

·中药制剂与工艺·

黄芩苷的处方前研究

李朝,夏新华,周宇,张驰,颜红*
(湖南中医药大学药学院,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 通过处方前研究,阐明黄芩苷原料药(质量分数为85.5%)的基本理化性质。**方法** 采用HPLC法测定黄芩苷含量,分别进行黄芩苷的平衡溶解度、油水分配系数、破坏性试验、吸湿性考察等处方前研究。**结果** 原料药中黄芩苷在水中的平衡溶解度为0.0326 mg/mL,较甲醇、正丁醇、乙醇等溶剂低;在pH小于5.0的磷酸盐缓冲液中几乎不溶,其平衡溶解度随着pH值的增大呈增大的趋势;黄芩苷在正辛醇/水中的油水分配系数(P值)为1.19,在正辛醇/磷酸盐缓冲液(pH 2~10)中的P值均比正辛醇/水中的低;黄芩苷不耐碱,且易被氧化;在温度25℃、RH 75%条件下吸湿性较小。**结论** 该研究可为黄芩苷新制剂原料与剂型的选择、处方设计及工艺优化等提供实验依据。

[关键词] 黄芩苷;处方前研究;HPLC

[中图分类号] R283.6

[文献标识码] B

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.07.013

Preformulation Study on Baicalin

LI Chao, XIA Xinhua, ZHOU Yu, ZHANG Chi, YAN Hong*

(School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To illustrate the basic physicochemical characteristic of active pharmaceutical ingredient baicalin (mass fraction 85.5%) by preformulation study. **Methods** The content of baicalin was determined by HPLC. The equilibrium solubility, oil-water partition coefficient and destructive testing on baicalin of preformulation was studied. **Results** The equilibrium solubility of baicalin in water was 0.032 6 mg/mL. It was almost insoluble in the phosphate buffer solutions with pH value under 5.0, but its solubility increased with the increasing of pH. The oil-water partition coefficient (P) of baicalin in n-octyl alcohol/water was 1.19, higher than in n-octyl alcohol/ phosphate buffer solutions with pH values of 2~10. Baicalin was not alkali-resistant and easy to be oxidized. The hygroscopicity of baicalin is lesser under the condition of 25℃ and RH75%. **Conclusion** The above results can provide experimental basis for selection of active pharmaceutical ingredients and dosage forms, prescription design and process optimization of new baicalin preparation.

[Keywords] baicalin; preformulation; HPLC

黄芩苷(baicalin)是唇形科植物黄芩中的一种黄酮类化合物,具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤^[1-2]等多种生物活性。黄芩苷及其制剂虽应用广泛,但存在口服吸收差、生物利用度低、水溶性及脂溶性差、体内半衰期短等不足^[3],从而限制了黄芩苷类制剂在临床上的应用。目前有关黄芩苷的理化性质的研究,已有一些文献报道了其平衡溶解度与油水分配系数等的测定,但发现不同文献所获得的相关数据存在较大差异^[4],这可能与所用分析方法或黄芩

苷所处化学环境(如单一成分与复方制剂)不同有关^[5]。因此,推测不同纯度黄芩苷原料药的理化性质可能由于化学环境(即共存成分)不同会有一些差异。考虑到高纯度黄芩苷原料药(质量分数98.0%以上)的理化性质研究已有报道,而其它纯度规格的黄芩苷原料药未见有相关报道,故选择常见市售纯度规格的黄芩苷原料药(质量分数为85.5%)作为研究对象,对其进行较为系统的处方前研究,以期为该纯度规格的黄芩苷原料药的应用及其新制剂的

[收稿日期] 2016-01-05

[基金项目] 湖南省“十二五”中药学重点学科建设项目(湘教通[2011]76号)。

[作者简介] 李朝,女,在读硕士研究生,从事中药新制剂及制剂质量标准的研究。

[通讯作者] *颜红,女,副教授,硕士研究生导师,E-mail:yh8632@126.com。

研发提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 主要仪器

高效液相色谱仪 (Waters2489 检测器, Waters1525 二元高压泵, 美国沃特斯公司); 电动离心机(80-1 型, 江苏城西晓阳电子仪器厂); pH 计(SG2 型, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 电子天平(YP601N 型, 上海恒平科学仪器有限公司); 分析天平(TE-214S, 德国赛多利斯集团); 恒温培养箱(SPX-250B, 上海博泰实验设备有限公司)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110715-201318, 质量分数 93.3%); 黄芩苷原料药(诸城市浩天药业有限公司, 批号 YK20150201, 质量分数 85.5%); 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷的含量测定

2.1.1 色谱条件^[6] Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.2%磷酸水(47:53), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 30 ℃。

2.1.2 标准曲线的建立 对照品溶液的配制精密称取黄芩苷对照品 0.003 8 g, 置 25 mL 量瓶中, 加适量甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得 0.152 mg/mL 的黄芩苷标准溶液。

精密量取黄芩苷标准溶液 0.2、0.4、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 配制成 0.003 04、0.006 08、0.015 2、0.030 4、0.045 6、0.060 8 mg/mL 的系列对照品溶液, 分别进样 10 μL, 记录峰面积, 以黄芩苷峰面积为纵坐标, 黄芩苷质量浓度为横坐标, 得线性回归方程:

$$y=3 \times 10^7 x - 12189 (r=0.9995)$$

结果表明黄芩苷在 3.04~60.8 μg/mL 与峰面积呈良好线性关系。

2.2 黄芩苷平衡溶解度(S)的测定

2.2.1 黄芩苷在不同溶剂中的平衡溶解度测定^[7] 取过量黄芩苷样品 10 份, 分别置于 10 mL 离心管中, 再分别加入甲醇、95%乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、正辛醇、乙腈、环己烷、丙酮、蒸馏水(各 5 mL), 超声使药物不再溶解, 再放入恒温摇床中, 在 25 ℃、150 次/min 的条件下振荡 48 h, 经 0.45 μm

微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液 1 mL, 用甲醇稀释至适当浓度, 按“2.1”项下方法测定黄芩苷的含量并计算平衡溶解度, 结果见表 1。

表 1 黄芩苷在不同溶剂中的平衡溶解度

溶剂	平衡溶解度(mg/mL)	溶剂	平衡溶解度(mg/mL)
甲醇	2.211 9	乙腈	0.081 4
正丁醇	0.801 7	蒸馏水	0.032 6
乙醇	0.376 7	乙酸乙酯	0.009 8
丙酮	0.298 4	二氯甲烷	0.000 04
正辛醇	0.134 4	环己烷	0.000 01

2.2.2 黄芩苷在不同 pH 缓冲溶液中的平衡溶解度测定 配制 pH 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、6.8、7.0、7.4 的磷酸盐缓冲溶液。分别取各种不同 pH 的磷酸缓冲溶液 5 mL 置于 10 mL 具塞离心管中, 加入过量黄芩苷样品, 超声使药物不再溶解, 余下同“2.2.1”操作, 用相应 pH 磷酸缓冲溶液稀释至适当浓度, 按“2.1”项下方法测定黄芩苷含量并计算黄芩苷在不同 pH 缓冲溶液中的平衡溶解度, 结果见表 2。

表 2 黄芩苷在不同 pH 缓冲液中的平衡溶解度

pH	平衡溶解度(mg/mL)	pH	平衡溶解度(mg/mL)
2.0	0.005 8	7.0	39.736 0
3.0	0.004 9	7.4	5.248 6
4.0	0.021 4	8.0	19.242 2
5.0	0.262 5	9.0	2.765 3
6.0	6.766 3	10.0	8.201 5
6.8	18.778 1		

2.2.3 黄芩苷在不同表面活性剂中的平衡溶解度测定 取过量黄芩苷样品置于 10 mL 具塞离心管中, 分别加入浓度为 0.02 g/mL 的吐温-80、OP-10、PEG100、十二烷基磺酸钠溶液各 5 mL, 超声至药物不再溶解, 余下操作步骤同“2.2.1”, 结果见表 3。

表 3 黄芩苷在不同表面活性剂中的平衡溶解度

表面活性剂	平衡溶解度(mg/mL)
PEG400	0.090 7
吐温 80	0.525 9
OP-10	0.886 3
十二烷基磺酸钠	30.305 4

2.3 黄芩苷油水分配系数的测定^[8]

精密称取黄芩苷样品 0.007 7 g, 置于 50 mL 量瓶中, 用水饱和的正辛醇溶液溶解并定容至刻度, 得 0.132 1 mg/mL 的正辛醇溶液。精密量取 12 份上述正辛醇液 2 mL, 置 10 mL 具塞离心管中, 分别精

密加入正辛醇饱和的水, pH 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、6.8、7.0、7.4、8.0、9.0、10.0 的磷酸缓冲溶液各 2 mL, 放入恒温摇床中, 在 25 °C、150 次/min 的条件下振荡 24 h, 静置分层后, 离心 (3 000 r/min, 15 min), 精密量取上层油相过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液 1 mL, 用甲醇稀释至适当浓度, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录峰面积, 按外标法根据峰面积计算油相中黄芩苷的浓度 C_1 , 计算油水分配系数 P 值。计算公式如下:

$$P=C_1/C_0-C_1$$

上式中, P 为黄芩苷的表观油水分配系数, C_0 为黄芩苷在正辛醇中的初始浓度 (mg/mL), C_1 为药物分配平衡时在油相中的浓度 (mg/mL), C_0-C_1 为药物分配平衡时在水相中的浓度 (mg/mL)。结果见表 4。

表 4 黄芩苷的油水分配系数

pH	P 值	pH	P 值
蒸馏水	1.190 2	6.8	0.016 4
2.0	1.124 6	7.0	0.025 0
3.0	0.451 5	7.4	0.003 6
4.0	0.312 8	8.0	0.001 2
5.0	0.116 2	9.0	0.001 0
6.0	0.014 7	10.0	0.000 7

2.4 破坏性试验^[9-10]

精密量取黄芩苷样品溶液 (0.272 8 mg/mL) 1 mL, 共 4 份, 分别加 0.1 mol/L HCl、0.1 mol/L NaOH、0.3% H_2O_2 和 0.01% $NaHSO_3$ 溶液定容至 10 mL, 放置分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 取样, 按“2.1”项下方法分别测定黄芩苷的含量, 结果分别见图 1~4, 24 h 的破坏率结果见表 5。

2.5 吸湿性测定

将底部盛有氯化钠过饱和溶液的玻璃干燥器放入 25 °C 的恒温培养箱内恒温 24 h (此时干燥器内的相对湿度为 75%), 将恒重后的黄芩苷样品粉末放入已恒重的称量瓶中 (厚度约 2 mm), 精密称定后置于上述玻璃干燥器内 (称量瓶盖打开) 于 25 °C 保存, 分别于 2、4、6、8、12、24、36、48、60、72、84、96、120 h 精密称重, 计算吸湿百分率, 并以时间 (h) 为横坐标, 吸湿百分率为纵坐标进行作图。结果表明, 黄芩苷样品在 24 h 后吸湿百分率约 1.3%, 属于微吸湿, 在 48 h 后吸湿达到饱和 (见图 5)。

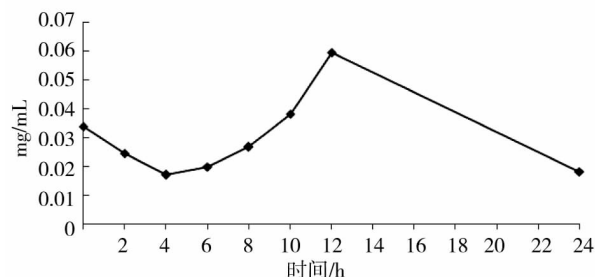


图 1 黄芩苷在 0.1 mol/L HCl 溶液中浓度随时间的变化曲线

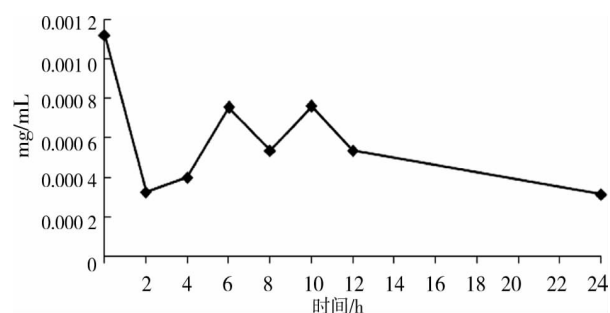


图 2 黄芩苷在 0.1 mol/L NaOH 溶液中浓度随时间的变化曲线

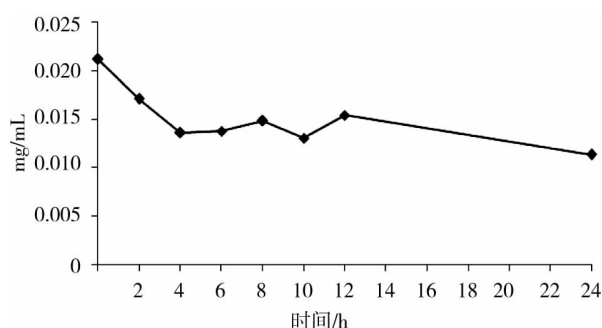


图 3 黄芩苷在 0.3% H_2O_2 溶液中浓度随时间的变化曲线

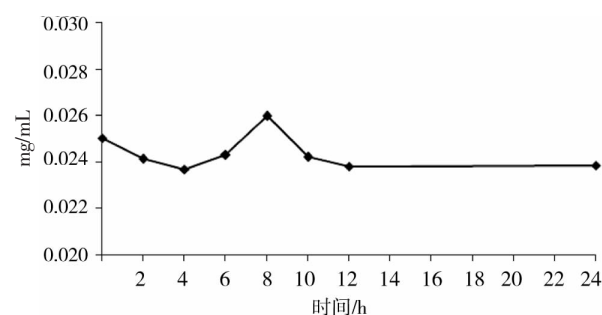


图 4 黄芩苷在 0.01% $NaHSO_3$ 溶液中浓度随时间的变化曲线

表 5 黄芩苷 24 h 破坏性试验

	初始浓度(mg/mL)	破坏后浓度(mg/mL)	破坏率(%)
酸破坏	0.027 3	0.018 4	32.6
碱破坏	0.027 3	0.000 3	98.9
氧化破坏	0.027 3	0.011 3	58.6
还原破坏	0.027 3	0.023 8	12.8

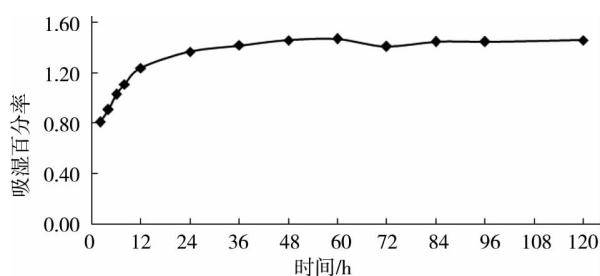


图5 黄芩苷的吸湿性曲线

3 讨论

本文采用纯度为 85.5% 的黄芩苷原料药为研究对象,测得的黄芩苷油水分配系数、平衡溶解度等数据与已有文献中报道的数据(纯度为 98.0% 以上或复方制剂中的黄芩苷)存在差异^[11],进一步说明黄芩苷所处的化学环境(共存成分)不同,其理化性质会受到影响。因此,在设计黄芩苷新制剂时,应注意原料纯度对其理化性质的影响及原料纯度规格的选择。

实验结果显示,黄芩苷在蒸馏水(pH 5.8)及与此 pH 接近的磷酸盐缓冲液中的平衡溶解度、油水分配系数均相差很大,即在相近的 pH 条件下,缓冲盐可明显增加黄芩苷在水中的溶解性。黄芩苷在磷酸盐缓冲液中的平衡溶解度随着 pH 值的增大呈增大的趋势,这可能与黄芩苷分子结构中含羧基具弱酸性易成盐有关。当 pH 大于 7.0 时,黄芩苷在水溶液中测得的量有所下降,这可能是由于黄芩苷在碱性环境中极不稳定,易水解生成苷元黄芩素,而黄芩素分子结构中的邻三酚羟基极易被氧化为醌类衍生物所致。破坏性实验结果也进一步证明,碱性环境对黄芩苷的破坏性很大,达到了 98.9%。因此,在进行黄芩苷的液体制剂处方设计时,应控制其所处环境 $\text{pH} \leq 7.0$,以避免其降解破坏。

黄芩苷在正辛醇-水中的油水分配系数 $P > 1$,表明黄芩苷较难溶于水;黄芩苷在正辛醇-磷酸缓冲溶液(pH 2~10)中的油水分配系数 P 值均比正辛醇-水中的 P 值低,且随着磷酸缓冲溶液的 pH 值的增大,P 值总体呈减小趋势,表明磷酸缓冲盐的存在可增加黄芩苷在水相中的分配程度,并且可随磷酸

缓冲溶液 pH 值的增加而进一步增加其在水相中的分配,这可能是由于黄芩苷为弱酸性黄酮类化合物,当 pH 值增加时,黄芩苷的解离程度增大,更多的转变为易溶于水的离子型,而使其在水相中的分配增加,油水分配系数减小。

本实验考察了黄芩苷在酸、碱、氧化、还原等条件下的稳定性,由结果可知,黄芩苷在上述破坏溶液中的变化并无规律可循,其原因尚待进一步的考察。另外,吸湿性试验显示黄芩苷的吸湿性低,这可能是由于其水溶性差所致。

药物的理化参数(如溶解度、油水分配系数及在不同环境中的稳定性等)与其在生物体内的转运过程及作用部位的有效质量浓度密切相关,本文对黄芩苷原料药(质量分数为 85.5%)进行较为系统的处方前研究,可为其新制剂原料与剂型选择、处方设计及工艺优化等提供实验依据。

参考文献:

- [1] 辛文好,宋俊科,何国荣,等.黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J].中国新药杂志,2013,21(6):647-653,659.
- [2] 汤立建,赵良才,李庆林,等.黄芩黄酮类成分抗肿瘤作用及机制研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(1):21-23.
- [3] 黄志军.黄芩苷药理作用研究进展[J].天津药学,2012,24(3):61-64.
- [4] 何琳,丁沐淦,卢秀霞,等.黄芩苷在不同 pH 值缓冲液中理化常数的测定[J].西北药学杂志,2012,27(3):208-211.
- [5] 王雷,王学艳,周雪琴,等.黄芩苷在不同溶媒中的稳定性研究[J].中国药师,2006,9(2):129-131.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2015:301.
- [7] 康传哲,张明珠,陈岩,等.10-甲氧基喜树碱平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(9):133-136.
- [8] 栾春芳,刘祝东,普绍平,等.铂抗癌药物顺铂破坏性试验的研究[J].贵金属,2007,28(8):56-61.
- [9] 陈宏,栾春芳,丛艳伟,等.铂类抗肿瘤药物甲铂破坏性试验研究[J].贵金属,2015,36(1):41-45.
- [10] 王弘,陈济民,张清民.黄芩苷的物化常数测定[J].沈阳药科大学学报,2000,17(2):105-106.
- [11] 林婉婷,龙晓英,陈文荣,等.葛根素、黄芩苷、小檗碱及其在葛根芩连制剂(汤剂及微丸)中溶解度及油水分配系数的比较[J].广东药学院学报,2014,30(5):533-538.

(本文编辑 苏维)