射银咽炎颗粒的制备工艺和含量测定

梁 健[1]，吴 轶[1]，刘丹政[2]，许 龙[3]，沈 熊[1]*
（1. 复旦大学附属中山医院药剂科，上海 200032；2. 复旦大学附属中山医院耳鼻喉科，上海 200032；
3. 合肥创新医药技术有限公司，安徽合肥 230088）

摘要：该研究采用流化床法制备射银咽炎颗粒，以流化床雾化压力、流化温度和喷液速率为考察指标，颗粒合格率（即粒径 180 ～ 2 000 μm 颗粒占总量的比例）和溶化时间为评价指标，采用 Box-Behnken 设计优化工艺参数，并采用高效液相色谱 - 二极管阵列检测（HPLC-DAD）法测定颗粒剂中绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、次野鸢尾黄素的含量。结果显示，优化条件为雾化压力 22 kPa，进风温度 66 ℃，喷液速率 1.55 mL/min，所得颗粒的合格率和溶化时间分别为 91.51%和 42.87 s。颗粒剂中绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、次野鸢尾黄素的含量分别为 3.22、0.72、0.63 和 0.16 mg/g。

关键词：射银咽炎颗粒；流化床；Box-Behnken 设计；绿原酸；哈巴苷；哈巴俄苷；次野鸢尾黄素
中图分类号：R944.2^{+}7　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)11-1601-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.11.009

Preparation Process and Content Determination of *Sheyin* Pharyngitis Granules

LIANG Jian[1], WU Yi[1], LIU Danzheng[2], XU Long[3], SHEN Xiong[1]*
(*1. Dept. of Pharmacy, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032; 2. Dept. of Otolaryngology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032; 3. Hefei Innovation Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hefei 230088*)

ABSTRACT: The study utilized a fluidized bed method to prepare *Sheyin* pharyngitis granules. The Box-Behnken design was used to optimize the process parameters, with the fluidized bed atomization pressure, fluidization temperature, and spray liquid rate as the investigation indicators, and the qualification rate (namely the proportion of the granules with the particle size of 180 – 2 000 μm to total granules) and dissolution time as the evaluation indicators. Additionally, the high-performance liquid chromatography method coupled with a diode array detector (HPLC-DAD) was established to determine contents of chlorogenic acid, harpagide, harpagoside and irisflorentin in the granules. The results indicated that the optimized process parameters were as follows: an atomization pressure of 22 kPa, an inlet air temperature of 66 ℃, and a spray liquid rate of 1.55 mL/min. The qualification rate and dissolution time of the obtained granules were 91.51% and 42.87 s, respectively. The contents of chlorogenic acid, harpagide, harpagoside and irisflorentin in the granules were 3.22, 0.72, 0.63 and 0.16 mg/g, respectively.

Key Words: *Sheyin* pharyngitis granules; fluidized bed; Box-Behnken design; chlorogenic acid; harpagide; harpagoside; irisflorentin

射银咽炎颗粒是在中山医院制剂“咽炎合剂”基础上制备的颗粒剂，由金银花、玄参、射干、板蓝根、陈皮、甘草等 6 味中药组成。其中，金银花为君药，用以清热解毒、宣散透邪以治本[1—2]，其有效成分绿原酸具有较广泛的抗菌、消炎作用，并能促进白细胞的吞噬功能[1]。玄参、射干为臣药，均为喉科常用中药。玄参的主要有效成分为环烯醚萜苷类，其中哈巴苷、哈巴俄苷可抑制人支气管上皮细胞释放的炎症因子，具有消除咽喉肿痛的作用[3—4]。射干含有的次野鸢尾黄素等异黄酮类成分

收稿日期：2023-03-24
基金项目：上海市临床重点专科建设项目（shslczdzk06504）
作者简介：梁 健（1985—），女，主管中药师，从事中药药剂学研究。
通信作者：沈 熊（1973—），男，博士，副主任药师，从事药物新剂型新技术的研究。
E-mail：shen.xiong@zs-hospital.sh.cn

具有抗炎、抗肿瘤等功效，起消痰利咽的作用[5]。以板蓝根、陈皮、甘草为佐使，调和诸药，增强全方清除邪热、舒畅气机的功效[6—8]。

咽炎合剂在中山医院临床使用已 20 余年，疗效确切[9]，但口服液体制剂存在包装、运输、贮存、给药不便等缺点。因此，本研究在原处方基础上采用流化床制粒技术制备射银咽炎颗粒，并采用 Box-Behnken 设计优化流化床制粒工艺参数。另外，采用高效液相色谱 - 二极管阵列检测（HPLC-DAD）法测定处方中君药金银花及臣药玄参和射干中的 4 种有效成分（绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、次野鸢尾黄素）含量，以期为该制剂的进一步研发、质量控制以及临床应用提供科学依据。

1　仪器与试药

STREA-1 型流化床（瑞士 Niro Aeromatic 公司）；DDB-320 型多功能电子蠕动泵（象山石浦海达电子仪器厂）；1200 型 HPLC 仪（美国安捷伦公司，配置二元泵、G1315B 型 DAD、G1329A 型自动进样器、ChemStation 色谱软件等）；5430R 型低温离心机（德国艾本德公司）；CP224S 型分析天平（德国 Sartorius 公司）；沃特浦 WP-2RO-WF-10S 型超纯水机（四川沃特尔水处理设备有限公司）。

金银花、玄参、射干、板蓝根、陈皮、甘草均购自上海市药材有限公司，经本科室中药房王飞副主任药师鉴定，均符合《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020）一部规定；绿原酸对照品（含量≥ 96.9％，批号 110753-202117）、次野鸢尾黄素对照品（含量≥ 99.9%，批号 111557-202010）、哈巴苷对照品（含量≥ 98.6％，批号 111742-202007）、哈巴俄苷对照品（含量≥ 97.6％，批号 111730-201906）均购自中国食品药品检定研究院；糊精（嘉兴市白浪淀粉制品有限公司，药用规格）；乙腈为色谱纯，色谱分析用水为屈臣氏饮用水。

2　方法与结果

2.1　射银咽炎颗粒的制备

2.1.1　浸膏的制备

参考本院医院制剂“咽炎合剂”处方和制备工艺[9]，取金银花 300 g，玄参、射干各 200 g，板蓝根、陈皮、甘草各 100 g，置同一容器中，加 8 倍量水浸泡 30 min，煎煮 2 h，过滤；滤饼中再加入 6 倍量水煎煮 1.5 h，过滤煎煮液；两次滤液合并后浓缩至相对密度约为 1.2±0.1（20 ℃），即得浸膏。

2.1.2　流化床制粒

称取糊精 900 g 置流化床底部，于 50 ℃流化状态下预热约 10 min，喷入“**2.1.1**”项下制得的浸膏（50 ℃）作为黏合剂，喷液速率 1.55 mL/min，喷雾压力 22 kPa，进风温度 66 ℃，出风温度 45 ～ 50 ℃。浸膏全部喷入后，将含药颗粒于 50 ～ 60 ℃条件下流化干燥 30 min，即得。

2.2　Box-Behnken 设计优化流化床制粒工艺参数

2.2.1　评价指标

根据预试验结果，以颗粒合格率（Y_1）和溶化时间（Y_2）为考察指标。参照 ChP 2020 方法，分别按如下方法计算。

合格率：以可以过一号筛（2 000 μm）且不能过五号筛（180 μm）的颗粒为合格颗粒，合格率即合格颗粒质量占颗粒总质量的百分比。

溶化时间：取合格颗粒 10 g，加热水 200 mL，搅拌至颗粒完全溶化或溶液呈现轻微浑浊，记录此过程经历的时间，即得颗粒溶化时间。

2.2.2　试验设计及结果

根据单因素试验结果确定各考察因素水平的中间值：雾化压力（X_1）20 kPa、进风温度（X_2）65 ℃、喷液速率（X_3）1.6 mL/min，再采用 Box-Behnken 设计 - 响应面法继续优化工艺。各因素的水平、具体试验方案和结果分别如表 1、2 所示。

表 1　Box-Behnken 设计的因素水平

Tab.1　Factors and Levels for Box-Behnken Design

水平	X_1/kPa	X_2/℃	X_3/(mL·min^{-1})
－1	10	55	1.2
0	20	65	1.6
1	30	75	2.0

2.2.3　模型拟合结果

采用 Design-Expert 7.0 软件对试验数据进行模型拟合，结果显示考察指标与因素之间的关联用二次多项式模型拟合的效果较好；颗粒剂合格率和溶化时间的拟合模型均具有统计学极显著性意

表 2 Box-Behnken 设计方案及结果

Tab.2 Scheme and Results of Box-Behnken Design

序号	X_1/kPa	X_2/℃	X_3/(mL·min^{-1})	Y_1/%（n=3）	Y_2/s（n=3）
1	30	75	1.6	79.62	59.38
2	10	65	2.0	56.04	72.16
3	20	65	1.6	89.26	43.30
4	10	65	1.2	69.72	63.98
5	20	55	1.2	58.94	64.93
6	30	65	2.0	64.87	71.29
7	30	65	1.2	74.63	61.02
8	20	75	1.2	60.39	67.82
9	10	75	1.6	46.03	69.26
10	20	65	1.6	90.02	42.41
11	20	65	1.6	90.27	41.97
12	10	55	1.6	55.34	67.65
13	20	75	2.0	64.91	64.81
14	30	55	1.6	49.67	69.12
15	20	55	2.0	52.45	74.84
16	20	65	1.6	85.24	43.27
17	20	65	1.6	89.57	44.51

义（P<0.01），模型的失拟项均不显著，表明所建立的模型可以较好地模拟并预测各试验条件（考察因素）下对应的试验结果（指标）。

在考察范围内，雾化压力、进风温度及其交叉项（X_1X_2）对颗粒合格率有显著影响（P<0.05）；3 个考察因素的二次项对颗粒合格率均有显著影响（P<0.05）。对于颗粒溶化时间，3 因素中除了雾化压力和喷液速率之间的交叉项（X_1X_3）以外，各主要作用（一次项）、交互作用及二次项均对其有显著影响（P<0.05）。模型对应的 3D 响应面和等高线图如图 1 所示。

为简化方程求解，拒绝拟合方程中对考察指标无显著影响（$P \geqslant 0.1$）的项目，得最终的二项式拟合方程如下。

$$Y_1 = -835.97 - 1.05X_1 + 23.39X_2 + 202.55X_3 + 0.10X_1X_2 - 0.12X_1^2 - 0.19X_2^2 - 65.78X_3^2,\ R^2_{adj} = 0.935\ 9$$

$$Y_2 = 687.95 - 2.76X_1 - 14.09X_2 - 197.27X_3 - 0.03X_1X_2 - 0.81X_2X_3 + 0.11X_1^2 + 0.12X_2^2 + 80.53X_3^2,\ R^2_{adj} = 0.978\ 7$$

设置颗粒合格率目标为“最大”、溶化时间目标为“最小”，结合响应面图和 Design-Expert 7.0 软件中的“优化”模块获取流化床制粒的优化参数，结果显示为：雾化压力 22 kPa，进风温度 66.2 ℃（实际操作中设为 66 ℃），喷液速率 1.55 mL/min。在此条件下，考察指标的理论值为：颗粒合格率 90.35%、溶化时间 41.88 s。

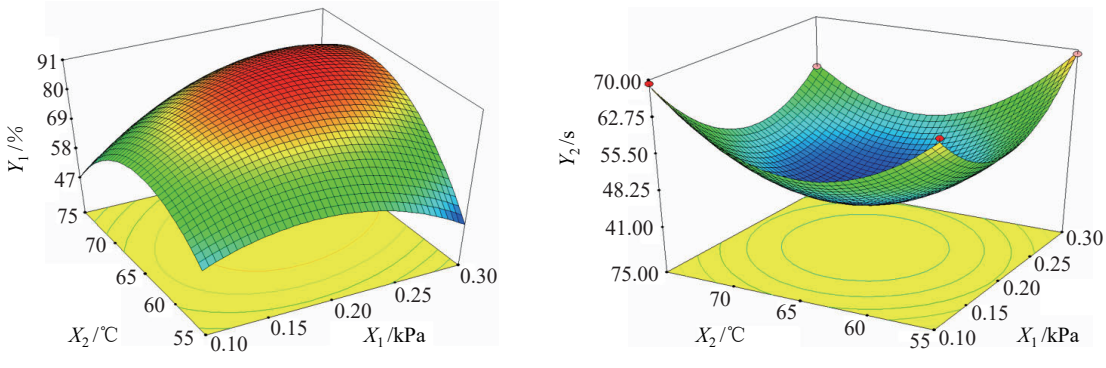
2.2.4 优化制粒参数的验证试验

采用上述优化工艺参数，按“**2.1.2**”项下方法制粒，平行制备 3 批，测得颗粒合格率和溶化时间的平均值分别为（91.51±3.08）%和（42.87±1.36）s（n=3）；实际值与理论值的偏差分别为 1.28%和 2.44%，说明所建立的预测模型准确性良好。

2.3 含量测定方法的建立

2.3.1 溶液制备

对照品溶液：分别取绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、次野鸢尾黄素对照品适量，加甲醇溶解并稀



A B

A—X_1 和 X_2 对 Y_1 的影响；B—X_1 和 X_2 对 Y_2 的影响。

图 1 各考察因素对响应值影响的响应面图和等高线图

Fig.1 Response Surface Plots and Contour Plots Showing the Effects of Examined Factors on Responses

释成每 1 mL 约含绿原酸 4 mg，哈巴苷、哈巴俄苷和次野鸢尾黄素各 0.4 mg 的溶液；分别取上述溶液适量加入同一量瓶中，制成每 1 mL 约含绿原酸 820 μg、哈巴苷 160 μg、哈巴俄苷 150 μg、次野鸢尾黄素 40 μg 的混合溶液，得对照品贮备溶液。

供试品溶液：取优化颗粒适量，研细，取约 1.2 g，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加 70%甲醇适量，超声提取（260 W，50 Hz）30 min，放至室温，再用 70%甲醇定容，摇匀，经 0.45 μm 滤膜过滤，取滤液用于 HPLC 分析。

阴性样品溶液：按射银咽炎颗粒的处方和制备工艺，分别制备缺金银花（绿原酸）、缺玄参（哈巴苷、哈巴俄苷）、缺射干（次野鸢尾黄素）的阴性样品，照“供试品溶液”制备方法制备相应的阴性供试品溶液。

2.3.2 HPLC 色谱条件及方法学考察结果

色谱条件：色谱柱 迪马 Platisil ODS 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；*流动相* 乙腈（A）与 0.05%三氟乙酸溶液（B），梯度洗脱（0—22 min，A 11%—56%；22—26 min，A 56%—74%；26—30 min，A 74%）；*检测波长* 0—15 min 为 210 nm（哈巴苷），15—22 min 为 327 nm（绿原酸），22—26 min 为 210 nm（哈巴俄苷），26—30 min 为 266 nm（次野鸢尾黄素）；*柱温* 30 ℃；*流速* 1.0 mL/min；*进样量* 10 μL。

在上述条件下，各组分色谱峰分离良好，理论塔板数按各成分计均 >6 000，杂质无干扰，色谱图如图 2 所示。

线性关系：精密吸取“**2.3.1**”项下的混合对照品贮备液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mL，置 10 mL 量瓶中，加甲醇定容，制成系列质量浓度的线性溶液。按上述色谱条件测定，以峰面积（*A*）为纵坐标、质量浓度（*c*）为横坐标线性回归，所得标准曲线方程如表 3 所示。各成分在各自测定的质量浓度范围内线性关系良好（相关系数 *r* 均大于 0.999）。

精密度试验：精密吸取同一份混合对照品溶液 10 μL，分别含绿原酸 82.01 μg/mL、哈巴苷 16.13 μg/mL、哈巴俄苷 14.54 μg/mL、次野鸢尾黄素 3.97 μg/mL，按上述色谱条件测定，重复 6 次，记录峰面积，计算得上述 4 种物质的峰面积 RSD 为 2.15%～3.19%，说明方法精密度良好。

表 3　4 种成分的线性试验结果

Tab.3　Results of Linearity Test for Four Ingredients

分析物	标准曲线方程	*r*	线性范围/(μg·mL^{-1})
绿原酸	*A*=412.1 0*c*+15.62	0.999 7	8.20～164.03
哈巴苷	*A*=219.59*c*+43.17	0.999 5	1.61～32.25
哈巴俄苷	*A*=366.28*c*+19.56	0.999 6	1.45～29.07
次野鸢尾黄素	*A*=367.23*c*+36.62	0.999 6	0.40～7.94

稳定性试验：取同一批射银咽炎颗粒，按“**2.3.1**”项下方法新制供试品溶液 1 份，室温放置；分别于 0、2、4、8、12、24 h 时取样测定，记录峰面积，计算得 4 种待测成分的峰面积 RSD 为 3.15%～5.02%，表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

重复性试验：取射银咽炎颗粒（批号 20220601），以“**2.3.1**”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按上述色谱条件测定，计算得绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、次野鸢尾黄素的峰面积 RSD 为 3.25%～4.72%，表明方法重复性良好。

加样回收率试验：精密称取已测定含量的射银咽炎颗粒 0.6 g，加入“**2.3.1**”项下的混合对照品贮备溶液 2.5 mL，再按“**2.3.1**”项下方法制备供试品溶液，平行制备 6 份；分别按上述色谱条件测定，计算回收率。结果表明，4 种待测物质的加样回收率为 96.05%～99.23%，RSD 为 0.39%～2.33%，表明方法的准确度良好。

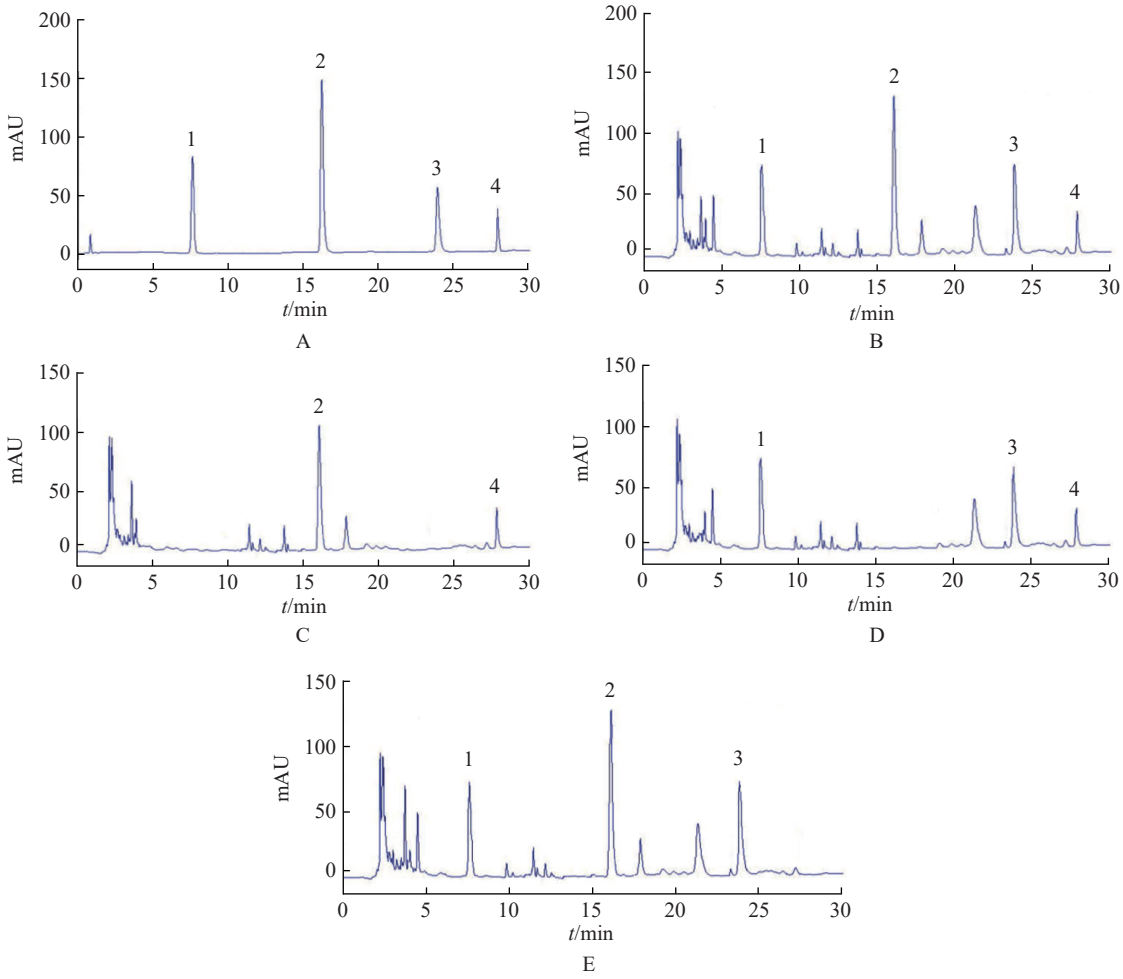
2.3.3 样品测定

按“**2.2.3**”项下所得的优化参数制备颗粒 3 批，每批约 1 000 g（批号 20220601、20220602、20220603），按“**2.3.1**”项下方法制备供试品溶液，分别进样测定，每批平行测 3 份，计算 4 种成分的含量。结果如表 4 所示。

3　讨论

3.1 流化床制粒考察指标和考察因素的选择

流化床制粒以雾化后的黏合剂液滴为核心，固体药材 / 辅料粉末逐层黏附制粒，可一步完成混合、制粒、干燥，制得颗粒在均匀度、流动性、崩解性能等方面较传统湿法制粒均有所提高[10]。流化床制粒



A—混合对照品溶液；B—供试品溶液；C—缺玄参阴性溶液；D—缺金银花阴性溶液；E—缺射干阴性溶液。
1—哈巴苷；2—绿原酸；3—哈巴俄苷；4—次野鸢尾黄素。

图 2 典型高效液相色谱图

Fig.2 Typical HPLC Chromatograms

表 4 射银咽炎颗粒中 4 种成分的含量 /(mg·g^{-1}) (*n*=3)

Tab.4 Contents of Four Ingredients in *Sheyin* Pharyngitis Granules/(mg·g^{-1}) (*n*=3)

编号	绿原酸	哈巴苷	哈巴俄苷	次野鸢尾黄素
20220601	3.39	0.69	0.62	0.16
20220602	3.18	0.75	0.67	0.17
20220603	3.10	0.72	0.60	0.15
均值±SD	3.22±0.15	0.72±0.03	0.63±0.04	0.16±0.01

设备参数较多，包括流化床内的压力和温度，进风和排风温度，黏合剂的进液速度、黏度和温度，雾化压力，喷嘴的高度、角度，以及喷雾速度等[11—12]。颗粒剂的考察指标主要包括粒度、水分、干燥失重、溶化性等。

前期研究显示，设置流化温度 55 ℃以上、喷液完成后继续流化干燥 30 min，射银咽炎颗粒中的水分不超过 8%、干燥失重不超过 2%，制得的颗粒符合 ChP 2020 版的要求。而颗粒剂的粒度分布（对应颗粒合格率）和溶化性主要受雾化压力、进风温度以及喷液速率影响，且 3 个因素之间存在交互作用。此外，预试验中也未见制粒条件对绿原酸等 4 种有效成分的含量有明显的影响。因此，本试验选用影响流化床制粒效果的 3 个工艺参数作为考察因素，即雾化压力、进风温度和喷液速率，考察其对颗粒合格率和溶化时间 2 个指标的影响，采用 Box-Behnken 设计，建立上述 3 因素对 2 个指标的

二项式模型，预测优化工艺参数，并对所得结果加以验证。

3.2 色谱条件的选择

本研究采用 HPLC-DCD 法测定射银咽炎颗粒中有效成分的含量。处方中金银花（君药）、玄参和射干（臣药）的用量大、有效成分含量高、药效明确，因此可用作含量测定指标，为质量控制提供参考。根据文献[3,9,13—14]和紫外吸收波长扫描结果，确定各待测物质的最大吸收波长，采用波长切换的方法进行测定。

3.3 小结

本研究以颗粒合格率和溶化时间为指标，采用 Box-Behnken 设计 - 响应面法优化了流化床制备射银咽炎颗粒的工艺。所得优化制备参数为雾化压力 22 kPa，进风温度 66 ℃，喷液速率 1.55 mL/min。按上述参数制得颗粒的颗粒合格率和溶化时间分别为 (91.51±3.08) %和 (42.87±1.36) s。所得拟合模型预测性良好，适用于颗粒制备工艺参数的优化。随后，建立了 HPLC-DAD 法测定了颗粒剂中的有效成分，方法准确、可靠，可为射银咽炎颗粒的制备工艺和质量控制提供参考。

参考文献：

[1] 熊乐文, 金　莹, 王彦予, 等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展[J]. 中成药, 2022, **44**(3): 864-871.

[2] 王　燕, 卢　恒, 张敏敏, 等. 基于气相-离子迁移谱的不同干燥方式下金银花挥发性成分分析[J]. 中草药, 2022, **53**(12): 3801-3810.

[3] 任　丹, 齐方圆, 黄紫妍, 等. 15个产地玄参中哈巴苷与哈巴俄苷含量测定[J]. 药学实践杂志, 2021, **39**(4): 313-316.

[4] 李翎熙, 陈迪路, 周小江. 玄参化学成分、药理活性研究进展及其质量标志物分析预测[J]. 中成药, 2020, **42**(9): 2417-2426.

[5] 刘晓凤, 王　姚, 周思敏, 等. 川射干指纹图谱建立[J]. 中成药, 2021, **43**(7): 1950-1955.

[6] 丁　克. 中药制剂抗病毒的作用分析[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(6): 919.

[7] 马　芳, 崔庆新, 姜　民, 等. 基于响应面设计的呼吸道抗炎方剂优化[J]. 中国医药工业杂志, 2018, **49**(3): 347-353.

[8] 李泽宇, 郝二伟, 李　卉, 等. 甘草配伍应用的药理作用及机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, **28**(14): 270-282.

[9] 沈　熊, 梁　健, 杨春欣, 等. 大鼠血浆中绿原酸和木犀草苷的HPLC法测定[J]. 中成药, 2012, **34**(11): 2099-2102.

[10] 刁艳玲, 班俊峰, 谢清春, 等. 2种制备工艺对复方芪术颗粒成型性的影响[J]. 中成药, 2017, **39**(2): 414-417.

[11] 姜绍波, 杨　蕾, 魏晓慧. 基于QbD方法的精氨酸布洛芬颗粒工艺研究[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(10): 1446-1452.

[12] 张大玮, 田　埂, 熊皓舒, 等. 过程分析技术在流化床制粒过程中的应用进展[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(6): 811-818.

[13] 郭　焱. HPLC 法测定不同产地川射干中6个活性成分的含量[J]. 中国药师, 2021, **24**(4): 759-762.

[14] 顾东华, 曾海松, 黄旭骅, 等. 玄黄益肾颗粒HPLC指纹图谱建立及3种成分同时测定[J]. 中成药, 2020, **42**(12): 3147-3150.