

不同规格浙贝母饮片中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙体外溶出度比较^{*}

钱爱军

(江阴市人民医院, 江苏 江阴 214400)

摘要: **目的** 对比浙贝母超微粉、粗粉和饮片中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙 3 种生物碱的体外溶出度。**方法** 采取高效液相色谱-蒸发光散射检测 (HPLC-ELSD) 法测定不同状态下的浙贝母人工胃液中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙 3 种生物碱在不同时间节点的溶出量, 并对其溶出特征进行比较。**结果** 超微粉、粗粉和饮片在人工胃液中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙 3 种生物碱的累计体外溶出度分别为 90.25%、82.29%、33.65%, 超微粉明显高于粗粉和饮片, 且达平衡浓度仅需 5 min。**结论** 浙贝母中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙 3 种生物碱的体外溶出度能明显被超微粉技术提高。

关键词: 浙贝母; 超微粉; 粗粉; 饮片; 生物碱; 体外溶出度; HPLC-ELSD

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-0571 (2023) 01-0044-04

DOI: 10.13424/j.cnki.mtem.2023.01.008

浙贝母为常用中药材, 又称象贝母, 为百合科贝母属植物浙贝母 (*Fritillaria thunbergii* Miq.) 的干燥鳞茎, 为《中华人民共和国药典》收载品种^[1]。贝母始载于《神农本草经》, 列入中品, 浙贝母载于清《本草纲目拾遗》, 被列为“浙八味”之首^[2], 其性寒、味苦, 功效主要是清热散结、化痰止咳, 临床上多用于痰火咳嗽、乳痈、风热咳嗽、肺痈等病症的治疗^[3-4]。

浙贝母的传统用法是以水煎煮后取汁, 但常规煎煮过程中, 废弃的浙贝母药渣时常可见白心 (干心), 即便煎煮时间延长至 4 h, 仍可存在 35%~40% 的干心, 说明常规药材饮片的有效成分难以溶出, 进而也会严重影响药效发挥。有研究表明, 粒径对浙贝母粉体有效成分溶出度和药效学的影响较大^[5], 超微粉碎可促进浙贝母药效成分的溶出, 也可明显增强祛痰和镇咳的药理作用^[6]。

中药超微粉碎技术近年来应用较为广泛, 其利用先进的超微粉碎技术将中药材微粉化, 可有效促进有效成分的溶出, 提升中药利用率^[7]。基于此, 本研究以浙贝母超微粉、饮片和粗粉为研究对象, 采用 HPLC-ELSD 法测定其 3 种生物碱成份 (贝母素甲、贝母素乙、贝母辛) 在人工胃液中的溶出度, 以期为解决传统煎煮工艺造成浙贝母药效

成分溶出度偏低问题提供参考^[8]。

1 仪器与试药

1.1 仪器 赛多利斯 BSA124S 型电子天平 (十万分之一, 德国赛多利斯公司); 梅特勒托利多 XP6 微量天平 (德国赛多利斯公司); Agilent1260-Infinity II 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技公司生产); Agilent1260-Infinity II 蒸发光散射检测器 (美国安捷伦科技公司生产); 智能溶出度仪 (日本富士产业株式会社)。

1.2 试药 贝母辛、贝母素甲、贝母素乙对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110750-201211, 110750-201110, 110751-200709) (纯度 > 97%)。浙贝母药材饮片、粗粉 (24 目) 和超微粉 (200 目) (康美药业股份有限公司)。甲醇、乙腈为色谱纯; 氨水、二乙胺、盐酸、乙醇、氯仿等其他试剂均为分析纯; 水为超纯水; 人工胃液均为实验室自制 (16.4 mL 稀盐酸 + 10.0 g 胃蛋白酶 + 800 mL 水, 加水定容至 1000 mL), 水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Extend C₁₈ 色谱柱 (250

mmnt Ext,550);流动相:0.01% 二乙胺(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~10 min,70% A;10~15 min,70%~60% A;15~35 min,60%~45% A;35~50 min,45%~35% A;50~70 min,35%~15% A);流速:1.0 mL·min⁻¹;ELSD 检测漂移管温度:60℃;柱温:35℃;载气体积流量:3.0 L·min⁻¹;进样量:20 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取贝母辛、贝母素甲、贝母素乙对照品适量,置于 10 mL 容量瓶,加甲醇溶液稀释成每 1 mL 含贝母辛 0.123 mg、贝母素甲 0.253 mg、贝母素乙 0.152 mg 的混合对照品溶液,摇匀,即得对照品溶液,于冰箱内冷藏保存,备用。

2.1.3 供试品溶液制备 取不同规格浙贝母样品(超微粉,粗粉和饮片)粉末约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入浓氨试液 5 mL,浸润 1 h,精密加入三氯甲烷-甲醇(4:1)至 50 mL,称重,超声(功率 240 W,频率 40 kHz)处理 60 min,放冷至室温后,再次称量,用三氯甲烷-甲醇(4:1)补足减失的重量,摇匀,15000 r·min⁻¹ 离心 10 min,精密均匀量取其中的上清液 10 mL,加热蒸干,残渣用甲醇充分溶解,转移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤后,滤液即为供试品溶液^[9]。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶适量,分别置于 6 个 10 mL 容量瓶中,以甲醇梯度稀释至 1、10、20、30、40、50 倍,制成系列不同质量浓度的混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,记录峰面积。以峰面积对数值(Y)为纵坐标,以对照品质量浓度(X,mg·mL⁻¹)为横坐标进行线性回归,建立贝母

辛、贝母素甲、贝母素乙回归方程,结果见表 1。

表 1 贝母辛、贝母素甲、贝母素乙的回归方程和线性范围

成分	回归方程	r	线性范围(mg·mL ⁻¹)
贝母辛	$Y=1.456X+5.116$	0.9998	0.00246~0.123
贝母素甲	$Y=1.525X+4.231$	0.9998	0.00506~0.253
贝母素乙	$Y=1.658X+4.536$	0.9998	0.00304~0.152

2.1.5 精密度实验 精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液 20 μL,按“2.1.1”项下色谱条件不间断连续进样 6 次,记录贝母辛、贝母素甲、贝母素乙峰面积,计算 RSD 分别为 2.21%、1.88%、2.41%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性实验 取浙贝母超微粉样本粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,按“2.1.3”项下方法平行制备供试品样本溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定贝母辛、贝母素甲、贝母素乙峰面积,计算 RSD。结果显示,3 种生物碱峰面积 RSD 分别为 2.79%、2.62%、2.31%,表明本方法重复性良好。

2.1.7 稳定性实验 精密称取浙贝母超微粉样本制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件测定,分别于不同时间点(0、2、4、8、12、24、36 h)进样测定贝母辛、贝母素甲、贝母素乙峰面积,计算 RSD。结果显示,3 种生物碱峰面积 RSD 分别为 1.75%、1.53%、1.92%,表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率实验 取浙贝母超微粉样本粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入贝母辛、贝母素甲、贝母素乙混合对照品适量,按“2.1.3”项下方法平行制备供试品样本溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定贝母辛、贝母素甲、贝母素乙含量,并根据外标法计算回收率及 RSD。结果见表 2。

表 2 贝母超微粉中贝母辛、贝母素甲、贝母素回收率试验结果($\bar{x} \pm s$)

样品	平均样品量(ug)	平均加入量(ug)	平均测得量(ug)	平均回收率(%)	RSD(%)
贝母辛	924.50	1000	1897.10	97.26	2.63
贝母素甲	535.00	1000	1558.10	102.31	3.25
贝母素乙	396.50	1000	1380.20	98.37	3.11

2.1.9 样品含量测定 取不同规格浙贝母样品(超微粉,粗粉和饮片)粉末,按“不同规格浙贝项下的方法制备供试品,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定贝母辛、贝母素甲、贝母素乙含量。3 种生

物碱含量测定结果见表 3。

2.2 体外溶出度测定 分别取不同规格浙贝母样品(超微粉,粗粉和饮片)粉末 2 g,精密称定,投入溶出度仪中,采用 2020 年版《中国药典》(四部)

通则中的桨法测定,以人工胃液为溶出介质,转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度 $(37\pm0.5)\text{ }^{\circ}\text{C}$, 分别于 0,5,10,15,20,30,45,60 min 取样 5 mL,并向溶出杯中补充同温度同体积的新鲜溶出介质,取出样品溶液用氨试液调 pH 至 10.0,10 mL 氯仿萃取 3 次,合并萃取液,减压回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解并定容至 1 mL,0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,HPLC 法测定含量,并计算溶出量,按照下式计算体外溶出度。体外溶出度 = [(样品质量 × 样品溶

出量)/(样品质量 × 样品测得量)]样品测得量%。

表 3 不同规格浙贝母中贝母辛、贝母素甲、贝母素乙含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

样品	<i>n</i>	贝母素甲 ($\mu\text{g/g}$)	贝母素乙 ($\mu\text{g/g}$)	贝母辛 ($\mu\text{g/g}$)
浙贝母超微粉	3	924 ± 28	535 ± 32	396 ± 31
浙贝母粗粉	3	885 ± 32	482 ± 33	372 ± 25
浙贝母饮片	3	897 ± 28	473 ± 25	386 ± 28

表 3 不同规格浙贝母中 3 种生物碱成分在人工胃液中溶出量测定结果($\mu\text{g/g},\bar{x}\pm s,n=3$)

成分	形态	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
贝母素甲	超微粉	263 ± 25	795 ± 26	816 ± 25	819 ± 25	817 ± 26	818 ± 25	816 ± 27	813 ± 24	811 ± 26
	粗粉	115 ± 15	338 ± 25	637 ± 23	736 ± 22	735 ± 28	732 ± 26	735 ± 28	732 ± 22	731 ± 25
	饮片	286 ± 23	305 ± 22	305 ± 27	307 ± 26	305 ± 23	302 ± 25	305 ± 16	303 ± 22	301 ± 26
贝母素乙	超微粉	158 ± 18	475 ± 28	478 ± 27	482 ± 35	483 ± 28	483 ± 27	482 ± 26	482 ± 21	483 ± 24
	粗粉	66 ± 12	217 ± 19	371 ± 25	405 ± 27	404 ± 24	406 ± 32	405 ± 28	405 ± 25	404 ± 23
	饮片	147 ± 19	158 ± 16	155 ± 14	159 ± 13	159 ± 14	158 ± 22	155 ± 15	156 ± 16	156 ± 15
贝母辛	超微粉	95 ± 15	335 ± 19	342 ± 17	343 ± 15	341 ± 16	342 ± 17	345 ± 16	344 ± 18	343 ± 15
	粗粉	38 ± 7	142 ± 16	253 ± 19	286 ± 17	289 ± 22	289 ± 20	290 ± 25	290 ± 21	289 ± 18
	饮片	115 ± 15	123 ± 16	124 ± 18	126 ± 15	125 ± 17	123 ± 18	126 ± 16	126 ± 16	127 ± 17

表 3 结果显示,浙贝母饮片在 0 min 时浓度基本会达到平衡,其体外溶出度在 0 min 时也会最高,超微粉次之,粗粉最低;在 0~5 min 内,饮片的溶出速度最慢,粗粉次之,超微粉最快;在 5 min 时超微粉达到平衡浓度,而粗粉则需要 15 min;在 5~60 min 内超微粉 3 种生物碱的累计体外溶出度达 90.25%,而粗粉为 82.29%,饮片仅为 33.65%,进而提示,浙贝母体外溶出度与粒径的大小关系密切,相对于饮片和粗粉,其超微粉溶出速度最快,与文献报道内容相符^[10]。

3 讨 论

贝母素甲、贝母素乙是《中国药典》(2020 年版)^[11]中规定的浙贝母含量测定质量控制指标,但新近研究发现,浙贝母平喘药理作用的主要药效成分还包括贝母辛^[12-14]。基于此,本研究以浙贝母中 3 种生物碱(贝母辛、贝母素甲和贝母素乙)为评价指标,对其三种药材形式(饮片、超微粉、粗粉)水提物和人工胃液中的体外溶出度进行分析与比较,为该药材最佳临床用药形式提供了理论依据,以期最大程度发挥药效^[15]。

有研究表明,浙贝母的饮片厚度、粒径大小和浸泡时长均可明显影响其药效成分的体外溶出度,《中国药典》(2020 年版)明确规定,浙贝母饮片厚度宜为 2~4 mm;《医疗机构中药煎药室管理规范》^[16-17]规定,浙贝母饮片煎煮前,浸泡时长 > 45 min。本研究中发现,浙贝母饮片浸泡 35 min 后煎煮时,常见白心或干心现象,主要因其质地致密、饮片厚度大,短时间内水分难以渗透到药物内部,且含有大量的淀粉类物质,煎煮时淀粉糊化于表面而形成较为明显致密层,妨碍水分子进入药材内部,导致药材内部药效成分不易溶出^[18-19]。本研究结果显示,超微粉在人工胃液中体外溶出达到平衡浓度仅需 5 min,其 3 种生物碱的累计体外溶出度高达 90.25%,显著高于饮片和粗粉。但部分中药材超微粉也存在一些弊端,例如:含有大量淀粉成分,如直接煎煮容易糊化成凝胶形态,且难以过滤药液^[20-21],不易于服用;如将其作散剂直接入药,临床用药量偏大,故应综合分析超微粉的利弊,合理使用,使其临床药用价值得到最大限度的发挥。

超微粉碎后的浙贝母,其粉体状态主要表现为其粉体表面积明显增大、溶解性的提高更为明显、分布更加均匀、粒径尺寸明显变小、吸附性更加明显、孔隙率增加更为显著、亲和力上升幅度加大突出,对其药效有效成分的溶出明显有利^[22-23]。更有相关大量文献报道显示,粒径对其中药活性成分溶出和含量的测定均有明显变化,本研究及大量相关文献也表明,粒径尺寸越小,浙贝母中各种生物碱的溶出量也会明显越高^[24-25]。因此,临床上将浙贝母制成超微粉后能显著提高贝母辛、贝母素甲、贝母素乙等生物碱的溶出,从而减少用药量,以达到高效利用中药材资源的目的,值得临床应用。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 年版一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:312.

[2] 周玉平,杨将领,杨萍,等. 萍浙八味”煎剂治疗非酒精性脂肪性肝炎的前瞻性队列研究[J]. 中国现代应用药学,2019,(17):2197-2201.

[3] 赵金凯,杜伟锋,应泽茜,等. 浙贝母的现代研究进展[J]. 时珍国医国药,2019,30(1):177-180.

[4] 任芸倩,赵桦,彭强. 浙贝母及其混淆品土贝母新鲜块茎的薄层及紫外光谱鉴别[J]. 现代中医药,2005,25(4):69-70.

[5] 程斌,周爱珍,彭昕,等. 浙贝母 UPLC-Q-TOF-MS/MS 指纹图谱的建立及其抗炎质量标志物的分析[J]. 中国药房,2020,31(17):2129-2135.

[6] 杜金茗. 延胡索 HPLC 法有效成分检测及其不同炮制法研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2020,17(5):94-97.

[7] Amitava Mitra, Neil Parrott, Neil Miller, et al. Prediction of pH-Dependent Drug-Drug Interactions for Basic Drugs Using Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling: Industry Case Studies [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 109(3):1380-1394.

[8] 蒋晓梅,刘翀,朱延焱. 黄连总生物碱对溃疡性结肠炎模型大鼠肠黏膜损伤及 p38-PPAR 病性结肠炎模型通路的影响[J]. 中国药师,2019,22(12):2188-2193.

[9] 程斌,吕圭源,杨雄志. 不同品种浙贝母中贝母生物碱含量的比较[J]. 陕西中医药大学学报,2016,39(1):81-85.

[10] 白雪松,宋岩,李银清. 中药超微粉饮片的研究概况

[J]. 吉林中医药,2020,40(10):1394-1396.

[11] 朱津丽,张硕,贾英杰. 中医外治法治疗癌性疼痛的研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2019,38(5):518-520.

[12] 孙禹,梁伟. 浙贝母的化学成分,药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药物化学杂志,2022,32(1):61-73.

[13] 徐朗希,范琳资,姜爽,等. 贝母属植物的化学成分和药理作用研究进展[J]. 特产研究,2022,44(1):87-92.

[14] 王路伟,沈晨薇,张水利. 不同炮制方法对浙贝母药材 3 种生物碱含量的影响[J]. 中国现代应用药学,2018,35(1):80-84.

[15] 王英浩,李丽,袁自水,等. 中医外治法治疗不孕症研究进展[J]. 陕西中医,2020,41(7):1006-1008.

[16] 国家中医药管理局. 关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知[EB/OL]. <http://yzs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>. 2009-03-27.

[17] 臧亚茹,李丽静,王领弟,等. 标准化操作在中草药代煎质量控制中的应用[J]. 河北医学,2018,24(12):2102-2105.

[18] 梁帅,帅李正刚,正李岩. 岩黑豆酒炙何首乌药材性状及显微鉴别方法研究[J]. 中国实用医药,2020,15(29):206-208.

[19] 王海波,高会芹,周永妍,等. 不同产地珍珠母药材 HPLC 特征图谱的建立[J]. 南京中医药大学学报,2020,36(2):273-276.

[20] 宋珂,侯彦宏,苏都娜,等. 四妙勇安汤对 ApoE-/- 动脉粥样硬化小鼠 IL-6 和 MCP-1 的影响[J]. 中国现代中药,2019,21(4):441-447.

[21] 李慧娟,赵玉丛,李利红,等. 中药超微粉质量标准制定方法的研究进展[J]. 现代牧业,2017,1(2):30-32.

[22] 李彩霞,冯海生,马世震. 暗紫贝母超细粉体的制备及理化性质考察[J]. 中草药,2018,49(9):2049-2056.

[23] 钱珊珊,桂双英,杨满琴,等. 中药超微粉碎技术的研究进展[J]. 陕西中医药大学学报,2019,42(3):81-85.

[24] 楼柯浪,陶倩,张水利,等. 主成分分析下磐安浙贝母鳞茎最佳采收期的研究[J]. 浙江中医药大学学报,2017,41(4):329-335.

[25] 吴用彦,李青蔚,李红亮. 中药配方颗粒的研究现状及存在问题的思考[J]. 中南药学,2019,17(1):78-83.