

五味子总木脂素胃漂浮片的制备及质量评价[△]

邹翔*, 官甜, 朱室儒, 周林, 吴双, 尹贻静, 曲中原#, 李文兰(哈尔滨商业大学药学院/抗肿瘤天然药物教育部工程研究中心, 哈尔滨 150076)

中图分类号 R284.1;R944.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)11-1336-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.11.09

摘要 目的:研究五味子总木脂素胃漂浮片的制备工艺,并对所制片剂进行质量评价。方法:在单因素试验的基础上,以羟丙基甲基纤维素(HPMC)K15M比例、NaHCO₃比例、微晶纤维素比例为考察因素,以胃漂浮片的起漂时间、持漂时间、累积释放率作为评价指标进行正交试验,优化五味子总木脂素胃漂浮片处方。对所制五味子总木脂素胃漂浮片的性状、片重差异、漂浮性能和累积释放率进行检查;采用薄层色谱法进行定性鉴别,采用高效液相色谱法和紫外分光光度法测定该制剂中五味子醇甲和总木脂素的含量。结果:五味子总木脂素胃漂浮片最优制备处方比例为五味子总木脂素浸膏23%、HPMC K15M 20%、微晶纤维素40%、NaHCO₃ 15%、十八醇1%、聚乙烯吡咯烷酮1%。所制五味子总木脂素胃漂浮片各项检查结果均符合2015年版《中国药典》(四部)项下“0101片剂”相关规定。薄层色谱鉴别结果显示,供试品溶液色谱中与五味子醇甲对照品、五味子对照药材及原药材色谱相应的位置上显相同颜色的主斑点,阴性对照无干扰。含量测定结果显示,五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲和总木脂素的平均含量分别为3.187、19.617 mg,初步制定该制剂每片中五味子醇甲含量不得低于2.50 mg、总木脂素含量(以五味子醇甲计)不得低于15.50 mg的限度。结论:五味子总木脂素胃漂浮片的制备工艺稳定、可行,质量可控。

关键词 五味子总木脂素;胃漂浮片;五味子醇甲;处方优化;质量评价;鉴别;含量测定

Preparation and Quality Evaluation of Gastric Floating Tablets of *Schisandra chinensis* Total Lignans

ZOU Xiang, GONG Tian, ZHU Shiru, ZHOU Lin, WU Shuang, YIN Yijing, QU Zhongyuan, LI Wenlan (College of Pharmacy/Engineering Research Center of Natural Anticancer Drugs, Ministry of Education, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the preparation technology of gastric floating tablets of *Schisandra chinensis* total lignans (SCTL), and evaluate the quality of prepared tablets. METHODS: Based on single factor test, the orthogonal experiment was conducted to optimize the formulation of SCTL gastric floating tablets with the contents of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K15M, NaHCO₃ and microcrystalline cellulose as the factors, using starting time, holding time and cumulative release rate of gastric floating tablets as evaluation indexes. The properties, weight difference, floatability and accumulative release rate of the prepared SCTL gastric floating tablets were determined. The gastric floating tablets were qualitatively identified by TLC, and the contents of schizandrin A and total lignans were determined by HPLC and UV spectrophotometry. RESULTS: The optimal formulation of SCTL gastric floating tablets was made up of 23% SCTL extract, 20% HPMC K15M, 40% microcrystalline cellulose, 15% sodium bicarbonate, 1% octadecyl alcohol and 1% polyvinylpyrrolidone. The results of detection of this preparation were in line with the related provisions of “0101 tablet” stated in 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* (part IV). TLC indicated that the chromatogram of the test sample showed the main spots of same color as the corresponding positions of the chromatogram of schizandrol A control, *Schisandra chinensis* reference substance and raw material, while the negative control has no interference. Content determination results shows that the average content of schizandrol A and total lignans in SCTL gastric floating tablets is 3.187, 19.617 mg. It was preliminarily formulated that the content limitation of schizandrol A in one tablet should not be less than 2.50 mg, and the content of total lignans (calculated by schizandrol A) should not be less than 15.50 mg. CONCLUSIONS: The preparation technology of SCTL gastric floating tablets is stable, feasible and controllable in quality.

KEYWORDS *Schisandra chinensis* total lignans; Gastric floating tablets; Schizandrol A; Formulation optimization; Quality evaluation; Identification; Content determination

五味子为木兰科植物五味子 [*Schisandra chinensis*

[△] 基金项目:黑龙江省科技重大专项(No.GA19C107)

* 研究员,博士生导师,博士。研究方向:抗肿瘤天然药物。电话:0451-84866922。E-mail:zou8663202@163.com

通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:中药药效物质基础及中药炮制。电话:0451-84838207。E-mail:qiuqiuqu@163.com

(Turcz.) Baill.]的干燥成熟果实,又称北五味子^[1]。中医常用五味子治疗久嗽虚喘、遗尿、尿频、久泻不止、自汗盗汗、内热消渴、心悸失眠等病症^[2]。五味子含有木脂素类、有机酸类、挥发油类等成分^[3-4]。现代药理学研究表明,五味子木脂素类成分具有保肝利胆、镇静催眠、抗过

敏、抗衰老、提高机体免疫力等多种药理作用,对消化系统、心血管系统、中枢神经系统等相关疾病均有显著的治疗效果^[6-7]。药动学研究表明,五味子木脂素类成分在体内半衰期短、吸收代谢速度快、生物利用度偏低,故制成普通制剂时服用量大、用药频繁^[8-9]。胃漂浮片是根据流体动力学原理设计的一种新剂型,口服后迅速漂浮于胃液之上,在胃内的滞留时间延长,能改善吸收、提高生物利用度^[10-11]。基于此,本研究拟制备五味子总木脂素胃漂浮片,以期提高五味子总木脂素的生物利用度,为五味子总木脂素新剂型的开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

TDP-5 型单冲压片机(上海天凡药机制造厂); QCY-1940A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海爱朗仪器有限公司); KW235DB 型数控超声波清洗器(天津市科莱恩实验仪器有限公司); SYKES-50T 型闪式提取器(郑州赛克斯玻璃仪器有限公司); 754N AUTD 型紫外可见分光光度计(上海精科实业有限公司)。

1.2 药品与试剂

五味子药材(批号:20170919)于2017年11月购自黑龙江省五常市充河林业局,经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定为木兰科植物五味子[*S. chinensis* (Turcz.) Baill.]的干燥成熟果实;五味子醇甲对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号:18031905,纯度:>98%);五味子对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:170922-201809);羟丙甲基纤维素K4M(HPMC K4M,批号:20170921)、HPMC K15M(批号:20170818)、HPMC K100M(批号:20170929)、羟乙基纤维素(批号:20180402)、微晶纤维素(批号:20180311)、单甘酯(批号:20170704)均购自天津市天新精细化工开发中心;胃蛋白酶(美国 Biotopped 公司,批号:20180318);聚乙烯吡咯烷酮(博爱新开源制药股份有限公司,批号:P171030001);十八醇(湖南尔康制药股份有限公司,批号:105220171201);其余试剂均为分析纯或实验室常用试剂,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 五味子总木脂素浸膏的制备

采用闪式提取法^[12]以乙酸乙酯为溶剂进行提取。称取五味子药材适量,加入5倍体积(mL/g)的乙酸乙酯,提取3次,每次1 min;合并提取液,浓缩制成五味子总木脂素浸膏(得率为15.34%;以五味子醇甲计,其含量为17.06%),备用。

2.2 五味子中总木脂素的含量测定

2.2.1 五味子醇甲对照品溶液的制备 精密称定五味子醇甲对照品2.5 mg于25 mL量瓶中,加甲醇适量后超声(功率:150 W,频率:40 kHz)处理使溶解,以甲醇定

容,制备成质量浓度为0.1 mg/mL五味子醇甲对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取1片五味子木脂素胃漂浮片置于900 mL人工胃液中,待全部溶解后取出5 mL溶液,置于水浴锅上蒸干,然后加10 mL甲醇复溶,作为供试品溶液。

2.2.3 标准曲线的绘制 精密量取五味子醇甲对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得五味子醇甲系列溶液。以甲醇为空白试剂,采用紫外检测仪于220 nm处测定吸光度。以五味子醇甲质量浓度为横坐标(x , mg/mL)、吸光度为纵坐标(y),绘制标准曲线。结果得标准曲线为 $y=101.38x+0.0657$ ($r=0.9997$),表明五味子醇甲质量浓度在0.001~0.01 mg/mL范围内线性关系良好。

2.2.4 方法学考察 (1)精密度试验:取五味子总木脂素胃漂浮片供试品溶液(批号:20180915,下同),采用紫外可见分光光度计于220 nm波长处连续测定6次。结果,总木脂素吸光度的RSD为0.64%($n=6$),表明仪器精密度良好。(2)稳定性试验:取五味子总木脂素胃漂浮片供试品溶液(批号:20180915,下同),于室温下放置0、2、4、6、8、12 h后,采用紫外可见分光光度计于220 nm波长处测定吸光度。结果,总木脂素吸光度的RSD为0.76%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定。(3)重复性试验:取同一批次五味子总木脂素胃漂浮片(批号:20180915,下同)6片,按“2.2.2”项下方法分别制备6份供试品溶液,采用紫外可见分光光度计于220 nm波长处测定吸光度,并按标准曲线法计算含量。结果,总木脂素含量的RSD为0.86%($n=6$),表明方法重复性良好。(4)加样回收率试验:取同一批五味子总木脂素胃漂浮片(批号:20180915,下同)10片(共5 g,每片含总木脂素19.6 mg),研成粉末,混匀,取6份,每份约0.01 g,分别加入0.1 mg/mL五味子醇甲对照品溶液4 mL,按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,采用紫外可见分光光度计于220 nm波长处测定吸光度并计算加样回收率。结果,总木脂素的平均回收率为99.21%(RSD=0.75%, $n=6$),表明方法准确度良好。

2.3 五味子总木脂素胃漂浮片累积释放率测定

采用转篮法测定胃漂浮片中总木脂素的体外累积释放率^[13]。取不同制备工艺的五味子总木脂素胃漂浮片分别置于干燥转篮内,再将转篮放入人工胃液中,模拟胃蠕动条件设置恒定温度(37 ± 0.5) °C、恒定转速100 r/min、人工胃液体积900 mL。自放入起计算时间,在考察的时间点精密量取5 mL溶液,并用同体积、同温度、同pH值的空白溶出介质进行补足。将取样液挥干,加甲醇10 mL复溶,过滤,取续滤液在220 nm波长处测

定吸光度,根据标准曲线计算该时间点的样品液中总木脂素浓度,然后根据公式计算总木脂素的累积释放率

$$(E_i)[E_i = \frac{V_c \sum_{i=1}^{n-1} c_i + V_0 c_n}{m_{drug}} \times 100\%], \text{式中 } E_i \text{ 表示药物累积释放率, } V_c \text{ 表示测定用取样液的体积(5 mL), } V_0 \text{ 表示人工胃液总体积(900 mL), } c_i \text{ 表示第 } i \text{ 次取样时释放液中的药物浓度, } c_n \text{ 表示第 } n \text{ 次取样时释放液中的药物浓度, } m_{drug} \text{ 表示完全释放的药物总质量}。$$

2.4 五味子总木脂素胃漂浮片的漂浮性能测定
以 900 mL 人工胃液为释放介质,设置 100 r/min 恒速搅拌、释放温度保持在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。将胃漂浮片放入溶出杯,记录起漂时间和持漂时间(自放入杯中起至片剂漂浮至液面的时间为起漂时间,从起漂起至试验结束时的时间为持漂时间)。

2.5 单因素试验筛选处方材料种类

2.5.1 亲水性凝胶骨架材料的筛选
亲水凝胶骨架材料遇胃液后会形成凝胶层,能够维持片剂的漂浮性、延长滞留时间、控制药物释放,故为胃漂浮片的重要载体,其中 HPMC 最为常用,不同分子量的 HPMC 吸水膨胀能力不同,对制剂漂浮性能的影响也不同^[14]。另外,处方中添加低密度疏水性物质(即低密度辅料)可使漂浮片在水化膨胀前即开始漂浮,并防止内含的空气逸出,从而起到维持漂浮、缓慢释药、增加载药量的作用;添加起泡剂也可提高漂浮性能^[15]。基于此,本研究以胃漂浮片的外观及漂浮性能(参考相关文献^[13,16]设定:当起漂时间 $< 20\text{ s}$ 、持漂时间 $> 11\text{ h}$ 时,漂浮性能较好)作为主要评价指标,采用单因素试验筛选胃漂浮片亲水凝胶骨架材料、低密度辅料和起泡剂的种类。

2.5.2 低密度辅料的筛选

2.5.1 亲水性凝胶骨架材料的筛选
固定处方比例为五味子总木脂素浸膏 23%、亲水性凝胶骨架材料 20%、微晶纤维素 30%、 NaHCO_3 15%、淀粉 10%、交联聚维酮 1%、十八醇 1%(片重 0.5 g,下同),考察 HPMC 不同型号(K4M、K15M、K100M)对胃漂浮片的漂浮性能和外观的影响。先将五味子总木脂素浸膏溶于无水乙醇中,分别加入 3 种不同型号的 HPMC,混匀,挥干乙醇,再与其他辅料混合均匀,过 60 目筛 3 次后混匀,压片,控制片剂硬度在 4~5 kgf。结果,用 K15M 型 HPMC 进行制备的五味子总木脂素胃漂浮片的外观较好、颜色均一,起漂时间为 17 s,持漂时间 $> 11\text{ h}$,符合 20 s 左右起漂的预定要求,详见表 1。

2.5.2 低密度辅料的筛选
固定处方比例为五味子总木脂素浸膏 23%、HPMC K15M 20%、低密度辅料 30%、 NaHCO_3 15%、淀粉 10%、交联聚维酮 1%、十八醇 1%,考察单甘酯、羟乙基纤维素、微晶纤维素这 3 种低密度辅料对胃漂浮片的漂浮性能和外观的影响。五味子总木

表 1 单因素试验结果

因素	种类	片剂起漂时间,s	片剂持漂时间,h	片剂外观
亲水性凝胶骨架材料	HPMC K4M	26	>11	浅黄色,颜色均一
	HPMC K15M	17	>11	浅黄色,颜色均一
	HPMC K100M	21	10.6	浅黄色,颜色均一
低密度辅料	单甘酯	33	10.9	浅黄色,颜色均一
	羟乙基纤维素	27	10.8	浅黄色,颜色均一
	微晶纤维素	19	>11	浅黄色,颜色均一
起泡剂	Na_2CO_3	11	>11	浅黄色,表面有麻点
	CaCO_3	65	>11	浅黄色,颜色均一
	NaHCO_3	24	>11	浅黄色,颜色均一

脂素胃漂浮片的制备过程同“2.5.1”项下“先将五味子……控制片剂硬度在 4~5 kgf”操作。结果,用微晶纤维素进行制备的五味子总木脂素胃漂浮片的外观较好,颜色均一,起漂时间为 19 s,持漂时间 $> 11\text{ h}$,详见表 1。

2.5.3 起泡剂的筛选
固定处方比例为五味子总木脂素浸膏 23%、HPMC K15M 20%、微晶纤维素 30%、起泡剂 15%、淀粉 10%、交联聚维酮 1%、十八醇 1%,考察 Na_2CO_3 、 CaCO_3 、 NaHCO_3 这 3 种起泡剂对五味子总木脂素胃漂浮片的漂浮性能和外观的影响。五味子总木脂素胃漂浮片的制备过程同“2.5.1”项下“先将五味子……控制片剂硬度在 4~5 kgf”操作。结果,用 Na_2CO_3 进行制备的五味子总木脂素胃漂浮片的起漂时间为 11 s,但片剂表面不光滑,所以最终选择 NaHCO_3 作为起泡剂(所得片剂起漂时间为 24 s,持漂时间 $> 11\text{ h}$),详见表 1。

2.6 正交试验优化处方工艺

2.6.1 正交试验设计及结果
根据单因素试验结果,选择 HPMC K15M(A)、 NaHCO_3 (B)、微晶纤维素(C)的处方比例等 3 个因素作为考察对象,结合预试验结果,每个因素选定 3 个不同水平,分别按“2.5.1”项下“先将五味子……控制片剂硬度在 4~5 kgf”操作制备五味子总木脂素胃漂浮片,再以起漂时间、持漂时间、2 h 和 12 h 时的累积释放率作为评价指标,并进行综合评分计算。参考相关文献方法^[17],将最优的五味子总木脂素胃漂浮片设定为药物在 2 h 时的累积释放率为 30%、在 12 h 时的累积释放率为 90%、起漂时间为 20 s、持漂时间为 12 h,然后根据公式计算综合评分:综合评分 = $|a_1 - 30\%| \times 100 + |a_2 - 90\%| \times 100 + |b - 20| + |c - 12|$,其中 a_1 、 a_2 分别为所制五味子总木脂素胃漂浮片在 2、12 h 时的累积释放率, b 、 c 分别为所制五味子总木脂素胃漂浮片的起漂时间、持漂时间。综合评分越小,表明五味子总木脂素胃漂浮片的综合质量越好,制备工艺越好。因素与水平见表 2,正交试验设计与结果见表 3,方差分析结果见表 4。

由表 3、表 4 可知,各因素对五味子总木脂素胃漂浮片的影响大小顺序为 $C > A > B$,且因素 A 和 C 的影响有统计学意义($P < 0.05$),由此得出最优处方为 $A_2B_2C_3$,即 HPMC K15M 20%、 NaHCO_3 15%、微晶纤维素 40%。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, %	C, %
1	15	10	20
2	20	15	30
3	25	20	40

表3 正交试验设计与结果

Tab 3 Design and results of orthogonal tests

编号	因素				指标			
	A	B	C	D(空白)	起漂时间, s	持漂时间, h	2 h/12 h 累积释放率, %	综合评分
1	1	1	1	1	23	8	24.57/86.37	16.06
2	1	2	2	2	25	11	27.54/91.96	10.42
3	1	3	3	3	22	12	34.15/94.64	10.79
4	2	1	2	3	24	10	28.49/91.27	8.78
5	2	2	3	1	19	12	31.46/92.17	4.63
6	2	3	1	2	23	12	25.68/84.48	12.84
7	3	1	3	2	18	11	29.47/93.91	7.44
8	3	2	1	3	23	10	27.94/92.68	9.74
9	3	3	2	1	24	12	25.30/87.63	11.07
K_1	37.27	32.28	38.64	31.76				
K_2	26.25	24.79	30.27	30.70				
K_3	28.25	34.70	22.86	29.31				
R	11.02	9.91	15.78	2.45				

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	22.978	2	11.489	22.830	0.042
B	17.796	2	8.898	17.682	0.054
C	41.553	2	20.776	41.286	0.024
D(误差)	1.006	2	0.503		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ Note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

2.6.2 验证试验 按“2.6.1”项下最优处方称取相应主药和辅料,按“2.5.1”项下“先将五味子……控制片剂硬度在4~5 kgf”操作制备3批五味子总木脂素胃漂浮片(批号:20180915、20180921、20180927),每批随机取3片,测定其起漂时间、持漂时间、2 h和12 h时的累积释放率。结果,最优处方所制五味子总木脂素胃漂浮片的起漂时间为19~20 s,持漂时间均为12 h,2 h累积释放率为28.54%~31.26%,12 h累积释放率为92.17%~93.11%,详见表5。

表5 验证试验结果

Tab 5 Results of validation tests

批号	起漂时间, s	持漂时间, h	2 h/12 h 累积释放率, %
20180915	20	12	28.57/91.37
	21	12	28.54/91.96
	20	12	29.15/92.14
20180921	19	12	29.84/91.27
	19	12	31.26/92.17
	20	12	30.61/91.78
20180927	21	12	29.47/93.11
	20	12	28.74/92.68
	20	12	29.30/92.74

2.7 五味子总木脂素胃漂浮片的质量评价

2.7.1 性状考察 取“2.6.2”项下制备的3批五味子总木脂素胃漂浮片数片,放在白色纸张上,在同一自然光源下,用肉眼在距离片剂30 cm高度处观察。结果,五味子总木脂素胃漂浮片表面平整光滑,呈扁平药片状,颜色为浅黄色且颜色均匀。

2.7.2 片重差异考察 随机取“2.6.2”项下制备的3批五味子总木脂素胃漂浮片各20片,精密称定总质量,计算平均片重;再分别精密称定每片片重,然后将每片片重与平均片重进行比较。结果,五味子总木脂素胃漂浮片的片重均符合2015版《中国药典》(四部)片剂项下规定的片重差异限度 $\pm 5.0\%$ ^[13]。

2.7.3 累积释放率测定 随机取“2.6.2”项下制备的3批五味子总木脂素胃漂浮片各2片,按“2.3”项下方法测定其在2、4、6、8、10、12 h时总木脂素的累积释放率。结果,3批五味子总木脂素胃漂浮片中总木脂素均缓慢、非恒速地释放,详见表6。

表6 累积释放率测定结果

Tab 6 Results of accumulative release rate

试验次数	累积释放率, %					
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
1	31.63	50.20	60.83	73.73	84.49	92.59
2	29.69	48.24	57.70	70.32	83.14	92.14
3	29.43	48.76	56.80	72.26	82.50	93.05
4	29.95	49.67	59.14	70.86	83.55	91.39
5	29.17	47.33	59.51	72.91	84.71	91.78
6	28.91	47.59	58.08	71.87	82.11	92.92
平均值, %	29.80	48.63	58.68	71.99	83.42	92.31
RSD, %	0.97	1.14	1.44	1.27	1.05	0.66

2.7.4 漂浮性能检测 在进行五味子总木脂素胃漂浮片的累积释放率测定时,按“2.4”项下方法记录片剂的起漂时间和持漂时间。结果,3批五味子总木脂素胃漂浮片的起漂时间均小于20 s,持漂时间均大于11 h,表明该剂具有很好的漂浮能力。

2.8 五味子总木脂素胃漂浮片定性鉴别

2.8.1 五味子对照药材溶液及原药材溶液的制备 取五味子对照药材和原药材粉末各2 g,分别加入10 mL甲醇超声(功率:150 W,频率:40 kHz)提取30 min,合并滤液并浓缩后加入甲醇溶解,定容至25 mL量瓶中,即得五味子对照药材溶液和原药材溶液。

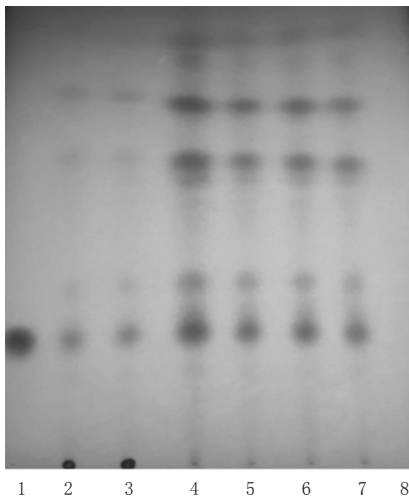
2.8.2 五味子总木脂素溶液的制备 取“2.1”项下五味子总木脂素浸膏2 g,加入甲醇溶解,定容至25 mL量瓶中,即得五味子总木脂素溶液。

2.8.3 供试品溶液的制备 取“2.6.2”项下制备的3批五味子总木脂素胃漂浮片,每批各取3片,加入适量水溶解,置于水浴锅上挥干,再加入适量甲醇复溶,滤过,定容至25 mL量瓶中,即得供试品溶液。

2.8.4 阴性对照溶液的制备 取阴性对照品(按最优处方和工艺制备的不含五味子总木脂素的样品),按

“2.8.3”项下方法制得阴性对照溶液。

2.8.5 薄层色谱鉴别 按2015年版《中国药典》(四部)通则0502^[13]进行薄层色谱鉴别。取“2.2.1”和“2.8.1”~“2.8.4”项下溶液,分别点适量于同一硅胶薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)溶液为展开剂进行展开后,取出,晾干,于254 nm紫外光灯下检视。结果,在与五味子醇甲对照品溶液、五味子对照药材及原药材色谱相应的位置上,供试品溶液色谱中显相同颜色的主斑点,阴性对照无干扰,详见图1。



注:1.五味子醇甲对照品溶液;2.五味子对照药材溶液;3.原药材溶液;4.五味子总木脂素溶液;5~7.五味子总木脂素胃漂浮片供试品溶液(批号:20180915);8.阴性对照品溶液

Note: 1. schizandrol A control; 2. *S. chinensis* reference substance; 3. raw material solution; 4. SCTL solution; 5-7. test samples of SCTL gastric floating tablets (batch number of 20180915); 8. negative control solution

图1 薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatogram

2.9 五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲的含量测定

采用HPLC法进行测定。

2.9.1 色谱条件 色谱柱为SilGreen HPLC Column (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水,梯度洗脱(0~5 min, 75%甲醇;5~10 min, 75%甲醇→80%甲醇;10~30 min, 80%甲醇;30~35 min, 80%甲醇→100%甲醇);流速为1.0 mL/min;柱温为35℃;检测波长为254 nm;进样量为10 μL。

2.9.2 溶液的制备 (1)供试品溶液:随机取1片五味子总木脂素胃漂浮片,加入适量水溶解,置于水浴锅上挥干,加甲醇复溶,定容至25 mL量瓶中,采用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。(2)阴性对照溶液:按“2.8.4”项下方法制备,采用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为阴性对照品溶液。

2.9.3 专属性试验 取“2.2.1”项下五味子醇甲对照品

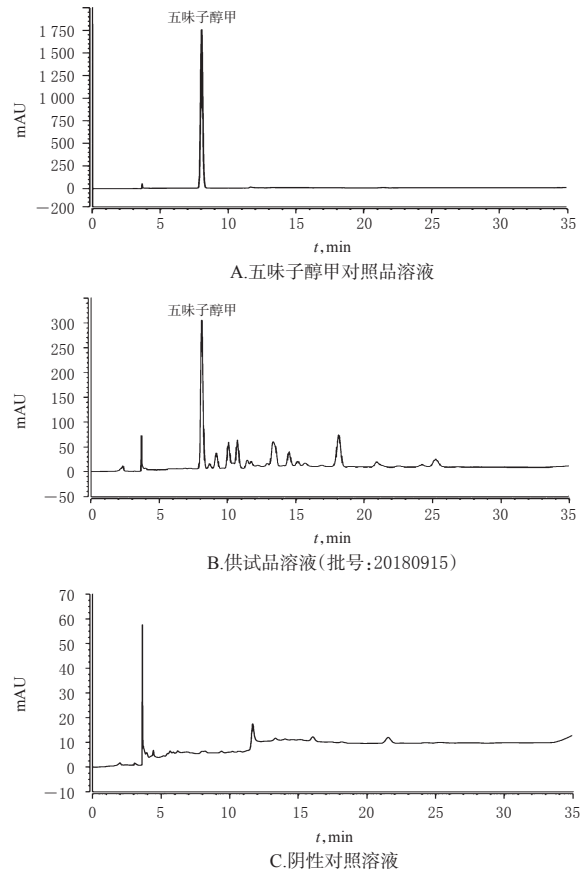


图2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

溶液、“2.9.2”项下供试品溶液和阴性对照溶液适量,按“2.9.1”项下色谱条件进样分析。结果,供试品溶液的色谱图中在与五味子醇甲相同出峰时间出现相应色谱峰,分离度好,五味子醇甲的理论板数>3 000,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好,详见图2。

2.9.4 标准曲线的绘制 分别精密量取“2.2.1”项下五味子醇甲对照品溶液1、2、4、6、8、10 mL,用甲醇定容至10 mL量瓶中,得系列对照品溶液,然后按“2.9.1”项下色谱条件进样分析。以五味子醇甲的质量浓度(x)为横坐标、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。结果,回归方程为 $y=398.33x+7.8091$ ($r=0.9999$),表明五味子醇甲质量浓度在0.01~0.1 mg/mL范围内线性关系良好。

2.9.5 方法学考察 (1)精密度试验:取“2.9.2”项下供试品溶液,按“2.9.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,五味子醇甲峰面积的RSD为0.90%($n=6$),表明仪器精密度良好。(2)稳定性试验:取“2.9.2”项下供试品溶液,于室温下放置0、2、4、6、8、12 h时,按“2.9.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果,五味子醇甲峰面积的RSD为0.53%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内基本稳定。(3)重复性试验:取同一批(批号:20180915)五味子总木脂素胃漂浮片6片,分别按“2.9.2”项下方法制备6份供试品溶液,再

按“2.9.1”项下色谱条件进样分析,并按标准曲线法计算含量。结果,五味子醇甲含量的RSD为0.76%($n=6$),表明方法重复性良好。(4)加样回收率试验:取同一批(批号:20180915)五味子总木脂素胃漂浮片10片(5 g,每片约含五味子醇甲3.20 mg),研成粉末,取6份,每份约0.1 g,分别加入0.1 mg/mL五味子醇甲对照品溶液6 mL,按“2.9.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.9.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算加样回收率。结果,五味子醇甲的平均加样回收率为99.17%(RSD为0.98%, $n=6$),表明方法准确度良好。

2.9.6 五味子醇甲含量测定 取“2.6.2”项下制备的3批五味子总木脂素胃漂浮片,每批各取3片,按“2.9.2”项下方法制备样品溶液,然后按“2.9.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并根据回归方程计算每片五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲的含量。结果,五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲的平均含量为每片3.187 mg。按测定均值的80%确定五味子醇甲的含量下限^[18],建议规定每片五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲的含量不得低于2.50 mg。

2.10 五味子总木脂素胃漂浮片中总木脂素的含量测定

采用紫外分光光度计进行测定。取“2.6.2”项下制备的五味子总木脂素胃漂浮片,每批各取3片,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,于220 nm波长处测定其吸光度,按标准曲线法计算每片五味子总木脂素胃漂浮片中总木脂素含量。结果,五味子总木脂素胃漂浮片中总木脂素的平均含量(以五味子醇甲计)为每片19.617 mg。按测定均值的80%确定总木脂素的含量下限^[18],建议规定每片五味子总木脂素胃漂浮片中总木脂素含量(以五味子醇甲计)不得低于15.50 mg。

3 讨论

本研究旨在将提取纯化后的五味子总木脂素类成分制备成胃漂浮片,提高其稳定性,增加在胃肠道的停留时间和吸收,提高总木脂素的生物利用度,为该类成分更好地发挥药效作用提供一种剂型支持。本研究优化了五味子总木脂素胃漂浮片的最优处方,并对其进行性状、片重差异、漂浮性能检查以及薄层色谱鉴别等。结果,最优处方比例为五味子浸膏23%、HPMC K15M 20%、微晶纤维素40%、NaHCO₃ 15%、十八醇1%、交联聚维酮1%。所制片剂各项检查结果均符合要求,并根据含量测定结果建议规定每片五味子总木脂素胃漂浮片中五味子醇甲含量不得低于2.50 mg、总木脂素含量(以五味子醇甲计)不得低于15.50 mg的含量限度。五味子的药用价值较高,本课题组后续将深入研究该制剂保肝、敛肺止咳等方面的药效作用,以期为其后续临床应用提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:66.
- [2] 田代华.实用中药词典[M].北京:人民卫生出版社,2002:304-310.
- [3] 沈晓君,刘玉翠,曲晓波,等.HPLC法同时测定不同产地五味子中4种木脂素类成分的含量[J].中国药房,2017,28(3):387-390.
- [4] WANG X, YU J, LI W, et al. Characteristics and antioxidant activity of lignans in *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* from different locations[J]. *Chem Biodivers*, 2018. DOI: 10.1002/cbdv.201800030.
- [5] 金银萍,侯微,高薇,等.五味子抗氧化活性组分筛选[J].中国药房,2016,27(19):2622-2625.
- [6] 张旻昱,吴宏伟,许利平,等.五味子及其活性成分治疗心脑血管疾病药理作用的研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(8):1536-1546.
- [7] 安娜.木脂素类化合物药理作用的研究进展[J].科学技术创新,2019(4):28-29.
- [8] 刘杰,徐剑,郭江涛.五味子活性成分及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(11):206-215.
- [9] 孙靖辉,王佳焯,陈建光.五味子木脂素的药代动力学研究进展[J].北华大学学报(自然科学版),2019,20(5):635-639.
- [10] 吴丽颖,曹德英.胃内滞留漂浮型给药系统的研究进展[J].河北医科大学学报,2009,30(3):320-324.
- [11] GONG L, YU M, SUN Y, et al. Design and optimization of gastric floating sustained-release mini-tablets of alfuzosin hydrochloride based on a factorial design: in vitro/in vivo evaluation[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2018, 44(12):1990-1999.
- [12] 刘雅琳,张浩杰,冯素香,等.五味子中木脂素类成分闪式提取工艺研究[J].中医学报,2019,34(9):1939-1943.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:4,57,121.
- [14] 周泽乾.羟丙甲纤维素与魔芋葡甘聚糖作为甲硝唑缓释片辅料研究[D].天津:天津大学,2006.
- [15] 朴洪泽,林文辉,李翠芳,等.辅料因素对胃漂浮片的制备及漂浮能力的影响[J].沈阳药科大学学报,2008,25(2):89-95.
- [16] 朱艳华,阎雪莹,王超.博落回总碱胃漂浮片的研制及体外释放的研究[J].黑龙江医药,2012,25(3):369-370.
- [17] 张伟,宋洪涛,林方清.雷公藤胃漂浮缓释片的制备和质量评价[J].中草药,2009,40(2):210-214.
- [18] 赵娅,冯慧,周珍,等.HPLC法同时测定四味姜黄汤散中7种成分的含量[J].中国药房,2018,29(1):29-33.

(收稿日期:2019-12-03 修回日期:2020-03-27)

(编辑:唐晓莲)