

芩芩慢咽滴丸中牛蒡苷的含量及溶出度测定

李文志¹, 李海燕², 金华², 金向群^{2*}

(1. 吉林省神经精神病医院制药厂, 吉林 四平 136000; 2. 吉林大学药学院, 长春 130021)

[摘要] 目的: 对芩芩慢咽滴丸中牛蒡苷的含量及溶出度进行了测定, 以考察其内在的质量。方法: 采用十八烷基键合硅胶色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-0.2% 磷酸溶液(45:55)为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 280 nm, 并应用浆法, 对芩芩慢咽滴丸中牛蒡苷进行了溶出度测定。结果: 牛蒡苷的线性范围为 0.48 ~ 2.40 μg (r=0.999 6), 平均回收率 (n=6) 为 99.97% (RSD=0.47%); 并以含 0.5% 十二烷基硫酸钠的蒸馏水为溶剂, 转速 100 r·min⁻¹, 经 45 min, 溶出度为标示量的 75% 以上。结论: 该方法简单、迅速、可靠; 是控制中药复方内在质量的一种可行方法。

[关键词] 芩芩慢咽滴丸; 牛蒡苷; 溶出度; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0049-03

芩芩慢咽滴丸是吉林大学开发研制的中药新药(临床批件号为 2008L00707), 由蟾酥、黄芩和牛蒡子 3 味中药组成, 具有清热泻火、消肿止痛、解毒利咽之功效; 牛蒡苷是牛蒡中主要成分, 因此本试验采用高效液相色谱法对该制剂中牛蒡苷进行含量测定, 考虑到药物的溶出与否直接影响药物的疗效, 药物的成分在体内的溶出情况必然会影响其体内吸收, 而体外溶出度是药物体内溶出的指标, 是表征药品质量的重要依据^[1-3], 因此, 我们又采用 HPLC 法, 对该药中牛蒡苷的溶出度进行了含量测定, 为进一步评价和控制该药的质量建立了方法。

1 仪器与试剂

岛津 SPD-10A 高效液相色谱仪; LC-10AT 紫外

检测器; KQ-250 型超声波处理器; RCZ-8A 智能药物溶出仪(天津大学无线电厂)。

牛蒡苷对照品(715-200111) 购于中国药品生物制品检定所, 芩芩慢咽滴丸由吉林大学药学院研制, 甲醇为色谱纯, 磷酸为优级纯, 水为二蒸水。

色谱柱为迪马 C₁₈ 反相柱(3.5 μm, 4.6 mm × 150 mm); 甲醇-0.2% 磷酸溶液(45:55)为流动相; 检测波长为 280 nm, 理论板数按牛蒡苷峰计算不得低于 1 500。

2 含量测定

2.1 对照品溶液的制备 精密称取在五氧化二磷干燥器中减压干燥 24 h 的牛蒡苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.48 mg 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备 滴丸研碎, 取约 20 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 精密移取 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2000, (11): 873.

[3] 常新全, 丁丽霞. 中药活性成分分析手册[M]. 下册. 北京: 学苑出版社, 2002: 2042.

[4] T. T. Dong, Kui J. Zhao, Qiu T. Gao, et al.. Chemical and biological assessment of a Chinese herbal decoction containing Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis: determination of drug ratio in having optimized properties [J] J. Agric. Food Chem, 54 (2006): 2767.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 89, 229.

本实验建立同步测定丽安康片中两种成分的高效液相法, 实现不同数量级含量(淫羊藿苷含量约为 2.02 mg/片、阿魏酸 0.017 mg/片)的两种成分的同时测定, 不但节约实验成本, 而且为该类药物的指纹图谱研究等深入研究提供实验基础。

[参考文献]

[1] 胡益勇, 徐晓玉. 阿魏酸的化学和药理研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(2): 253.

[2] 韩冰, 杨峻山. 淫羊藿药理作用研究概况[J]. 中草药,

2.3 阴性对照溶液制备 按照莠苣慢咽滴丸的制备工艺制备不含牛蒡的药粉, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.4 阴性干扰实验 将配置好的对照品、供试品及

阴性对照溶液按上述色谱条件分别进样 10 μL , 结果表明: 阴性样品在与牛蒡苷对照品相应的位置上无干扰峰出现, 说明处方中其他药味对测定结果无影响。见图 1。

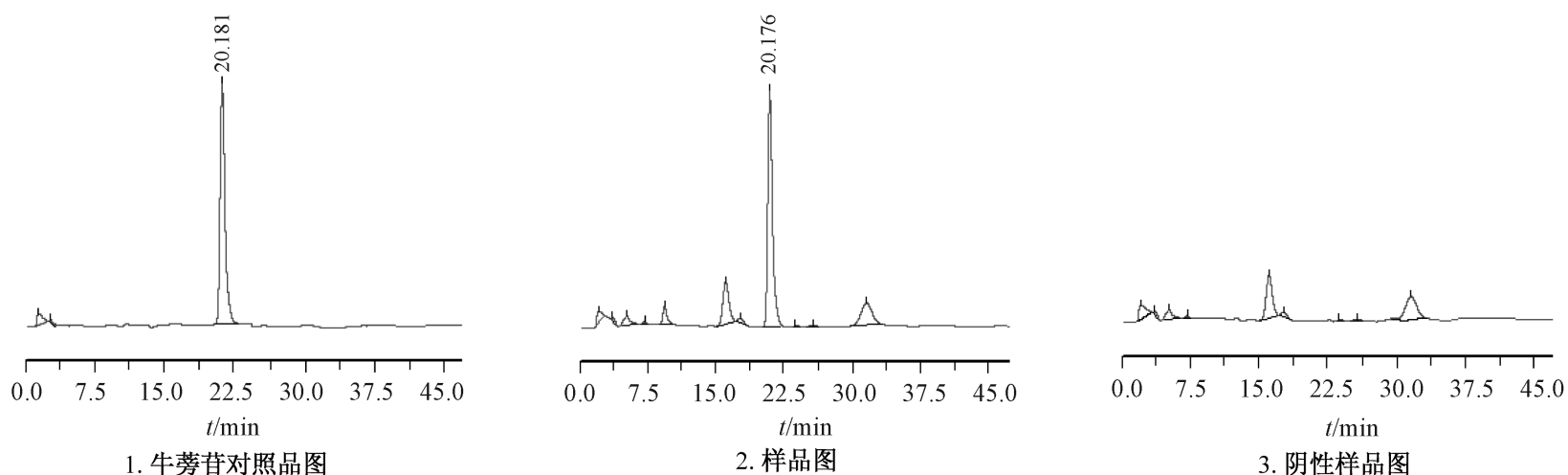


图 1 牛蒡苷 HPLC 图

2.5 线性关系的考察 精密称取在五氧化二磷干燥器中减压干燥 24h 的牛蒡苷对照品适量, 用甲醇制成每 1 mL 含 0.48 mg 的溶液, 分别精密吸取牛蒡苷对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL , 分别注入液相色谱仪, 以进样量为横坐标, 以峰面积值为纵坐标绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y=6.39 \times 10^5 X-1.72 \times 10^3$, $r=0.9996$, 牛蒡苷进样量在 0.48 ~ 2.4 μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度考察 取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μL , 计算相对标准偏差, RSD 为 0.74%, 表明精密度良好。

2.7 稳定性试验 分别取放置 4, 8, 12, 16, 24 h 的供试品溶液, 测定牛蒡苷的含量, 以考察其稳定性。RSD 值为 2.50%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性实验 取同一批号的莠苣慢咽滴丸, 研碎, 取适量, 6 份, 精密称定, 依法制备供试品溶液, 进行测定, 计算牛蒡苷的平均含量为 123.22 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.21%, 结果表明重复性良好。

2.9 加样回收率实验 精密称取牛蒡苷对照品适量, 加入到已测知牛蒡苷含量滴丸样品 (批号 20040205, 牛蒡苷含量为 123.22 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 中, 按供试品溶液制备方法操作, 制备供试品溶液, 测定牛蒡苷的含量, 计算回收率, 测定结果见表 1。

2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪中, 测定了 3 批样品中牛蒡苷的含量分别为 122.69, 124.17, 123.27 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 牛蒡苷回收率实验

No.	称样量 /g	样品中牛蒡苷含量/mg	对照品加入量/mg	实测值 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.1048	12.91	11.48	24.38	99.91	99.97	0.47
2	0.0992	12.22	12.21	24.37	99.51		
3	0.0910	11.21	12.14	23.41	100.49		
4	0.0933	11.50	12.52	24.08	100.48		
5	0.0932	11.48	12.44	23.93	100.08		
6	0.0948	11.68	12.62	24.22	99.37		

3 溶出度测定

3.1 对照品溶液及标准曲线的制备 精密称取牛蒡苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.042 mg 的溶液, 精密吸取牛蒡苷对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μL , 分别注入液相色谱仪, 测定。以进样量为横坐标, 以峰面积值为纵坐标, 回归方程为 $Y=4.37 \times 10^5 X-5.46 \times 10^3$, $r=0.9998$, 牛蒡苷在 0.084 ~ 0.42 μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

3.2 供试品溶液的制备 取莠苣慢咽滴丸 1 粒, 照溶出度测定法测定^[4], 以含 0.5% 十二烷基硫酸钠的蒸馏水溶液为溶剂, 转速 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 依法操作, 经 45 min 时, 取溶液适量, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液。

3.3 溶出度样品测定 按供试品溶液的制备方法分别制得 6 批供试品溶液, 精密吸取对照品 5 μL 和供试品溶液各 20 μL , 分别注入色谱仪, 记录色谱图, 按峰面积计算每粒牛蒡苷的溶出量。

3.4 不同转速对释放度的影响 由于不同转速对释放度有一定的影响, 因此, 进行如下试验, 结果见表 2。

表 2 牛蒡苷不同转速、不同时间条件下的释放度 /%

转速 / 转	30 min	45 min	60 min
50	65.1	71.2	81.9
80	75.1	80.1	85.7
100	88.9	97.1	98.5
120	89.1	98.0	98.9

结果表明: 牛蒡苷释放度在转速 50 和 80 $r \cdot \min^{-1}$ 条件下, 在 45 min 均符合释放度限量要求(45 min 释放 70% 以上); 而在 100 和 120 $r \cdot \min^{-1}$ 条件下, 在 45 min 的释放度结果没有显著差异, 因此, 将其定为 100 $r \cdot \min^{-1}$ 。

3.5 精密度和均一性试验 取样品 45 min 溶出液, 连续进样 6 次, 记录牛蒡苷峰面积, 以考察精密度; RSD 值为 0.72%, 表明其精密度良好。

对 3 批样品的释放度和同 1 批样品释放度的均一性进行了测定, 结果表明 3 批样品在 45 min 的释放度分别为 96.0, 95.4, 95.5%; 同 1 批样品在 45 min 释放度的 RSD 值为 0.43% ($n=6$)。

3.6 稳定性试验 取样品 45 min 溶出液于不同时间测定, 观察峰面积稳定性。分别取放置 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 的供试品溶液, 测定牛蒡苷的含量, 以考察其稳定性。RSD 值为 1.72%, 表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

3.7 加样回收率试验 精密称取牛蒡苷对照品适量, 加入到已测知牛蒡苷量的蒡苕慢咽滴丸中, 以含 0.5% 十二烷基硫酸钠的蒸馏水溶液为溶剂, 转速 100 $r \cdot \min^{-1}$, 依法操作, 测定牛蒡苷的含量, 计算回收率, 测定结果见表 3。

表 3 牛蒡苷回收率实验

No.	称样量 / mg	样品中牛蒡苷含量 / mg	对照品加入量 / mg	实测值 / mg	回收率 / %	柳 / %	RSD / %
1	19.8	7.82	2.31	10.17	101.73		
2	20.6	8.13	1.92	10.03	98.96		
3	21.1	8.33	1.40	9.73	99.28		
4	18.7	7.38	2.44	9.81	99.18	99.69	1.17
5	19.3	7.62	2.42	10.05	100.41		
6	20.1	7.94	2.14	10.05	98.60		

4 结果与讨论

本实验曾考察以甲醇-水 (1:1.1)、乙腈-0.5% 磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调 pH 值为 3.2) (32:68) 为流动相, 但是牛蒡苷色谱峰与本制剂中其他药味的色谱峰的分离效果较差, 最终选择了流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液 (45:55), 使制剂中的牛蒡苷与其他成分得到分离。

由于转篮法较为常用, 因此进行了试验, 结果发现由于蒡苕慢咽滴丸极其容易黏在篮体的网上, 对测定结果有较大的影响; 采用搅拌浆法, 可使蒡苕慢咽滴丸较好地分散在溶液中, 故选择搅拌浆法。

取蒡苕慢咽滴丸 1 粒, 照溶出度测定法测定, 以蒸馏水溶液为溶剂, 转速 100 $r \cdot \min^{-1}$, 依法操作, 结果发现, 溶液有较多小的颗粒在溶液中, 静止后, 小颗粒迅速沉于底部, 取溶液适量, 弃去初滤液, 取续滤液进行含量测定, 结果在 45 min, 牛蒡苷的溶出度均不符合要求, 但对不溶物进行了含量测定, 结果发现含量却较高, 考虑加入助溶剂来解决该问题, 因此采用含 0.5% 十二烷基硫酸钠的蒸馏水溶液为溶剂。

蒡苕慢咽滴丸溶出度试验质量标准: 取蒡苕慢咽滴丸 1 粒, 照溶出度测定法测定^[4], 以含 0.5% 十二烷基硫酸钠的蒸馏水溶液 250 mL 为溶剂, 转速为 100 $r \cdot \min^{-1}$, 依法操作, 经 45 min, 取溶液适量, 弃去初滤液, 取续滤液, 照含量测定项下的方法测定, 另精密称取牛蒡苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.04 mg 的溶液, 同法测定, 计算出每粒滴丸中牛蒡苷的溶出度; 牛蒡苷的溶出度应为样品实测值的 70% 以上。

[参考文献]

- [1] 韩玲玲, 胡容峰. 高效液相色谱法测定六味地黄丸的溶出度 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(4): 8.
- [2] 田书霞, 蒋晔, 李艳荣. HPLC 测定一清胶囊的溶出度 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 554.
- [3] 李海燕, 金向群. 酒肝清胶囊中甘草酸的溶出度测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(4): 6.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 73.