

双黄妇乐栓的制备及含量测定

沈炜¹, 夏晨柯², 姜丹蕾², 陈学奇^{3*} (1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310000; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 3.浙江中医药大学附属第三医院, 杭州 310003)

摘要: 目的 优化妇乐栓的制备工艺, 并建立其含量测定方法。方法 采用正交设计, 以外观性状、重量差异、融变时限为指标, 考察不同聚乙二醇比例、加入温度、搅拌速度、搅拌时间和注模温度等因素对栓剂制备工艺的影响; 采用 HPLC 测定双黄妇乐栓中盐酸小檗碱的含量。结果 PEG-400 : PGE-6000 : S-40=6 : 3 : 1, 加入温度 50 °C, 搅拌时间 40 min, 搅拌速度 150 r·min⁻¹, 注模温度 60 °C 为双黄妇乐栓的最佳制备工艺, 在该工艺下制备的 3 批双黄妇乐栓中盐酸小檗碱含量分别为 2.10, 2.14, 2.15 mg。结论 优选后的处方比例合理, 制备工艺稳定易行, 含量测定方法可靠。

关键词: 栓剂; 制备; 工艺优化

中图分类号: R944.23

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)12-1529-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.12.010

Preparation and Content Determination of Shuanghuang Fule Suppository

SHEN Wei¹, XIA Chenke², JIANG Danlei², CHEN Xueqi^{3*} (1. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, China; 2. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China; 3. The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the preparation process of Fule suppository and establish its assay method. **METHODS** Orthogonal design, the appearance, weight difference, disintegration, dissolution, content as index, the effects of different concentration of alcohol, polyethylene glycol ratio, temperature, stirring speed, influence of suppository preparation the process time and casting temperature and stirring. The content of berberine hydrochloride in Shuanghuang Fule suppository was determined by HPLC. **RESULTS** The best preparation condition was PEG-400 : PGE-6000 : S-40=6 : 3 : 1, temperature of 50 °C, stirring time of 40 min, stirring speed of 150 r·min⁻¹, injection temperature of 60 °C. The berberine hydrochloride content of Shuanghuang Fule suppository were 2.10, 2.14, 2.15 mg. **CONCLUSION** The optimal proportion of the prescription is reasonable, the preparation process is stable and easy to operate, and the content determination method is reliable.

KEY WORDS: suppository; preparation; process optimization

双黄妇乐栓是对外用洗剂“妇洗液”的剂型改革。“妇洗液”是纯中药制备的外用洗剂, 已上市销售 5 年, 经临床验证对女性的外阴阴道炎症疾病有良好的疗效, 但患者反应, 在使用过程中存在携带与使用不便等问题。因此, 本实验对该洗液进行剂型改革, 将洗剂改成栓剂。通过腔道给药, 使药物直接作用于患处, 延长药物与患处的接触时间, 以期待进一步提高“妇洗液”的疗效。

本实验通过正交设计的方法, 对双黄妇乐栓的处方比例、制备工艺进行优化, 并通过 HPLC 测定栓剂中盐酸小檗碱的含量。优化后的栓剂制备工艺稳定、操作简单, 所建立的含量测定方法专属性强, 适用于检测双黄妇乐栓中主要成分的

检测, 对双黄妇乐栓的工业化生产具有较好的实际应用价值。

1 仪器与试剂

DZF-6050 型真空干燥箱(上海博讯实业有限公司); LB-2D 型崩解时限测定仪(上海黄海药检仪器有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海凌科实业发展有限公司); JA2003N 天平(上海良平有限公司); 安捷伦 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

黄连、黄柏等中药(浙江中医药大学饮片厂); PEG-6000、PEG-400、冰乙酸、无水乙醇(成都市科龙化工试剂厂); S-40(湖南尔康制药股份有限公司); 盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 1110713-201212, 纯度: 98%)。

基金项目: 浙江省科技计划项目(2014C33123); 浙江省中医药科学计划项目(2015ZA114)

作者简介: 沈炜, 男, 硕士, 主管中药师 Tel: (0571)86611022 E-mail: 33069647@qq.com *通信作者: 陈学奇, 男, 主任中医师 Tel: (0571)86611022 E-mail: 3378861623@qq.com

2 双黄妇乐栓的制备工艺优化

2.1 双黄妇乐栓基质处方的优化

由于 PEG-400、PEG-6000、S-40 的用量对栓剂的成型工艺具有极大影响, 因此首先对 3 种辅料的配比进行优化, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行设计, 各个因素水平见表 1。

表 1 基质处方因素水平表

Tab. 1 The factors and levels of matrix formulation

水平	因素		
	A	B	C
	PEG-400 的量/g	PEG-6000 的量/g	S-40 的量/g
1	2	0.5	0.5
2	3	1.5	1.5
3	4	2.5	2.5

2.1.1 正交试验 按 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验设计, 以中国药典 2015 年版四部融变时限和栓剂项下的成型 Q1(成型硬度良好为 2 分, 成型硬度不合格 1 分, 不成型 0 分)、栓剂重量差异 Q2(小于 $\pm 5\%$ 为 2 分, $\pm 5\% \sim 10\%$ 为 1 分, $>10\%$ 为 0 分)和融变时限 Q3(30 min 内融化为 2 分, 60 min 内融化为 1 分, 不融化为 0 分)为考察指标, 通过积分对双黄妇乐栓的处方进行筛选。由结果可知, 在试验范围内, S-40 的用量对实验结果影响较大, 为主要影响因素。结果见表 2。

表 2 双黄妇乐栓处方的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab. 2 $L_9(3^4)$ orthogonal experiment result of formulation screening for Shuanghuang Fule suppository

实验号	因素			Q1	Q2	Q3	积分
	A	B	C				
1	1	1	1	2	2	2	6
2	1	2	2	2	1	0	3
3	1	3	3	0	0	0	0
4	2	1	2	2	2	1	5
5	2	2	3	2	1	1	4
6	2	3	1	2	2	2	6
7	3	1	3	0	0	0	0
8	3	2	1	2	2	2	6
9	3	3	2	1	0	1	2
K_1	3.667	3.667	5.667				
K_2	5.667	5.333	4.667				
K_3	3.000	3.333	2.000				
R	2.667	2.000	3.667				

2.1.2 方差分析 以空白项为误差项, 对数据进行方差分析。结果表明, 在试验范围内, 影响因素 S-40 的用量对栓剂的成型差异有统计学意义, 结果见表 3。其优选的最佳基质处方为 $A_2B_2C_1$,

即 3 g PEG-400, 1.5 g PEG-6000, 0.5 g S-40。

表 3 方差分析表

Tab. 3 The results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F	显著性
A	9.556	2	6.141	
B	4.222	2	2.713	
C	32.889	2	21.137	$P < 0.05$
误差	1.560	2		

2.2 双黄妇乐栓的制备工艺优化

由于熔融温度、搅拌时间、搅拌速度、注模温度对栓剂的成形具有重大影响。因此对其进行不同水平的考察。按照 $L_9(3^4)$ 正交表进行设计, 各个因素水平见表 4。

表 4 正交试验因素水平表

Tab. 4 The factors and levels of preparation technology

水平	因素			
	A	B	C	D
	熔融温度/ $^{\circ}\text{C}$	搅拌时间/min	搅拌速度/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	注模温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	40	20	100	40
2	50	30	150	60
3	60	40	200	80

2.2.1 正交试验 按照 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验设计, 以中国药典 2015 年版四部融变时限和栓剂项下的成型 Q1、栓剂重量差异 Q2 和融变时限 Q3 为考察指标, 通过积分对双黄妇乐栓的制备工艺进行筛选。由结果可知, 在试验范围内, 搅拌时间对实验结果影响较大, 为主要影响因素。结果见表 5。

表 5 双黄妇乐栓制备工艺的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab. 5 $L_9(3^4)$ orthogonal experiment result of preparation technology for Shuanghuang Fule suppository

实验组	因素				Q1	Q2	Q3	积分
	A	B	C	D				
1	1	1	1	1	0	0	0	0
2	1	2	2	2	2	1	2	5
3	1	3	3	3	2	2	2	6
4	2	1	2	3	2	2	1	5
5	2	2	3	1	2	2	3	7
6	2	3	1	2	2	2	3	7
7	3	1	3	2	2	2	1	5
8	3	2	1	3	2	2	1	5
9	3	3	2	1	2	2	4	8
K_1	3.667	3.333	4.000	5.000				
K_2	6.333	6.000	6.000	5.667				
K_3	6.000	7.000	6.000	5.333				
R	2.666	3.667	2.000	0.667				

2.2.2 方差分析 以注模温度为误差项, 进行方差分析, 结果见表 6。结果表明, 在实验范围内, 搅拌时间对栓剂的成型差异有统计学意义, 其优选的最佳制备工艺为 $A_2B_3C_2D_2$, 即熔融温度 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、搅拌时间 40 min 、搅拌速度 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、注模温度 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 为最佳工艺。

表 6 方差分析表

Tab. 6 The results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F	显著性
加入温度/ $^\circ\text{C}$	12.667	2	18.991	
搅拌时间/min	20.667	2	30.985	$P<0.05$
搅拌速度/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	8.000	2	11.994	
注模温度/ $^\circ\text{C}$	0.667	2	1.000	
误差	0.667	2		

2.3 栓剂制备工艺的验证

根据正交试验确定的最佳制备工艺, 即称取 2 g 浸膏粉、 12 g PEG-400、 6 g PEG-6000 和 2 g S-40, 在 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 下熔融, 并保温至 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 以 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度搅拌 40 min 后注模, 制备成 10 颗栓剂, 验证制备的栓剂成品, 结果显示, 外观合格, 重量差异为 $(2.7\pm 0.2)\text{g}$, 崩解时限为 $(17\pm 2)\text{min}$, pH 值为 4.7 ± 0.2 , 结果显示, 合格率良好, 工艺稳定易行。

3 双黄妇乐栓中盐酸小檗碱含量的测定

3.1 对照品溶液的制备

取经 $102\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥 2 h 的盐酸小檗碱对照品 18.6 mg , 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇

溶解并稀释至刻度, 制备成 $0.744\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 备用。

3.2 供试品溶液的制备

取本品 10 粒, 切碎, 取约 0.4 g , 精密称取适量, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 30 mL 。密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W , 频率 100 kHz) 1 h , 放置至室温, 擦干再用甲醇补足失重, 精密量取 1 mL 续滤液置 2 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀过滤即得。

3.3 阴性空白溶液的制备

取除黄连、黄柏外的其他各味药材, 按制剂实验室中的栓剂制备工艺制成阴性空白栓剂, 按“3.2”项下供试品溶液制备方法制备阴性空白溶液。

3.4 色谱条件^[1]

色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB C_{18} 色谱柱 ($4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 以乙腈- $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液($45:55$, 每 100 mL 加入 0.4 g 十二烷基硫酸钠)再用磷酸调 pH 为 4.0 的溶液作为流动相; 检测波长为 345 nm ; 柱温为 $40\text{ }^\circ\text{C}$; 进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$; 流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 理论塔板数按盐酸小檗碱峰计应 $\geq 3\text{ }000$; 盐酸小檗碱峰与相邻杂质峰的分度应 >1.0 。

3.5 系统适应性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液与阴性空白溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$, 注入色谱仪, 按“3.4”项下色谱条件测定。结果表明, 阴性空白溶液在与盐酸小檗碱对照品相同保留时间处未显示明显的色谱吸收峰, 故认为无干扰。色谱图见图 1。

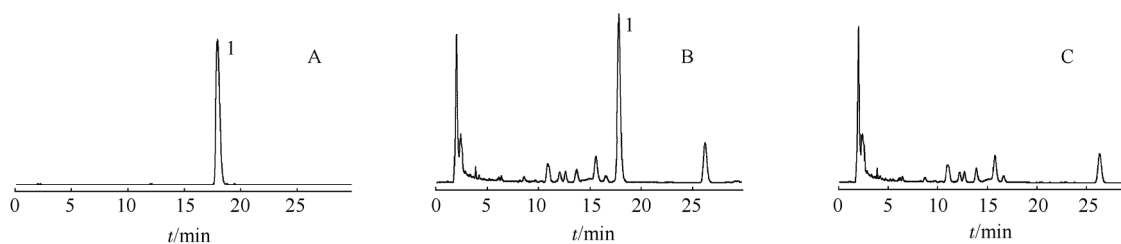


图 1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; C-阴性空白溶液; 1-盐酸小檗碱。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-standard solution; B-sample solution; C-negative blank solution; 1-berberine hydrochloride.

3.6 线性关系的考察

将盐酸小檗碱对照品溶液($0.744\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)精密吸取适量至量瓶, 加流动相配制成梯度浓度 8.55 , 17.1 , 34.25 , 68.4 , $85.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 分别吸

取各浓度溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 按“3.4”项下色谱条件测定。以盐酸小檗碱浓度为横坐标, 盐酸小檗碱峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得到线性回归方程为 $Y=35.922X-7.769(r=0.999\text{ }9)$ 。

结果表明盐酸小檗碱进样量在 0.085 5~0.854 0 μg 内时相应峰面积和盐酸小檗碱浓度呈良好的线性关系。

3.7 精密度试验

取同一供试品溶液, 依法连续进样 6 次, 按“3.4”项下色谱条件测定峰面积值, RSD 为 1.31%, 结果表明仪器精密度良好。

3.8 重复性试验

取同一批双黄妇乐栓(批号: 151217), 按“3.2”项下供试品溶液制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 依次进样到液相色谱仪, 按“3.4”项下色谱条件记录峰面积值, 并计算含量。结果表明, 每颗双黄妇乐栓中平均含盐酸小檗碱 2.14 mg (RSD=0.6%), 表明本法重复性较好。

3.9 稳定性试验

将 $74.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 盐酸小檗碱溶液在放置 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 后注入色谱柱, 每次注入量为 10 μL , 按“3.4”项下色谱条件测定, 结果表明, 12 h 盐酸小檗碱峰面积 RSD=0.83%, 表明在 12 h 内盐酸小檗碱稳定性良好

3.10 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品约 0.2 g, 精密称定, 分别加入不同体积的盐酸小檗碱对照品溶液 ($0.744 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。按样品含量测定方法操作, 测定并计算回收率, 该方法的平均加样回收率为 97.85%, RSD=1.96%($n=6$)。结果说明此方法可靠。

3.11 样品测定试验

取 3 批样品(批号分别为 151219、151220、151221)适量, 按“3.2”项下供试品溶液制备方法制备, 按“3.4”项下色谱条件检测, 按外标法以峰面积计算盐酸小檗碱含量, 批号分别为 151219、151220、151221 的盐酸小檗碱含量分别为每粒 2.10, 2.14, 2.15 mg。

4 讨论

由于女性的生理结构和不洁生活方式等原因, 使得各个年龄段的女性都容易发生外阴阴道

炎症疾病, 中医药在治疗这类疾病方面, 具有明显的优势。双黄妇乐栓的处方是浙江陈木扇女科第 25 代传人陈学奇医师家传的临床经验方, 由黄柏、苦参、蛇床子等中药组成, 经前期临床研究发现, 通过坐浴的方式治疗阴道炎症疾病, 对外阴、阴道粘膜有消炎止痛、杀虫止痒的作用; 药理学研究也进一步证明该组方能显著减轻化学刺激导致的阴道炎症反应, 并对受损的阴道组织有促进修复的作用^[1]。据患者反馈的信息, 坐浴治疗相对比较麻烦, 因此对该处方进行制剂工艺改革, 采用栓剂来提高局部患处的药物浓度, 提高患者的依从性。

在中药阴道栓剂的实际运用中, 在选择其基质时, 首先考虑的是其对药物的释放是否持久且缓慢, 达到这点有助于药效的局部发挥, 提高药物的治疗效果, 另外还要考虑病患对基质的适应性和基质对人体的刺激是否温和。实验初在考虑基质的选择时, 考虑到水溶性基质溶解速度在体内受限, 其药物的缓慢释放, 有利于药物疗效的局部发挥, 且人体的刺激较小。而添加的 S-40 能增加药物的分解和生物利用度^[2-5]。达到实验的要求, 故而选择以 PEG 为主、S-40 为辅作为基质。

REFERENCES

- [1] CHEN X Q, GE B F, SHEN W, et al. The pharmacodynamics research on fuxiye, a Chinese herbal lotion for external wash [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2013, 33(5): 691-694.
- [2] YAO L, GAO F. Optimization of refining process for the suppository of bitter cypress [J]. Chin J Exper Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(11): 38-41.
- [3] MEN Q J, PAN W J, WANG W M. Genistein water soluble suppository formulation and preparation technique optimization [J]. Chin J Exper Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(10): 63-65.
- [4] KAUSS T. Pharmaceutical development and optimization of azithromycin suppository for paediatric use [J]. Int J Pharm, 2013, 41(4): 218-226.
- [5] HARGOLI S, FARID J, AZARMI S H, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of naproxen suppositories [J]. Indian J Pharm Sci, 2013, 75(2): 143-148.

收稿日期: 2016-05-13