

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($r=0.999\ 7, n=6$)。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 ($r=0.999\ 7, n=6$), 1.102-6.612 μg for ginsenoside Rb₁ ($r=0.999\ 7, n=6$) and 1.033-6.198 μg for ginsenoside Re ($r=0.999\ 7, n=6$), 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

心舒滴丸是由人参、川芎、细辛、麝香、冰片5味药材组成的临床经验方。虽只有5味药材,但其配伍精当,具有扶正祛邪、标本兼治的功效,临床上主要用于治疗胸痹心痛等证。该方在临床上原为散剂应用,服用量大,起效慢,且不方便,故本研究将其制备成滴丸剂。心舒滴丸中药处方中药物的有效成分多数是难溶于水的,如麝香酮、阿魏酸等,而滴丸剂可通过固体分散技术把药物分散在水溶性高分子载体中,从而提高制剂的生物利用度。现就心舒滴丸的制备工艺及人参中有效成分的含量测定方法报道如下。

1 材料

1.1 仪器

LC-10AVP型高效液相色谱仪(日本岛津公司);DWJ-AD型自动化滴丸机(聊城万合工业制造有限公司)。

1.2 饮片

人参、川芎、细辛、冰片(康美药业股份有限公司,批号分别为111104621、111011251、120313191、111010431);麝香(广州市药材公司,批号:061201)。

1.3 试剂

人参皂苷R_g、R_b、R_e对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110704-200318、110706-200319、110754-200822);聚乙二醇(PEG)4000、6000(北京益利精细化学品有限公司);液体石蜡(南京新鸿石油化工有限公司);乙腈、甲醇为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 清膏的制备^[1]

根据处方量称取药材,加水至7倍量,提取3次,每次1 h。对提取液进行合并、滤过、浓缩,得相对密度为1.18~1.20(60℃)的稠膏。再加入乙醇,调整乙醇含量至50%,静置24 h,滤去沉淀后减压回收乙醇,浓缩药液,得相对密度为1.35~1.40(60℃)的清膏。

2.2 基质的选择^[2-3]

滴丸剂选用水溶性基质,有利于发挥中药急症制剂的速释效果。由于PEG类化合物化学稳定性较好,易溶于水,油性或水溶性药物均可释放,故本研究选其作基质。试验初期,笔者对PEG4000和PEG6000分别进行了滴制预试。结果表明,与PEG6000比较,PEG4000成形及外观较好,但易熔融,稠度低,且硬度欠佳,尤其在加入较多的药物时容易松散。据此,笔者将两者通过适宜配比进行混合使用。

2.3 滴距的选择^[4]

若滴距过大,液滴容易成扁形或因重力作用被跌散而产生小丸;若滴距过小,液滴会因来不及收缩致使丸形不圆整。因此,可通过调整滴距的大小来获得合适的滴丸圆整度。本研究结果表明,滴距为7 cm时可制成圆整度较高的滴丸。

2.4 正交试验设计

滴丸的质量考核项目^[5]分别有定量指标以及外观质量评价指标,前者包括溶散时间、丸重差异等,后者如硬度、圆整度、色泽均一度等^[6]。本研究以溶散时间、丸重差异变异系数与综合评分为考察指标,清膏与基质质量比(A)、PEG4000与PEG6000质量比(B)、滴速(C)、药液温度(D)为考察因素,采用L₉(3⁴)正交试验设计表优选心舒滴丸制备工艺,其综合得分越高,滴丸质量则越差。因素水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, g:g	B, g:g	C, 滴/min	D, ℃
1	1:1.5	1:1.5	30	60
2	1:2	1:2	50	70
3	1:3	1:3	70	80

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	因素				溶散时间, min(n=6)	丸重差异变异系数, %(n=20)	综合得分
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	5.4	2.40	90.8
2	1	2	2	2	4.5	3.0	88.5
3	1	3	3	3	4.7	2.87	89.0
4	2	1	2	3	3.7	1.70	62.9
5	2	2	3	1	4.2	3.12	86.7
6	2	3	1	2	4.5	2.67	84.2
7	3	1	3	2	3.8	2.74	77.4
8	3	2	1	3	3.7	2.35	71.2
9	3	3	2	1	4.6	2.03	77.1
I _j	89.433	77.033	82.067	84.867			
II _j	77.933	82.133	76.167	83.367			
III _j	75.233	88.433	84.367	74.367			
R _j	14.200	6.400	8.200	10.500			

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	F	P
A	341.180	2	4.969	
B	68.660	2	1.000	
C	107.340	2	1.563	<0.05
D	193.500	2	2.818	
误差	68.66	2		

由表2、表3可知,影响滴丸成型的因素排列顺序为:A>D>C>B。经直观分析,确定优化滴丸制剂成型工艺条件为A₃B₁C₂D₃,即清膏与基质比是1:3,PEG4000与PEG6000称取比是1:1.5,滴速为50滴/min,药液温度80℃。

2.5 验证试验

按照优化条件制备滴丸,随机抽取样本进行考察。结果,丸重差异变异系数为1.72%,平均溶散时间为3.5 min,滴丸外观质量好,丸型完整,色泽均一,硬度较好,表明该优化工艺合理、稳定、可行。

2.6 含量测定方法考察

2.6.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Diamond C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱;检测波长:203 nm;柱温:室温;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数按人参皂苷R_g峰计算不低于6 000^[7]。在相应保留时间上,供试品色谱与对照品色谱有相同的色谱峰,而阴性对照在此保留时间内不出峰,表明此法专属性强。梯度洗脱程序见表4;色谱见图1。

2.6.2 溶液的制备 (1)混合对照品溶液的制备。精密称取人参皂苷R_g、R_b、R_e对照品各适量,加甲醇制成每1 ml各含0.2 mg的混合溶液,即得。(2)供试品溶液的制备。取本品适量,研细成粉末,精密称取1 g,置索氏提取器中,加三氯甲烷回流3 h,弃去三氯甲烷溶液,药渣挥干溶剂并转移至100 ml锥形瓶中,精密加水饱和的正丁醇50 ml,密塞,放置过夜,超声处理

表4 梯度洗脱程序

Tab 4 The program of gradient elution

t, min	流动相A, %	流动相B, %
0~25	19	81
25~40	19→29	81→71
40~50	29	71
50~90	29→40	71→60

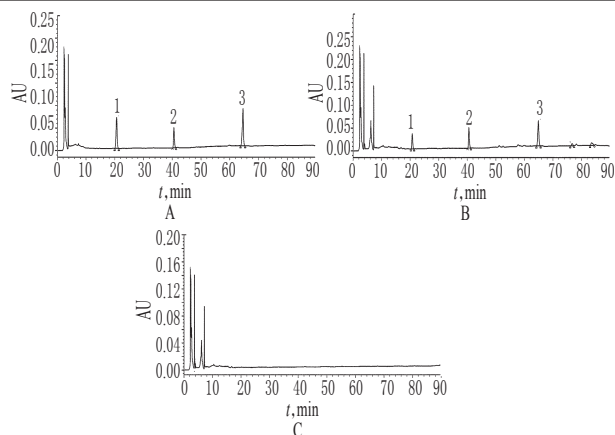


图1 高效液相色谱图

A.空白;B.供试品;C.阴性样品;1.人参皂苷Re;2.人参皂苷Rg₁;3.人参皂苷Rb₁

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank; B. test sample; C. negative sample; 1. ginsenoside Re; 2. ginsenoside Rg₁; 3. ginsenoside Rb₁

30 min, 滤过, 取滤液 25 ml, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 5 ml, 摇匀, 即得。(3) 阴性对照溶液的制备。按处方工艺制备不含人参的空白心舒滴丸, 再按上述供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.6.3 标准曲线的制备 精密移取“2.6.2”项下对照品溶液各 5、10、15、20、25、30 μl, 分别按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图。以进样量(x, μg)为横坐标, 峰面积积分值(y)为纵坐标, 进行线性回归, 得人参皂苷Rg₁、Rb₁、R₁回归方程分别为 $y=24\ 650.6x-334.2$ ($r=0.999\ 9$)、 $y=18\ 542.3x-426.5$ ($r=0.999\ 7$)、 $y=69\ 658.3x-810.8$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明, 人参皂苷Rg₁、Rb₁、R₁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。

2.6.4 重复性试验 取同一批供试品(批号:110401)共 6 份, 按“2.6.2”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 人参皂苷Rg₁、Re的平均含量为 0.63% (RSD=1.1%), 表明本方法重复性好。

2.6.5 稳定性试验 取同一供试品溶液 10 μl, 室温放置, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录色谱图。结果, 人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 峰面积的 RSD 分别为 0.8%、0.4%、0.3% ($n=6$), 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.6.6 精密度试验 取人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 对照品溶液各适量, 按上述色谱条件连续重复进样 6 次, 记录色谱图。结果, 人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 峰面积的 RSD 分别为 0.6%、0.3%、0.5% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.6.7 加样回收率试验 精密称取心舒滴丸(批号:110501, 人参皂苷Rg₁、Re、R₁的含量为 0.35%、0.30%、0.62%) 适量, 共 6 份, 分别置上述 50 ml 量中。再精密量取人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 对照品溶液(质量浓度为 1.21 mg/ml) 5 ml, 分别加至 100 ml

量瓶中, 加流动相适量, 超声处理, 定容, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 1 ml, 置 25 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 得供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图, 计算加样回收率。结果, 平均加样回收率分别为 100.1%、99.7%、99.6%, RSD 分别为 0.6%、0.4%、0.5% ($n=6$)。

2.7 样品含量测定

取心舒滴丸适量, 研细, 精密称定, 置索氏提取器中, 加流动相适量, 超声使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 ml, 置 25 ml 量瓶中, 按照“2.6.2”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 计算心舒滴丸中人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 的含量。结果, 人参皂苷Rg₁、Rb₁、Re 的平均含量为 0.64% (RSD=1.3%)。

3 讨论

本制剂的基质选择范围有 PEG、聚氧乙烯单硬脂酸酯、泊洛沙姆等。后二者未予采用是因为其亲水亲油平衡值(HLB)分别为 16.9 和 30.5, 在液体石蜡中难以成型, 且引湿性较强。PEG 无毒无味, 化学稳定性好, 是较为理想的滴丸基质^[8-9]。另一方面, 心绞痛具有急性发作的特点, 要求制剂能迅速缓解症状, 加之药效成分多为挥发性和热不稳定性成分, 故选择熔点低、具有良好分散性和较大内聚力的 PEG 作为基质来满足临床治疗和药效成分性质的要求。

滴丸剂是固体分散剂的一种形式, 药物在固体分散体中所处的状态是影响药物溶出速率的重要因素, 选择适宜的基质能提高药物的溶出速度及生物利用度, 从而起到速效、高效的作用。药物清膏与基质比例、基质配比(PEG4000 与 PEG6000 的比例)、滴速、药液温度是影响滴丸成型的主要因素, 溶散时间、丸重差异等客观定量指标是滴丸的重要质量考核标准^[10]。因此, 本研究是样上述因素作为考字指标。

综上所述, 笔者采取正交试验法优化条件制备的滴丸, 经随机取样考核, 证明该工艺稳定、可行, 所采用的含量测定方法专属性强、重复性好、精密度较高、系统适用性良好、回收率高, 适用于心舒滴丸的质量控制。

参考文献

- [1] 林茵, 邱凯峰, 覃逢超, 等. 复方参芎心宁滴丸中药材提取及其成型工艺研究[J]. 中药材, 2012, 35(8): 1 337.
- [2] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 1.
- [3] 陆锦芳, 塞德纳. 固体分散技术在中药制剂中的应用[J]. 中成药, 1995, 17(3): 6.
- [4] 吴人杰, 俞忠明, 胡英, 等. 正交试验优选松针滴丸制备工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(19): 1 767.
- [5] 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: 附录 IK.
- [6] 刘令安, 杨华, 高晓慧, 等. 四磨汤滴丸成型工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 46.
- [7] 张丽, 张晓梅, 邓国建. 心舒滴丸溶出度测定方法研究[J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(5): 87.
- [8] 韩旻. 心痛通滴丸的研制[D]. 济南: 山东中医药大学, 2003.
- [9] 马山. 克心痛滴丸的研制[D]. 济南: 山东中医药大学, 2003.
- [10] 宗建成, 张彬. 通心舒滴丸成型工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(2): 3.

(收稿日期: 2013-11-21 修回日期: 2014-09-02)