

HPLC法测定黄芩免煎颗粒和饮片中黄芩苷的含量^Δ

彭其胜*, 穆瑶, 陈欢(重庆市涪陵中心医院, 重庆 408000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1259-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.33

摘要 目的:比较黄芩免煎颗粒和饮片中有效成分黄芩苷的含量差异。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters C₁₈, 流动相为甲醇-0.3%醋酸(47:53, V/V), 流速为 0.8 ml/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。结果:黄芩苷检测质量浓度线性范围为 10~100 μg/ml($r=0.9999$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<3%;加样回收率为 95.48%~98.98%(RSD=1.26%, $n=6$, 饮片)、95.76%~100.50%(RSD=1.75%, $n=6$, 颗粒)。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于黄芩免煎颗粒和饮片中黄芩苷含量的测定;各批次黄芩免煎颗粒与饮片中黄芩苷的含量无明显差异。

关键词 高效液相色谱法;黄芩;有效成分;含量测定

Content Determination of Flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Granule Preparation and Its Decoction Piece by HPLC

PENG Qisheng, MU Yao, CHEN Huan(Fuling Central Hospital of Chongqing City, Chongqing 408000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the different of contents of the active ingredient baicalin in *Scutellaria baicalensis* granule preparation and decoction piece. METHODS: HPLC was performed on the column of Waters C₁₈ with mobile phase of methanol-0.3% acetic acid (47:53, V/V) at a flow rate of 0.8 ml/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of baicalin was 10-100 μg/ml ($r=0.9999$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 95.48%-98.98% (RSD=1.26%, $n=6$, decoction piece) and 95.76%-100.50% (RSD=1.75%, $n=6$, granule). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the content determination of baicalin in *S. baicalensis* granule preparation and decoction piece. There is no discernible differences between each kind of *S. baicalensis* granule preparation and decoction piece.

KEYWORDS HPLC; *Scutellaria baicalensis*; Active ingredient; Content determination

参考相关文献^[1]中所用流动相,本研究选择了甲醇-0.02%乙酸铵(5:95, V/V)为流动相。结果,用该流动相进行测定,各峰均能达到基线分离。为加快出峰时间,减少试剂的消耗量,节约检测时间,笔者尝试将甲醇比例调至 15%,也能达到良好的分离效果。因此,选择甲醇-0.02%乙酸铵(15:85, V/V)为本研究的流动相。

3.3 样品含量测定结果分析

对 21 家生产企业 56 批次样品中苯甲酸钠含量进行测定,结果表明,同一厂家不同批次的样品含量测定结果差异较小(除厂家 5 外),但不同厂家样品含量测定结果差异较大,最低含量为 0.145 4%(按苯甲酸计为 0.123 2%),最高含量为 0.355 1%(按苯甲酸计为 0.300 8%),两者相差约 2.4 倍。

2015 年版《中国药典》(四部)糖浆剂项下规定,苯甲酸的用量不得超过 0.3%(其钾盐、钠盐的含量分别按酸计),则 56 批次样品均符合规定。若按《成方制剂》制法项下“苯甲酸钠加入量为 2.5 g/1 000 ml”计,参照 2015 年版《中国药典》(一部)规定“取用量不得超过规定量的 ±10%”,得苯甲酸钠的加入量应在 0.225%~0.275% 范围内,则只有 3 批(厂家 5,批次 1,样品含量为 0.232 9%~0.233 5%;厂家 6,批次 16,样品含量为 0.241 2%~0.241 9%;厂家 8,批次 1,样品含量为 0.242 8%~0.242 8%)符合规定,其余样品除 2 批(厂家 5,批次 2,样品含量为 0.354 9%~0.355 3%;厂家 12,批次 1,样品含量为 0.282 0%~

0.282 0%)高于此限度外,剩余 51 批次均低于此限度。这可能与厂家生产工艺或者苯甲酸钠加入量控制不严有关。

虽然不同厂家苯甲酸钠用量差异较大,但从微生物实验和性状观察结果来看,各批次样品均未发生酸败、霉变等现象,建议进一步开展苯甲酸钠用量试验,以减少用量或者将处方中的苯甲酸钠改为更安全的防腐剂,减少防腐剂摄入过多带来的危害。从发展趋势上看,以生物发酵而成的生物防腐剂将成为未来的发展趋势。

综上所述,本方法操作简单、结果准确、重复性好,可用于强力枇杷露中苯甲酸钠的含量测定。抽样测定结果表明,有必要更新该制剂的含量检测项目,以利于其质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂:第二册[S]. 1990:272.
- [2] 施政, 王建平. 杭州地区 26 家医疗卫生机构 2010—2012 年化痰止咳平喘类中成药基本药物使用分析[J]. 中国药房, 2014, 25(20):1 882.
- [3] 王思文, 巩江, 高昂, 等. 防腐剂苯甲酸钠的药理及毒理学研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(30):16 724.
- [4] 吕娜, 沈明浩. 食品防腐剂苯甲酸钠的蓄积毒性及精子毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2011, 25(3):241.
- [5] 黄文静, 湛文青, 洪建文, 等. 高效液相色谱法测定美敏伪麻口服溶液中苯甲酸钠的含量[J]. 中南药学, 2014, 12(7):690

Δ 基金项目:重庆市涪陵区第二批应用技术与开发资金项目(No.FLKJ 2014ABB2107)

* 主任药师。研究方向:药事管理、医院药剂。电话:023-72220811。E-mail:397506631@qq.com

(收稿日期:2015-03-15 修回日期:2016-01-11)
(编辑:刘柳)

中药免煎颗粒是以符合炮制规范的优质中药饮片为原料,采用现代高新技术提取、浓缩、干燥、制粒而成的中药产品。其严格按照国家中医药管理局《单味中药浓缩颗粒研制指南》的技术要求,保持了原中药饮片的药效和特性,但由于经过提取加工丧失了原饮片的形态和显微鉴别特征,其有效化学成分就成了重要的评价依据^[1-3]。中药免煎颗粒批准前后,其研究内容主要是论证中药免煎颗粒的可行性、优劣势、研发思路和发展前景预测等^[4-6]。目前,国内已有部分医院引进免煎颗粒,也对其质量进行了一定研究^[7-9],其中大部分研究仍是处于特点及缺点的初步探讨阶段,也有部分通过高效液相色谱(HPLC)法测定其有效成分含量是否达标,但涉及的品种范围较小。因此,笔者采用HPLC法测定了黄芩免煎颗粒和饮片中有效成分黄芩苷的含量^[10],比较其含量差异,确认免煎颗粒的疗效,为其临床应用提供理论支持。

1 材料

1.1 仪器

LC-10Avp型HPLC仪,包括二极管阵列检测器(日本Shimadzu公司);FA2004型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);DHG-9075A型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

黄芩饮片(重庆中药饮片有限公司,批号:130601、140801、150101);黄芩免煎颗粒(广东一方制药有限公司,批号:405136L、501589L、505047L,含量:1.8 g相当于生药10 g)。

黄芩苷对照品(上海同田生化技术有限公司,批号:14012131,纯度>98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.3%醋酸(47:53, V/V);流速:0.8 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:25℃;进样量:20 μl。在上述色谱条件下,理论板数以黄芩苷峰计不少于3 000,分离度>1.5,各成分基线分离良好。色谱见图1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品5.02 mg,置于10 ml量瓶中,用甲醇溶解并定容,用移液管移取1.2 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,制成质量浓度为60 μg/ml的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 (1)黄芩免煎颗粒溶液的制备 称取黄芩免煎颗粒9.08 g,用200 ml水溶解后浓缩至100 ml,量取6 ml,置于圆底烧瓶中,加70%乙醇40 ml,加热回流3 h,放冷,滤液置于100 ml量瓶中,用少量70%乙醇分次洗涤容器和

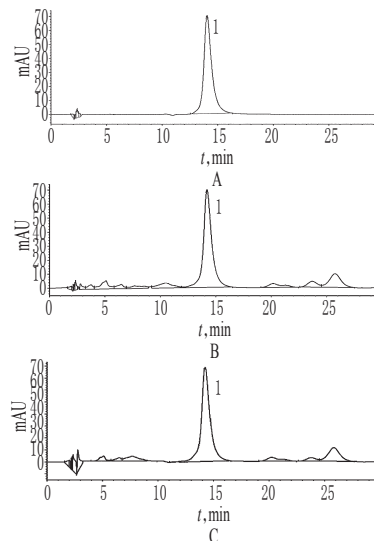


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.黄芩饮片;C.黄芩免煎颗粒;1.黄芩苷

Fig 1 HPLC chromatogram

A.reference substance; B.*Scutellaria baicalensis* decoction piece; C.*S. baicalensis* granule preparation; 1.baicalin

残渣,洗液滤入同一量瓶中,用70%乙醇定容;再精密量取0.5 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得。(2)黄芩饮片溶液的制备 称取黄芩饮片50.02 g,用水煎煮(第1次300 ml水煎煮1 h,后2次均300 ml水煎煮40 min),滤过,合并滤液,浓缩,浓缩液置于100 ml量瓶中,用水定容,得溶液I;量取上述溶液I 6 ml,置于圆底烧瓶中,加70%乙醇40 ml,加热回流3 h,放冷,过滤,滤液置于100 ml量瓶中,用少量70%乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,用70%乙醇定容,得溶液II。再精密量取上述溶液II 0.2 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得。

2.3 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 ml,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇定容,制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以黄芩苷质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=93.01x-311.2$ ($r=0.9999$)。结果表明,黄芩苷检测质量浓度线性范围为10~100 μg/ml。

2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,黄芩苷峰面积的RSD=1.01%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取“2.2.2”项下黄芩免煎颗粒供试品(批号:405136L)溶液和黄芩饮片供试品(批号:130601)溶液适量,分别于放置0、2、6、8、12 h时进样测定,记录峰面积。结果,黄芩免煎颗粒中黄芩苷峰面积的RSD=3.94%(n=5);黄芩饮片中黄芩苷峰面积

的RSD=2.84% (n=5),表明上述两种供试品溶液在12 h内基本稳定。

2.6 重复性试验

精密称取同一批黄芩饮片样品(批号:130601)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,黄芩饮片中黄芩苷峰面积的RSD=1.12% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量黄芩免煎颗粒样品(批号:405136L)9 g和黄芩饮片样品(批号:130601)50 g,各6份,分别加入一定质量的黄芩苷对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

待测物	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
黄芩饮片	100.05	99.97	196.77	96.75	97.37	1.26
	100.05	100.03	197.06	96.98		
	100.05	100.05	198.30	98.20		
	100.05	99.25	194.78	95.48		
	100.05	100.15	199.15	98.98		
	100.05	100.05	197.90	97.80		
黄芩免煎颗粒	21.95	21.47	42.67	96.58	97.58	1.75
	21.95	22.05	44.56	100.50		
	21.95	21.01	42.03	95.76		
	21.95	21.52	42.70	96.49		
	21.95	21.80	43.37	98.27		
	21.95	21.78	43.27	97.90		

2.8 样品含量测定

取黄芩饮片、黄芩免煎颗粒各3批,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Result of contents determination of samples(n=3)

待测物	批号	黄芩苷,μg/mg	平均值,μg/mg
黄芩饮片	130601	40.21	40.03
	140801	40.07	
	150101	39.80	
黄芩免煎颗粒	405136L	43.71	43.91
	501589L	44.02	
	505047L	44.00	

3 讨论

中药免煎颗粒作为一项新生事物,主要用来替代中药饮片在临床上的使用,但仍处在改革探索阶段。黄芩为医院中药处方及院内制剂的常用药物,其中黄芩苷为主要有效成分,已在许多药物研究及中药制剂中被作为质量控制指标。因此,本试验展开了对黄芩饮片与黄芩免煎颗粒中黄芩苷的含量测定研究。

本试验以甲醇-0.3%醋酸为流动相,考察了不同比例的出峰情况,结果发现在甲醇-0.3%醋酸(47:53, V/V)条件下,能够较好地分离样品中的主峰与杂质峰,且峰形对称,保留时间短,灵敏度高。方法学验证表明,其精密性、稳定性、重复性和加样回收率均能满足定量分析的要求。

从本试验所测黄芩饮片与黄芩免煎颗粒中的黄芩苷含量可知,各批次的黄芩免煎颗粒中黄芩苷含量无明显差异,其中黄芩免煎颗粒中黄芩苷含量略高于黄芩饮片。笔者认为,从主要有效成分的含量测定方面考察可知,免煎颗粒与传统饮片具有同等疗效。

综上所述,有效成分的含量测定可以作为中药免煎颗粒的质量控制标准,且单味免煎颗粒的有效成分与其饮片无明显差异,可以作为中药饮片的替代品应用于临床,为临床提供更多选择。但目前,也有部分学者注意到复方合煎相对于单味煎取后配伍应用时有效成分会有一定改变,故免煎颗粒是否能完全替代传统中药饮片还需进一步研究。

参考文献

- [1] 孔刚,王学燕,郭翠兰,等.单味中药配方颗粒与中药饮片的使用对比[J].中医临床研究,2010,2(15):32.
- [2] 王丽芳,高文远.现代科学技术对传统中药饮片剂型改革的影响[J].中国药房,2013,24(27):2497.
- [3] 崔景朝,赵自明.中药配方颗粒研究进展(I):文献综合分析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):235.
- [4] 陆学工.中药配方颗粒和中药饮片优劣浅析[J].浙江中医杂志,2010(2):146.
- [5] 马良珠.中药配方颗粒的研究进展[J].中国医药指南,2013,11(18):81.
- [6] 纪昌青.中药配方颗粒剂临床应用的优势和局限性[J].内蒙古中医药,2013,32(23):44.
- [7] 赵叶东,叶宏军.中药配方颗粒剂与中药饮片药效学等效性研究[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(11):227.
- [8] 翟素红,王中伟,曹学东,等.益胃汤中药饮片煎剂与配方颗粒的成本效果分析[J].山西医药杂志,2013,42(9):1054.
- [9] 王金凤,张钦德.中药配方颗粒药效学研究进展[J].中国中医药信息杂志,2013,20(8):110.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:301.

(收稿日期:2015-10-13 修回日期:2015-12-20)

(编辑:张 静)