8%, 1.3%, 1.4%, 在 30% 乙醇中红景天苷、特女贞苷、女贞苷和木犀草素峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.7%, 2.6%, 1.8%。配方颗粒中红景天苷、特女贞苷、女贞苷和木犀草素在水中的峰面积 RSD 分别为 1.5%, 2.1%, 1.5%, 1.6%, 在 30% 乙醇中红景天苷、特女贞苷、女贞苷、木犀草素和齐墩果酸峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 2.3%, 1.7%, 1.1%, 0.9%。表明供试品溶液在水和 30% 乙醇中 24 h 内稳定性良好。

**2.5 二至丸水蜜丸和配方颗粒溶出度的测定** 参考《中国药典》2010 年版,采用第二法浆法进行溶出度试验。测试介质分别选择水,30% 乙醇,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸和 pH 4.5, 6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS)。介质体积 500 mL,转速 75 r·min<sup>-1</sup>,水浴温度(37 ± 0.5) °C,分别于试验开始后 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360 min 各取溶出液 5 mL,同时立即补加等量同温的相同溶出介质,溶液取出后迅速离心,取上清液测定各成分含量,绘制溶出曲线,见图 1。



◆ 丸剂中红景天苷; ■ 丸剂中特女贞苷; ▲ 丸剂中女贞苷; ◆ 丸剂中木犀草素; ▼ 丸剂中齐墩果酸; □ 颗粒中红景天苷; ■ 颗粒中特女贞苷; ▲ 颗粒中女贞苷; ◆ 颗粒中木犀草素; ▼ 颗粒中齐墩果酸

a. 水; b. 30% 乙醇; c. 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸; d. PBS (pH 4.5); e. PBS (pH 6.8)

图 1 二至丸水蜜丸和配方颗粒在不同介质中的溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves of water-honeyed pills and dispensing granules of Erzhi Wan in different media

由图 1 可知,二至丸不同剂型在各个溶出介质中有不同的溶出行为。在水蜜丸中,齐墩果酸和木犀草素只能在 pH 6.8 PBS 介质中溶出很小的量 (< 30%), 红景天苷,女贞苷和特女贞苷在各个介质中均能溶出,但累积溶出率各不相同。在各个溶出介质中,配方颗粒均能比水蜜丸溶出更多的药效成分,且溶出量更高。由于特女贞苷在 pH 1.0 的环境中不稳定,其溶出曲线出现先升高后降低的现象。

**2.6 差异因子( $f_1$ )和相似因子( $f_2$ )法比较分析** 比较 2 条释放曲线差异的方法有很多,其中  $f_1$  和  $f_2$  是一种可较好区分释放度差异的方法<sup>[14-15]</sup>,认为  $f_1$  在 0~15 且  $f_2$  在 50~100 时 2 条释放曲线相似。

$$f_1 = \left[ \sum_{i=1}^n |R_i - T_i| \right] / \left[ \sum_{i=1}^n R_i \right] \times 100$$

$$f_2 = 50 \times \lg_{10} \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

式中  $R_t$  为对照成分  $t$  时间的累积溶出率,  $T_t$  为试验成分  $t$  时间的累积溶出率,  $n$  为溶出度实验的取样次数。以二至丸水蜜丸中各个活性成分的溶出曲线为参比, 配方颗粒中相同的活性成分为测试成

分, 见表 1。结果发现 2 种制剂中相同的药效成分, 其在各种溶出介质里的溶出行为均无相似性。提示二至丸剂型的改变或制备工艺的改变可能会影响活性成分的溶出行为, 从而影响药物的口服疗效。

表 1 二至丸水蜜丸和配方颗粒溶出曲线的比较

Table 1 Comparison of dissolution curves between water-honeyed pills and dispensing granules of Erzhi Wan

溶出介质	红景天苷		特女贞苷		女贞苷		木犀草素		齐墩果酸	
	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$	$f_1$	$f_2$
水	82.77	27.24	20.50	41.29	11.04	46.93	-	-	-	-
30% 乙醇	69.28	28.39	14.12	44.57	13.39	42.83	14.23	50.24	-	-
0.1 mol·L <sup>-1</sup> 盐酸	16.24	48.36	-	-	16.27	64.46	-	-	-	-
pH 4.5 PBS	34.41	32.65	-	-	18.82	61.39	-	-	-	-
pH 6.8 PBS	-	-	-	-	-	-	39.3	11.19	30.7	36.5

### 3 讨论

溶出度测定时, 选用了不同的溶出介质, 目的是全面考察二至丸 2 种不同制剂溶出行为的差异, 且溶出介质模拟胃肠道生理 pH 条件, 能够体现制剂口服以后在胃肠道的溶出情况, 在一定程度上反映了口服药物的体内吸收过程。

试验选取的 5 种活性成分为二至丸制剂组方中具有抗氧化、保肝、降糖降脂和治疗骨质疏松的代表性成分, 由溶出行为可知, 配方颗粒比水蜜丸能溶出更多的成分和更高的累积溶出量, 提示新型的二至丸配方颗粒在体外溶出方面比二至丸水蜜丸制剂具有更高的优势性。体外溶出度在某种程度上与体内生物利用度呈现一定的正相关性, 溶出度高有利于机体对药物的充分吸收, 临床疗效会更好。

本文采用 UPLC 进行分析, 建立的方法可用于二至丸制剂中多种成分体外溶出度的分析测定, 为体外判断二至丸制剂口服吸收行为提供科学、可靠的依据。同时, 该分析方法对制剂中不同极性成分具有一定的覆盖能力, 可应用于二至丸制剂的质量控制。

#### [参考文献]

[1] 吴旻. 扶寿精方[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1986: 11.

[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: 412-413.

[3] 蔡秀江, 黄美艳, 丁安伟, 等. 二至丸考源及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 272-275.

[4] 闫冰, 蔡秀江, 姚卫峰, 等. 二至丸保肝活性成分群对 CCl<sub>4</sub> 致小鼠急性肝损伤保护作用研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1303-1306.

[5] Ju H Y, Chen S C, Wu K J, et al. Antioxidant phenolic profile from ethyl acetate fraction of Fructus Ligustri Lucidi with protection against hydrogen peroxide-induced

oxidative damage in SH-SY5Y cells [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(3/4): 492-502.

[6] Wang J, Shan A, Liu T, et al. In vitro immunomodulatory effects of an oleanolic acid-enriched extract of *Ligustrum lucidum* fruit (*Ligustrum lucidum* supercritical CO<sub>2</sub> extract) on piglet immunocytes [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 14(4): 758-763.

[7] Zhang Z G, Bai D, Liu M J, et al. Therapeutic effect of aqueous extract from *Ecliptae herba* on bone metabolism of ovariectomized rats [J]. Menopause, 2013, 20(2): 232-240.

[8] Xu H, Su Z R, Huang W, et al. Er Zhi Wan, an ancient herbal decoction for woman menopausal syndrome, activates the estrogenic response in cultured MCF-7 cells; an evaluation of compatibility in defining the optimized preparation method [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 143(1): 109-115.

[9] Cheng M, Wang Q W, Fan Y K, et al. A traditional Chinese herbal preparation, Er-Zhi-Wan, prevent ovariectomy-induced osteoporosis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138(2): 279-285.

[10] 陈腾飞, 萧伟, 李成, 等. 二至丸处方提取物化学成分的研究[J]. 中草药, 2011, 42(3): 447-449.

[11] 林雄浩, 吴锦忠. 中药复方二至丸的化学成分及抗骨质疏松研究进展[J]. 解放军药理学学报, 2009, 25(5): 421-424.

[12] 张义娟, 田谧. 试谈中药配方颗粒的优势与不足[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(9): 105-106.

[13] 张春盛. 中药配方颗粒的研究现状与市场前景[J]. 中国中医药现代远程教育, 2007, 5(3): 35-37.

[14] FDA. Guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms [S]. Rockville: Food and Drug Administration, 1997.

[15] 肖林林, 温琰, 吴坚. 茵栀黄分散片中 3 种活性成分的体外溶出度比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 48-50.

[责任编辑 刘德文]