

黄芩素滴丸的质量标准研究[△]

杨新建*,王 雷#,梁 颖(天津市中医药研究院附属医院,天津 300120)

中图分类号 R283.64;R917

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)23-2161-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.17

摘要 目的:建立黄芩素滴丸的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别黄芩素滴丸中的黄芩苷;采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量。同时按照2010年版《中国药典》对滴丸剂的常规要求进行检验。结果:TLC图中,供试品在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。黄芩苷的进样量在0.519 75~1.559 25 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系;精密度、重复性、稳定性试验的RSD均<2%;平均加样回收率为97.61%,RSD=1.10%(n=6)。重量差异和微生物限度检查、崩解时限均符合2010年版《中国药典》要求。结论:所建标准可用于黄芩素滴丸的质量控制。

关键词 黄芩素滴丸;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;黄芩苷

Study on Quality Standards of Baicalein Dropping Pills

YANG Xin-jian, WANG Lei, LIANG Ying (The Affiliated Hospital of Tianjin Institute of TCM, Tianjin 300120, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standards of Baicalein dropping pills. METHODS: Baicalin of Baicalein dropping pills was identified qualitatively by TLC; the content of baicalin was determined by HPLC. At the same time, the preparation was detected according to the general requirements of dropping pills in 2010 edition *Chinese Pharmacopoeia*. RESULTS: The chromatographic spots of samples showed the same colors in the same position with control agents by TLC, without interference from negative control agents. The linear range of baicalein were 0.519 75-1.559 25 μg; RSDs of precision, repeatability and stability were less than 2%; average recovery was 97.61% (RSD=1.10%, n=6); the weight variation, microbial limit tests and disintegration time were all fitted with the requirements of 2010 edition *Chinese Pharmacopoeia*. CONCLUSIONS: The standard can be used for quality control of Baicalein dropping pills.

KEY WORDS Baicalein dropping pills; Quality standards; TLC; HPLC; Baicalin

黄芩是我国资源丰富的中药材之一,主要成分为黄酮类化合物,包括黄芩苷(Baicalin)、黄芩素(Baicalein)、汉黄芩苷(Wogonoside)、汉黄芩素(Wogonin)等,属单味中药的小复方。现代药理学研究表明,黄芩具有抗炎、解热、降压、抗变态反应等作用,还可抑制被动皮肤过敏反应、实验性气喘,并有抗组胺、抗胆碱及罂粟样作用,是一种药理活性显著的植物药。按照国家医疗机构制剂申报相关规定,我院研究了黄芩素滴丸(以黄芩苷为主要研究物质)的制备工艺,并建立了其质量标准,在取得天津市食品药品监督管理局医院制剂批准文号的基础上,作为医院制剂用于治疗荨麻疹。

1 材料

1.1 仪器

WD08-1型全自动滴丸机(天津市昂大科技发展有限公司);万分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);ZB-1B型智能崩解仪(天津大学精密仪器厂);LC-2010A型高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公司);AS-3120型超声清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

△基金项目:天津市科技发展计划资助项目(No.033180311)

*主任药师。研究方向:中药制剂研发。电话:022-27285098。

E-mail:changzhengyj@sina.com

#通信作者:主任药师。研究方向:中药制剂研发。电话:

022-27535955。E-mail:changzhengyj@sina.com

黄芩素滴丸(天津市中医药研究院附属医院自制,批号:20040527、20040528、20040529)。制备方法:称取750 g聚乙二醇4000,水浴80℃加热至熔融,保温。然后加入黄芩苷250 g,搅拌均匀,装入滴丸机内,并于60℃保温。通过管头滴入含有二甲基硅油(常温)的冷却剂中,滴制成丸(理论出丸数为25 000粒)。取出滴丸,并将二甲基硅油擦拭干净,装瓶,即得。

黄芩苷(四川协力制药有限公司,纯度:85%);聚乙二醇4000(辽阳华兴药用辅料厂);二甲基硅油(上海道康宁有限公司);甲醇为分析纯,水为去离子水;黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:0715-200212,供含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品1丸,加甲醇10 ml,超声(功率:120 W,频率:40 kHz)处理15 min,即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml含1 mg的溶液,即得。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取辅料,照“2.1.1”项下方法制备阴性对照溶液。

2.1.4 薄层色谱(TLC)条件及鉴别结果 照2010年版《中国药典》(一部)TLC法^[1]试验。吸取上述3种溶液各2 μl,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以醋酸为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%三氯化铁乙醇溶液,于105℃加热至斑点显色清晰,日

光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。黄芩素滴丸的TLC图见图1。

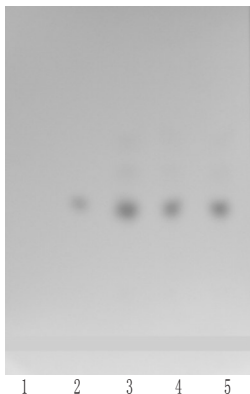


图1 黄芩素滴丸的TLC图

1.阴性对照;2.黄芩苷对照品;3~5.供试品

Fig 1 TLC of Baicalein dropping pills

1. negative control; 2. baicalein control; 3-5. test samples

2.2 检查

参照2010年版《中国药典》(一部)滴丸剂^[1]项下要求,检查了3批样品的重量差异、崩解时限与微生物限度,结果均符合规定。

2.2.1 重量差异 按照2010年版《中国药典》(一部)附录 I K^[1]方法检查,结果见表1。

表1 重量差异检查结果(mg/丸)

Tab 1 Results of weight variation tests (mg/pill)

批号	平均丸重(20丸)	丸重差异范围(±10%)	结果
20040527	42.144	37.93~46.36	40.94~44.08
20040528	41.796	37.62~46.10	39.77~43.73
20040529	42.331	39.10~46.56	39.12~43.99

2.2.2 崩解时限 按照2010年版《中国药典》(一部)附录 XII A^[1]方法检查,结果见表2。

表2 崩解时限检查结果

Tab 2 Results of disintegration time

批号	溶散时间(6丸),min	结果(规定时间为30 min内)
20040527	24	符合规定
20040528	24	符合规定
20040529	24	符合规定

2.2.3 重金属 取本品1.0 g,按照2010年版《中国药典》(一部)附录 IX E^[1]方法检查。结果,3批样品(批号:20040527、20040528、20040529)含重金属均小于百万分之二十,因此未将该项检查列入质量标准正文。

2.2.4 砷盐 取本品1.0 g,加2%硝酸镁乙醇溶液10 ml,点燃,燃尽后先用小火炽灼至炭化,再在500~600℃炽灼至完全灰化,放冷,加盐酸5 ml与水21 ml使溶解,按照2010年版《中国药典》(一部)附录 IX F^[1]方法检查。结果,3批样品(批号:20040527、20040528、20040529)含砷量均小于百万分之二,因此未将该项检查列入质量标准正文。

2.2.5 微生物限度检查 取本品1.0 g,按照2010年版《中国药

典》(一部)附录 XIII C^[1]方法检查。结果,3批样品(批号:20040527、20040528、20040529)微生物限度检查结果均符合规定。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Dikma C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm),用十八烷基硅键合硅胶为填充剂;流动相:甲醇-水-冰醋酸(60:40:1,V/V/V);检测波长:280 nm;柱温:30℃;流速:1 ml/min。理论板数按黄芩苷色谱峰计算应不低于4 000。色谱见图2。

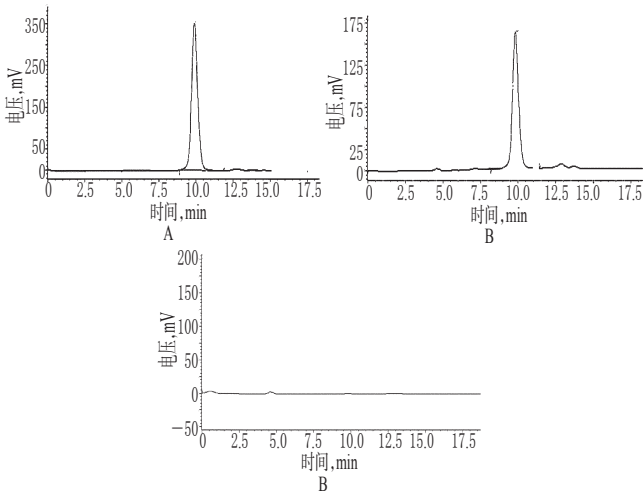


图2 高效液相色谱图

A.黄芩苷对照品;B.供试品;C.阴性对照

Fig 2 HPLC chromatograms

A. baicalein control; B. test sample; C. negative control

2.3.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml约含0.2 mg的溶液,摇匀,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取研细后的样品0.2 g,精密称定,置100 ml量瓶中,加甲醇70 ml,超声(功率:120 W,频率:40 kHz)处理30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 ml,置50 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,以微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 按处方配比精密称取辅料,再按“2.3.3”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3.5 标准曲线的制备 精密吸取0.207 9 mg/ml的黄芩苷对照品溶液2.5、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5 ml,分别置10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取10 μl注入液相色谱仪,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,测定峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标,进样量(x)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=3\,235\,125.95x-61\,791.76$ ($r=0.999\,9$, $n=6$)。结果表明,黄芩苷的进样量在0.519 75~1.559 25 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.3.6 精密度试验 取对照品溶液10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件注入液相色谱仪,重复进样6次,测定峰面积。结果,黄芩苷的平均峰面积积分值为2 681 745,RSD=0.39%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性试验 取同一批样品(批号:20040527)粉末

0.2 g,共6份,精密称定,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件精密吸取10 μl注入液相色谱仪,测定峰面积并计算样品含量。结果,每1 g样品平均含黄芩苷198.62 mg,RSD=1.78%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.3.8 稳定性试验 取同一批供试品溶液(批号:20040527)10 μl,分别于0、4、6、10、24 h注入液相色谱仪,测定峰面积。结果,黄芩苷的平均峰面积分值为2 665 735,RSD=0.94%(n=5),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.9 加样回收率试验 取同一批(批号:20040527)已知含量的样品适量,共6份,精密加入黄芩苷对照品20 mg,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件精密吸取10 μl,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests(n=6)						
称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$,%	RSD,%
0.100 8	20.02	20.97	40.52	97.75		
0.100 5	19.96	20.08	39.76	98.60		
0.101 0	20.06	20.33	39.82	97.19	97.61	1.10
0.101 0	20.06	20.68	39.89	95.89		
0.101 0	20.06	20.71	40.22	97.34		
0.100 4	19.94	20.43	40.14	98.87		

2.3.10 样品含量测定 取3批黄芩素滴丸样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算3批样品中黄芩苷的含量,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(mg/丸,n=3)

Tab 4 Results of content determination of samples (mg/pill, n=3)				
批号	黄芩苷含量1	黄芩苷含量2	黄芩苷含量3	$\bar{x}$
20040527	8.28	8.28	8.29	8.28
20040528	8.15	8.07	8.10	8.11
20040529	8.41	8.23	8.29	8.31

2.3.11 含量限度制定 样品的理论含量(以黄芩苷计)为8.3 mg/丸,故在理论含量基础上浮动±10%,可得本品含量限度,即每丸含黄芩素以黄芩苷(C₂₁H₁₈O₁₁)计,应为7.4~9.2 mg。

3 讨论

3.1 含量测定中流动相的考察

试验中参考2010年版《中国药典》(一部)“黄芩提取物”项下有关条件^[1],拟确定以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2,V/V/V)为流动相,检测波长为280 nm。由于本品为黄芩提取物的纯中药制剂,不存在杂质峰干扰定量的情况,又经考察辅料在280 nm波长处无吸收,故综合《中国药典》^[1]和有关文献^[2]对流动相系

统进行改进,适当提前出峰时间,选择以甲醇-水-冰醋酸(60:40:1,V/V/V)为流动相,既可保持较窄的峰宽,又可节省分析时间,分析效果较好。

3.2 含量测定中样品提取方法与提取时间的考察

3.2.1 提取方法的考察 取同一批(批号:20040527)样品适量,研细,精密称取0.2 g,分别加甲醇、70%甲醇、50%甲醇各70 ml,再分别采用超声30 min、加热30 min的方法处理样品,放冷,将提取液转移至100 ml量瓶中,用相应溶剂稀释至刻度,摇匀,滤过,精密吸取续滤液10 ml,置50 ml量瓶中,再用相应溶剂稀释至刻度,摇匀,微孔滤膜滤过,照上述方法测定样品中黄芩苷的含量,结果见表5。

表5 不同提取方法对应的样品含量(mg/g)

Tab 5 Contents of sample by different extraction method (mg/g)

提取方法	溶剂		
	甲醇	70%甲醇	50%甲醇
超声处理	207.52	191.14	78.10
加热回流	203.23	174.18	86.49

由表5可知,采用甲醇超声处理所测样品含量最高,故最终采用甲醇超声提取法。

3.2.2 提取时间的考察 取同一批(批号:20040527)样品适量,分别采取不同时间(15、30、45 min)超声处理,照上述方法测定样品中黄芩苷的含量,结果见表6。

表6 不同提取时间对应的样品含量(mg/g)

Tab 6 Contents of sample at different extraction time(mg/g)

超声时间,min	样品含量,mg/g
15	198.93
30	199.88
45	197.63

由表6可知,超声30 min所测样品含量最高,故采取超声30 min提取样品。

3.3 小结

综上,黄芩素滴丸的制备方法简单;所建质量标准均符合2010年版《中国药典》要求,可用于控制黄芩素滴丸的质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录34、附录9、附录71、附录50、附录79、391.
[2] 宋晓勇,魏磊.高效液相色谱法测定鼻复康口服液中黄芩苷的含量[J].中国药房,2004,15(9):567.

(收稿日期:2012-10-19 修回日期:2013-01-07)