

辐射灭菌对黄芩中化学成分的影响

张秋梅，孙增玉

(辽宁中医药大学附属医院，沈阳 110032)

[摘要] 目的:用高效液相色谱法对经辐照灭菌的黄芩药材、黄芩药材粉末及未经灭菌黄芩药材中黄芩苷的含量进行测定。比较灭菌前后黄芩药材及其粉末中黄芩苷含量变化情况。**方法:**采用 Accurasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),检测波长 280 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。**结果:**黄芩苷在 0.163 2~0.816 0 μg 线性关系良好($r^2 = 0.999\ 8$),平均回收率为 99.44%,RSD 1.6%。灭菌前后饮片与粉末中黄芩苷含量均有显著性变化。**结论:**以黄芩苷含量为指标考察,表明黄芩药材不适宜应用辐照灭菌法进行灭菌。

[关键词] 黄芩;黄芩苷;辐射灭菌;高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0072-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015050072

Influence of Irradiation Sterilization on Chemical Constituents of Scutellariae Radix ZHANG Qiu-mei, SUN Zeng-yu (Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** HPLC was adopted to determine the baicalin content of the Scutellariae Radix and Scutellariae Radix powder by using irradiation sterilization, together with herbs without the sterilization. Compared the content changes before and after mirradiation sterilization. **Method:** Accurasil-C₁₈ chromatographic column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2) as mobile phase, the wavelength detection was 280 nm with flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, column temperature 30 ℃, and the injection volume of 10 μL. **Result:** Baicalin had good linear relationship in the range of 0.163 2-0.816 0 μg. The average recovery was 99.44% with the RSD of 1.6%. Content baicalin in Radix had significant changes before and after sterilization. **Conclusion:** It indicates that Scutellariae Radix is not suitable for applications of irradiation sterilization, which takes baicalin as index.

[Key words] Scutellariae Radix ; baicalin; radiation sterilization; HPLC

黄芩具有清热解毒、燥湿泻火、止血安胎之功效,用于治疗发热烦躁、肺热咳嗽、泻痢热淋、湿热黄疸、胎动不安、痈肿疮毒等病症^[1]。黄芩的有效成分是黄酮类化合物,其中以黄芩苷的作用最强,是黄芩及其制剂的主要质量控制指标成分^[2-5]。黄芩苷具有抗微生物、抗变态反应、降压和镇静、利胆、保肝和解痉等作用^[6-11]。

辐照灭菌法利用放射性同位素元素钴-60 放射产生的 γ-射线进行照射,穿透物品,杀灭其中的微生物而达到灭菌的目的。二十世纪六十年代开始,辐照灭菌法应用于食品行业,另外还大量应用于医药产业,现在应用的辐照灭菌通常利用⁶⁰Co 辐射源放出的 γ-射线,γ-射线穿透力强,不仅绝大多数生物体对射线敏感,而且适用于较厚样品,特别是已包装密封物品的灭菌,灭菌效果可靠,并且可有效防止“二次污染”^[12]。运用辐照灭菌法对中药进行灭菌处理是解决中成药微生物污染问题的有效途径,已受到重视,并被广泛应用^[13]。但是对其在药物灭菌方面的使用情况还有很多问题需要明确,例如什么药物不能使用辐照灭菌法;可以应用辐照灭菌的药物应该选择什么辐照剂量进行灭菌。进而可以加以深入研究辐照灭菌的机制,辐照灭菌的影响因素,可

[收稿日期] 20140601(003)
[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX10005004)
[第一作者] 张秋梅,副主任中药师,从事中药鉴定与质量研究,Tel: 024-31961298,E-mail: zhangqiumei2688@163.com

能引起药物成分发生化学变化的原因,寻找避免或减少药物成分被破坏的方法等等。

本课题选择黄芩药材饮片及粉末分别进行一定剂量的辐照灭菌,然后对药材中黄芩苷成分进行含量测定,比较灭菌前后黄芩苷的含量变化,为今后的深入研究提供依据。

1 仪器与试药

1100 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司),CP225D 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

黄芩苷对照品购于中国食品药品检定研究院(批号 110715-201008),甲醇、磷酸为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

黄芩药材购于安徽亳州药材市场,经辽宁中医药大学康廷国教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根。

2 方法与结果

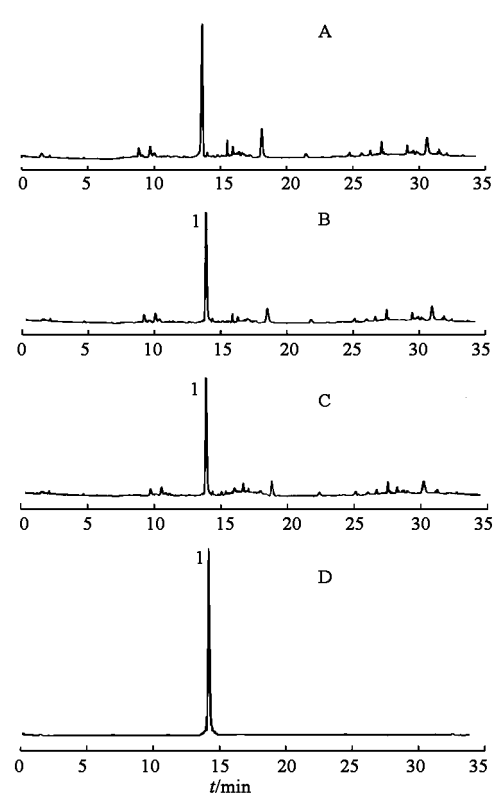
2.1 色谱条件 Accurasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),检测波长 280 nm,体积流量 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。在该色谱条件下,黄芩苷色谱峰达到基线分离,峰形良好,见图 1。

2.2 药材的处理 取药品若干,分为 3 份,取其中 1 份为未灭菌药材,标记为 1 号样品。另两份药材,其中 1 份用粉碎机将其粉碎(过 20 目筛),将二者同时放入相同条件的辐射灭菌室内通过辐射灭菌法将其灭菌,剂量为 10 kGy,灭菌完成后,取出。将灭菌后药材粉末标记为 2 号样品,灭菌后药材标记为 3 号样品。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇配制成 0.040 8 g·L⁻¹ 的溶液,摇匀,即得。

2.4 供试品溶液的制备 分别取未经辐射灭菌的黄芩粉末、经辐射灭菌的黄芩粉末、经辐射灭菌的黄芩药材(过 20 目筛子),各约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,密塞,浸泡 0.5 h,超声 30 min,过滤,取滤液 1 mL,加入 50 mL 量瓶中,加 70% 乙醇定容,摇匀,静置,取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.5 线性范围考察 取黄芩苷样品溶液,分别进样 4,8,12,16,20,24 μL,记录峰面积,以黄芩苷含量(*X*)为横坐标,峰面积(*Y*)为纵坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程 $Y = 1\,576.1X - 50.46$ ($r = 0.999\,9$)。线性范围 0.163 2 ~ 0.816 0 μg。



A. 未经辐射灭菌的黄芩药材;B. 经辐射灭菌的黄芩粉末;C. 经辐射灭菌的黄芩药材;D. 对照品;1. 黄芩苷

图 1 黄芩药材辐射前后 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample solution and standard solution

2.6 精密度考察 取未灭菌的黄芩药材粉末的供试品溶液。连续进样 6 次,每针进样 20 μL,记录黄芩苷成分的峰面积,计算 RSD 1.3%,表明该仪器精密度良好。

2.7 稳定性考察 取同一未灭菌黄芩药材粉末的供试品溶液,密闭、避光于室温放置。分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样,每次进样 20 μL,记录黄芩苷成分峰面积值,计算 RSD 1.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取未灭菌黄芩药材粉末,精密称取 6 份,每份约 0.5 g,按 2.4 项下方法处理样品,制得供试品溶液。再按上述色谱条件进行测定,各进样 20 μL,黄芩苷含量的平均值为 0.43 mg·g⁻¹,RSD 2.6%,表明方法的重复性良好。

2.9 加样回收率 取已知含量的未辐射黄芩药材粉末,精密称取 6 份,每份约 0.5 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 3.5 mL 黄芩苷对照品溶液(0.040 8 g·L⁻¹),精密加入 70% 甲醇 25 mL,按 2.4 项下方法处理,即得供试品溶液。在上述色谱条件下,各进样 20 μL,测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 黄芩中黄芩苷加样回收率试验

Table 1 Results of recovery test of baicalin in Scutellariae Radix

样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.142 4	0.139 9	0.278 4	97.21	99.44	1.6
0.142 6	0.140 3	0.284 1	100.86		
0.141 8	0.139 9	0.280 8	99.36		
0.142 1	0.140 5	0.279 7	97.93		
0.142 3	0.139 8	0.283 6	101.07		
0.142 1	0.140 2	0.282 6	100.21		

2.10 样品含量测定 分别取未经辐射灭菌的黄芩粉末、经辐射灭菌的黄芩粉末、经辐射灭菌的黄芩药材各 3 份(过 20 目筛子),约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,密塞,浸泡 0.5 h,超声 30 min,过滤。取 1 mL 滤液,加入 50 mL 的量瓶中,再加 70% 乙醇定容,摇匀,静置。取上清液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得供试品溶液。各进样 20 μL,测定,计算含量。结果未经辐射灭菌的黄芩药材中黄芩苷质量分数分别为 0.448,0.443,0.440 mg·g⁻¹,经辐射灭菌的黄芩粉末中黄芩苷质量分数分别为 0.389,0.410,0.409 mg·g⁻¹,经辐射灭菌的黄芩药材中黄芩苷质量分数分别为 0.385,0.377,0.390 mg·g⁻¹。

2.11 数据分析 经辐照灭菌的黄芩药材、黄芩药材粉末及未经灭菌黄芩药材中黄芩苷的平均质量分数分别为 0.384,0.402,0.443 mg·g⁻¹。结果表明经辐射灭菌的黄芩药材与粉末中黄芩苷含量差异不大,但均显著低于未灭菌药材。

3 讨论

辐照灭菌前后黄芩中黄芩苷含量产生显著性变化,因此辐照灭菌法不适宜用于黄芩药材的灭菌。黄芩以粉末形式或以饮片形式进行灭菌结果相似,这与辐照灭菌穿透能力强的特点相吻合。

将黄芩苷对照品溶液在紫外分光光度计上扫描,发现在 280 nm 处有最大吸收且干扰较少,故选择 280 nm 为检测波长。

在提取溶剂的考察上,分别比较了体积分数 50% ,60% ,70% ,80% ,90% 和 100% 的甲醇、乙醇

及水,最后优选出 70% 的甲醇为溶剂。另外全面考察了不同提取方式、温度、时间、次数等诸多因素。采用后置梯度洗脱,可减少分析时间且有利于色谱柱。所建立的 HPLC 法不经分离,直接测定其中黄芩苷的含量,方法简便快速,经加样回收试验,精密度试验,表明该法结果可靠,易于操作,重复性好,可作为质量控制方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010;248.

[2] 金敏. 黄芩中黄酮类化学成分研究进展 [J]. 中国民族医药杂志,2009(9):55-56.

[3] 刘英学,刘中刚,苏兰,等. 黄芩化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志,2009,9(1):59-62.

[4] 杨立新,刘岱,冯学锋,等. 高效液相色谱法测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量 [J]. 中国中药杂志,2002,27(3):166-170.

[5] 王世宇,黄毅. 高效液相色谱法测定清热解毒口服液中黄芩苷的含量 [J]. 时珍国医国药,2007,18(7):1682-1683.

[6] 骆晓红,梁超峰. HPLC 法测定黄芩片中黄芩苷的含量 [J]. 中国医药导报,2009,6(21):40-41.

[7] 胡钧,王建中,顾琳娜. 高效液相色谱法测定硝黄搽剂中黄芩苷的含量 [J]. 海峡药学,2009,21(11):69-70.

[8] 赵玉佳,孟祥丽,鞠宝玲. HPLC 测定双黄连口服液中黄芩苷的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(4):90.

[9] 战渤玉,高明,李东霞,等. 中药材黄芩的研药究进展 [J]. 中医药信息,2008,25(6):16-20.

[10] 张建春,张华,施瑛,等. 黄芩苷的研究近况 [J]. 时珍国医国药,2005,16(3):247-249.

[11] 李欣,魏朔南. 黄芩的生物学研究进展 [J]. 中国野生植物资源,2006,25(12):11-15.

[12] 赵永富,汪昌保,王超. 辐射灭菌技术在制药业上的最新应用进展 [J]. 核农学报,2006,20(2):143-147.

[13] 泮红玲. 生药干燥灭菌法与辐射灭菌法的比较 [J]. 医药导报,2005,24(4):334.

[责任编辑 顾雪竹]