

扁咽口服液生产过程中黄芩苷转移率的研究

李翔, 刘皈阳, 马建丽, 王晓青, 高磊, 张清哲 (解放军总医院第一附属医院药剂药理科, 北京 100037)

[摘要] 目的 建立高效液相色谱法测定扁咽口服液中黄芩苷的含量, 对其在生产过程中的转移率进行评价。方法 色谱柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5% 冰醋酸溶液 (45 : 55); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 277 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。结果 黄芩苷浓度在 1.064 ~ 106.4 μg/ml 范围内与其峰面积线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率 ($n=6$) 为 101.26%, RSD 为 1.92%。黄芩苷由药材到中间品及由中间品到成品的转移率分别为 17.2% ~ 19.0% 和 78.7% ~ 79.4%。结论 该方法快速、简便、准确, 可用于扁咽口服液的质量控制和生产工艺评价。

[关键词] 扁咽口服液; 黄芩苷; 含量; 转移率; 高效液相色谱法

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)04-0289-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.04.012

Research on the transfer rate of baicalin in preparation of Bianyan oral solution

LI Xiang, LIU Gui-yang, AM Jian-li, WANG Xiao-qing, GAO Lei, ZHANG Qin-zhe (Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital, General Hospital of PLA, Beijing 100037, China)

[Abstract] **Objective** To establish the HPLC method for determination of baicalin in Bianyan oral solution, and evaluate the transfer rate in process of production. **Methods** The Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, the mobile phase consisted of methanol-0.5% acetic acid (45 : 55), the flow rate was 1.0 ml/min, the detection wavelength was at 277 nm, the column temperature was at 30 ℃, the inject volume was 10 μl. **Results** A good linear correlation of baicalin was observed within the range of 1.064 ~ 106.4 μg/ml ($r=0.9999$). The average recovery was 101.26% with RSD 1.92% ($n=6$). The transfer rates from Radix Scutellariae to intermediate sample and to Bianyan oral solution were 17.2% ~ 19.0% and 78.7% ~ 79.4%. **Conclusions** The method was rapid, simple and accurate, which could be used for the quality control and processing technique evaluation of Bianyan oral solution.

[Key words] Bianyan oral solution; baicalin; contents; transfer rate; HPLC

扁咽口服液是由黄芩、山豆根、连翘、穿心连、黄连、桔梗等多味中药采用现代制剂工艺制成, 具有清热解毒, 利咽生津, 软坚散结的功效, 主要用于急慢性咽炎、扁桃体炎的治疗。扁咽口服液作为本单位的医院制剂, 长期的临床应用证明其具有良好的治疗作用。黄芩作为该制剂的主要组分之一, 具有清热燥湿, 泻火解毒的功能^[1]。黄芩中的主要成分黄芩苷被证明具有抗菌、抗病毒等的多种作用, 是扁咽口服液的重要指标性成分之一^[2]。含量测定成分的转移率是中药、天然药物制备工艺研究中一项重要的指标。转移率的稳定程度是用于评价工艺的合理性, 分析工艺可行性的重要内容。本研究以黄芩苷的含量为指标, 对其在多批次扁咽口服液中的转移率进行评价, 方法快速简便, 结果准确可靠, 可为扁咽口服液质量控制和生产工艺评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (包括四元泵、VWD 检测器、自动进样器、ChemStation 化学工作站), Mettler AE200 电子天平; 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 715-200111); 药材均由北京市鹤延龄中药饮片有限公司提供; 扁咽口服液 (解放军总医院第一附属医院, 批号: 110919, 110926, 111010); 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品储备液 精密称取在 60 ℃ 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品 10.64 mg, 置于 100 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 即得 106.4 μg/ml 的对照品储备液, 置 4 ℃ 冰箱保存。

2.1.2 黄芩药材供试品溶液 按照中国药典 2010 年版一部黄芩项下的方法制备。

[作者简介] 李翔 (1976-), 男, 主管药师。Tel: (010)66867401, E-mail: lxbj@hotmail.com.

[通讯作者] 刘皈阳。Tel: (010)66867081, E-mail: liuguigui@gmail.com.

2.1.3 扁咽口服液中间品和成品供试品溶液

按扁咽口服液处方组成与比例,分别称取黄芩 40 g 及其它药材,按生产工艺制成总体积为 1 000 ml,得中间品(含黄芩 0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。再加入适量壳聚糖,搅拌,静置,过滤,滤液加水至总体积为 1 000 ml,得成品(含黄芩 0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。精密量取中间品或成品 1 ml,置于 10 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。再精密量取 1 ml,置 10 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 阴性对照溶液 按处方比例及生产工艺制备缺黄芩的阴性对照样品,按“2.1.3”项下方法制

成阴性对照溶液。

2.2 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.5%冰醋酸溶液(45:55);流速为 1.0 ml/min;检测波长为 277 nm;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量为 10 μl 。在此条件下,黄芩苷与样品中其他色谱峰分离良好,保留时间约为 7 min,理论塔板数按黄芩苷峰计算不低于 4 000。

2.3 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液,按“2.2”项下色谱条件测定,记录色谱图。结果显示,阴性对照对黄芩苷的测定无干扰。见图 1。

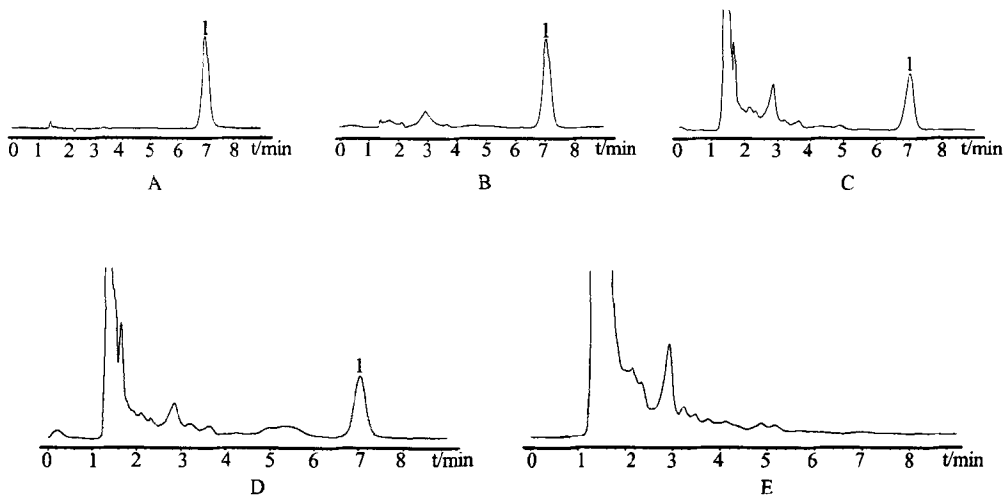


图 1 对照品及样品 HPLC 色谱图

A-对照品; B-黄芩药材样品; C-中间品; D-扁咽口服液样品; E-阴性样品; 1-黄芩苷

2.4 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 ml,置于 10 ml 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列对照品溶液。将系列对照品溶液与储备液依次进样 10 μl ,记录黄芩苷峰面积。以黄芩苷浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 31.09X + 0.1231$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明,黄芩苷在 1.064 ~ 106.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取浓度为 10.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液,连续进样 6 次测定。结果黄芩苷峰面积 RSD 为 0.16% ($n = 6$),表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一批号(批号:110919)扁咽口服液成品供试品溶液,在 0、2、4、8、12、24 h 分别进样测定。结果黄芩苷峰面积 RSD 为 1.06% ($n = 6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批号(批号:110919)扁

咽口服液成品样品 6 份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样测定。结果黄芩苷的平均含量为 674.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$,RSD 为 1.36% ($n = 6$),表明方法的重现性良好。

2.8 回收率试验 精密量取已知含量(674.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的同一批号(批号:110919)扁咽口服液样品 6 份,精密加入适量黄芩苷对照品溶液,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样测定,计算回收率。结果平均回收率为 101.26%,RSD 为 1.92% ($n = 6$),表明方法的回收率良好。

2.9 样品含量测定 按“2.1.3”项下方法,制备 3 批扁咽口服液供试品溶液,每批制备 3 份,分别进样测定,计算各批次中间品和成品中黄芩苷占黄芩药材(相当于口服液 0.04 g/ml)的质量比含量(mg/g)和转移率(%),结果见表 1。

(下转第 309 页)

3.1 检测成分考察 支扩养阴颗粒含小蓟、麦冬和侧柏叶等药材,这些成分中有丰富的黄酮类属物成分,笔者曾经检测出二氢黄酮类^[1];有报道可检测小蓟中芦丁^[4],含小蓟的制剂文献报道也以芦丁为测定指标^[3],而在笔者的实验研究中,用紫外光谱法和 HPLC 法均未测出。不同批次支扩养阴颗粒中蒙花苷含量比较接近,说明小蓟中富含的黄酮是蒙花苷,且含量比较稳定,可以将蒙花苷作为本制剂质量控制定量指标之一。中国药典一部 2010 年版与 2005 版比较,在薄层色谱鉴别中将芦丁^[4]修订为蒙花苷^[4],含量测定项增订高效液相色谱法测定蒙花苷^[4],笔者研究验证了这次增修订是正确、可行的。

3.2 提取溶剂与提取方法选择 曾经采用石油醚(60~90℃)脱脂或不脱脂,以甲醇或 65% 乙醇为提取溶剂,索氏提取器回流或超声提取,分别考察所制取的供试品溶液的色谱结果,实验表明经石油醚回流脱脂,甲醇回流提取,所得供试品溶液与流动相有良好的互溶性,色谱杂峰少,且提取最完全。

3.3 流动相选择 考察了甲醇-水-冰醋酸(55:45:0.3),(45:54.5:0.5)^[4],(52:46:2)^[4]和(55:44:2)等数组溶剂系统,结果前 3 组蒙花苷

色谱峰峰形欠佳,测定中有理论板数较低,经多次试验,以甲醇-水-冰醋酸(55:44:2)为流动相,不仅峰保留时间适宜、分离度好,而且理论板数最高,峰形相对最好。

3.3 检测波长选择 比较了蒙花苷 HPLC 检测波长 326 nm^[4]和 334 nm^[4,5]处测得的峰面积,结果以 326 nm 为检测波长峰面积大,故选择测定波长为 326 nm。

【参考文献】

- [1] 吴文飞,李玉平. 紫外分光光度法测定支扩养阴颗粒中二氢黄酮的含量[J]. 中国药房,2011,22(43):4083.
- [2] 崔敬浩,杨星昊,丁安伟,等. 小蓟、小蓟炭中黄酮类成分的含量测定和薄层鉴别[J]. 四川中医,2006,24(3):32.
- [3] 祝德秋,罗启剑,崔 岚,等. 连钱草-小蓟混合粉中总黄酮的含量测定[J]. 华西药学杂志,2003,18(6):477.
- [4] 中国药典 2005 版. 一部[S]. 2005:32,45,308,295.
- [5] 柯 睿,朱恩圆,俞桂新. 小蓟的质量标准研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(7):1662.

[收稿日期]2011-12-03

[修回日期]2011-12-31

(上接第 290 页)

表 1 样品含量测定结果及转移率(n=3)

批号	黄芩药材(mg/g)	中间品(mg/g)/转移率(%)	成品(mg/g)/转移率(%)
110919	124.5	21.44/17.2	16.87/78.7
110926	124.5	23.65/19.0	18.74/79.2
111010	124.5	22.38/18.0	17.77/79.4

转移率(%) = 黄芩苷实测含量/溶液理论含量 × 100%

3 讨论

3.1 采用 HPLC 法测定黄芩苷含量的报道较多,以甲醇-水-磷酸的流动相体系较为多见^[3-5]。经本研究比较发现,采用甲醇-水-冰醋酸作为流动相体系,可以降低磷酸引起的基线波动,较好完成黄芩药材、扁咽口服液中间品和成品中黄芩苷的检测。另外,通过比较 2%、1% 和 0.5% 等不同浓度冰醋酸对分离的影响,发现 0.5% 冰醋酸即能取得满意的分离效果。

3.2 中药制剂在生产中按照既定的工艺进行制备,药材中成分的转移率一般较为固定。从测定结果可以看出,黄芩苷在黄芩药材制成中间品的过程中转移率为 17.2%~19.0%,从中间品到成品过程中,由于添加了壳聚糖进行澄清处理,造成黄芩苷的进

一步损失,但其转移率也能够达到 78.7%~79.4%。由此可以判定,尽管黄芩苷的转移率较低,但其波动范围不大,说明扁咽口服液的生产工艺是稳定适用的。

3.3 尽管黄芩苷在扁咽口服液的生产过程中转移率较为稳定,但从药效成分的角度评价则相对偏低。因此,根据黄芩苷的化学性质,可以采用其他适宜的提取溶剂,提高黄芩苷的转移率和含量,可以考虑将扁咽口服液开发成药效更好、用量更小、使用更方便的颗粒剂的新剂型。

【参考文献】

- [1] 中国药典 2010 年版. 一部[S]. 2010: 283.
- [2] 雷 芳. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 中国药业, 2010, 19(15): 87.
- [3] 李玲玲,赵兰芬. 清开灵不同制剂中黄芩苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(5): 950.
- [4] 宋宗华,王 鹏,陈晓辉,等. 中药黄芩和一清颗粒中黄芩苷 HPLC 定量分析方法学验证参数限度考察[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 1140.
- [5] 张 捷,谭生建,王 欢,等. 高效液相色谱法测定小儿润肺止咳口服液中橙皮苷和黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(8): 1451.

[收稿日期]2012-01-03

[修回日期]2012-04-05