

玄参滴丸制备工艺及质量标准研究

黄真, 李兆翌, 钟晓明, 盛振华(浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: **目的** 确定玄参滴丸最佳制备工艺并制定其质量标准。**方法** 以滴丸的溶散时限、外观及丸重变异系数作为综合评定指标, 对玄参提取物与基质的比例、基质配比(PEG4000: PEG6000)、药液温度及滴制过程中滴速、滴距、冷凝液温度进行正交试验设计, 优选出滴丸最佳成型工艺及滴制工艺。采用 TLC 对玄参滴丸进行定性鉴别, 超高效液相色谱法(UPLC)测定玄参滴丸中哈巴俄苷的含量。色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-1%醋酸(31: 69); 柱温: 35 ℃; 流速: 0.2 mL·min⁻¹; 检测波长: 278 nm。**结果** 以药物-基质(1: 3), PEG4000-PEG6000(4: 1), 药液温度 90 ℃, 冷凝液为二甲基硅油和液体石蜡混合液为最佳成型工艺; 滴速(20±2)滴·min⁻¹, 滴距 3 cm, 冰水浴冷却为最佳滴制工艺。TLC 可以很好地鉴别滴丸中的主要成分, 哈巴俄苷在 0.010~0.040 μg 内呈良好的线性关系, $r=0.999\ 9$, 平均回收率为 99.2%, RSD 为 0.87%。**结论** 本试验制得的滴丸溶散时限、外观及丸重均符合质量要求, 制备方法简便可行。含量测定方法操作简便、专属性强、重复性好、结果准确可靠, 可用于玄参滴丸的质量控制。

关键词: 玄参滴丸; 制备工艺; 质量标准

中图分类号: R283.6

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)08-0724-06

Study on Preparation Technology and Quality Standard of Xuanshen Dropping Pills

HUANG Zhen, LI Zhaoyi, ZHONG Xiaoming, SHENG Zhenhua(College of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an optimum preparation technology and the method for quality control of Xuanshen dripping pills. **METHODS** Orthogonal test was applied to optimize the preparation with the choice of substrate, its proportion of substrate to drug, the drug and refrigerant temperature, dropping speed and distance to make dissolution time, appearance and weight variation up to grade. Using TLC to identify the dripping pills, harpagoside in dripping pills was determined by UPLC. Using ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-1% ethylic acid (31: 69), the column temperature was 35 ℃, the flow rate was 0.2 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 278 nm. **RESULTS** The optimum pills preparation was the ratio of PEG4000 to PEG6000 (4: 1) and drug to substrate (1: 3). Drug temperature was 90 ℃. The mixed liquid of dimethicone and liquid paraffin was refrigerant. Drug was dropped into the refrigerant of 0 ℃ by (20±2) dropping per minute (freeze-pillar height 3 cm). The herbs could be identified by TLC. For harpagoside, the linear range was 0.010–0.040 μg($r=0.999\ 9$), and the average recovery was 99.2%, RSD was 0.87%. **CONCLUSION** The good quality pills can be produced through this process with the simple and reliable method. The determination method is simple, specific,

基金项目: 浙江省中医药管理局重点项目(2007ZA003); 浙江省卫生高层次创新人才培养项目

作者简介: 黄真, 女, 硕士, 教授, 博导 Tel: (0571)86633088 E-mail: zhen626@yahoo.com.cn

reproducible and accurate, and can be applied to the quality control for the Xuanshen dripping pills.

KEY WORDS: Xuanshen dripping pills; preparation technology; quality standard

玄参 *Scrophulariae Radix* 为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根, 具有凉血滋阴、泻火解毒等功效, 为临床常用中药。其主要化学成分为环烯醚萜苷类和苯丙素苷类, 现代药理学实验研究表明, 其在抑制血小板聚集、促纤溶、扩张血管、抗氧化、抗脑缺血损伤、改善神经功能等方面发挥了显著的作用^[1-5]。本试验在其水提物在抗脑缺血方面具显著效果的基础上, 研究将其制成滴丸剂的可行性, 筛选出最佳制备工艺, 以期克服传统制剂体大量多、缺乏速效性等缺点, 使疗效更为确切充分; 同时以哈巴俄苷作为指标成分, 采用 TLC 建立滴丸中成分的定性鉴别, 建立超高效液相色谱法测定制剂中哈巴俄苷含量的方法。

1 仪器与材料

滴丸机及冷却装置(自制); Waters 超高效液相色谱仪(ACQUITY UPLC, 美国 Waters 公司); BS124S 分析天平(北京赛多利斯科仪器有限公司); ZB-1 自动崩解时限检查仪(天津药典标准仪器厂)。

哈巴俄苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111730-200604, 供含量测定用); 玄参经浙江中医药大学资源鉴定教研室陈孔荣副教授鉴定为 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根, 玄参提取物为本实验室自制(批号: 20090916); PEG4000, PEG6000(上海浦东高南化工厂);

液体石蜡、二甲基硅油(杭州西湖有机硅厂), 乙腈、甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 玄参滴丸制备工艺

分别按不同比例精密称取 PEG4000, PEG6000 共 5 g, 将基质在水浴上加热熔融, 混合均匀; 精密称取一定量的玄参提取物, 加入熔融的基质中, 搅拌 5 min, 至融合均匀; 保持温度, 调节滴速, 将混合物滴入冷凝液中, 冷凝成丸。收集滴丸, 用滤纸擦干冷却剂, 放入干燥器中干燥 24 h 后即得滴丸样品。

2.2 基质与冷凝液的选择

通过预实验并结合实际条件, 分别以 PEG4000 和 PEG6000 作为基质进行滴制, 以 PEG4000 作基

质, 滴丸的流动性和耐热性均较差; 以 PEG6000 作基质, 与药物混合后黏度较大, 滴制相对比较困难, 因此采用 PEG4000 与 PEG6000 混合滴制效果较好。

分别以二甲基硅油和液体石蜡作为冷凝液, 将熔融后的药液滴入不同冷凝液中, 观察沉降情况及滴丸的圆整度。结果表明液滴在液状石蜡中迅速沉降, 丸型较扁, 而在甲基硅油中缓慢沉降, 丸型圆整。又考虑液滴从空气中进入甲基硅油中过慢, 采用液体石蜡进行过渡。因此采用甲基硅油和液体石蜡的混合液作为冷却剂, 比例 7:1, 冷凝管长度 16 cm。

2.3 影响滴丸成型因素的考察

按照中国药典 2010 版规定, 滴丸的质量考核项目包括客观定量标准, 如溶散时间、丸重差异等, 同时考虑可评价滴丸的外观质量的指标, 如圆整度、光泽度等进行评定, 将主观指标“外观质量”与“溶散时间”、“丸重差异”等客观指标综合评分, 共同评价滴丸的质量^[6-8]。

2.3.1 成型工艺的选择 通过预实验及单因素考察, 初步确定 PEG4000 与 PEG6000 比例为 2:1~4:1, 药液与基质比例为 1:2~1:3, 药液温度 70~90 °C 时, 滴制效果较好。将药液温度、药物与基质比例及基质配比 3 个因素作为成型工艺的考察因素, 选择在冷凝液温度(5±2)°C, 滴速(30±2)滴·min⁻¹, 滴距 4 cm 条件下, 采用 L₉(3⁴) 正交表进行试验, 以滴丸的溶散时限及外观质量作为评价指标进行综合评分。外观质量包括滴丸的圆整度、光泽度、有无拖尾及粘连 3 个指标, 将各指标由优至差, 以评分(1~5 分)方式进行评价, 分数越高, 表示圆整度好, 光泽度高, 拖尾及粘连小。溶散时限以分值(1~9 分)进行评价, 分数越高, 表示时间越短。正交试验因素水平表见表 1, 结果及方差分析见表 2、表 3。

表 1 因素水平表

Tab 1 Factors and levels

水平	A	B	C
	药液温度/°C	药液: 基质	PEG4000: PEG6000
1	70	1:2	2:1
2	80	1:2.5	3:1
3	90	1:3	4:1

表 2 正交试验结果 $L_9(3^4)$

Tab 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

实验号	A 药液温度/℃	B 药液: 基质	C PEG4000 : PEG6000	D 空白	溶散时限		外观评分(1~5分)			综合评分
					时间	分值	圆整度	光泽度	拖尾及粘连	
1	1	1	1	1	7'17"	1	2.1	1.8	2.4	7.3
2	1	2	2	2	5'11"	5	2.4	3.0	2.4	12.8
3	1	3	3	3	4'19"	9	3.0	4.4	3.0	19.4
4	2	1	2	3	5'06"	4	2.6	2.5	2.4	11.5
5	2	2	3	1	4'50"	7	3.2	3.4	3.1	16.7
6	2	3	1	2	5'57"	3	2.1	2.0	2.3	9.4
7	3	1	3	2	4'29"	8	3.4	3.6	3.2	18.1
8	3	2	1	3	6'46"	2	2.2	1.9	2.2	8.3
9	3	3	2	1	5'27"	6	3.0	2.4	3.3	14.7
K1	39.5	36.9	25.0	38.7						
K2	37.6	37.8	39.0	40.3						
K3	41.1	43.5	54.2	39.2						
R	4 663.22	4 682.70	5 083.64	4 658.42						

表 3 方差分析

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	P值
A	2.047	2	1.023	4.58	
B	8.540	2	4.270	19.12	<0.05
C	142.187	2	71.093	318.33	<0.01
误差	0.447	2	0.223		

注: $F_{0.05(2, 2)}=19.00$; $F_{0.01(2, 2)}=99.00$

Note: $F_{0.05(2, 2)}=19.00$; $F_{0.01(2, 2)}=99.00$

由表2、表3可知, 影响滴丸成型的主次因素为C>B>A, B、C因素对其有显著性影响。最佳成型工艺条件为 $A_3B_3C_3$, 即药液温度90℃, 药物: 基质=1:3, PEG4000: PEG6000=4:1。

2.3.2 滴制工艺的选择 滴丸丸重受滴制过程中滴距、滴速、温度等因素的影响。通过预实验初

步确定滴距为3~5 cm, 滴速为20~40 滴·min⁻¹时滴丸的丸重差异较小, 滴制效果较好。冷却温度大于10℃时丸型扁平, 而10℃以下时呈圆球形, 表面光滑, 因此确定冷却温度为0~10℃。以滴丸的重量差异变异系数为指标, 在最佳成型工艺条件下对滴距、滴速及冷凝液温度用 $L_9(3^4)$ 正交表对玄参滴丸的滴制工艺进行筛选。正交试验因素水平表见表4, 结果及方差分析见表5、表6。

表 4 因素水平表

Tab 4 Factors and levels

水平	A滴距/cm	B滴速/滴·min ⁻¹	C冷凝液温度/℃
1	3	20±2	0~3
2	4	30±2	4~6
3	5	40±2	7~10

表 5 正交试验结果 $L_9(3^4)$

Tab 5 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

实验号	A 滴距/cm	B 滴速/滴·min ⁻¹	C 冷凝液温度/℃	D(空白)	丸重变异系数RSD (n=20)
1	1	1	1	1	5.61
2	1	2	2	2	6.94
3	1	3	3	3	10.84
4	2	1	2	3	6.52
5	2	2	3	1	10.77
6	2	3	1	2	8.85
7	3	1	3	2	9.74
8	3	2	1	3	7.69
9	3	3	2	1	10.34
K1	23.39	21.87	22.15	26.72	
K2	26.14	25.40	23.80	25.53	
K3	27.77	30.03	31.35	25.05	
R	2 001.56	2 025.26	2 039.89	1 993.24	

表 6 方差分析

Tab 6 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	3.267	2	1.634	6.63	
B	11.165	2	5.582	22.65	<0.05
C	16.041	2	8.020	32.55	<0.05
误差	0.493	2	0.246		

由表5、表6可知,影响滴丸重量的主次因素为C>B>A,B、C因素对其有显著性影响。最佳成型工艺条件为A₁B₁C₁,即滴距3 cm,滴速(20±2)滴·min⁻¹,冷凝液温度0~3℃,即冰水浴。

2.4 验证试验

按最佳工艺作重复试验3次,进行质量检查。结果表明批次之间滴丸重量、溶散时限及外观无明显差异,设计与优化结果是可靠的。结果见表7。

表 7 玄参滴丸验证实验结果(n=3)

Tab 7 Test and verify results of Xuanshen dropping pills (n=3)

批号	外观评分/分	平均丸重/mg	丸重差异RSD/%	溶散时限/min
1	12.2	35.4	5.65	4'29"
2	11.8	36.4	7.97	4'38"
3	11.9	36.1	6.37	4'35"

2.5 玄参薄层鉴别

称取滴丸约1 g,于研钵中研细,放入具塞锥形瓶中,加30%甲醇10 mL,超声处理20 min,滤过,滤液作为供试品溶液。同法制成滴丸阴性对照液。精密称取哈巴俄苷对照品5.0 mg,用30%甲醇定容到5 mL,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典2010年版附录VI B)试验,吸取上述溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-醋酸-水(7:1:2)为展开剂,用展开剂预饱和15 min,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,热风吹至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,而阴性对照无相应的斑点。结果见图1。

2.6 哈巴俄苷含量测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 5 μm),流动相为乙腈-1%醋酸混合液(31:69),流速为0.2 mL·min⁻¹,检测波长为278 nm,柱温为35℃,进样量为2 μL。在此色谱条件下,哈巴俄苷和样品中其他成分色谱峰分离完全,色谱图见图2。

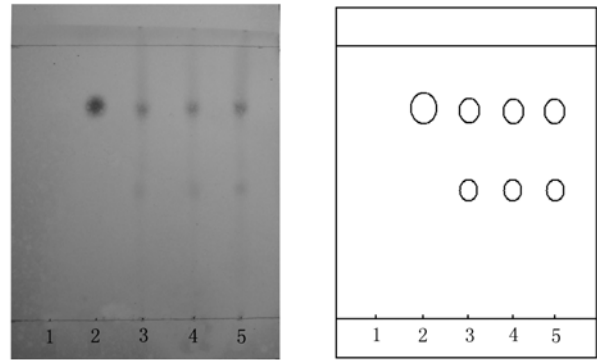


图 1 玄参滴丸的 TLC 鉴别

1-阴性对照品;2-哈巴俄苷对照品;3-5-滴丸样品

Fig 1 TLC chromatograms

1-negative control; 2-harpagoside reference; 3-5-dropping pills samples

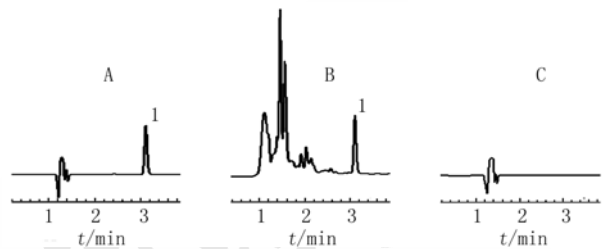


图 2 超高效液相色谱图

A-哈巴俄苷对照品;B-滴丸样品;C-阴性对照品;1-哈巴俄苷

Fig 2 UPLC chromatograms

A-harpagoside reference; B-Xuanshen dropping pills samples; C-negative control; 1-harpagoside

2.6.2 对照品溶液的制备 精密称取哈巴俄苷对照品5.0 mg,至5 mL量瓶中,加30%甲醇溶解并稀释至刻度,制成含1.0 mg·mL⁻¹的储备液。吸取1.00 mL储备液至100 mL量瓶中,加30%甲醇稀释至刻度,制成含0.010 μg·mL⁻¹的对照品溶液,备用。

2.6.3 供试品溶液的制备 取滴丸适量,研细,取约0.1 g,精密称定,置50 mL量瓶中,加30%甲醇稀释至刻度,超声处理20 min,过滤,取续滤液过0.45 μm滤膜,即得。

2.6.4 阴性对照液的制备 取空白基质滴丸适量,按“2.6.3”项下制备,即得。

2.6.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 μL,依次进样,以色谱峰峰面积Y为纵坐标,含量X(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得哈巴俄苷的回归方程为:Y=1.2×10⁷X-1.03×10³,r=0.999 9,表明哈巴俄苷在0.010~0.040 μg内,含量与峰面积线性关系良好。

2.6.6 仪器精密度试验 精密吸取对照品溶液2 μL,连续进样6次,测定色谱峰面积,计算RSD

值。结果哈巴俄昔峰面积 RSD 为 0.26%，表明仪器精密度良好。

2.6.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，分别于 0，2，4，8，10，12 h 进样 2 μL ，测定色谱峰面积，计算 RSD 值。结果哈巴俄昔峰面积 RSD 为 1.11%，表明样品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.6.8 重复性试验 取同一批滴丸样品 6 份(批号 20090929)，按“2.6.3”项下制备，进样 2 μL ，测定色谱峰面积，计算含量及 RSD 值。结果哈巴俄

昔含量为 0.013 7 μg ，RSD 为 1.51%，表明此方法重复性良好。

2.6.9 加样回收率试验 取已知含量的滴丸适量，研细，取约 0.1 g 样品 9 份，精密称定，置 50 mL 量瓶中，按相当于滴丸中哈巴俄昔 80%，100%，120%的量加入对照品溶液，按“2.6.3”项下制备，进样 2 μL ，测定色谱峰面积，计算哈巴俄昔的平均回收率及 RSD 值。结果平均回收率为 99.2%，RSD 为 0.87%，表明回收率较高，结果见表 8。

表 8 哈巴俄昔加样回收率实验结果

Tab 8 Results of recovery test of harpagoside

编号	含哈巴俄昔量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.006 85	0.006 25	0.012 93	97.3	99.2	0.87
2	0.006 70	0.006 25	0.012 88	98.9		
3	0.007 10	0.006 25	0.013 28	98.9		
4	0.007 00	0.007 50	0.014 40	98.7		
5	0.006 90	0.007 50	0.014 40	100.0		
6	0.006 95	0.007 50	0.014 40	99.3		
7	0.006 60	0.008 75	0.015 32	99.7		
8	0.006 80	0.008 75	0.015 52	99.6		
9	0.006 75	0.008 75	0.015 50	100.0		

2.6.10 样品含量测定 取 6 批滴丸按“2.6.3”项下制备供试样品，进行含量测定。结果见表 9。

表 9 样品含量测定结果($n=2$)

Tab 9 Results of the sample determination($n=2$)

批号	哈巴俄昔含量/ μg	批号	哈巴俄昔含量/ μg
20090919	0.013 7	20090925	0.013 2
20090921	0.013 5	20090927	0.013 9
20090923	0.013 0	20090929	0.013 2

3 讨论

本试验探讨了玄参滴丸的制备工艺，经过正交设计试验得出最佳工艺为：药液温度 90 $^{\circ}\text{C}$ ，药物：基质=1：3，PEG4000：PEG6000=4：1；滴距 3 cm，滴速 $(20\pm 2)\text{滴}\cdot\text{min}^{-1}$ ，冰水浴。以最佳工艺制备了 3 批产品，经外观质量、滴丸重量差异和溶散时限等方面的考核，均符合中国药典 2010 年版滴丸项下规定，经药理实验证明，该工艺制备的滴丸具有缓解脑缺血症状等功效，说明此工艺可行。

利用 UPLC 对制剂中的哈巴俄昔进行含量测定，中国药典 2010 年版一部采用 HPLC 梯度洗脱分离哈巴俄昔成分，本实验采用乙腈-1%醋酸洗脱体系的色谱分析条件，结果表明流动相比比例在

31：69 时，哈巴俄昔和样品中其他成分色谱峰分离完全。玄参滴丸质量标准的完善，不仅可以很好地对其质量进行控制，且为其他含有玄参的中药制剂质量标准的制订提供参考。

REFERENCES

[1] LI Y M, ZENG H W, HE X, et al. Iridoid and phenylpropanoid glycosides of *Scrophularia ningpoensis* inhibit the formation of LTB₄ and platelet aggregation [J]. Acad J Second Mil Med Univ(第二军医大学学报), 1999, 20(5): 301-303.

[2] NI Z, CAI X Z, HUANG Y P, et al. Effect of extracts of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. on hemorrheology, coagulation and fibrinolysis in rats [J]. J Chin Microcirc(中国微循环), 2004, 8(3): 152-153.

[3] LI Y M, ZENG H W, HE X, et al. Antiinflammatory and antioxidant effects of the extracts from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. [J]. Acad J Second Mil Med Univ(第二军医大学学报), 1999, 20(9): 614-616.

[4] HUANG Q, GONG Q Y, YAO M H, et al. Protective effect of *Scrophularia ningpoensis* extracts on cerebral ischemia injury in rats [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2004, 23(6): 323-327.

[5] HU Y Y, HUANG Z. Advances in research of chemical constituents and pharmacological effects of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. [J]. J Zhejiang Univ Tradit Chin Med(浙江中医药大学学报), 2008, 32(2): 268-270.

[6] HUANG Y J. Optimum techniques making Shixiao drop pill by orthogonal test [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 1997,

32(5): 303-305.

- [7] XU X Z, GONG L G, ZHANG A F, et al. Study on preparation technology of Limonene dropping pills [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2005, 28(5): 418-420.

- [8] YU J, CUI B J, ZHANG X R. Study on preparation process for Wuweizi dropping pills [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(4): 326-329.

收稿日期: 2010-11-01