

# 丁香油滴丸的制备工艺优化<sup>△</sup>

杜卓<sup>1\*</sup>, 余小姚<sup>1</sup>, 邝翠琼<sup>2</sup>, 莫玉芳<sup>2</sup>, 周宝珠<sup>1</sup>, 刘露<sup>1</sup>, 李海仪<sup>1</sup>, 郭嘉亮<sup>1#</sup>(1.佛山科学技术学院医药工程学院, 广东佛山 528000; 2.佛山市第一人民医院/中山大学附属佛山医院药学部, 广东佛山 528000)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3360-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.08

**摘要** 目的:建立测定丁香油滴丸中丁香酚含量的方法,并对其制备工艺进行优化。方法:采用紫外-可见分光光度法测定丁香油滴丸中丁香酚的含量。在单因素试验基础上,以药物质量占总质量的百分比、药液温度、冷凝液下落距离、药液滴距为因素,以滴丸圆整度、硬度、质量差异及综合得分为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验对制备工艺进行优化,并进行验证试验和滴丸质量考察。结果:丁香酚质量浓度线性范围为15.15~45.45  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 6$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于1%;加样回收率为97.41%~100.59% ( $\text{RSD}=1.35\%, n=6$ )。最优制备工艺为药物质量占总质量的百分比为5%,药液温度为80  $^{\circ}\text{C}$ ,冷凝液下落距离为13 cm,药液滴距为6 cm。在此条件下,所得丁香油滴丸外观完整光洁,硬度适宜,圆整度较好;丁香酚平均含量为4.073% ( $\text{RSD}=0.35\%, n=6$ )。结论:所建含量测定方法操作简单、方便,可用于测定丁香油滴丸中丁香酚的含量;优化所得制备工艺稳定、可行。

**关键词** 丁香油滴丸;丁香酚;紫外-可见分光光度法;含量测定;制备工艺;优化;正交设计

## Optimization of the Preparation Technology of *Syzygium aromaticum* Oil Dropping Pills

DU Zhuo<sup>1</sup>, YU Xiaoyao<sup>1</sup>, KUANG Cuiqiong<sup>2</sup>, MO Yufang<sup>2</sup>, ZHOU Baozhu<sup>1</sup>, LIU Lu<sup>1</sup>, LI Haiyi<sup>1</sup>, GUO Jialiang<sup>1</sup> (1. School of Pharmaceutical Engineering, Foshan University, Guangdong Foshan 528000, China; 2. Dept. of Pharmacy, Foshan First People's Hospital & The Affiliated Foshan Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong Foshan 528000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for content determination of eugenol in *Syzygium aromaticum* oil dropping pills, and to optimize the preparation technology. METHODS: The content of eugenol in *S. aromaticum* oil dropping pills was determined by UV spectrophotometry. Based on single factor test, using the percentage of drugs in total amount, liquid temperature, falling distance of condensate, liquid drop distance as factors, taking the roundness, weight and hardness difference and comprehensive score as factors,  $L_9(3^4)$  orthogonal design test was adopted to optimize the preparation process. RESULTS: The linear range of eugenol was 15.15-45.45  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.999\ 6$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1%; the recoveries were 97.41% -100.59% ( $\text{RSD}=1.35\%, n=6$ ). The optimal preparation technology included that the percentage of drugs in total amount was 5%; liquid temperature was 80  $^{\circ}\text{C}$ ; falling distance of condensate was 13 cm; liquid drop distance was 6 cm. The dropping pills had smooth appearance, good roundness and moderate hardness; the average content of eugenol was 4.073% ( $\text{RSD}=0.35\%, n=6$ ). CONCLUSIONS: The established method is simple, and can be used for the content determination of eugenol in *S. aromaticum* oil dropping pills. The optimal preparation technology is stable and feasible.

**KEYWORDS** *Syzygium aromaticum* oil dropping pills; Eugenol; UV spectrophotometry; Content determination; Preparation technology; Optimization; Orthogonal design

丁香(*Eugenia caryophyllata* Thunb.)为桃金娘科植物丁香树的干燥花蕾。丁香油是丁香花蕾经水蒸气蒸馏得到的挥发油,其主要活性成分为丁香酚,含量约为80%~87%,具有抑菌<sup>[1]</sup>、抗氧化<sup>[2-3]</sup>、抗缺氧<sup>[4-5]</sup>、抗血栓<sup>[6]</sup>、抗凝、抗血小板聚集<sup>[7]</sup>、疏通血管、镇痛<sup>[8]</sup>等作用。虽然已有文献报道了丁香油膜剂、栓剂等非口服局部给药

制剂<sup>[8-9]</sup>,但这些剂型在使用方式上存在诸多不便。而将丁香油制成经口服给药的滴丸可达到使用方便、快速起效的目的,具有较好的开发应用前景<sup>[10]</sup>,而且目前也尚无关于丁香油滴丸研究的报道。为此,本研究采用紫外-分光光度法(UV)测定丁香油滴丸中丁香酚的含量,采用正交设计对该滴丸制备工艺进行优化,旨在为其药理、药效研究提供依据,也为开发丁香油新制剂提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

752N型UV计(上海仪电分析仪器有限公司); SIM-F140AY65-PC型制冰机[松下冷链(大连)有限公

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503031, 818728-32)

\* 副教授,博士。研究方向:天然药物新型制剂研究、中药新药开发。E-mail: duzhuo@mail3.sysu.edu.cn

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:天然药物抗菌活性筛选、药物分析。电话:0757-82800010。E-mail: janalguo@126.com

司];RO-2236P型 Tankpro 纯水机(浙江铭泉水暖设备有限公司);ependorf 1 000  $\mu\text{L}$  移液枪(德国艾文德集团公司);HWS-12型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);YPD-30A型片剂硬度仪、CJY-300D型片剂脆碎度测定仪(上海黄海药检仪器有限公司);AL204型万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

## 1.2 药品与试剂

丁香油(批号:20161014,规格:100 mL/瓶)、丁香酚对照品(批号:20180622,纯度: $\geq 98.5\%$ )、单硬脂酸甘油酯(批号:20171218)均由国药集团化学试剂有限公司提供;聚乙二醇 4000(PEG 4000,广东光华化学厂有限公司,批号:20090420);聚乙二醇 6000(PEG 6000,广州市医药公司化学试剂玻璃仪器批发部,批号:990825);二甲基硅油、无水乙醇均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 丁香油滴丸的制备

将 PEG 4000、PEG 6000 以质量比 1:3 混合作为基质,置于 75  $^{\circ}\text{C}$  电热恒温水浴锅中水浴加热至溶解,加入处方量的丁香油搅拌,使其与基质充分混匀;将混匀后的药液在电热恒温水浴锅中保温,采用 1 000  $\mu\text{L}$  移液枪吸取药液后,以 30 滴/min 滴入二甲基硅油中冷凝,并保持装有二甲基硅油的容器低温,冷凝成丸后静置 3 min;收集滴丸并沥干,用滤纸吸去滴丸表面冷凝液,自然干燥 6 h,即得丁香油滴丸。

### 2.2 丁香酚含量测定

采用 UV 法测定<sup>[9]</sup>。

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取丁香酚对照品 1.010 g,置于 100 mL 量瓶中,加 80% 乙醇溶解并定容,摇匀;精密吸取 10 mL,置于 100 mL 量瓶,加 80% 乙醇稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度为 1.010 mg/mL 的对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取“2.1”项下丁香油滴丸 20 粒,称定质量,置于干燥的小烧杯中,加 80% 乙醇溶解并定容至 50 mL 量瓶中,经滤纸滤过后,取续滤液 2 mL,置于 25 mL 量瓶中,加 80% 乙醇至刻度,即得供试品溶液。

**2.2.3 空白对照溶液** 以 80% 乙醇为空白对照溶液。

**2.2.4 检测波长的确定** 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 2 mL,置于 100 mL 量瓶中,加 80% 乙醇稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度为 20.20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对照品溶液 A。以 80% 乙醇为空白对照,取上述对照品溶液 A、“2.2.2”项下供试品溶液适量,在 200~400 nm 波长范围内进行扫描<sup>[11]</sup>。结果,两者在 210、228 nm 波长处吸光度均较高,但存在末端吸收、空白对照吸收等因素的干扰;而在 280 nm 波长处两者也有吸收峰,且空白对照在此处无吸收,故选择 280 nm 为检测波长,详见图 1。

**2.2.5 线性关系考察** 取“2.2.1”项下对照品溶液 1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 mL,分别置于 100 mL 量瓶中,

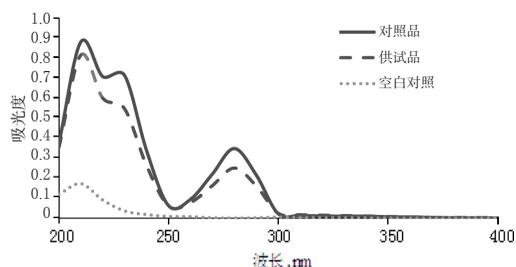


图 1 紫外吸收光谱

Fig 1 UV absorption spectrum

加 80% 乙醇稀释至刻度,制成质量浓度分别为 15.15、20.20、25.25、30.30、35.35、40.40、45.45  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的系列对照品溶液。以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定上述系列溶液吸光度。以丁香酚质量浓度为(x,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进行线性回归,得丁香酚回归方程为  $y=0.015\ 8x$  ( $r=0.999\ 6$ )。结果表明,丁香酚在 15.15~45.45  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

**2.2.6 精密度的试验** 取“2.2.2”项下供试品溶液适量,以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定吸光度,平行测定 5 次。结果,吸光度的 RSD 为 0.29% ( $n=5$ ),表明本方法精密度良好。

**2.2.7 稳定性试验** 取“2.2.2”项下供试品溶液适量,分别于室温下放置 0、2、4、6、8、12、24、48 h<sup>[11-12]</sup>时,以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定吸光度。结果,吸光度的 RSD 为 0.45% ( $n=8$ ),表明供试品溶液于室温下放置 48 h 内稳定性良好。

**2.2.8 重复性试验** 取“2.1”项下丁香油滴丸适量,共 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定吸光度并按标准曲线法计算样品的含量。结果,含量的 RSD 为 0.12% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

**2.2.9 加样回收率试验** 取“2.1”项下已知含量的丁香油滴丸适量,共 6 份,加入“2.2.1”项下对照品溶液 0.5 mL,加 80% 乙醇溶解并定容至 50 mL 量瓶中,滤纸滤过,取滤液 2 mL 置于 25 mL 量瓶中,加 80% 乙醇稀释至刻度,以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定吸光度并计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=6$ )

Tba 1 Results of recovery tests ( $n=6$ )

已知样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.496 8	0.505 0	1.004 8	100.59		
0.497 4	0.505 0	1.003 2	100.16		
0.497 0	0.505 0	0.999 9	99.58	99.06	1.35
0.507 6	0.505 0	1.000 1	97.52		
0.497 3	0.505 0	0.989 2	97.41		
0.501 1	0.505 0	1.001 5	99.09		

**2.2.10 样品含量测定** 取“2.1”项下丁香油滴丸适量,共 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,以 80% 乙醇为空白对照,于 280 nm 波长处测定吸光度并按标准曲线法计算样品的含量。结果,样品含量为 4.067%~

4.082%,平均含量为4.075%,RSD为0.123%(n=6)。

### 2.3 单因素试验筛选工艺

2.3.1 基质的筛选 分别将PEG 4000、PEG 6000按质量比1:2、1:3、1:4、0:1、0:0混合作为基质(所有基质总量固定为1.2g),按“2.1”项下方法制备丁香油滴丸<sup>[11]</sup>,以黏稠度、滴丸成型情况、硬度为指标筛选基质比例,结果见表2。根据表2结果选择处方1、2、5,分别加入丁香油1.0g进一步筛选,结果见表3。由表3可知,处方2制备的丁香油滴丸圆整度好,故以处方2的基质比例制备丁香油滴丸。

表2 空白基质筛选

Tab 2 Blank matrix screening

处方	PEG 4000-PEG 6000(m/m)	单硬脂酸甘油酯,g	黏稠度	滴丸成型情况	硬度
1	1:2	0	较稀	滴丸圆整度好	适中
2	1:3	0	适中	滴丸圆整度好	适中
3	1:4	0	较稠	滴丸呈扁圆形,较易拖尾	较大
4	0:1	0	黏稠	滴丸易拖尾	大
5	0:0	1.2	稀	滴丸圆整度好	较小

表3 添加丁香油后基质筛选

Tab 3 Matrix screening after adding *S. aromaticum* oil

处方	PEG 4000-PEG 6000(m/m)	单硬脂酸甘油酯,g	黏稠度	滴丸成型情况	硬度
1	1:2	0	较稀	圆整度较差,出现不规则滴丸	较小
2	1:3	0	适中	滴丸圆整度好	大
5	0:0	1.2	稀	滴丸圆整度差	过小

2.3.2 冷凝温度的筛选 参考相关文献<sup>[13-14]</sup>,分别以5、7、9℃为冷凝温度,以滴丸沉降速度、滴丸成型情况为指标进行筛选,结果见表4。由表4可知,冷凝温度为5℃时滴丸沉降速度适中,滴丸圆整度好、无拖尾现象、硬度适中,故选择冷凝温度为5℃。

表4 冷凝温度的筛选

Tab 4 Screening of condensation temperature

冷凝温度,℃	滴丸沉降速度	滴丸成型情况		
		是否拖尾	圆整度	硬度
5	适中	否	好	适中
7	较慢	否	较好	软
9	慢	是	差	不成型

### 2.4 工艺考察指标

2.4.1 滴丸圆整度 滴丸圆整度总分为5分,外形不规则为1分,扁圆或椭圆形且有空泡为2分,圆形且有空泡为3分,椭圆形为4分,圆形为5分;分数越高表示滴丸圆整度越好<sup>[12]</sup>。

2.4.2 质量差异 质量差异总分为5分,RSD为4.7%~5%记1分,RSD为4.4%~<4.7%记2分,RSD为4.1%~<4.4%记3分,RSD为3.8%~<4.1%记4分,RSD<3.8%记5分[由于制备滴丸的质量差异均未超过2015年版《中国药典》(四部)规定,故质量差异以RSD为标准];RSD越小,分数越高,表示质量差异越小<sup>[12]</sup>。

2.4.3 硬度差异 硬度差异总分为5分,评分标准同“2.4.2”项下标准;RSD越小,分数越高,表示硬度差异越小<sup>[12]</sup>。

2.4.4 综合得分 综合得分=质量差异评分+硬度差异评分;综合得分越高,表示制备工艺越稳定。

### 2.5 正交试验优化工艺

2.5.1 试验设计 参考相关文献<sup>[9,13-15]</sup>,以药物质量占总质量的百分比(A)、药液温度(B)、冷凝液下落距离(C)、药液滴距(D)为因素,以滴丸圆整度、质量差异、硬度差异及综合得分为指标,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计试验对制备工艺进行优化。因素与水平见表5,试验方案设计与结果见表6,方差分析结果见表7、表8。

表5 因素与水平

Tab 5 Factors and levels

水平	因素			
	A,%	B,℃	C,cm	D,cm
1	10.0	75	8	2
2	7.5	80	13	4
3	5.0	85	18	6

表6 正交试验设计与结果

Tab 6 Design and results of orthogonal test

试验号	因素				滴丸圆整度	质量差异	硬度差异	综合得分
	A	B	C	D				
1	1	1	1	1	1	2	1	3
2	1	2	2	2	2	1	4	5
3	1	3	3	3	4	2	3	5
4	2	1	2	3	2	3	5	8
5	2	2	3	1	1	2	2	4
6	2	3	1	2	3	3	2	5
7	3	1	3	2	5	1	3	4
8	3	2	1	3	5	5	5	10
9	3	3	2	1	3	4	4	8
滴丸圆整度	k1	6.999	8.001	9.000	5.001			
	k2	6.000	8.001	6.999	9.999			
	k3	12.999	9.999	9.999	11.001			
	r	6.999	1.998	3.000	6.000			
综合得分	k1	12.999	15.000	18.000	15.000			
	k2	17.001	18.999	21.000	14.001			
	k3	21.999	18.000	12.999	23.001			
	r	9.000	3.999	8.001	9.000			

表7 方差分析结果

Tab 7 Results of variance analysis

误差来源	A	B	C	D	误差
离均差平方和	9.556	0.889	1.556	6.889	0.891
自由度	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
均方差	4.778	0.445	0.778	3.445	
F	10.766	1.000	1.750	7.760	
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

表8 综合得分的方差分析结果

Tab 8 Results of variance analysis of comprehensive score

误差来源	A	B	C	D	误差
离均差平方和	13.556	2.889	10.889	16.222	2.890
自由度	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
均方差	6.778	1.445	5.445	8.111	
F	4.698	1.000	3.774	5.623	
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

由表6可知,影响滴丸成型的因素大小顺序依次为A>D>C>B,即药物质量占总质量的百分比>药液滴距>冷凝液下落距离>药液温度,其中药物质量占总质量的百分比有显著影响。最优制备工艺为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,即药物质量占总质量的百分比为5%,药液温度为80℃,冷凝液下落距离为13cm,药液滴距为6cm。

2.5.2 工艺验证试验 按最优制备工艺制备丁香油滴丸并按“2.2”项下方法测定含量,平行测定6次。结果,每粒丁香油滴丸中丁香酚的平均含量为4.073%(RSD=0.35%,n=6),提示该工艺稳定、可行。

## 2.6 最优工艺制备的丁香油滴丸质量考察

2.6.1 外观形态 取按最优制备工艺制备的丁香油滴丸进行观察。结果,其外观完整光洁,硬度适宜,圆整度较好,无拖尾粘连,符合2015年版《中国药典》(四部)中滴丸的外观要求<sup>[12]</sup>。

2.6.2 质量差异 取按最优制备工艺制备的丁香油滴丸20粒,分别称定质量。结果,20粒滴丸质量范围为0.0145~0.0168g/粒,总质量为0.3072g,平均为0.0154g/粒,RSD为3.22%(n=20),该结果未超过2015年版《中国药典》(四部)规定的限度值(药典规定对低于0.03g滴丸的质量差异限度要求为±15%,滴丸超出质量差异限度不得多于2丸,并不得有1丸超出限度1倍<sup>[12]</sup>),符合规定。

2.6.3 硬度差异 取按最优制备工艺制备的丁香油滴丸6粒,采用片剂硬度测试仪检测滴丸硬度。结果,硬度范围为2.0~2.1N,平均硬度为2.0N,RSD为3.87%(n=6),表明该滴丸硬度差异小。

## 3 讨论

有研究认为,制备滴丸的冷凝液下落距离需要50cm以上<sup>[14-15]</sup>。而本研究前期预试验发现,丁香油滴丸在冷凝液下降7~8cm时即可成球形,因此本研究结合上述文献分别对冷凝液下落8、13、18cm进行单因素考察。

本研究前期预试验还发现,在制备丁香油滴丸时,先使空白基质滴丸满足一定的硬度及圆整度条件后,再加入丁香油,可使药液处于较为黏稠的状态,且混合后药液温度下降,使得药液黏稠度增加。此外,药液体积减小,可致药液降温越快,从而使药液更易凝固或粘连在移液枪的枪头壁上,加之小容量移液枪的枪头开口较小,难于吸取黏稠药液制备滴丸,致使滴丸的质量差异较大<sup>[16]</sup>。故本研究综合考虑操作方便,同时能较好维持药液温度的情况下,选择1000μL移液枪制备滴丸。

本研究参考相关文献<sup>[14-15]</sup>,曾尝试采用冰水浴冷却,但降温效果差且降温等待时间长,因此改用二甲基硅油为冷凝液,使用前将二甲基硅油置于冰箱冷藏过夜,试验中保持冷凝液及装有冷凝液的容器低温,该方法降温效果好,低温保持时间长。此外二甲基硅油采用冰箱冷

藏,可减少滴丸制备过程中产生气泡,从而减小冷凝液中气泡对滴丸成型及圆整度的影响。

综上所述,所建含量测定方法操作简单、方便,可用于测定丁香油滴丸中丁香酚的含量;优化所得制备工艺稳定、可行。

## 参考文献

- [1] 蔡少青.生药学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2012:185-187.
- [2] OU HC, CHOU FP, LIN TM, et al. Protective effects of eugenol against oxidized LDL-induced cytotoxicity and adhesion molecule expression in endothelial cell[J].*Food Chem Toxicol*, 2006, 44(9):1485-1495.
- [3] FUJISAWA S, ATSUMI T, SATOH K, et al. Radical generation, radical-scavenging activity, and cytotoxicity of eugenol-related compounds[J]. *In Vitro Mol Toxicol*, 2000, 13(4):269-279.
- [4] ITO M, MURAKAMI K, YOSHINO M. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metalion in the inhibition of lipid peroxidation[J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(3):461-466.
- [5] 袁德俊.丁香酚对体外培养心肌细胞缺氧/复氧损伤的影响[D].广州:广州中医药大学,2009.
- [6] 李锦绣.丁香现代药理研究进展[J].实用中医药杂志, 2002, 18(6):54.
- [7] 李英嘉,刘洪章.丁香挥发油的研究进展[J].黑龙江农业科学,2014(7):148-151.
- [8] 王二丽,杨秀娟,杜卓,等.丁香油阴道栓的制备与质量评价[J].海峡药学,2019,31(1):10-13.
- [9] 杜卓,刘芳,谭淑仪,等.紫外分光光度法测定丁香油膜剂丁香酚含量的方法学研究[J].时珍国医国药,2017,28(2):315-316.
- [10] 朱金段,袁德俊,林新颖,等.丁香的药理研究现状及临床应用[J].中国药物经济学,2013(1):32-35.
- [11] 张智敏,朱倩倩.紫外分光光度法测定丁香油和风油精中丁香酚的含量[J].安徽工业大学学报(自然科学版), 2006, 23(3):272-274.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:11-12.
- [13] 刘永霞,王琰.正交试验法优选心脑血管滴丸的制备工艺研究[J].药学研究,2016,35(12):709-711.
- [14] 张丽军,肖志强,朱爱华,等.肉桂油滴丸制备工艺研究[J].内蒙古中医药,2017,36(13):122-123.
- [15] 魏永义,李怀平,王朔,等.八味沉香滴丸制备方法研究[J].中医药导报,2014,20(8):79-81.
- [16] 梁伟春,王金,曹惠琪,等.影响滴丸丸重因素现状的研究[J].黑龙江医药,2013,26(3):76-77.

(收稿日期:2019-05-28 修回日期:2019-10-13)

(编辑:陈宏)