

苦参碱胃内漂浮颗粒的质量标准建立及稳定性考察

韦亚洁*, 谢明全, 李平(兰州大学第二医院药学部, 兰州 730030)

中图分类号 R97 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)47-4447-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.47.10

摘要 目的:建立苦参碱胃内漂浮颗粒的质量标准,并对其稳定性进行初步考察。方法:采用高效液相色谱法测定制剂中苦参碱的含量。色谱柱为ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(70:30, V/V);用三乙胺调pH至6.0,检测波长为220 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为5 μl。通过影响因素试验考察制剂的初步稳定性。结果:苦参碱的质量浓度在0.004 95~0.316 8 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 8$);精密性、稳定性、加样回收率的RSD<2.0%。3批样品2 h/8 h释放量分别为标示量的27.82%/82.18%、25.27%/84.21%、26.34%/86.99%;制剂在无包装保护的情况下,于高温(60 ℃)、强光[(4 500±500)lx]、高湿度[(90±5)%]环境中放置10 d不稳定。结论:苦参碱胃内漂浮颗粒制备工艺简单,稳定易控,缓释效果和漂浮性良好,制备的样品符合制剂质量要求;初步稳定性试验结果提示本品应防潮、避光和常温贮藏。

关键词 苦参碱;漂浮颗粒;质量标准;稳定性;高效液相色谱法

Quality Criteria Establishment and Stability Evaluation of Matrine Gastric Floating Particles

WEI Ya-jie, XIE Ming-quan, LI Ping (Dept. of Pharmacy, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality criteria for Matrine gastric floating particles and preliminarily evaluate their stability. METHODS: The content of matrine was determined by HPLC. The determination was performed on ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (70:30, V/V; pH value adjusted to 6.0) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 220 nm and column temperature was 30 ℃. The sample size was 5 μl. The initial stability of the preparation was evaluated through influential factor test. RESULTS: The linear range of matrine was 0.004 95-0.316 8 mg/ml ($r=0.999\ 8$). RSD of precision, stability and recovery tests were all less than 2.0%. The release amount of 3 batches of samples within 2 h/8 h accounted for 27.82%/82.18%, 25.27%/84.21% and 26.34%/86.99% of the labeled amount, respectively. Under the circumstance of unpackaged, samples were not stable if placed for ten days under the high temperature (60 ℃), strong light [(4 500±500) lx] and high humidity [(90±5)%]. CONCLUSIONS: The preparation technology of Matrine gastric floating particles is simple, stable and easy to control. Matrine gastric floating particles are of good sustained-release effect and floatability. Prepared particles have met quality demand. Storage in dry, preferably dark places and at room temperature is recommended.

KEYWORDS Matrine; Floating particles; Quality standards; Stability; HPLC

苦参碱(matrine)是从豆科植物苦参、苦豆子、广豆根中提取分离得到的一种生物碱^[1],具有镇痛、免疫抑制、抗心律失常、抗肿瘤等药理作用^[2-4],临床上常用于急性慢性肝炎与恶性肿瘤的治疗^[5]。目前,应用于临床的苦参碱剂型主要有注射剂、片剂及胶囊剂等,其普通口服制剂的药效维持时间较短,需频繁给药,且血药浓度波动较大,易引起不良反应。苦参碱胃内漂浮颗粒是根据流体动力学(HBS)原理制备的一种特殊缓释

制剂,患者口服后能漂浮于胃液之上,这对一些胃部特殊疾病如胃癌及胃溃疡的治疗具有特殊治疗意义^[6]。本研究在前期制备工艺研究的基础上,参照2010年版《中国药典》相关要求,以含量、释放度为指标,建立质量标准,并对其稳定性进行考察。

1 材料

1.1 仪器

ZRS-8G型智能溶出实验仪(天津大学无线电厂);1200型

2013,21(1):66.

[5] Han J, Lv QY, Jin SY, *et al.* Comparison of anti-bacterial activity of three types of di-*O*-caffeoylquinic acids in *Lonicera japonica* flowers based on microcalorimetry[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(2):108.

[6] 王荣土,蓝宏锦.生大黄浸液灌肠治疗后早期炎症肠梗阻43例[J].中国中西医结合外科杂志,2013,8(19):414.

[7] 毛水春,崔承彬,顾谦群.中药大血藤中酚类化学成分及抗肿瘤活性[J].中国药物化学杂志,2004,14(6):326.

[8] 李丽,杨梅.红藤对小鼠免疫功能及同种异基因皮肤移植排斥反应的抑制作用[J].中国免疫学杂志,2009,3(225):223.

[9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:22.

(收稿日期:2014-08-28 修回日期:2014-10-28)

* 副主任药师。研究方向:新药与医务管理。电话:0931-8942627。E-mail:yajiewei@163.com

高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);C202B 型电热保温干燥箱(重庆实验设备厂);KS-300EI 型医用超声波清洗机(宁波海曙科生超声设备有限公司);SHH-150SD 型药品稳定性试验箱、SHH-100GD 型强光照射试验箱(重庆永生实验仪器厂)。

1.2 试剂

苦参碱对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号:110805-200508);甲醇为色谱纯,磷酸、盐酸、乙醇、甲苯、乙酸乙酯、丙酮、三乙胺均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 苦参碱胃漂浮颗粒的制备

取苦参碱、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、乙基纤维素、十八醇各适量,混合均匀,以3%HPMC水溶液为黏合剂,湿法制粒(20目),低温(40℃)干燥,20目整粒;用4%乙基纤维素乙醇溶液(以0.8%聚乙二醇4000为致孔剂)包衣,低温(40℃)干燥,以药用铝箔袋密封包装,每袋装6g,即得。按上述方法平行制备3批样品(试制规模每批300g)。本品为白色至类白色颗粒;味苦,微甜。

2.2 含量测定方法学的考察

2.2.1 溶液的制备 (1)对照品溶液的制备。取苦参碱对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每1ml含0.2mg的溶液,即得。(2)供试品溶液的制备。取苦参碱胃内漂浮颗粒适量,研细,取约5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇10ml,密塞,称定质量,超声(功率:200W,频率:20kHz)处理30min,取出,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过(0.22μm微孔滤膜),取续滤液,即得。(3)阴性样品溶液的制备。按苦参碱胃漂浮颗粒制备工艺制成不含苦参碱的空白样品,按上述供试品溶液制备方法,同法制成阴性样品溶液。

2.2.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(250mm×4.6mm,5μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(70:30,V/V;用三乙胺调pH至6.0);检测波长:220nm;流速:1.0ml/min;柱温:30℃;进样量:5μl。苦参碱峰的保留时间为5.458min,理论板数按苦参碱峰计为3000。供试品溶液与对照品溶液在相同的保留时间处有相同的色谱峰,阴性对照溶液在苦参碱峰相应位置未出峰,表明辅料对含量测定无干扰。色谱见图1。

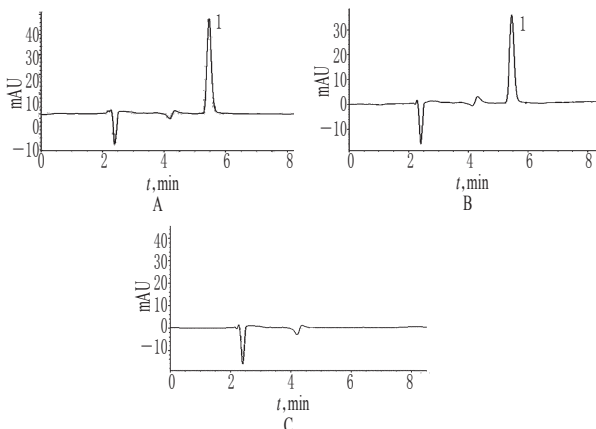


图1 高效液相色谱图

A.苦参碱对照品溶液;B.供试品溶液;C.阴性对照;1.苦参碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A.matrine reference substance solution; B.test sample solution; C.negative control; 1.matrine

2.2.3 标准曲线的制备 精密称取干燥至恒质量的苦参碱对照品9.9mg,置25ml量瓶中,加0.1mol/L盐酸溶液溶解并稀释至刻度,得质量浓度为0.396mg/ml的标准贮备液。精密吸取上述标准贮备液0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0ml,分别置10ml量瓶中,加0.1mol/L盐酸溶液稀释至刻度,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积积分值(A)为纵坐标,质量浓度(c)为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $A = 2.2035c + 55.125$ ($r = 0.9998$)。结果表明,苦参碱质量浓度在0.00495~0.3168mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。标准曲线见图2。

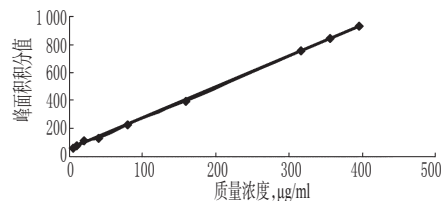


图2 苦参碱对照品标准曲线

Fig 2 Standard curve of reference substance of matrine

2.2.4 精密度试验 取对照品溶液(质量浓度为0.2mg/ml)适量,在上述色谱条件下连续进样6次,记录色谱图。计算日内和日间精密度(5d)。结果,日内和日间精密度的RSD分别为0.61%、1.23%,表明本方法精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,室温下放置,在上述色谱条件下每2h进样1次,连续测定6次,记录色谱图。结果,RSD=0.71% ($n=6$),表明供试品溶液在12h内稳定。

2.2.6 加样回收率试验 取已知含量的苦参碱胃内漂浮颗粒适量,研细,精密称定,共9份,每3份一组。分别加入相当于颗粒中苦参碱含量80%、100%、120%的苦参碱对照品,混匀,制成高、中、低质量浓度的供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=3$)

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1.006	0.813	1.816	99.83		
1.008	0.813	1.767	97.01		
1.012	0.813	1.825	100.03		
1.015	1.007	1.981	97.99		
1.004	1.007	2.011	100.01	99.30	1.0
1.009	1.007	2.007	99.56		
1.018	1.213	2.231	100.02		
1.023	1.213	2.231	99.79		
1.005	1.213	2.206	99.46		

2.2.7 最低检测限与定量限 取空白基线一段,计算其噪声的平均峰高,再将苦参碱对照品溶液加流动相稀释至适当浓度,进样5μl,使其峰高为噪声的3倍,得最低检测限为2.00ng;使其峰高为噪声的10倍,得定量限为8.00ng。

2.3 样品含量测定

取3批装量差异项下的本品内容物适量,研细,取约5g,精密称定,按“2.2.1(2)”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算样品中苦参碱的含量。本品含苦参碱的量应为标示量的90.0%~110.0%。结果表明,3批样品均符合规定(每袋装6g,每袋含苦参碱0.65g)。样品含量测定结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

样品批号	含量,mg/g			平均值	RSD,%	按标示量计算的含量,%
	1	2	3			
20121218	114.5	109.5	113.6	112.5	2.36	103.85
20121219	109.8	112.3	104.3	102.8	1.40	94.89
20121220	111.6	113.4	109.5	111.5	1.75	102.92

2.4 释放度的测定

取本品0.5g,精密称定,照释放度测定法(2010年版《中国药典》二部附录X D第一法),按溶出度测定法第一法装置,以0.1 mol/L盐酸溶液500 ml为释放介质,转速为100 r/min,依法操作,2 h后,取溶液1 ml,滤过,精密量取续滤液5 μl,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图,并以苦参碱的峰面积计算释放量。同法测定8 h时的累计释放量。2 h时本品的释放量应为标示量的20%~30%;8 h时本品的释放量应为标示量的70%~85%。结果表明,3批样品均符合规定,详见表3。

表3 释放度测定结果(n=3)

Tab 3 Results of release property test(n=3)

样品批号	2 h时释放度,%	8 h时释放度,%
20121218	27.82	82.18
20121219	25.27	84.21
20121220	26.34	82.99

2.5 检查

照制剂通则颗粒剂(2010年版《中国药典》二部附录I N)规定,对本品的粒度、干燥失质量、装量差异、微生物限度进行检查,结果均符合规定,详见表4。

表4 检查结果

Tab 4 Detection results

检查项目	标准规定	批号		
		20121218	20121219	20121220
粒度	≤15%	8.31%	8.12%	8.91%
干燥失质量	≤2.0%	1.56%	1.61%	1.64%
装量差异	±7%	符合规定	符合规定	符合规定
细菌数	<1 000 CFU/g	80	60	70
霉菌与酵母菌数	<1 00 CFU/g	<10	<10	<10
大肠埃希菌	不得检出	未检出	未检出	未检出

2.6 临界相对湿度测定与吸湿曲线

临界相对湿度可以确定生产时的环境湿度,是药物吸湿与否的临界值。制备不同的过饱和和盐溶液或不同体积分数的硫酸溶液,分别置玻璃干燥器内,密闭,室温放置,使其内部湿度平衡,构成不同相对湿度的环境。取样品约2g,精密称定,置于已恒质量的称量瓶中(敞口),在底部均匀摊平(敞口),于(25±2)℃条件下放置96 h,迅速称质量,计算颗粒吸湿增质量率;以吸湿增质量率为纵坐标,相对湿度为横坐标作图,得苦参碱胃内漂浮颗粒在不同相对湿度下的吸湿曲线图。分别在曲线两端作切线,以两切线相交处对应的横坐标作为临界相对湿度,结果本品的临界相对湿度约为67.3%。不同相对湿度下颗粒的吸湿增质量率见表5;吸湿曲线见图2。

2.7 初步稳定性试验(影响因素试验)

2.7.1 强光照射试验 取本品适量,除去外包装,于照度为(4 500±500) lx的条件下放置10 d,分别于第0、5、10天取样,按稳定性重点考察项目(性状、干燥失质量、释放度、含量)进行检测,结果见表6。

2.7.2 高温试验 取本品适量,除去外包装,于60℃条件下放

置10 d,分别于第0、5、10天取样,按稳定性重点考察项目(性状、干燥失质量、释放度、含量)进行检测,结果见表7。

表5 不同相对湿度下颗粒的吸湿增质量率

Tab 5 Moisture absorption ratio of granules at different relative humidity

过饱和溶液	相对湿度,%	吸湿增质量率,%
H ₂ SO ₄	32.0	0.30
NaBr	57.6	1.84
NaNO ₃	65.0	3.20
KI	70.0	4.85
NH ₄ Cl	79.5	9.71
KCl	84.3	12.46
KNO ₃	93.6	22.59

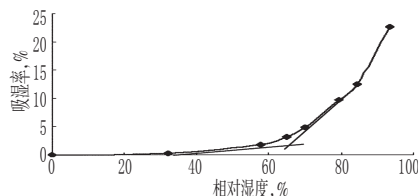


图2 苦参碱颗粒在不同相对湿度下的吸湿曲线图

Fig 2 Moisture adsorption curve of matrine granules at different relative humidity

表6 强光照射试验结果

Tab 6 Results of strong light test

时间,d	性状	干燥失质量,%	释放度(2h/8h),%	含量,mg/g
0	白色颗粒,味苦、微甜	1.96	27.82/82.18	0.113 5
5	橘黄色颗粒,味苦、微甜	1.81	24.34/76.18	0.103 6
10	橘黄色颗粒,味苦、微甜	1.78	21.21/65.47	0.101 6

表7 高温试验结果

Tab 7 Results of high temperature test

时间,d	性状	干燥失质量,%	释放度(2h/8h),%	含量,mg/g
0	白色颗粒,味苦、微甜	1.96	27.82/82.18	0.113 5
5	橘黄色颗粒,味苦、微甜	1.61	28.96/84.54	0.120 3
10	橘黄色颗粒,味苦、微甜	1.21	27.43/83.88	0.124 7

2.7.3 高湿度试验 取本品适量,除去外包装,于温度(25±2)℃,相对湿度(92.5±5)%的条件下放置10 d,分别于第0、5、10天取样,按稳定性重点考察项目(性状、干燥失质量、释放度、含量)进行检测,结果见表8。

表8 高湿度试验结果

Tab 8 Results of high humidity test

时间,d	性状	干燥失质量,%	释放度(2h/8h),%	含量,mg/g
0	白色颗粒,味苦、微甜	1.96	27.82/82.18	0.113 5
5	潮解,结块	22.30		0.081 7
10	潮解,结块	24.80		0.071 9

初步稳定性试验结果表明,本品在无包装保护的情况下,于高温(60℃)、强光[(4 500±500)lx]、高湿度[(90±5)%]环境中放置10 d不稳定,提示本品应防潮、避光、常温贮藏。

3 讨论

本研究在苦参碱胃内漂浮颗粒工艺研究的基础上,采用高效液相色谱法建立了苦参碱胃内漂浮颗粒中苦参碱的含量测定方法,制定了《苦参碱胃内漂浮颗粒质量标准(草案)》。对3批试制样品的分析测定结果表明均符合标准规定,说明该质量标准是合理和可行的,能够真实反映产品的特征和质量

正交试验优选心舒滴丸的制备工艺及含量测定方法研究

邱凯锋^{1*}, 陈 晖², 姚少毅¹(1.增城市人民医院, 广州 511300; 2.中山大学孙逸仙纪念医院, 广州 510120)

中图分类号 R943;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)47-4450-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.47.11

摘要 目的: 优选心舒滴丸的制备工艺并建立其含量测定方法。方法: 以溶散时间、丸重差异变异系数、综合得分为考察指标, 清膏与基质质量比、PEG4000与PEG6000质量比、滴速、药液温度为考察因素, 通过正交试验优选心舒滴丸的制备工艺。采用高效液相色谱法(HPLC)测定人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re的含量。色谱柱为Diamond C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 流速为1 ml/min, 检测波长为203 nm, 柱温为30 ℃。结果: 优选制备工艺为清膏与基质质量比为1:3, PEG4000与PEG6000质量比为1:1.5, 滴速为50滴/min, 药液温度为80 ℃。心舒滴丸丸重差异变异系数为1.72%, 平均溶散时间为3.5 min。人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re的进样量分别在1.005~6.030、1.102~6.612、1.033~6.198 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9997, n=6$)。人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re的重复性、稳定性、精密度、加样回收率试验的RSD<2%。结论: 本研究优选出的心舒滴丸制备工艺合理、稳定、可行, 含量测定方法专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

关键词 心舒滴丸; 制备工艺; 含量测定; 正交试验; 高效液相色谱法

Optimization of Preparation Technology of Xinshu Dripping Pills by Orthogonal Test and Study on the Method for Content Determination

QIU Kai-feng¹, CHEN Hui², YAO Shao-yi¹(1.Zengcheng Municipal People's Hospital, Guangzhou 511300, China; 2.Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the preparation technology of Xinshu dripping pills, and to set up a method for content determination. METHODS: Using dissolving time, the coefficient of variation of pill weight difference and comprehensive score as index, the preparation technology of Xinshu dripping pills was optimized by orthogonal test with ratio of plaster to matrix, ratio of PEG4000 to PEG6000, dripping speed and solution temperature as factors. The contents of ginsenoside Rg₁, Rb₁ and Re were determined by HPLC. The determination was performed on Diamond C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 203 nm, and column temperature was 30 ℃. RESULTS: Optimal technology was as follows: the mass ratio of ointment to stroma 1:3, the mass ratio of PEG4000 and PEG6000 1:1.5, the dropping speed 50 drops of /min, the temperature of the medicine liquid 80 ℃. The weight difference coefficient of variation of xinshu pills was 1.72%, the average time to dissolve powder is 3.5 min and average dissolving time was 3.5 min. The linear range was 1.005-6.030 μg for ginsenoside Rg₁ ($r=0.9997, n=6$), 1.102-6.612 μg for ginsenoside Rb₁ ($r=0.9997, n=6$) and 1.033-6.198 μg for ginsenoside Re ($r=0.9997, n=6$), respectively. RSD of reproducibility, stability, precision and recovery tests of ginsenoside Rg₁, Rb₁ and Re were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The preparation technology is reasonable and feasible, and the determination method can be used for the quality control of Xinshu dripping pills.

KEYWORDS Xinshu dripping pills; Preparation technology; Content determination; Orthogonal test; HPLC

变化情况, 能够有效地控制产品批间质量的一致性, 并能验证生产工艺的稳定性。本方法经过方法学验证, 符合准确、灵敏、简便、快速的原则, 适用性和重现性良好。笔者今后将随着样品批次的增加和检测数据的累积, 进一步对本品的质量标准进行研究和完善。

参考文献

- [1] Fu G, Fang Q, Feng BL, et al. Matrine-imprinted monolithic stationary phase for extraction and purification of matrine from *Sophora flavescens* Ait[J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879(13/14):894.
- [2] Kamei J, Xiao P, Ohsawa M, et al. Antinociceptive effects of (+)-matrine in mice[J]. *European J Pharmacol*,

1997, 337(2/3):223.

- [3] Liu JY, Hu JH, Zhu QG, et al. Effect of matrine on the expression of substance preceptor and inflammatory cytokines production in human skin keratinocytes and fibroblasts[J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(6):816.
- [4] Dai ZJ, Gao J, Ji ZZ, et al. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cells via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 123(1):91.
- [5] 陈伟忠, 林勇, 谢渭芬. 苦参碱抗肿瘤机制的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2002, 8(1):4.
- [6] Bindseil KU, Jakupovic J, Wolf D, et al. Pure compound libraries: a new perspective for natural product based drug discovery[J]. *Drug Discov Today*, 2001, 6(16):840.

(收稿日期:2014-08-21 修回日期:2014-09-23)

* 副主任药师。研究方向: 药物制剂。电话: 020-62287561。

E-mail: feng.qk@163.com