

喉症丸中 2 种成分溶出度测定及不同制丸方法比较

李金鑫， 张京华， 陈 达， 李利芬， 孟兆青*
(山东宏济堂制药股份集团有限公司，山东省中药质量控制技术重点实验室，山东 济南 250100)

摘要：目的 测定喉症丸中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基溶出度，比较泛制法、塑制法的制丸效果。方法 小杯法测定 2 种成分溶出度，采用非模型依赖法中差异因子 (f_1)、相似因子 (f_2) 对溶出度曲线相似性进行评价。结果 2 种制丸方法所得喉症丸中各成分溶出度曲线的相似度良好，产品质量具有一致性。结论 泛制法改为塑制法后，对喉症丸质量无明显影响。
关键词：喉症丸；华蟾酥毒基；脂蟾毒配基；溶出度；小杯法；泛制法；塑制法
中图分类号：R94 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2020)05-1124-05
doi: 10. 3969/j.issn.1001-1528. 2020. 05. 004

Determination of dissolution rates of two constituents in Houzheng Pills and comparison of different pelleting methods

LI Jin-xin, ZHANG Jing-hua, CHEN Da, LI Li-fen, MENG Zhao-qing*
(Shandong Provincial Key Laboratory for Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Jinan 250100, China)

KEY WORDS: Houzheng Pills; cinobufagin; resibufogenin; dissolution rate; small glass method; pan-made method; plastic-made method

喉症丸为水丸，由板蓝根、人工牛黄、冰片、猪胆汁、玄明粉、青黛、雄黄、硼砂（煅）、蟾酥（酒制）、百草霜 10 味药材组成^[1]，用于治疗咽炎、喉炎、扁桃腺炎、一般疮疖。目前该方执行卫生部药品标准中药成方制剂第四册质量标准（WS3-B-0848-91），但缺少含有量测定和溶出度检查项，无法以标志成分含有量变化为指标来评判泛制法改为塑制法时，是否会对产品质量产生影响。

蟾酥作为喉症丸毒性药材，其所含成分的量与制剂有效性和安全性密切相关^[2]。为了对喉症丸生产工艺泛制法改为塑制法进行可行性评价，本实验测定蟾酥中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基溶出度，比较 2 种工艺溶出曲线相似性，对所得样品进行一致性评价，以期为企业优化相关生产提供质量控制的方法和依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国

Agileht 公司）；XS105 电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司]；ZRS-8G 智能溶出试验仪（天津天大天发科技有限公司）；Agilent ZORBAX-RP（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Kromasil 100-5-C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱。

1.2 试剂与药物 华蟾酥毒基（批号 110803-201406，纯度 99.6%）、脂蟾毒配基（批号 110718-201108，纯度 98.9%）对照品均购自中国食品药品检定研究院。喉症丸由山东宏济堂制药集团股份有限公司生产，共 6 批，其中批号 1709001、1709002、1709003 为泛制丸，批号 ZS1803003、ZS1803004、ZS1803005 为塑制丸。甲醇、乙腈均为色谱纯，购自德国默克公司；磷酸为色谱纯，购自天津光复化学试剂有限公司；甲醇为分析纯，购自天津富宇化工有限公司；盐酸、醋酸钠、冰醋酸、氯化钠、磷酸二氢钾、氢氧化钠、十二烷基硫酸钠（SDS）均为分析纯，均购自国药集团化学试剂有限公司；水

收稿日期：2019-05-22
基金项目：山东省技术创新项目（201821901086）
作者简介：李金鑫（1991—），女，硕士，从事中药研发工作。Tel：15715418618，E-mail：lijx01@linuo.com
* 通信作者：孟兆青（1979—），男，博士，从事中药研发工作。Tel：17753126145，E-mail：mengzq@linuo.com

为超纯水。

2 方法与结果

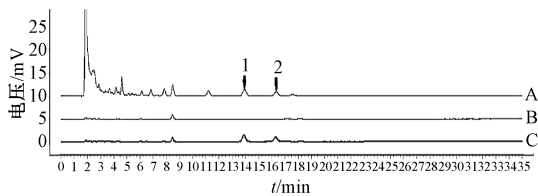
2.1 溶出度测定

2.1.1 色谱条件 填充剂十八烷基硅烷键合硅胶；流动相乙腈-0.2% 磷酸（46：54）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 23℃；检测波长 296 nm；进样量 20 μL（进样量 10 μL 时响应值较小，故选择 20 μL）。理论塔板数按华蟾酥毒基峰计算，应不低于 5 000。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取对照品华蟾酥毒基 11.07 mg、脂蟾毒配基 10.11 mg，甲醇溶解并定容至 25 mL，摇匀，即得（母液中含华蟾酥毒基 0.441 0 mg/mL、脂蟾毒配基 0.400 0 mg/mL）。

2.1.3 供试品溶液制备 将适量本品研细，取约 0.090 0 g（相当于 20 粒质量）于锥形瓶中，精密称定，加入 100 mL 水，超声提取 60 min，放冷，补重，取续滤液，即得。

2.1.4 系统适应性考察 取空白溶剂、对照品（取“2.1.2”项下母液适量，加水稀释成含华蟾酥毒基 1.107 0 μg/mL、脂蟾毒配基 0.809 9 μg/mL）、供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，华蟾酥毒基、脂蟾毒配基分离度均大于 1.5，空白溶剂无干扰，表明该方法系统适应性良好。



注：A~C 分别为供试品、空白、对照品。

1. 华蟾酥毒基 2. 脂蟾毒配基

1. cinobufagin 2. resibufogenin

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of various constituents

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下华蟾酥毒基对照品溶液 25、125、250、500、1 000 μL 于 100 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，滤过；分别精密量取“2.1.2”项下脂蟾毒配基对照品溶液 12.5、62.5、125、250、500、1 000 μL 于 100 mL 量瓶中，0.2% SDS 溶液稀释至刻度，摇匀，滤过，在“2.1.1”项色谱条件下各进样 20 μL 测定。以溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程分别为华蟾酥毒基 $Y=13.557X+0.430\ 5$ （ $r=0.999\ 7$ ）、脂

蟾毒配基 $Y=14.958X+0.059\ 5$ （ $r=0.999\ 8$ ），分别在 0.11~4.43、0.05~4.00 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 取同一供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰面积 RSD 分别为 0.52%、0.35%，表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，于 0、2、4、6、8、12、18、24 h，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰面积 RSD 分别为 0.74%、0.69%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰面积 RSD 分别为 0.35%、0.69%，表明该方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取同一批含有量已知的丸剂粉末（批号 1709003）约 0.045 0 g（相当于 10 粒质量），精密称定，加入一定量对照品溶液，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，华蟾酥毒基、脂蟾毒配基平均加样回收率分别为 96.31%、95.16%，RSD 分别为 1.64%、1.45%。

2.2 溶出方法筛选 每粒喉症丸含华蟾酥毒基、脂蟾毒配基总量很低，仅为 14.29 μg。在一般制剂溶出度的测定方法中，溶出介质质量为 100~900 mL，但最终测定溶液质量浓度仅约为 0.016 0 μg/mL，达不到定量限，故选择每天最大服用量（20 丸），此时溶出介质质量为 100 mL，按照 2015 年版《中国药典》四部溶出度测定法第三法（小杯法）来测定溶出度。

2.3 溶出介质制备

2.3.1 水 纯化水。

2.3.2 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 取 0.2 mol/L 磷酸二氢钾 250 mL，加 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 118 mL，加水稀释至 1 000 mL，摇匀，即得^[3]。

2.3.3 0.2%、0.5%、1.0% SDS 溶液 分别称取 SDS 2、5、10 g，加水溶解并稀释至 1 000 mL，摇匀，即得。

2.4 样品溶液制备 以“2.3”项下溶出介质为溶剂，体积 100 mL，转速 75 r/min，待其温度恒定在（37±0.5）℃后取 20 粒丸剂，于 5、10、15、30、45、60、90、120、150、180 min，各取 2 mL 溶液，

0.45 μm微孔滤膜过滤，即得。取样至滤过应在 30 s 内完成^[4]，并补加同体积、同温度溶出介质。

2.5 溶出介质筛选 另取丸剂适量，研细，取约 0.090 0 g（相当于 20 粒的质量），精密称定，置于锥形瓶中，加入“2.3”项下溶出介质各 100 mL，超声处理 60 min，放冷，溶出介质补足减失的质量，取续滤液；精密移取“2.1.2”项下母液，用对应溶出介质稀释成含华蟾酥毒基 1.107 0 μg/mL、脂蟾毒配基 0.809 9 μg/mL，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 2~3。由此可知，溶出介质为 0.2% SDS 溶液时溶出效果较好，120 min 内容出度均达到 80% 以上。

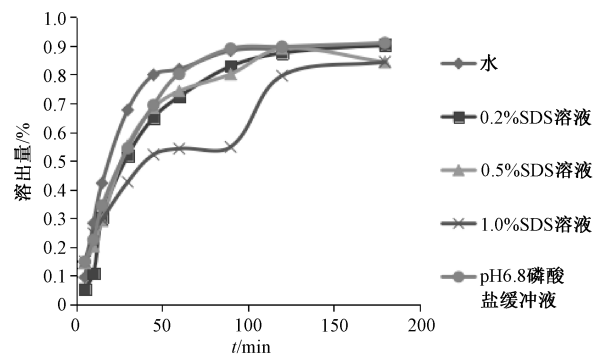


图 2 华蟾酥毒基在 5 种溶出介质中的的溶出曲线
Fig. 2 Dissolution curves for cinobufagin in five dissolution media

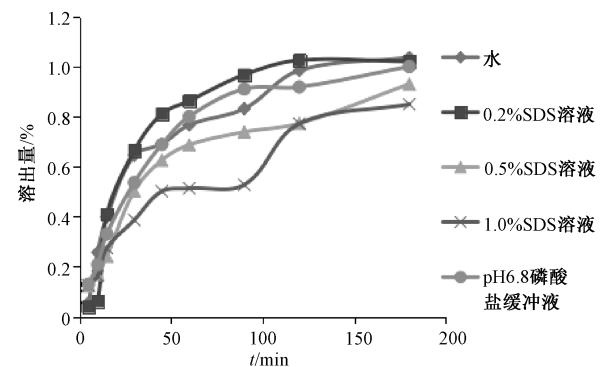


图 3 脂蟾毒配基在 5 种介质中的溶出曲线
Fig. 3 Dissolution curves for resibufogenin in five dissolution media

2.6 溶出度测定 取泛制法（1709001、1709002、1709003）、塑制法（ZS1803003、ZS1803004、ZS1803005）所得样品各 3 批，以 0.2% SDS 溶液为溶出介质，在“2.1.1”项色谱条件下，按“2.5”项下方法测定，结果见表 1，可知均符合根据溶出曲线类型和溶出情况所拟订的限度（120 min 内华蟾酥毒基、脂蟾毒配基溶出度都应不少于 75%）。

表 1 各成分溶出度测定结果（120 min）
Tab. 1 Results of dissolution rate determination of various constituents（120 min）

批号	华蟾酥毒基溶出度/%	脂蟾毒配基溶出度/%
1709001	90.91	91.38
1709002	92.03	90.26
1709003	95.13	91.26
ZS1803003	95.26	91.49
ZS1803004	93.11	93.07
ZS1803005	93.10	90.92

根据相关规定^[4]，溶出曲线相似性的比较采用非模型依赖法中的差异因子（ f_1 ）、相似因子（ f_2 ）法，其中前者计算 2 条溶出曲线在每 1 个时间点的差异，后者衡量 2 条溶出曲线的相似度^[5]。一般情况下，当 2 条溶出曲线 f_1 小于 15， f_2 不小于 50 时，可认为两者相似^[6]。

本实验在 5、10、15、30、45、60、90、120、150、180 min 取样后进行测定，绘制溶出曲线，分析相似性，结果见图 4~5、表 2~3，由此可知，塑制丸所得 3 批产品 f_1 均小于 15， f_2 均大于 50，表明该工艺溶出曲线与泛制丸相似。

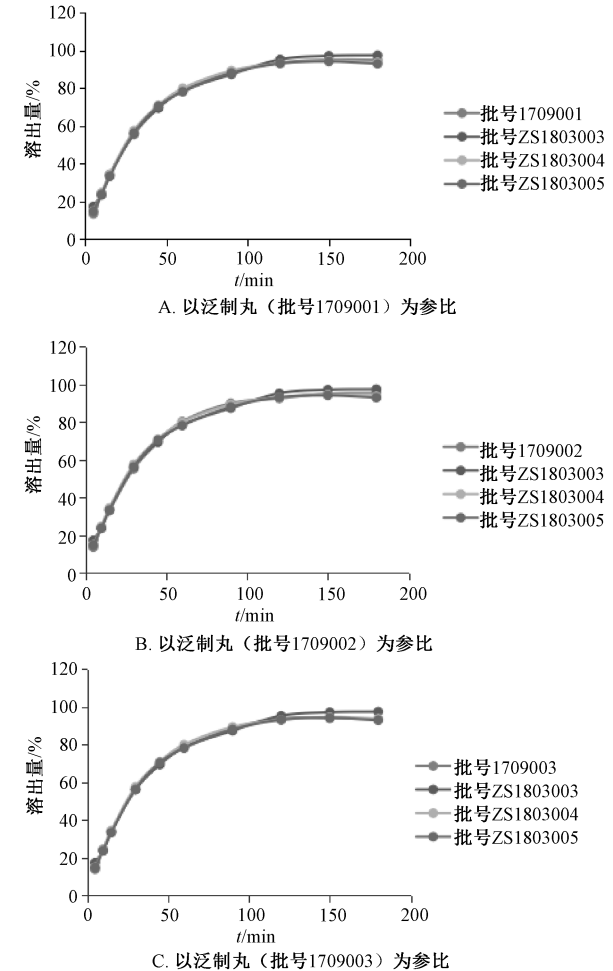


图 4 塑制丸中华蟾酥毒基溶出曲线
Fig. 4 Dissolution curves for cinobufagin in plastic-made pills

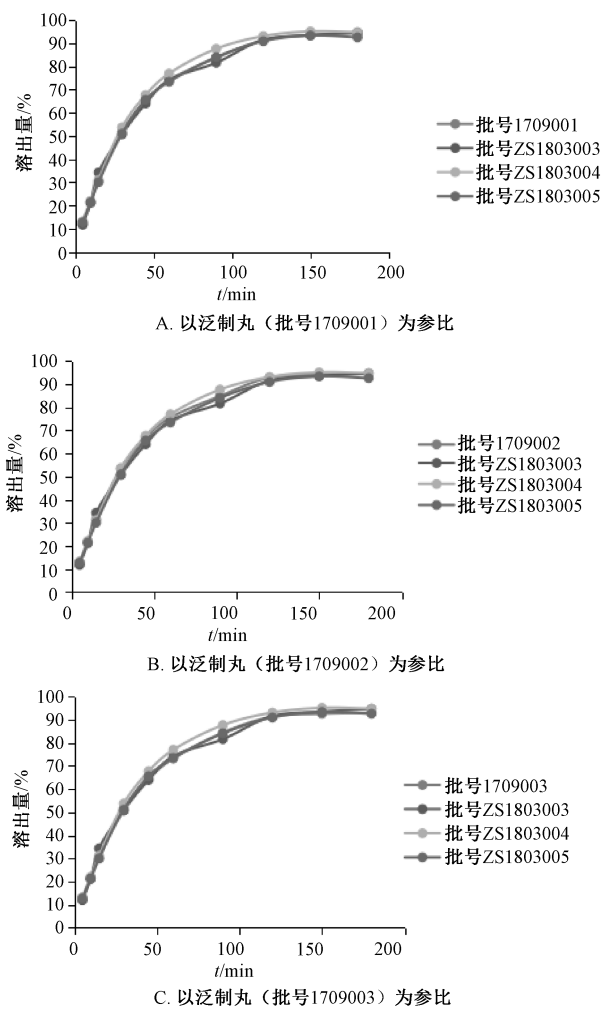


图 5 塑制丸中脂蟾毒配基溶出曲线

Fig. 5 Dissolution curves for resibufogenin in plastic-made pills

3 讨论

华蟾酥毒基、脂蟾毒配基是喉症丸中蟾酥主要有效成分，与该方临床疗效确切相关。因此，本实验选择上述 2 种成分作为指标进行溶出度研究，能客观真实地反映喉症丸质量和溶出情况，并为相关应用提供参考。

本实验在筛选溶出介质时，分别考察了喉症丸在 0.1 mol/L 盐酸、pH 4.5 醋酸盐缓冲液中的溶出情况，发现华蟾酥毒基、脂蟾毒配基在这 2 种溶剂体系下均不稳定，含量会随时间延长而减小，无法有效测定，故未绘制溶出曲线^[7-8]。溶出曲线结果显示，在 120、150 min 时连续 2 个取样点的溶出量达到 90% 以上，而且相差小于 5%，故在 180 min 停止试验^[9]。又因为一般普通试剂第一次出现溶出量 85% 以上，2 个时间点溶出量差在 5% 以内（即平台期）时，取前一时间点作为取样时间点，并将该点溶出量减去 15% 作为溶出限度^[10]，故本实验规定取样点为 120 min 时华蟾酥毒基、脂蟾毒配基溶出量都不少于 75%，作为溶出限度。

溶出度实验是评价口服固体制剂内在质量的一种重要手段^[11]。不仅可为建立体外相关性提供基础数据，而且能成为通过体外试验评价口服固体制剂质量稳定性和均一性的简便、有效、可行的方法，对评价制剂批次质量、优化处方及制备工艺、保证处方工艺等变更前后产品质量的一致性有重要作用。本实验结果显示，泛制丸、塑制丸所得产品的溶出曲线相似，表明喉症丸溶出度并未受工艺变更的影响，进行塑制工艺改进是可行的。

表 2 塑制丸中华蟾酥毒基 f_1 、 f_2 测定结果

批号	以泛制丸(批号 1709001)为参比		以泛制丸(批号 1709002)为参比		以泛制丸(批号 1709003)为参比	
	f_1	f_2	f_1	f_2	f_1	f_2
ZS1803003	2.06	64.90	2.67	61.58	2.21	61.43
ZS1803004	1.59	73.69	1.75	71.43	1.40	77.07
ZS1803005	1.42	76.22	1.86	69.45	0.84	87.84

表 3 塑制丸中脂蟾毒配基 f_1 、 f_2 测定结果

批号	以泛制丸(批号 1709001)为参比		以泛制丸(批号 1709002)为参比		以泛制丸(批号 1709003)为参比	
	f_1	f_2	f_1	f_2	f_1	f_2
ZS1803003	1.56	68.59	2.57	62.46	2.06	64.10
ZS1803004	2.94	61.07	1.46	73.01	3.50	58.48
ZS1803005	0.99	82.89	2.23	67.96	0.81	88.80

参考文献:

[1] 张 力,梁记芯,朱金福. 高效液相色谱法测定喉症丸中

蟾酥的含量[J]. 今日药学, 2013, 23(11): 743-745.

[2] 高学敏. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 512-513.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部

[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[4] Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry bioavailability and bioequivalences studies for orally administered drug products—general considerations[S]. 2003.

[5] 姜 红，金少鸿. 固体药物制剂的溶出度比较[J]. 中国药事，2000，14(5)：326-328.

[6] 史宪海，郭景文，杜 娟. 麝香保心丸溶出度和含量均匀性研究[J]. 世界中西医结合杂志，2015，10(10)：1377-1380.

[7] 宋 心. 蟾酥中有效成分脂蟾毒配基的成药性研究[D].

济南：山东中医药大学，2012.

[8] 李荣伟，孙 星，林桂涛. 华蟾酥毒基胃肠道稳定性研究[J]. 山东中医药大学学报，2015，39(3)：262-264.

[9] 谢沐风. 溶出曲线相似性的评价方法[J]. 中国医药工业杂志，2009，40(4)：308-311.

[10] 谢沐风. 如何科学、客观地制订溶出度试验质量标准[J]. 中国医药工业杂志，2012，43(3)：243-252.

[11] 胡昌勤，潘瑞雪. 溶出度试验评价/预测固体口服制剂生物等效性的研究进展[J]. 中国新药杂志，2014，23(1)：44-51.

征订《上海市中药饮片炮制规范》（2018 版）启事

受上海市药品监督管理局的委托，上海中药行业协会承担组织征订《上海市中药饮片炮制规范》（2018 版）（简称新炮规）的工作，便于行业尽快了解新炮规内容，并予 2019 年 10 月在上海贯彻实施。新炮规每册售价 368 元，欢迎订阅。可通过寄、汇给协会方式征订。

汇款账户名称：上海中药行业协会
账号：31001513500055640352
开户行：建行上海浙江路支行
协会联系方式：
地址：上海市福州路 107 号 226 室 邮编：200002
联系人：朱嗣方、吴怀嘉
联系电话：021-63516066 021-63214899
邮箱地址：scda228@ vip.163.com

《上海市中药饮片炮制规范》（2018 版）订单

单位名称	数量	金额（元）	联系人	联系方式	税号