

[10] 马丙祥,董宠凯. 丹参的药理作用研究新进展[J]. 中国药房, 2014, 25(7): 663-665.

[11] 武洁,朱贺,吴军,等. HPLC-TQ-MS/MS测定加味败藤浸膏中6种有效成分的血药浓度及其药动学研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(6): 473-479.

[12] 陈凯丽,易剑锋,梁辉. 中药复方药代动力学研究概况[J]. 宜春学院学报, 2015, 37(12): 18-21.

[13] 马浩玲,张德芹,丁丽琴,等. HPLC-MS/MS法同时测定大鼠血浆中山楂叶提取物3种黄酮类成分及其药代动力学研究[J]. 天津中医药, 2017, 34(4): 266-271.

[14] 林力,孙明谦,苗兰,等. 中药复方天龙通心在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 药学报, 2017, 52(4): 575-581.

[15] Liu X, Wang D, Zhang W J, et al. LC determination and pharmacokinetic study of vitexin-4"-O-glucoside in rat plasma after oral administration [J]. Nat Prod Res, 2011, 26(10): 962-967.

三七总皂苷缓释片处方的优化

张琳^{1,2}, 赵凤平¹, 张传辉², 闫丹¹, 江敏瑜¹, 杨荣平³, 王云红^{2*}, 裴太蓉^{2*}
(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 3. 西南大学, 重庆 400715)

摘要: **目的** 优化三七总皂苷缓释片处方。**方法** 以制剂成型性为指标, 三元相图初步筛选载体材料和填充剂用量; 以辅料用量为影响因素, 药物累积释放度综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化处方。**结果** 最佳载体材料为羟丙基甲基纤维素 (HPMC_{K15M}), 最佳填充剂为淀粉、微晶纤维素 (MCC), 最佳处方为 HPMC_{K15M} 用量40.5 mg, 淀粉用量 17 mg, MCC 用量 94 mg, 药物累积释放度综合评分 96.54%。缓释片的释放符合 Higuchi 模型, 释药过程以扩散为主, 兼有溶蚀, 各时间点累积释放度符合缓释制剂要求。**结论** 该方法稳定可行, 可用于优化三七总皂苷缓释片处方。

关键词: 三七; 总皂苷; 缓释片; 处方; 三元相图; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)06-1287-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.06.012

Formulation optimization for the sustained-release tablets of *Panax notoginseng* total saponins

ZHANG Lin^{1,2}, ZHAO Feng-ping¹, ZHANG Chuan-hui², YAN Dan¹, JIANG Min-yu¹, YANG Rong-ping³, WANG Yun-hong^{2*}, PEI Tai-rong^{2*}

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Chongqing Municipal Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 3. Southwest University, Chongqing 400715, China)

KEY WORDS: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; total saponins; sustained-release tablets; formulation; ternary phase diagram; Box-Behnken response surface method

三七为五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎, 其主要有效成分为皂苷^[1-3]。现代药理研究表明, 三七具有抗心肌缺血、抗心律失常的作用, 用于治疗心

收稿日期: 2017-09-01

基金项目: 重庆市“121”科技支撑示范工程 (cstc2014fzktjcsf10016)

作者简介: 张琳 (1994—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂新剂型和新技术。Tel: 18883364982, E-mail: 1677790721@qq.com

* 通信作者: 王云红 (1985—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药新制剂质量标准研究。Tel: 13527474723, E-mail: 271981966@qq.com

裴太蓉 (1965—), 女, 副主任中药师, 从事中药新剂型质量标准研究。Tel: 13618382296, E-mail: 2421133701@qq.com

脑血管疾病^[46]，三七总皂苷是其主要活性部位。目前，该成分常用相关临床制剂为注射剂和普通片剂，其中前者疗效确切，但成本高、易发生过敏反应、患者服药顺应性差^[7-8]；后者生物利用度低，服药次数频繁^[9-11]。为了方便三七总皂苷的临床应用，本实验基于三元相图结合 Box-Behnken 响应面法拟设计其缓释片，并进行处方优化，以期延缓药物半衰期，提高药物生物利用度，持续发挥药效，增加患者服药顺应性。

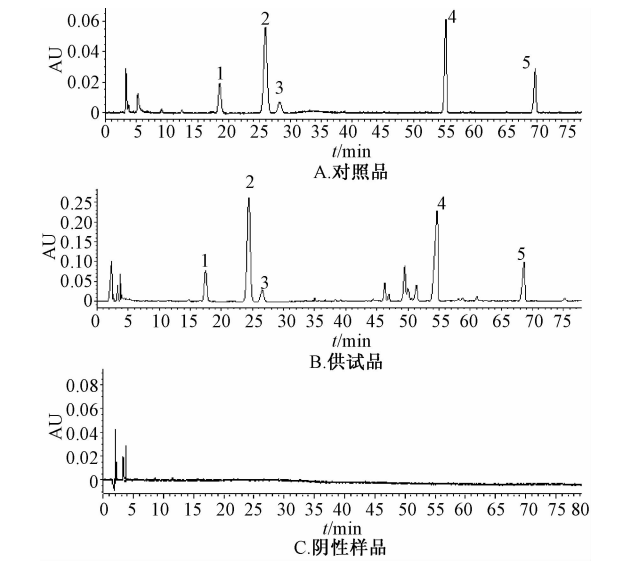
1 仪器与试药

1.1 仪器 Waters e2695-2998 型高效液相色谱仪（配置四元泵、PDA 检测器、在线脱气机，美国 Waters 公司）；CPA-225D 型（十万分之一）、BS224S 型（万分之一）电子天平（德国 Sartorius 公司）；TDP-1.5T 型单冲压片机（上海贤德实验仪器有限公司）；PJ-3 型片剂四用测试器（天津市国铭医药设备有限公司）；BY-300 A 型小型包衣机（上海黄海药检仪器厂）；SB-D220 型超声波清洗器（宁波新芝生物科技股份有限公司）；HY-04 型超高速中药粉碎机（浙江瑞城电器有限责任公司）。
1.2 试药 三七皂苷 R₁（批号 110745-201318，含有量以 94% 计）、人参皂苷 R_{g₁}（批号 110703-201128，含有量以 95% 计）、人参皂苷 Re（批号 110754-201324，含有量以 92.7% 计）、人参皂苷 Rb₁（批号 110704-201223，含有量以 93.7% 计）、人参皂苷 Rd（批号 111818-201302，含有量以 94.2% 计）对照品均购于中国食品药品检定研究院。三七总皂苷提取物粉末（自制）。淀粉、乳糖（广东光华化学厂有限公司）；微晶纤维素（MCC，成都科龙化工试剂厂）；滑石粉（重庆中渝化学试剂厂）；95% 乙醇（重庆川东集团化工试剂厂）。乙腈（色谱纯）、甲醇（分析纯）（天津市凯通化学试剂有限公司）；水为自制超纯水。三七购于云南三七科技有限公司（批号 150601），经重庆市中药研究院秦松云研究员鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 含有量测定

2.1.1 色谱条件 Sepax Bio-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；流动相水（A）-乙腈（B），梯度洗脱（0 ~ 25 min，20% B；25 ~ 30 min，20% ~ 27% B；30 ~ 75 min，27% ~ 35% B；75 ~ 80 min，35% B）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 203 nm。结果，人参皂苷 R_{g₁}、Re 的分离度大于 1.5，色谱图见图 1。



1. 三七皂苷 R₁ 2. 人参皂苷 R_{g₁} 3. 人参皂苷 Re 4. 人参皂苷 R_{b₁} 5. 人参皂苷 R_d
1. notoginsenoside R₁ 2. ginsenoside R_{g₁} 3. ginsenoside Re
4. ginsenoside R_{b₁} 5. ginsenoside R_d

图 1 各成分 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，制成每 1 mL 含三七皂苷 R₁ 0.110 mg、人参皂苷 R_{g₁} 0.650 mg、人参皂苷 Re 0.097 mg、人参皂苷 R_{b₁} 0.730 mg、人参皂苷 Rd 0.104 mg 的溶液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。
2.1.3 供试品溶液制备 取缓释片 10 片（批号 161001），去除包衣，研细，加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次，每次 2 h，过滤，合并 3 次滤液，浓缩挥干，10 mL 70% 乙醇少量多次溶解后，转移至 10 mL 量瓶中，70% 乙醇稀释至刻度，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。
2.1.4 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项下对照品溶液 5、10、15、20、25 μL，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系				
Tab. 1 Linear relationships of various constituents				
成分	回归方程	r	线性范围/μg	
三七皂苷 R ₁	Y = 362 512X - 30 873	0.999 9	0.55 ~ 2.75	
人参皂苷 R _{g₁}	Y = 326 983X - 64 808	0.999 8	3.25 ~ 16.25	
人参皂苷 Re	Y = 214 823X - 78 567	0.999 8	0.49 ~ 2.43	
人参皂苷 R _{b₁}	Y = 254 800 X - 14 676	0.999 6	3.65 ~ 18.25	
人参皂苷 Rd	Y = 217 745X - 15 387	0.999 8	0.52 ~ 2.60	

2.1.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 20 μL ，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 峰面积 RSD 分别为 0.81%、0.78%、0.67%、0.93%、0.58%，表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液，于 0、4、8、12、20、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定，测得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 峰面积 RSD 分别为 1.34%、1.87%、1.48%、1.24%、1.05%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 按“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 含量 RSD 分别为 1.68%、1.76%、1.45%、1.86%、1.92%，表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取缓释片 6 份（批号 161001），去除包衣，每份精密称取 0.075 g，加入一定量对照品溶液，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进测定，计算回收率。结果，三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 平均加样回收率分别为 99.67%、99.20%、99.86%、99.69%、99.41%，RSD 分别为 1.14%、0.71%、1.19%、0.99%、1.99%。

2.2 体外释放度建立 参考 2015 年版《中国药典》四部通则 0931 溶出度与释放度测定法中的第一法（缓释制剂）。取缓释片适量，置于转篮中，以 450 mL 磷酸盐缓冲液（pH 6.8）为溶出介质，在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、100 r/min 下于 0.5、1、2、4、6、8、12 h 各取样 5 mL，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，在“2.1.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定，并及时补充等体积等温度的释放介质。

然后，参考 2015 年版《中国药典》四部通则 9013 缓释、迟释制剂指导原则。以磷酸盐缓冲液（pH 6.8）为溶出介质，采用综合评分法，以第 2、6、12 小时的累积释放度为评价指标，确定 3 个点的最佳累积释放率分别为 30%、70%、95%，综合评分计算公式为 $Y = 100 - (|P_{2h} - 30\%| + |P_{6h} - 70\%| + |P_{12h} - 95\%|)$ ，Y 值越大，表明药物释放效果越好，越接近理想释放度。

2.3 处方优化

2.3.1 单因素试验 固定缓释片粉末用量为 100 mg，以软材性状、颗粒外观、可压性、片表面光洁度、片硬度为评价指标，分别对载体材料、填充剂进行考察。

2.3.1.1 载体材料 以 HPMC 为骨架材料，对 HPMC_{K4M}、HPMC_{K15M}、HPMC_{K100M} 进行研究，发现 HPMC_{K15M} 成型性较好、黏度适中，故选择其作为载体材料。

2.3.1.2 填充剂种类 考察了预胶化淀粉、乳糖、MCC，发现只加入淀粉或乳糖时，易出现结块现象，无法制粒；MCC 制备的软材符合要求，但价格昂贵，成本较高。因此，将淀粉、MCC 按照一定比例混合，拟筛选出经济合理的填充剂。

2.3.2 三元相图筛选 以 HPMC_{K15M}、淀粉、MCC 为顶点绘制三元相图，将 3 个组分按照不同比例与定量缓释片充分混合，观察制剂能否成型、满足制粒及压片要求^[12]。然后，通过 Origin 8 软件绘制三元相图，结果见图 2，可知 HPMC_{K15M} 用量范围为 10% ~ 40%，淀粉为 0 ~ 20%，MCC 为 40% ~ 80%，均可满足制剂要求。

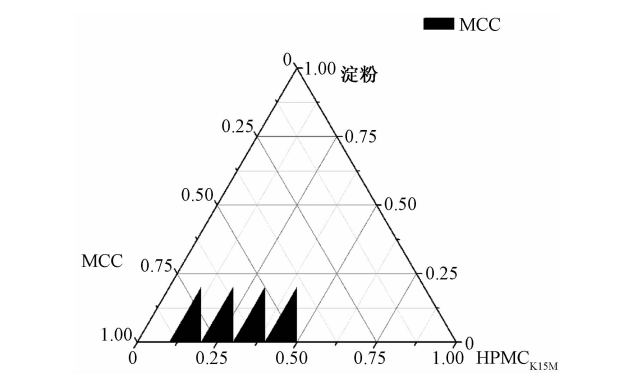


图 2 辅料用量三元相图

Fig. 2 Ternary phase diagram for excipient consumption

2.3.3 Box-Behnken 响应面法 固定辅料用量为 150 mg，以 HPMC_{K15M}（A）、淀粉（B）、MCC（C）用量为影响因素，药物累积释放度综合评分为评价指标（Y）。因素水平见表 2，试验设计及结果见表 3。

表 2 因素水平
Tab. 2 Factors and levels

水平	A HPMC _{K15M} /mg	B 淀粉/mg	C MCC/mg
-1	15	0	60
0	37.5	15	90
1	60	30	120

表 3 试验设计与结果
Tab. 3 Design and results of tests

试验号	A	B	C	2 h 释放度/%	6 h 释放度/%	12 h 释放度/%	Y 综合评分/%
1	-1	-1	0	46.12	79.33	100.30	69.25
2	1	-1	0	35.42	73.22	99.92	86.44
3	-1	1	0	40.97	80.42	96.28	77.33
4	1	1	0	33.21	75.39	97.95	88.45
5	-1	0	-1	42.22	81.38	99.08	72.32
6	1	0	-1	33.32	75.91	98.44	87.33
7	-1	0	1	40.37	76.29	97.81	80.53
8	1	0	1	32.76	73.37	98.86	90.01
9	0	-1	-1	25.88	77.98	99.22	83.68
10	0	1	-1	23.63	63.86	98.15	81.34
11	0	-1	1	42.98	78.24	98.92	74.86
12	0	1	1	32.79	71.97	97.87	92.37
13	0	0	0	31.21	71.71	96.77	95.31
14	0	0	0	31.35	71.56	95.81	96.28
15	0	0	0	30.97	70.95	97.36	95.72
16	0	0	0	28.98	68.07	97.37	94.68
17	0	0	0	32.01	72.43	97.13	93.43

采用 Design-Expert 8.0.6.1 软件，对表 3 数据进行二次多元回归拟合分析，得到方程为 $Y = 95.08 + 6.60A + 3.16B + 1.64C - 1.52AB - 1.38AC + 4.96BC - 7.62A^2 - 7.10B^2 - 4.92C^2$ ， R^2 为 0.984 0，校正系数为 0.963 5，表明该模型拟合度良好，试验误差小。方差分析见表 4。

表 4 方差分析
Tab. 4 Analysis of variance

来源	离均差平均和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
模型	1 186.32	9	131.81	47.93	<0.000 1
A	348.48	1	348.48	126.70	<0.000 1
B	79.76	1	79.76	29.00	0.001 0
C	21.45	1	21.45	7.80	0.026 8
AB	9.21	1	9.21	3.35	0.109 9
AC	7.65	1	7.65	2.78	0.139 4
BC	98.51	1	98.51	35.82	0.000 6
A ²	244.21	1	244.21	88.79	<0.000 1
B ²	212.30	1	212.30	77.19	<0.000 1
C ²	101.95	1	101.95	37.30	0.000 5
残差	19.25	7	2.75		
失拟项	14.47	3	4.82	4.03	0.105 7
纯误差	4.78	4	1.20		
总误差	1 205.08	16			

由表 4 可知，模型 $P < 0.000 1$ ，表明影响极显著；失拟项 $P > 0.05$ ，表明未知因素干扰性小；各因素对药物累积释放度综合评分的影响程度依次为 HPMC_{K15M} 用量（A）> 淀粉用量（B）> MCC 用量（C）。响应面分析^[12] 见图 3。

2.3.4 验证试验 通过 Design-Expert 8.0.6.1 软件，确定最佳处方为 HPMC_{K15M} 用量 40.5 mg，淀粉

用量 17 mg，MCC 用量 94 mg。然后，平行制备样品 3 份，测得药物累积释放度综合评分分别为 96.03%、96.57%、97.01%，平均 96.54%，与预测值 96.29% 基本吻合，表明模型拟合良好，预测性理想。

2.3.5 缓释片释药规律 将缓释片药物累积释放度 Q 与时间 t 进行曲线拟合^[13]，结果见表 5。由表可知，缓释片释放符合 Higuchi 模型，释药过程以扩散为主，兼有溶蚀。

表 5 模型拟合结果
Tab. 5 Results of model fitting

模型	曲线	<i>r</i>
零级	$Q = 0.065 9t + 0.259 9$	0.966 5
一级	$\ln(1 - Q) = -0.412 7t + 0.875$	0.957 2
Higuchi	$Q = 0.332 9t^{1/2} - 0.127 5$	0.992 2
Ritger-Peppas	$\ln Q = 0.666 9\ln t - 1.569 9$	0.986 9

2.3.6 累积释放度比较 以累积释放度为评价指标，比较了自制缓释片与市售血塞通片，结果见图 4。由图可知，血塞通片在将 3 h 左右内释药完全，而缓释片缓慢释放，各时间点累积释放度均符合缓释制剂要求。

3 讨论

三元相图主要用于微乳、自微乳制剂或油状制剂的制备^[14-16]，工业上也常用于金属材料热力学研究^[17]。本实验首次将其用于药剂固体辅料的筛选，并取得较理想的结果，具有一定应用价值。

不同规格 HPMC 骨架材料对药物释放的影响很大，并且其黏度差异也对主药阻滞能力有不同影

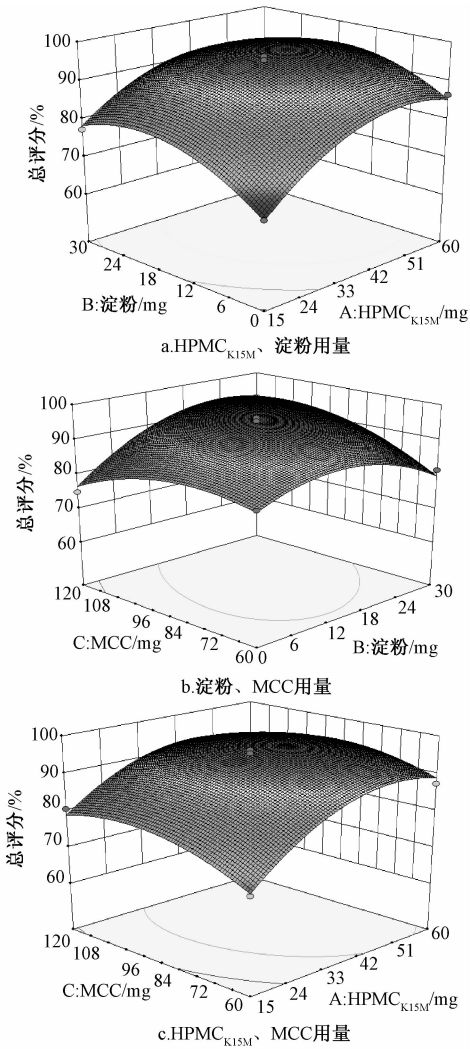


图3 各因素响应面图

Fig. 3 Response surface plots for various factors

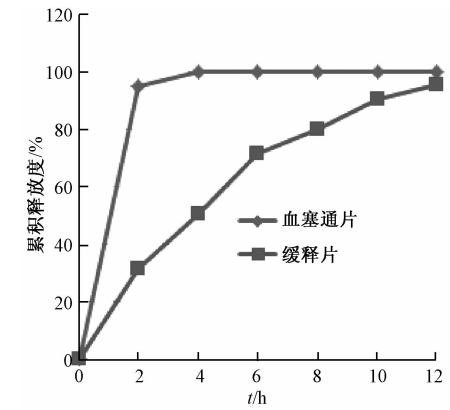


图4 释药曲线比较

Fig. 4 Comparison of drug release curves

响。高黏度 HPMC 骨架性材料遇水时会快速水化成凝胶,使得溶蚀速度减慢,从而阻碍药物释放,当黏度过低时,阻滞能力小,药物在体内释放过快,起不到缓释作用;黏度过大时,可能会影响药物后期释放,故选择 HPMC_{K15M} 作为缓释材料。淀粉作为最常用的稀释剂,廉价易得,但单独使用时易结块,难以制粒;MCC 有较好的填充效果,但价格昂贵,故本实验按照一定比例将两者混合使用,既能达到填充效果,也可降低成本,有利于工业生产。

快,起不到缓释作用;黏度过大时,可能会影响药物后期释放,故选择 HPMC_{K15M} 作为缓释材料。淀粉作为最常用的稀释剂,廉价易得,但单独使用时易结块,难以制粒;MCC 有较好的填充效果,但价格昂贵,故本实验按照一定比例将两者混合使用,既能达到填充效果,也可降低成本,有利于工业生产。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 11.

[2] 郭洁文, 杨 敏, 朱剑光, 等. 三七总皂苷对心血管作用的药理研究新进展[C] //2007 年全国生化与生物技术药物学术年会论文集. 济南: 山东省科学技术协会, 2007: 14.

[3] 张廷模. 临床中药学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 211-212.

[4] 肖若媚, 邱雄泉, 苏健芬. 三七总皂苷对心血管疾病的药理研究新进展[J]. 中国医疗前沿, 2009, 4(11): 30-31.

[5] 彭芝萍. 三七总皂苷缓释片制备工艺及体内外释药研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2012.

[6] 赖 玲, 刘华钢, 陈 明, 等. 三七总皂苷非注射途径给药剂型研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(3): 235-238, 241.

[7] 李进峰, 曲 红, 郭志勇. 血栓通注射剂不良反应原因分析[J]. 山东医药, 2010, 50(51): 9.

[8] 徐 鹏, 张国柱. 三七总皂苷注射剂不良反应的回顾性分析[J]. 医药导报, 2013, 32(1): 127-129.

[9] 赵国巍, 廖正根, 陈绪龙, 等. 三七皂苷缓释微球的性质研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(12): 1112-1115.

[10] 郑 颖. 三七总皂苷肠溶软胶囊的研制[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.

[11] 方文悠. 三七总皂苷脂质体口服结肠定位胶囊的研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015.

[12] 张云雷, 刘晓娟. 拉西地平自微乳的制备与体外评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(3): 207-212, 265.

[13] 李庆国, 关世侠, 郭慧珍. 水飞蓟素缓释片的制备及体外释药机制研究[J]. 中国药房, 2013, 24(19): 1770-1772.

[14] 张福荣, 武余波, 罗华菲, 等. 二丙酸倍他米松微乳泡沫剂的体外透皮考察[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(3): 393-399.

[15] Pornask S, Sontaya L, Suchada P, et al. A new self-emulsifying formulation of mefenamic acid with enhanced drug dissolution[J]. Asian J Pharm Sci, 2015, 10(2): 121-127.

[16] 袁珍珍, 尹寿玉, 金 勇, 等. 杜香油纳米乳的制备及其质量评价[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 620-622.

[17] 龙朝辉, 梁思远, 尹付成, 等. Li-Si-Zr 三元相图的实验研究与热力学优化[J]. 中国有色金属学报, 2015, 25(5): 1227-1235.