

葛根总黄酮滴丸的制备与溶出度研究

宋凤兰, 潘育方, 侯冬枝, 罗克平

广东药学院医药化工学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研制葛根总黄酮滴丸, 并考察其溶出度。方法 以滴丸的外观、丸质量变异系数、溶散时限为评价指标, 采用正交试验设计优选滴丸的制备工艺; HPLC法测定滴丸中葛根素; 转篮法比较葛根素在滴丸与片剂中的溶出度。结果 最优制备工艺: 药物与基质比例为1:3, 滴速为20滴/min, 药液温度为80℃, 管口温度为50℃, 滴距为6cm, 制冷温度为10℃; 制得滴丸中葛根素为5.542 mg/g; 滴丸在20 min内累积溶出率达到98.81%, 片剂20 min内的累积溶出率仅有10.70%。结论 葛根总黄酮滴丸制备方法稳定、可行, 定量测定方法简便、易行, 滴丸可提高葛根素的溶出速度。

关键词: 葛根总黄酮; 滴丸; 溶散时限; 葛根素; HPLC; 溶出度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)09-1252-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.09.010

Preparation and dissolution of *Puerariae Radix Flavones* Dropping Pills

SONG Feng-lan, PAN Yu-fang, HOU Dong-zhi, LUO Ke-ping

School of Medicine and Chemical Engineering, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To prepare *Puerariae Radix Flavones* Dropping Pills and to investigate the dissolution. **Methods** Exterior quality, weight variation, and resolving time were used as comprehensive evaluation indicators to select dropping conditions by orthogonal design. HPLC was used to determine the content of puerarin and rotating basket method was used to determine the dissolution rate *in vitro* of the dropping pills and tablets. **Results** The optimal preparation conditions for the pills were as follows: proportion of drug and matrix was 1:3, drop rate was 20 d/min, the temperature of drug fluids was 80℃, the condensate tube outlet temperature was 50℃, dimethylsilicone was the refrigerant at the temperature of 10℃ and 6 cm distance above liquid level. The content of puerarin in the dropping pills was 5.542 mg/g. The accumulated dissolution rate of puerarin in the dropping pills reached 98.81% in 20 min, while the accumulated dissolution rate of puerarin in tablets was only 10.70% in 20 min. **Conclusion** The preparation process and HPLC determination method are simple, stable, and feasible. The dissolution rate of puerarin can be improved in the Dropping pills.

Key words: *Puerariae Radix Flavones*; dropping pills; resolving time limit; puerarin; HPLC; dissolution

葛根总黄酮 (*Puerariae Radix Flavones*, PRF) 是从中药葛根 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 中提取出的黄酮类物质, 主要成分有葛根素、大豆苷元、大豆苷等, 其具有改善微循环、扩张血管、增加冠脉流量、降低血压、减慢心律和降低心肌耗氧量的作用, 同时还具有抗血栓、抗血管痉挛和抑制血小板聚集等功效, 临床可用于高血压、高血脂、偏头痛、冠心病、心肌梗死、心绞痛等疾病的治疗^[1-2]。但是 PRF 在水中溶解性差, 普通的口服片剂中溶出慢、吸收差、生物利用度低^[3]。滴丸剂中药物以分子、微晶或胶体状态分散于基质中, 分散度大, 有利于难溶性药物在体内的溶解和吸收, 具有速效、

高效的特点^[4]。本实验制备了 PRF 滴丸, 采用 HPLC 法对其内的葛根素进行了测定, 同时以葛根素为指标对制得滴丸与市售愈风宁心片的体外溶出度进行了比较, 为 PRF 滴丸的进一步开发提供研究基础。

1 仪器与试剂

DWJ—2000S 型多功能滴丸试验机 (烟台百药泰中药科技发展有限公司); 依利特 230 系列高效液相色谱仪 (大连依利特有限公司); ZBS—6G 型智能崩解仪、ZRS—8G 溶出试验仪 (天津天大天发科技有限公司); HWS24 型电热恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司)。

PRF 经 UV 法测定以芦丁计含黄酮 80%, 绵阳

收稿日期: 2013-12-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51102052)

作者简介: 宋凤兰 (1981—), 女, 江苏徐州人, 实验师, 主要从事药物新剂型的研究。Tel: (0760)88207977 E-mail: fenglansong@126.com

劲柏生物科技有限公司；二甲基硅油 DY-201-100，山东大易化工有限公司；聚乙二醇（PEG）4000，广东光华化学有限公司；PEG 6000，天津市白世化工有限公司；葛根素对照品（中国食品药品检定研究院，批号 110752-200912，质量分数以 96.0%计）；愈风宁心片（北京同仁堂健康药业有限公司，批号 20120207）；甲醇（色谱纯，天津科密欧化学试剂有限公司）；纯净水（实验室自制）。

2 方法与结果

2.1 滴丸制备工艺研究

2.1.1 基质和冷凝液选择 根据药物的性质和滴丸基质的理化特点，本实验选用了水溶性聚乙二醇作为基质。PEG 4000 和 PEG 6000 因具有良好分散力和内聚力，是目前使用最广泛的 2 种滴丸基质。本实验以滴制的难易程度、滴丸的成型率、外观质量为考察指标，在药物与基质的比例为 1:3 的条件下，分别以 PEG 4000、PEG 6000、PEG 4000-PEG 6000(1:1)为基质制备滴丸。结果显示以 PEG 6000 作为基质时滴制较困难，滴丸成型率较低；以 PEG 4000-PEG 6000 (1:1) 为基质滴制成的滴丸，易粘连，圆整度差，丸质量差异大；而以 PEG 4000 为基质时滴制较容易，滴丸成型率高，外观质量良好。故本实验选用 PEG 4000 作为滴丸基质。

冷凝液的选择，预试验分别测试了液体石蜡、二甲基硅油、蓖麻油作为冷凝液的冷凝效果，发现以二甲基硅油为冷凝剂时，滴丸的沉降速度适中，制得的滴丸不粘连，圆整度较好，故本实验选择二甲基硅油作为冷凝剂。

2.1.2 药物与基质比例对滴丸制备的影响 将 PRF 与 PEG 4000 按不同的比例混合制成滴丸，其他条件固定（药液温度为 80 °C，管口温度为 40 °C，冷凝液温度为 10 °C，滴距为 6 cm，滴速为 30 滴/min），以制得滴丸的外观质量评分^[5-6]（包括圆整度、硬度、拖尾，外形由不圆至圆分为 1~5 级，硬度由软至硬分为 1~5 级（硬度仪测定），拖尾情况由差至好分为 1~5 级）、丸质量差异、溶散时限为评价指标，结果见表 1。

实验结果表明，药物与基质比例为 1:2 时，药液流动性差，较难滴制，制得滴丸的外观质量较差。药物与基质比例为 1:3~1:6 时，滴丸成型率高，外观质量良好，丸质量差异和溶散时限均较小，但考虑到滴丸的载药量问题，药物与基质比例应选择 1:3~1:5 较为合适。

表 1 药物与基质比例对滴丸制备的影响

Table 1 Effects of proportion between drug and matrix on preparation of dropping pills

药物与基质比例	外观质量评分				丸质量变异系数 / %	溶散时限 / min
	圆整度	硬度	拖尾	总分		
1:2	1	3	2	6	6.82	7.26
1:3	4	4	4	12	3.35	6.47
1:4	4	4	5	13	2.97	5.88
1:5	4	4	5	13	3.60	5.67
1:6	4	4	5	13	3.61	5.39

2.1.3 药液温度对滴丸制备的影响 滴丸基质 PEG 4000 的熔点为 55 °C 左右，故药液温度不可低于 60 °C，预试验发现，药液温度在 70 °C 以下时，滴制较慢，拖尾较严重，所以选择药液温度在 70、80、90、100 °C，其他条件固定，考察不同药液温度时滴丸的质量，结果见表 2。药液温度在 70~90 °C 时，制得滴丸的外观质量较好，丸质量差异小，但当药液温度达到 100 °C，滴丸易粘连，制得滴丸圆整度不佳，丸质量差异大。

表 2 药液温度对滴丸的影响

Table 2 Effects of drug fluid temperatures on dropping pills

药液温度 / °C	外观质量评分				丸质量变异系数 / %	溶散时限 / min
	圆整度	硬度	拖尾	总分		
70	4	5	4	13	2.91	6.15
80	4	4	4	12	2.43	5.85
90	4	4	5	13	1.85	6.38
100	2	3	3	8	4.86	6.05

2.1.4 滴距与滴速对滴丸制备的影响 滴距主要影响滴丸的圆整度。滴距过小，液滴来不及收缩，即落入冷凝液中，制得滴丸不圆整易拖尾；滴距过大，液滴易受重力作用跌散而产生小粒，丸质量差异大。预试验结果发现，滴距在 4~8 cm，对滴丸质量影响不大，本实验选择滴距为 6 cm。

滴速也是影响滴丸成型的重要因素。滴制速度过快，滴丸受重力影响较大，滴丸较扁，易粘连；滴制速度过慢，液滴变大，滴丸变重，丸质量差异大，同时生产效率降低。经预试验结果发现，滴速在 20~40 滴/min 时，制得滴丸质量较好。

2.1.5 冷凝温度对滴丸制备的影响 本实验使用的滴丸机冷凝液采用的是梯度冷却技术，在 1.2 m 长的冷凝管中，管口部分可以加热，管底部分可以降

温, 可把管口温度和冷凝液下部制冷温度分别进行考察, 以研究 2 因素对滴丸质量的影响。

管口温度主要影响滴丸的圆整度和丸质量差异。管口温度过低, 液滴提前收缩, 丸型不圆整; 管口温度过高, 液滴易粘连, 丸质量差异较大。参考有关文献并结合预试验结果^[7], 管口温度选择在 30~50 °C 较为合适。其他条件固定, 对冷凝液下部制冷温度进行考察, 研究发现, 制冷温度在 12 °C 以下时制得滴丸的质量无显著性差异。从节约能源角度, 选择冷凝液下部制冷温度为 10 °C。

2.1.6 正交试验设计 在 PRF 滴丸制备工艺单因

素考察的基础上, 选取对滴丸质量影响较大的 4 个因素: 药物与基质比例 (A)、滴速 (B)、药液温度 (C)、管口温度 (D), 采用 L₉(3⁴) 正交试验设计对滴丸的成型工艺作进一步优化, 以其获得 PRF 滴丸的最佳制备工艺。滴丸的质量评价目前并无统一的指标, 本实验参考有关文献^[8], 以制得滴丸的外观质量评分 (y₁)、丸质量变异系数 (y₂)、溶散时限 (y₃) 为评价指标, 采用综合评分 (加权评分) 法来评价滴丸质量, 综合评分 = 100 × y_{1i}/y_{1max} × 0.3 + 100 × y_{2min}/y_{2i} × 0.4 + 100 × y_{3min}/y_{3i} × 0.3。试验设计与结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 3 L₉(3⁴) 正交试验设计与结果

Table 3 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B / (滴·min ⁻¹)	C / °C	D / °C	外观质量评分				丸质量变异系数 / %	溶散时限 / min	综合评分
					圆整度	硬度	拖尾	总分			
1	1 : 3 (1)	20 (1)	70 (1)	30 (1)	3	3	5	11	4.39	6.32	68.61
2	1 : 3 (1)	30 (2)	80 (2)	40 (2)	4	4	4	12	5.33	6.21	68.23
3	1 : 3 (1)	40 (3)	90 (3)	50 (3)	3	4	5	12	4.30	6.31	71.16
4	1 : 4 (2)	20 (1)	80 (2)	50 (3)	4	5	4	13	1.88	6.12	96.68
5	1 : 4 (2)	30 (2)	90 (3)	30 (1)	5	5	4	14	2.64	5.92	88.28
6	1 : 4 (2)	40 (3)	70 (1)	40 (2)	5	5	4	14	2.24	6.10	92.50
7	1 : 5 (3)	20 (1)	90 (3)	40 (2)	4	4	5	13	3.37	5.88	80.17
8	1 : 5 (3)	30 (2)	70 (1)	50 (3)	3	4	5	12	3.66	6.05	75.42
9	1 : 5 (3)	40 (3)	80 (2)	30 (1)	3	3	4	10	2.68	5.90	79.39
K ₁	69.33	81.82	78.84	78.76							
K ₂	92.49	77.31	81.43	80.30							
K ₃	78.33	81.02	79.87	81.09							
R	23.15	4.51	2.59	2.33							

表 4 方差分析

Table 4 Analysis of variance

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	817.46	2	97.27	P<0.05
B	34.73	2	4.13	
C	10.21	2	1.21	
D (误差)	8.40	2	1.00	

F_{0.05}(2, 2)=19.00 F_{0.01}(2, 2)=99.00

正交试验结果表明药物与基质比例是影响 PRF 滴丸质量的主要因素, 对滴丸的质量有显著性意义。影响 PRF 滴丸制备的因素主次顺序为药物与基质比例 > 滴速 > 药液温度 > 管口温度, 最佳工艺为 A₂B₁C₂D₃, 但考虑到滴丸的载药量问题, 最终将 PRF 滴丸的工艺条件定为药物与基质比为 1 : 3, 滴速 20 滴/min, 药液温度为 80 °C, 管口温度为 50 °C,

滴距为 6 cm, 制冷温度为 10 °C。

2.1.7 验证试验 按上述工艺条件重复制备滴丸 3 批 (批号分别为 121011、121128、130116), 并对其外观质量、丸质量变异系数、溶散时限进行考察, 结果显示制得滴丸的外观质量良好, 丸质量变异系数在 2.34%~2.42%, 溶散时限在 5.81~5.85 min, 表明该制备工艺重现性良好, 结果见表 5。

表 5 验证实验结果

Table 5 Results of verification

批号	外观质量评分				丸质量变异系数 / %	溶散时限 / min
	圆整度	硬度	拖尾	总分		
121011	5	4	5	14	2.42	5.81
121128	4	5	5	14	2.40	5.83
130116	5	4	5	14	2.34	5.85

2.2 葛根素的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱依利特 C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (25 : 75), 体积流量为 1.0 mL/min, 进样量为 20 μL, 检测波长为 250 nm, 柱温为 30 °C。

2.2.2 对照品溶液的制备 取葛根素对照品适量, 精密称定质量, 加甲醇溶解并稀释制成含葛根素 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品储备液, 吸取对照品储备液定量稀释至适宜质量浓度。

2.2.3 供试品溶液制备 取滴丸 20 粒研碎, 精密称定 0.1 g, 置 50 mL 三角瓶中, 加 30%乙醇 25 mL,

称定质量, 超声 30 min, 放冷, 用 30%乙醇补足减少的质量, 滤过, 取滤液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加 30%乙醇稀释至刻度, 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液制备 参照 PRF 滴丸的制备工艺制得不含药物的空白滴丸, 按“2.2.3”项方法, 制得阴性对照溶液。

2.2.5 方法专属性考察 分别取葛根素对照品溶液, 供试品溶液以及阴性对照溶液, 按照上述色谱条件进行测定, 结果见图 1。由图可见, 葛根素的保留时间约为 29 min, 阴性对照对葛根素的测定无干扰。

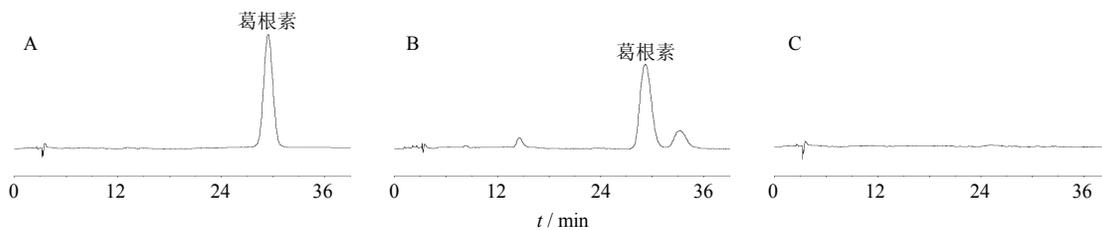


图1 葛根素对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of puerarin reference substance (A), sample (B), and negative reference substance (C)

2.2.6 线性关系考察 取对照品储备液分别配成质量浓度为 348、174、87、43.5、21.75 μg/mL 的对照品溶液, 进样, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 相应的峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=70\ 928 X-240\ 569$, $r=0.999\ 8$, 结果表明, 葛根素浓度在 21.75~348 μg/mL 与峰面积具有良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 取同一质量浓度的对照品溶液 (87 μg/mL), 在上述色谱条件下重复进样 6 次, 计算得出葛根素峰面积的 RSD 值为 1.0%, 进样精密度较好。

2.2.8 重复性试验 取同一批滴丸 (批号 121011), 按照供试品溶液制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 在上述色谱条件下, 进样, 计算葛根素峰面积的 RSD 值为 1.4%, 实验重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液 (“2.2.8”中的 1 份), 分别于 0、2、4、6、8、24 h 时进样, 然后计算葛根素峰面积的 RSD 为 1.1%, 说明在 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已测定葛根素的滴丸 (批号 121011) 研碎, 精密称定 9 份粉末, 每份约 0.05 g, 分别加入 522、348、174 μg 的对照品, 配成高、中、低 3 个质量浓度, 每个质量浓度 3 份, 按供试品溶液制备方法处理, 计算葛根素平均回收

率为 102.9%, RSD 为 1.5%。

2.2.11 样品测定 取所制备的不同批号的滴丸样品 3 批 (批号 121011、121128、130116), 每批分别按“2.2.3”项方法制备供试液, 分别测定, 结果葛根素分别为 5.496、5.561、5.568 mg/g, 平均为 5.542 mg/g, RSD 为 0.7%。

2.3 体外溶出度考察

2.3.1 滴丸与片剂的溶出度比较 药物体外溶出度参照《中国药典》2010 年版, 采用转篮法测定, 取滴丸或片剂适量, 以水为溶出介质, 转速为 100 r/min, 温度为 (37 ± 0.5) °C, 依法测定, 分别于 1.5、3、5、12、20、30、50、80、120 min 取样 5 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 得供试品溶液。取样后补充等量等温的溶出介质^[9]。供试品溶液按上述葛根素定量测定方法, 测定葛根素质量浓度, 计算累积溶出率, 绘制时间-累积溶出率曲线, 见图 2。结果显示, 滴丸在 20 min 内累积溶出率就可达到 98.81%, 但普通片剂 20 min 内的累积溶出仅有 10.70%, 120 min 累积溶出也只有 82.98%。将滴丸与普通片剂的溶出时间数据分别进行威布尔函数拟合^[10], 滴丸的溶出参数 T_{50} 为 4.38 min, 而片剂的溶出参数 T_{50} 为 71.24 min, 表明葛根素在滴丸剂中溶出速度远远大于片剂, 两者有明显差异, 滴丸可以达到速效作用。

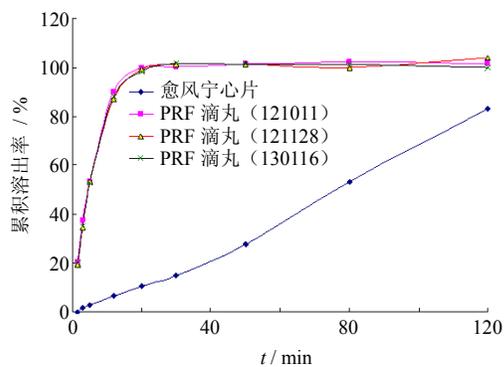


图2 滴丸与片剂的体外溶出比较

Fig. 2 Comparison on dissolution between dropping pills and tablets

2.3.2 滴丸溶出均一性和重复性试验 取同一批 PRF 滴丸 (批号 121011) 6 粒, 按溶出度测定方法, 测得滴丸在 20 min 内的溶出度, 结果见表 6。6 粒滴丸每个时间点的累积释放率的 RSD 均 < 10%, 显示滴丸批内溶出均一性良好。取 PRF 滴丸 3 批 (批号 121011、121128、130116), 按溶出度测定方法测定, 结果见表 7。结果显示 3 批滴丸在每个时间点累积溶出率的 RSD 均 < 5%, 该滴丸溶出度检查重复性较好、工艺稳定。

表6 滴丸溶出均一性考察

Table 6 Equality of dissolution of dropping pills

样品	累积溶出率 / %				
	1.5 min	3 min	5 min	12 min	20 min
1	20.33	37.43	53.31	89.96	99.80
2	19.58	35.26	51.20	88.59	98.29
3	18.89	34.95	52.69	85.90	99.23
4	20.24	33.25	54.25	85.24	100.30
5	19.61	33.16	52.34	84.31	99.01
6	17.16	33.59	55.29	88.59	98.05
RSD / %	6.1	4.7	2.7	2.6	0.8

表7 滴丸溶出重复性考察

Table 7 Reproducibility of dissolution of dropping pills

批号	累积溶出率 / %				
	1.5 min	3 min	5 min	12 min	20 min
121011	20.02	35.63	53.89	88.66	98.08
121128	19.32	34.61	53.18	87.10	99.11
130116	19.89	35.12	52.96	88.38	98.45
平均值	19.74	35.12	53.34	88.05	98.55
RSD / %	1.8	1.4	0.9	0.9	0.5

3 讨论

本实验通过单因素考察和正交试验设计探讨了 PRF 滴丸的最佳成型工艺, 研究发现基质用量越多, 滴丸的成型性越好, 滴制越容易, 正交试验筛选出 PRF 与 PEG 4000 的比例最佳为 1 : 4, 但考虑到滴丸的载药量小, 服用剂量大, 且药物与 PEG 4000 比例为 1 : 3 时, 制得滴丸的评分亦较高, 最终的成型工艺为药物与基质比例选择了 1 : 3, 滴速为 20 滴/min, 药液温度为 80 °C, 管口温度为 50 °C, 滴距为 6 cm, 制冷温度为 10 °C, 二甲基硅油为冷凝剂。以此工艺制备滴丸 3 批, 并对制得滴丸进行质量评价, 滴丸的外观质量好, 丸质量差异系数和溶散时限均较小, 符合《中国药典》2010 年版滴丸剂项下规定, 质量无显著性差异, 此制备工艺简单合理, 稳定可行。

葛根素是 PRF 中的主要有效成分, 其与 PRF 的临床疗效密切相关, 检测 PRF 滴丸中葛根素的量对于其质量控制有重要意义。本实验采用 HPLC 测定了滴丸中葛根素的量, 经验证该方法简便、准确、可靠。在滴丸的体外溶出考察中亦选择了葛根素作为检测指标, 能客观真实地反应制剂的溶出性能, 为其临床应用提供科学数据。体外溶出实验表明, 滴丸剂可实现难溶性成分的快速溶出、释放。

参考文献

- [1] 李 喆, 周莹君, 李素霞, 等. 中药葛根的研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10(19): 164-165.
- [2] 潘洪平. 葛根总黄酮和葛根素的药理作用和临床应用进展 [J]. 广西药学, 2003, 25(10): 1941-1942.
- [3] 张嘉家, 易荆丽, 周毅生, 等. 葛根总黄酮分散片的处方工艺研究及溶出度测定 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(6): 1-5.
- [4] 诸葛周, 戴德雄, 朱 莹. 肿节风滴丸的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1759-1760.
- [5] 李扬秋, 崔升淼, 邢占磊. 穿心莲内酯滴丸的制备工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2381-2383.
- [6] 王治平, 孟祥平, 樊 化, 等. 鼻渊滴丸的制备研究 [J]. 中成药, 2006, 28(1): 126-128.
- [7] 宋凤兰, 李碧云, 龚政奇, 等. 葛根苓连滴丸的成型工艺研究 [J]. 海峡药学, 2012, 24(10): 20-23.
- [8] 俞 金, 崔佰吉, 张秀荣. 五味子滴丸成型工艺的研究 [J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(4): 326-329.
- [9] 周郁斌, 袁中文, 李海刚, 等. 用 Origin 软件计算药物溶出度 Weibull 分布参数 [J]. 医药导报, 2011, 30(6): 721-723.
- [10] 华 洁, 马素珍, 阎立萍. 葫芦素滴丸与片剂的溶出对比研究 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1131-1132.