

# 复方银黄微型灌肠剂的稳定性研究

## Stability of Compound Yinhuang Enema

刘华钢 陈燕军 陈甲龙 何军  
Liu Huagang Chen Yanjun Chen Jialong He Jun

(广西中医学院 南宁市明秀东路 530001)

(Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, East Mingxiulu, Nanning, Guangxi, 530001)

**摘要** 根据初均速法原理,对复方银黄微型灌肠剂进行加速破坏实验,以绿原酸 ( $C_{15}H_8O_9$ ) 和黄芩甙 ( $C_{21}H_{18}O_{11}$ ) 的含量作为考察指标,用高效液相色谱法测定其含量变化,求得室温下有效期分别为 2.49 年和 1.80 年。

**关键词** 复方银黄微型灌肠 稳定性 初均速法 绿原酸 黄芩甙

中图分类号 R 944.12

**Abstract** An initial-uniform breaking velocity method was used to examine the stability of Yinhuang compound enema. The changes of the two contents were determined by HPLC. With contents of chlorogenic acid and baicalin as the indexes, the expiry dates for both contents were calculated, and 2.49 d for chlorogenic acid, 1.80 d for baicalin.

**Key words** Yinhuang compound enema, stability, initial-uniform breaking velocity method, chlorogenic acid, baicalin

复方银黄微型灌肠剂主要由黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 和金银花 (*Lonicera japonica* Thunb) 等药组成,具有清热、解毒、消炎等功效。其主要成分黄芩甙 (baicalin) 和绿原酸 (chlorogenic acid) 均具邻二酚羟基,久置会氧化降解<sup>[1]</sup>,温度可加速这一变化过程。本文以绿原酸和黄芩甙含量为指标,根据初均速法原理<sup>[2]</sup>,对该制剂进行加速破坏实验,用高效液相色谱法测定其含量的变化,建立直线回归方程,从而求出  $r$  值及室温有效期和活化能。

## 1 实验仪器与材料

### 1.1 仪器

LC-8A 高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD-6AV 可见紫外检测器, SCL-8A 系统控制器, C-R4A 数据处理机, LG15-W 型高速离心机 (北京医用离心机厂), UV-160A 紫外可见分光光度计 (日本岛津), 电热鼓风干燥箱 (南京实验仪器厂)。

### 1.2 材料

复方银黄微型灌肠剂 (自制,批号为 970201), 绿原酸与黄芩甙对照品 (中国药品生物制品检定所,批号分别为 753-8701 与 715-8501), 甲醇 (优级纯), 水 (去离子重蒸水), 其他试剂均为分析纯

## 2 方法与结果

### 2.1 高效液相色谱法测定绿原酸与黄芩甙的含量

#### 2.1.1 对照品溶液的制备

绿原酸对照品溶液的制备: 称取绿原酸对照品 4.3 mg, 用 20% 乙腈溶解并定容至 25 mL, 即得

黄芩甙对照品溶液的制备: 称取黄芩甙对照品 9.9 mg, 用 50% 甲醇溶液溶解并定容至 25 mL, 即得

#### 2.1.2 供试品的制备

吸取样品 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 20% 乙腈稀释至刻度, 再吸取 0.025 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 20% 乙腈稀释至刻度, 高速离心 (15 000 r/min, 15 min) 待用

#### 2.1.3 检测波长的确定

取绿原酸对照溶液, 以 20% 乙腈溶液为空白进行紫外扫描; 取黄芩甙对照品溶液, 以 50% 甲醇溶液为空白, 进行紫外扫描, 谱图见图 1 绿原酸的最大吸收波长  $\lambda_{max}$  为 326 nm, 黄芩甙的最大吸收波长  $\lambda_{max}$  为 280 nm

#### 2.1.4 色谱条件

绿原酸的色谱条件: Shim-pack CLC-ODS 柱 (15 cm $\times$  6.0 mm); 柱温: 室温; 检测波长: 326 nm; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸 (22:7& 1); 流速: 1 mL/min; 纸速: 2.5 mm/min; 灵敏度: 0.02 AUFS

黄芩甙的色谱条件: Shim-pack CLC-ODS柱 (15 cm× 6.0 mm), 柱温: 室温; 检测波长: 280 nm; 流动相: 甲醇-水-磷酸-三乙胺 (60:40:0.2:2滴); 流速: 1 mL/min; 纸速: 10 mm/min; 灵敏度: 0.02 AUFS

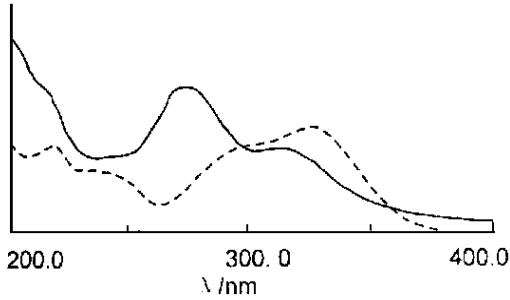


图1 黄芩甙与绿原酸的紫外吸收谱图

Fig. 1 Baicalin and chlorogenic acid UV spectrum  
—: 黄芩甙 Baicalin; ·····: 绿原酸 Chlorogenic acid.

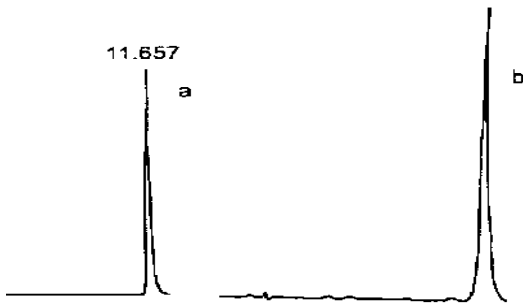


图2 黄芩甙与绿原酸对照品色谱图

Fig. 2 Baicalin and chlorogenic acid collator chromatogram  
a 绿原酸 Baicalin; b 黄芩甙 Chlorogenic acid.

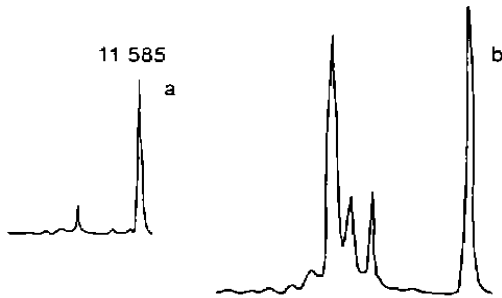


图3 样品色谱图

Fig. 3 Sample chromatogram

a 绿原酸 Baicalin; b 黄芩甙 Chlorogenic acid.

## 2.1.5 标准曲线的制备

### 2.1.5.1 绿原酸标准曲线的制备

分别取绿原酸对照品溶液 0.25 mL, 0.50 mL, 0.75 mL, 1.00 mL, 1.25 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 20% 乙腈至刻度, 高速离心 (15 000 r/min, 15 min), 按上述色谱条件进样, 进样量 20 μL, 色谱图见图 2, 以进样量为  $x$  轴, 峰面积为  $y$  轴, 绘制标准曲线。其回归方程为  $y = 188.186.0465x - 1.914$ ,  $r =$

0.9999, 表明绿原酸对照品在 0.086 μg ~ 0.43 μg 范围内具有良好的线性关系。

### 2.1.5.2 黄芩甙标准曲线的制备

分别取黄芩甙对照品溶液 0.01 mL, 0.03 mL, 0.05 mL, 0.07 mL, 0.09 mL, 各用 50% 甲醇溶液稀释至 1 mL, 在上述色谱条件下, 各以 15 μL 进样测定峰面积, 色谱图见图 2; 以进样量为  $x$  轴, 峰面积为  $y$  轴, 绘制标准曲线。其回归方程为  $y = 2.413.075 + 2.041.028 \times 10^5 x$ , 相关系数  $r = 0.9997$  表明黄芩甙对照品在 0.059 μg ~ 0.53 μg 范围内具有良好的线性关系。

## 2.2 初均速加速破坏法实验

### 2.2.1 方法<sup>[2]</sup>

取复方银黄微型灌肠剂 4 支 (每组), 置电热鼓风干燥箱内经下述不同温度及时间进行恒温加速破坏实验 (见表 1), 到时间后立即取出用冷水冷却至室温, 终止反应。分别将每组的样品打碎混匀, 用 HPLC 测其绿原酸与黄芩甙含量。

### 2.2.2 测定结果

数据处理的数学模型为以绿原酸和黄芩甙的初始浓度为  $C_{0j}$ , 将在不同温度 ( $T_i$ ) 和相对应时间 ( $t_i$ ) 时所测浓度分别转换成残存率 (表 1); 色谱图见图 3 按下式计算不同温度下的初速度<sup>[2]</sup>

$$V_{0j} = (C_{0j} - C_{ij}) / t_i$$

式中  $C_{0j}$ ,  $C_{ij}$  分别为绿原酸和黄芩甙在室温下与不同实验温度下的浓度;  $t_i$  是与温度相对应的恒温时间 ( $h$ ), [ $j = 1$  (绿原酸),  $2$  (黄芩甙);  $i = 1, 2, 3, \dots, m$ ]

以  $\lg V_{0j}$  对  $1/T$  回归, 得直线回归方程  $\lg V_{0j} = a + b/T_i$  和直线相关系数  $r$ , 再根据 Arrhenius 公式  $\lg V_{0j} = [-E/(2.303 \times RT_i)] + \lg A$ , 式中  $R$  为气体常数,  $R = 1.987 \text{卡} \cdot \text{度}^{-1} \cdot \text{克分子}^{-1}$  求出活化能  $E$ 。

由直线回归方程求出室温 (298 K) 下的  $\lg V_{298K}$ , 由反对数求得  $V_{298K}$ 。

由  $V_{0j} = (C_{0j} - C_{ij}) / t_i$  求出室温贮存期, 即计算  $T = 298 \text{ K}$  时  $100\% - C\% = 10\%$  时的时间  $t$ , 得  $t_{0.9}^{25C}$ 。

绿原酸数据处理结果:  $\lg V_{01} = 19.824.237 - 6902.652.72 / T$ ,  $|r| = 0.9918$ ,  $E = 31.58.696 \text{ KCal/mol}$ ,  $V_{298K} = 4.581.137 \times 10^{-4} h^{-1}$ ,  $t_{0.9}^{25C} = 2.49$  年。

黄芩甙数据处理结果:  $\lg V_{02} = 20.727.948 - 7129.837.18 / T$ ,  $|r| = 0.9855$ ,  $E = 32.626.57 \text{ KCal/mol}$ ,  $V_{298K} = 6.343.36 \times 10^{-4} h^{-1}$ ,  $t_{0.9}^{25C} = 1.80$  年。

表 1 加速破坏实验数据

Table 1 Initial-uniform breaking velocity test data

恒温时间 Thermostatic time $t_i$ (h)	温度 Temperature $T_i$ (K)	绿原酸含量 $C_{i1}$ Chlorogenic acid content (%)	黄芩甙含量 $C_{i2}$ Baicalin content (%)
1	363	93.93	89.08
2	358	94.61	90.96
3	353	95.03	91.87
4	348	95.30	90.53
5	343	96.55	93.35
6	338	97.89	96.32
7	333	99.12	98.26
8	328	99.66	99.28
9	323	99.76	99.75

### 3 讨论

金银花和黄芩是银黄微型灌肠剂中的主要药物,绿原酸是金银花中比较明确的有效成分之一,黄芩甙是黄芩中比较明确的有效成分之一,因此本文以绿原酸和黄芩甙的含量变化为指标

待测组分与杂质在本文色谱条件下达到良好的分离效果,所得回归方程满意.表明,应用高效液相色谱法测定银黄微型灌肠剂中主要成分绿原酸和黄芩甙的含量变化是可行的

采用初均速法测定的绿原酸和黄芩甙活化能数据与文献 [4 报道 27.4 Kcal/mol 27.0Kcal /mol相近,表明预测的有效期可作为控制该制剂质量标准的一个参考数据.

### 参考文献

- 徐凯建,张慧君,吴琳华等.双黄连气雾剂稳定性研究.中国中药杂志, 1992, 17 (3): 157.
- 庞贻慧,鲁纯素.药物稳定性预测方法的简化——初均速法.药学学报, 1982, 17 (3): 207.
- 韩修林,何雁,姚松林.计算机在研究银黄注射液稳定性中的应用.中成药, 1994, 16 (11): 51.
- 吕方军,蓝琪田,罗国安.薄层扫描法预测银黄注射液的稳定性.中草药, 1988, 19 (10): 17.

(责任编辑: 蒋汉明 邓大玉)

(上接第 12 页 Continue from page 123)

- with glutathione S-transferase. Gene, 1989, 67: 31-40.
- Ounissa Ait-Ahmed, Michèle Thomas-Cavallin, Roland Rosset. Isolation and characterization of a region of the *Drosophila* genome which contains a cluster of differentially expressed maternal gene (yema gene region). Dev Biology, 1987, 122: 153-162.
  - Ounissa AIT-AHMED, Ruth GRIFFIN-SHEA, Christine VOLA et al. Isolation of developmentally regulated genes in *Drosophila melanogaster*. Biology of the Cell, 1988, 62: 57-64.
  - Roland Rosset, Michèle Thomas-Cavallin, Ounissa Ait-Ahmed. Anns Soc ent Fr (N S), 1988, 24 (4): 407-411.
  - Ounissa Ait-Ahmed, Bernard Bellon, Michèle Capri et

al. The yema nuclein- $\alpha$ : a new *Drosophila* DNA binding protein specific for the oocyte nucleus. Mechanisms of Development, 1992, 37: 69-80.

- Christine Joblet, Ounissa Ait-Ahmed. A straightforward and reliable method for the determination of the polarity of transcription units: application to the study of the *Drosophila* yema gene cluster, Methods in Molecular and Cellular Biology, 1990, 2: 44-51.
- Ounissa Ait-Ahmed, Michèle Thomas-Cavallin, Christine Joblet et al. Expression in the central nervous system of a subset of the yema maternally acting genes during *Drosophila* embryogenesis. Postembryonic expression extends to imaginal discs and spermatocytes. Cell Differentiation and Development, 1990, 31: 53-65.

(责任编辑: 蒋汉明 黎贞崇)