

复方泰乐菌素颗粒剂的品质控制*

熊永洁,李引乾*,朱晓娟,张冠世,关永娟,梁冠祥,王 军,尚红梅

(西北农林科技大学 动物医学院,陕西杨凌 712100)

摘要:对制备出的复方泰乐菌素颗粒剂进行质量控制检测。紫外分光光度法测定复方泰乐菌素颗粒剂中的泰乐菌素和黄芩苷含量。建立复方泰乐菌素颗粒剂的紫外检测方法,泰乐菌素的平均回收率 96.90%,日内平均 RSD 为 0.0903%,日间平均 RSD 为 0.1563%,泰乐菌素平均含量为 97.0 mg/g;黄芩苷的平均回收率为 101.35%,日内平均 RSD 为 0.5553%,日间平均 RSD 为 0.4808%,黄芩苷的平均含量为 57.1 mg/g。粒度、干燥后质量损失和溶化性符合要求。经筛选后处方制备的复方泰乐菌素颗粒剂符合品质要求和含量要求,本方法操作简便、结果准确。

关键词:泰乐菌素;黄芩苷;颗粒剂;品质控制

中图分类号:S859.79⁺6

文献标识码:A

文章编号:1004-1389(2010)03-0026-05

Quality Control of Compound Tylosin Granule

XIONG Yongjie, LI Yinqian*, ZHU Xiaojuan, ZHANG Guanshi, GUAN Yongjuan,
LIANG Guanxiang, WANG Jun and SHANG Hongmei

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: To investigate the quality control of compound Tylosin granule, the UV-spectrophotometer was used to survey the contents of Tylosin and baicalin in Compound Tylosin Granule. The UV detection method for Compound Tylosin Granules was established. The average recovery of Tylosin was 96.90%, the RSD within a day was 0.0903% and the assay precision RSD between days was 0.1563%, the average content of Tylosin was 9.70% as well. The average recovery of baicalin was 101.35%, the RSD within a day was 0.5553% and the RSD between days was 0.4808%, the average content of Baicalin was 5.71% as well. Granularity, dry agravity, and nature of dissolve meet the requirements. The grains prepared by the optimum formulation meet the requirements on quality and content, this method was simple and accurate.

Key words: Tylosin; Baicalin; Granule; Quality control

泰乐菌素(Tylosin)是由弗氏链霉菌产生的一种大环内酯类动物专用抗生素,兽医临床上常将泰乐菌素制成酒石酸盐和磷酸盐,具有抗菌谱广、临床应用范围广、促生长作用明显、毒副作用小、残留量低^[1]等特点。在兽医临床上,泰乐菌素对支原体有特效,是治疗畜禽支原体疾病的首选药物。在畜禽饲养业,泰乐菌素广泛应用于鸡、猪、牛的饲料中,能明显促进畜禽生长,提高生长

速率,缩短饲养周期,提高饲料利用率和经济效益^[2]。

黄芩是唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的根。黄芩味苦,性寒,归肺、心、肝、胆、大肠经,清热泻火,燥湿解毒,止血、安胎,主治肺热咳嗽、热病高热神昏、肝火头痛、目赤、湿热黄疸、泻痢、热淋、吐衄、崩漏、胎热不安^[3]。黄芩苷(baicalin)是黄芩有效成分之一,属

* 收稿日期:2009-07-09 修回日期:2009-09-23

作者简介:熊永洁(1984-),男,云南建水人,在读硕士,专业方向为兽医药理学。E-mail:xyj-6110@163.com

* 通讯作者:李引乾(1962-),男,陕西岐山人,副教授,博士,主要从事兽医药理学与毒理学研究。

葡萄糖醛酸苷类。近年来,随着研究的逐步深入,证明黄芩苷抗菌谱较广,对多种细菌、皮肤真菌、钩端螺旋体等都有抑制作用。还发现其具有镇静、降压、清除自由基、抗心律失常^[4],抗肺炎衣原体所致的动脉粥样硬化作用,对缺血再灌注损伤的大脑和心肌具有保护作用^[5-6],对不同原因引起的肝损伤具有保护作用^[7],能显著促进成纤维细胞增殖,对牙周膜成纤维细胞具有保护作用^[8],在体外对某些寄生虫均有明显的抑制和杀灭作用^[9],在调节免疫^[10]、促进细胞凋亡以及抗肿瘤^[11]、抗癌^[12]和 HIV^[13]等方面均有作用。

目前,泰乐菌素已被制成可溶性粉、注射液、预混剂等多种制剂,但复方制剂报道少见,本研究拟以酒石酸泰乐菌素为主,加入具有抗菌作用的中药黄芩,制备出抗菌效果好的复方酒石酸泰乐菌素颗粒剂。

1 材料与方 法

1.1 试 材

1.1.1 仪器 SPECORD 50 紫外分光光度计,德国耶拿(jena)分析仪器股份公司产品;KQ 5200 超声波发生器,昆山市超声仪器有限公司产品;DH-420AS 型电热恒温培养箱,北京科伟永兴仪器有限公司产品;标准检验药筛,浙江省上虞市大亨桥化验仪器厂产品。

1.1.2 药品和试剂 复方泰乐菌素颗粒剂,西北农林科技大学动物医学院药理教研室研制,批号 090416;酒石酸泰乐菌素原料药(含量 98%),批号 080827,武汉远城科技发展有限公司生产;黄芩苷粉(含量 70%),批号 XC081105,西安小草植物科技有限公司生产; β -环糊精,批号 20071220,上海山浦化工有限公司生产;蔗糖,批号 0807142,广东汕头市西陇化工厂生产;可溶性淀粉,批号 080426,成都金山化学试剂有限公司生产;黄芩苷对照品,批号 110715-200815,中国药品生物制品检定所提供。

1.2 方 法

1.2.1 性状检查 对颗粒剂的颗粒大小,颜色等作出评价。

1.2.2 粒度测定 取单剂量已装的复方颗粒剂 5 包,称定质量,置药筛内保持水平状态过筛,左右往返,边筛动边拍打 3 min。取不能通过小号筛和能通过大号筛的颗粒及粉末称定质量,计算其所占比例(%)。

1.2.3 干燥后的质量损失 取供试品复方制剂约 1 g,置于与供试品相同条件下干燥至恒质量的扁形称量瓶中,精密称定,在 105 ℃ 干燥至恒质量,由减失的质量和取样量计算出供试品干燥后的质量损失。

1.2.4 溶化性 取复方颗粒剂 10 g,加 40 ~ 50 ℃ 热水 200 mL,搅拌 5 min,观察。

1.2.5 酒石酸泰乐菌素测定方法建立 紫外吸收波长的确定:精确称取酒石酸泰乐菌素适量,配成质量浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,在 200 ~ 350 nm 波长范围内扫描,记录紫外吸收波谱图^[14-17]。

标准曲线的制备:精确称取酒石酸泰乐菌素适量,制成质量浓度为 5 ~ 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液。以蒸馏水为空白,在所选波长下测定酒石酸泰乐菌素溶液的吸光度,记录数据,制作标准曲线。

回收率试验:精确称取泰乐菌素适量,制成质量浓度分别为 5、20 和 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液。每个浓度的溶液重复测定 3 次含量,以添量法计算相对回收率。

精密度试验:取 5、20 和 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 三个质量浓度的样品,测定吸光度。批内变异系数在一天内 3 次重复测定,每个浓度平行测定 3 次;批间变异系数在一周内隔天测定,每个浓度平行测定 3 次。分别计算出每次测定相应质量浓度的标准差及平均值,计算变异系数 RSD。

1.2.6 复方颗粒剂中泰乐菌素含量的测定 分别精确称取复方颗粒剂 3 份,每份 2 g,配成一定质量浓度的溶液。以水为空白,进行复方颗粒剂中泰乐菌素含量的测定。

1.2.7 黄芩苷测定方法建立 黄芩苷紫外吸收波长的确定:精密称定黄芩苷对照品适量,用 75%乙醇溶解制成 0.02 mg/mL 的黄芩苷溶液^[18]。以 75%的乙醇作空白,在 200 ~ 600 nm 范围内作波长扫描,记录紫外吸收波谱图。

标准曲线的制备:用黄芩苷对照品制成质量浓度分别为 4、6、8、10、12 和 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。以 75%乙醇作空白,在所选波长下测定黄芩苷标准溶液的吸光度,记录数据,制作标准曲线。

回收率和精密度测定:将黄芩苷对照品配成系列质量浓度的溶液,在所选波长下测定其吸光度,按照 1.2.5 中的方法测定黄芩苷的回收率和精密度。

1.2.8 复方颗粒剂中黄芩苷含量的测定 分别

精确称取复方颗粒剂 3 份,每份 0.6667 g,配成一定质量浓度的溶液,以 75%乙醇作空白,进行复方颗粒剂中黄芩苷含量的测定。

2 结果与分析

2.1 性状检查结果

经检查,本制剂为颗粒大小介于 180 ~ 2 000 μm 之间的淡黄色颗粒剂。

2.2 粒度检查结果

按剂量包装,每瓶为 200 g,未通过一号筛和通过五号筛的颗粒剂占总量的 12.68% (< 15%),成型率符合要求。

2.3 干燥后质量损失检查结果

105℃干燥 6 h 后,复方泰乐菌素颗粒剂的质量不再变化,测得干燥后质量损失率为 1.8%。

2.4 溶化性检查结果

颗粒全部溶化,有轻微浑浊,有少量淡黄色粉末物质,因为制粒所用黄芩苷粉含量为 70%,推测为黄芩苷提取物中的杂质。

2.5 泰乐菌素紫外吸收波长的确定

由图 1 可知,酒石酸泰乐菌素在 297 nm 处有最大吸收。而辅料 β-环糊精(吸收波长 552 nm)无干扰,黄芩苷在 286 nm 处有最大吸收,二者也无相互干扰,故选用 297 nm 作为测定波长测定复方颗粒剂中泰乐菌素的含量。

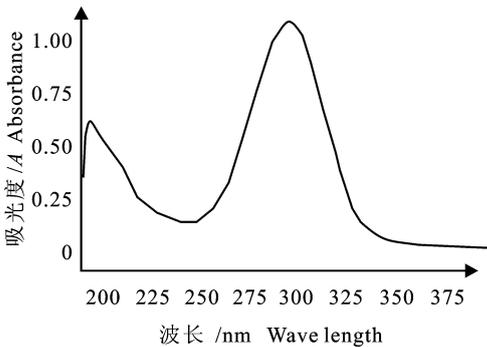


图 1 泰乐菌素紫外吸收波谱

Fig. 1 Absorption spectrum of Tylosin by UV

2.6 泰乐菌素的标准曲线

由图 2 可知,泰乐菌素的标准曲线回归方程为: $C=0.0517A+0.0151(r=0.9981)$ 。由此可见,泰乐菌素质量浓度在 5 ~ 40 μg/mL 范围内与吸光度呈良好线性关系。

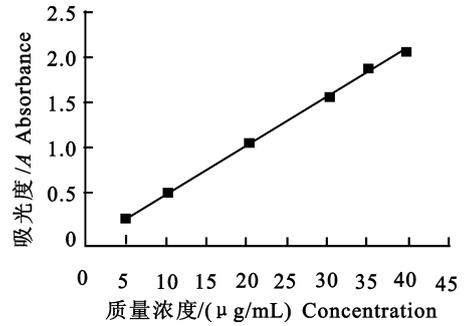


图 2 泰乐菌素的标准曲线

Fig. 2 The calibration curve of Tylosin by UV

2.7 泰乐菌素的回收率

泰乐菌素的回收率结果见表 1。由表 1 可以看出,泰乐菌素的平均回收率为 96.90%,显示该方法准确性较高。

表 1 泰乐菌素的回收率

Table 1 Recovery rate of Tylosin in granules

添加质量浓度 / (μg/mL) Added concentration	测定质量浓度 / (μg/mL) Measured concentration	回收率 / % ($\bar{x} \pm SD$) Recovery rate
5	4.5717 ± 0.0036	91.43 ± 0.0007
20	20.2738 ± 0.0052	101.37 ± 0.0003
40	39.1601 ± 0.0656	97.90 ± 0.0016

2.8 泰乐菌素的精密度

由表 2 可以看出,日内和日间平均精密度分别为 0.0903% 和 0.1563%。日内、日间精密度 RSD 均小于 5%,表明该方法稳定,适合测定泰乐菌素的质量浓度。

2.9 泰乐菌素含量测定结果

由表 3 可知,本试验制得的复方泰乐菌素素颗粒剂中泰乐菌素的平均含量为 96.7 mg/g,为标示量的 96.7%,符合制剂对药物含量的要求。

表 2 日间和日内精密度试验结果

Table 2 Precision of Tylosin in granule

添加质量浓度 / (μg/mL) Added concentration	测得质量浓度 / (μg/mL) Measured concentration	日内 RSD / % Intra-assay precision	测得质量浓度 / (μg/mL) Measured concentration	日间 RSD / % Inter-assay precision
5	4.5717 ± 0.0036	0.0778	4.5736 ± 0.0082	0.1783
20	20.2738 ± 0.0052	0.0255	20.2719 ± 0.0233	0.1152
40	39.1601 ± 0.0656	0.1676	39.1636 ± 0.0687	0.1753

表 3 复方泰乐菌素颗粒剂中泰乐菌素的含量

Table 3 Determining results of Tylosin in

项目 Items	Compound Tylosin Granule			平均值 Average value
	批次 Batches			
	1	2	3	
实测含量 Determined amount	96.9	96.3	97.0	96.7±0.3091
处方含量 Content of prescription	100.0	100.0	100.0	

2.10 黄芩苷紫外吸收波长的确定

由图 3 可知,在 200~600 nm 范围内黄芩苷有多个吸收峰;但在 200~250 nm 之间,2 个波峰距离太近,故选用 286 nm 为其测定波长。

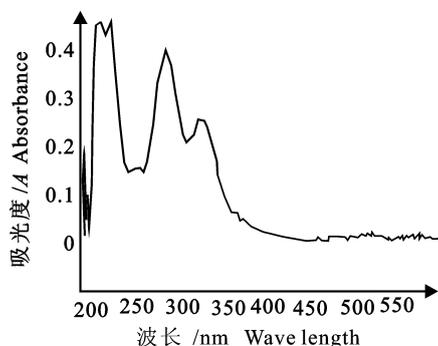


图 3 黄芩苷紫外吸收波谱

Fig. 3 Absorption spectrum of Baicalin by UV

2.11 黄芩苷的标准曲线

由图 4 可知,黄芩苷的标准曲线回归方程为:
 $C=0.0399A-0.0119$ ($r=0.9994$)。由此可见,在 4~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内吸光度与质量浓度呈

良好线性关系。

2.12 黄芩苷的回收率

由表 4 可以看出,黄芩苷的平均回收率为 101.35%,显示该方法准确性较高。

2.13 黄芩苷的精密度

由表 5 可以看出,日内和日间平均精密度分别为 0.0056% 和 0.5515%。日内、日间精密度 RSD 均小于 5%,表明该方法稳定,适合测定黄芩苷的质量浓度。

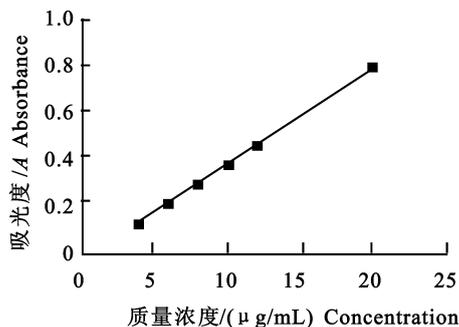


图 4 黄芩苷的标准曲线

Fig. 4 The calibration curve of Baicalin by UV

表 4 黄芩苷的回收率

Table 4 Recovery of Baicalin in granule

添加质量浓度 (mg/mL) Added concentration	测定质量浓度($\bar{x}\pm SD$) (mg/mL) Measured concentration	回收率/% ($\bar{x}\pm SD$) Recovery rate
4	4.1707±0.0474	104.27±0.0118
10	9.9193±0.0313	99.19±0.0031
20	20.1192±0.043	100.59±0.0022

表 5 日间和日内精密度试验结果

Table 5 Precision of Baicalin in granule

添加质量浓度/(mg/mL) Added concentration	测得质量浓度/(mg/mL) Measured concentration	日内 RSD /% Intra-assay precision	测得质量浓度/(mg/mL) Measured concentration	日间 RSD /% Inter-assay precision
4	4.1707±0.0474	0.0114	4.1632±0.0293	0.6322
10	9.9193±0.0313	0.0032	9.9293±0.0514	0.5173
20	20.1192±0.0432	0.0021	20.1509±0.0590	0.5049

2.14 黄芩苷含量测定

由表 6 可知,制得的复方泰乐菌素颗粒剂中黄芩苷的平均含量为 57.0 mg/g,为标示量的 95.0%,符合制剂对药物含量的要求。

3 讨论与结论

3.1 复方泰乐菌素颗粒剂的性状

本制剂为颗粒大小介于 180~2000 μm 之间的淡黄色颗粒剂。干燥后质量损失、粒度以及溶化性符合兽药典规定。

表 6 复方泰乐菌素颗粒剂中黄芩苷的含量测定结果

Table 6 Determining results of Baicalin in

项目 Items	Compound Tylosin Granule			平均值 Average value
	批次 Batches			
	1	2	3	
实测含量 Determined amount	56.8	57.1	57.1	57.0±0.1414
处方含量 Content of prescription	60.0	60.0	60.0	

3.2 复方泰乐菌素颗粒剂中泰乐菌素和黄芩苷的含量测定

在泰乐菌素和黄芩苷含量的测定过程中,选择紫外分光光度法在 297 和 286 nm 波长下分别测定复方泰乐菌素颗粒剂中泰乐菌素和黄芩苷的含量。日内、日间精密度 RSD 均小于 3%,平均回收率分别为 96.90% 和 101.35%,说明该方法稳定、准确度较高,简洁易行。

在黄芩苷的波峰扫描过程中,200 ~ 600 nm 范围内黄芩苷有多个吸收峰,但在 200 ~ 250 nm 之间,两个波峰距离太近,相互易干扰,故选用 286 nm 作为其测定波长。

本制剂中,中药组分黄芩苷提取物溶于乙醇,而不溶于水,故测定黄芩苷含量过程中采用超声处理,以加速有效中药组分中醇溶性成分的溶解。本法采用 75%乙醇作溶剂,而 75%乙醇具有易挥发性,故紫外测定过程中,应注意加盖玻片,以增加测定的稳定性。

参考文献:

[1] 史晓丽,沈丽琳,刘文兴.泰乐菌素的急性及蓄积毒性研究[J].畜牧与兽医,1996,28(1):13-15.

[2] 王海洲.泰乐菌素在养殖业中的应用[J].饲料与添加剂,2002(6):18.

[3] 宋琳莉,孟庆刚.黄芩的药理作用研究进展[J].中华中医药学刊,2008,26(8):1676-1678.

[4] 李兴岭,佟力.黄芩茎叶化学成分及药理作用研究进展[J].承德医学院学报,2006,23(3):284-286.

[5] 李伟华,朱陵群,王硕仁,等.黄芩苷、栀子苷对神经细胞缺氧缺糖再灌注损伤的保护作用[J].中国药学杂志,2004,39(5):344-346.

[6] 欧阳昌汉,吴基良,李力中.黄芩甙对大鼠心肌缺血再灌注所致脂质过氧化损伤的保护作用[J].咸宁医学院学报,2001,15(1):32-34.

[7] 王超云,傅风华,田京伟,等.黄芩苷对化学性肝损伤的保护作用[J].中草药,2005,36(5):730-732.

[8] 李会英,赵满琳,尹梓兆,等.中药黄芩苷对人牙周膜成纤维细胞保护作用的实验研究[J].现代口腔医学杂志,2006,20(6):634-637.

[9] 杨婧,傅颖媛.黄芩苷、黄连素体外杀灭阴道毛滴虫的实验研究[J].中国中医药信息杂志,2006,13(4):37-38.

[10] 李敏,杨瑞芳.黄芩药理学研究进展[J].临床和试验医学杂志,2009,8(1):137-138.

[11] 袁榴娣,徐红,杜肇宗.黄芩苷对艾氏腹水瘤细胞影响的初步探讨[J].南京铁道医学院学报,1997,16(4):231-233.

[12] Shinichi I, Kaiunobu S, Naomasa Y, *et al.* Antitumor effects of scutellariae radix and its components baicalin, baicalin, and wogonin on bladder cancer cell lines [J]. Urology, 2000, 55 (6): 951 - 955.

[13] kitamura K, Honda M, Yoshizaki H, *et al.* Baicalin, an inhibitor of HIV-1 production in vitro [J]. Antiviral Res, 1998, 37 (2): 131-140.

[14] 王钦岚,陈渝军,林晶.复方板蓝根冲剂的制备及质量控制[J].制剂与技术,2009,6(7):61-62.

[15] 余莲,崔艳莉.紫外分光光度法对酒石酸泰乐菌素含量的测定[J].广西农业科学,2003(1):43.

[16] 刘冰,买尔旦·马合木提,葛继红.骆驼蓬总生物碱颗粒剂的制备及含量测定[J].新疆医科大学学报,2003,26(1):81-82.

[17] 冯兴,符华林,潘康成.恩诺沙星缓释颗粒剂的制备及体外释放度研究[J].中国兽医杂志,2008,44(5):60-61.

[18] 杜永峰,周健,姚秉华.紫外分光光度法测定黄芩中黄芩苷的含量[J].化学分析计量,2008,17(5):43-45.