

HPLC法测定青果丸中黄芩苷的含量

王亦存*(龙门县人民医院,广东惠州 516800)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)32-3057-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.32.26

摘要 目的:建立测定青果丸中黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent TC-C₁₈(150 mm×4.60 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-0.02 mol/l磷酸(45:55:0.2, V/V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为10 μl,检测波长为278 nm。结果:黄芩苷检测质量浓度在10~200 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9, n=6$);精密性、重复性试验的RSD≤0.96%;平均加样回收率为99.53%,RSD=1.07%($n=9$)。结论:该方法简便、准确、重复性好,可用于青果丸中黄芩苷的含量测定。

关键词 青果丸;黄芩苷;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Baicalin in Qingguo Pills by HPLC

WANG Yi-cun(Longmen County People's Hospital, Guangdong Huizhou 516800, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of baicalin in Qingguo pills. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent TC-C₁₈(150 mm×4.60 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-0.02 mol/l phosphoric acid (45:55:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set at 30 ℃. The sample size was 10 μl, and detection wavelength was set at 278 nm. RESULTS: The linear range of baicalin was 10-200 μg/ml ($r=0.999\ 9, n=6$) with an average recovery of 99.55% (RSD=1.07%, $n=9$); RSD of precision, stability and reproducibility tests were lower than 0.96%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the content determination of baicalin in Qingguo pills.

KEYWORDS Qingguo pills; Baicalin; HPLC; Content determination

青果丸系中药成方制剂^[1-2],由青果、金银花、黄芩、北豆根、麦冬、玄参、白芍和桔梗8味中药组成,具有清热利咽、消肿止痛的功效,对于咽喉肿痛、失音声哑、口干舌燥、肺燥、咳嗽具有较好的疗效。方中黄芩的主要有效成分黄芩苷具有清热解毒、抗炎、利胆、降压、利尿、镇静、保肝、抗菌等多方面的药理作用^[3-6]。但是,目前相关文献仅报道了对青果丸中绿原酸和芍药苷进行含量测定^[1,7],并无对黄芩苷的含量进行测定的报道。因此,本试验采用高效液相色谱(HPLC)法测定了该制剂中的有效成分黄芩苷的含量。

1 材料

P680A型HPLC仪,包含SCL-6B系统控制仪、LC-9A泵、SIL-6B自动进样器、C-R4A数据处理机等(美国Dionex公司);UV-2450紫外可见分光光度计(日本岛津公司);AB265-S型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110715-200514,质量分数:99.1%);青果丸(吉林某制药厂,批号:120106、1210425、120718,规格:8 g/袋);甲醇为色谱纯,乙醇、磷酸等试剂均为分析纯,水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[8-10]

色谱柱:Agilent TC-C₁₈(150 mm×4.60 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-0.02 mol/L磷酸(45:55:0.2, V/V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;进样量10 μl;检测波长:278 nm。

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0752-7895801。E-mail:2602339951@qq.com

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适量,置于50 ml量瓶中,加适量70%乙醇溶液溶解并稀释至刻度,制成每1 ml含0.1 mg的溶液,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备^[11] 取样品2 g,研碎,取约1 g,精密称定,加硅藻土0.5 g,加入70%乙醇溶液40 ml,加热回流2 h,放冷,滤过,滤液置于100 ml量瓶中,用少量70%乙醇溶液分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,加70%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 取青果丸中除黄芩外的其他药材,按制备工艺制成阴性样品,再按“2.2.2”项下制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,阴性对照在黄芩苷色谱峰处未发现吸收峰,对黄芩苷的出峰没有干扰,表明该方法的专属性良好。

2.4 线性关系考察

精密移取“2.2.1”项下对照品溶液适量,分别稀释制成每1 ml含黄芩苷10、20、50、100、150、200 μg的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。以黄芩苷质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得到回归方程 $y=15\ 807x+19\ 683$ ($r=0.999\ 9, n=6$)。结果表明,

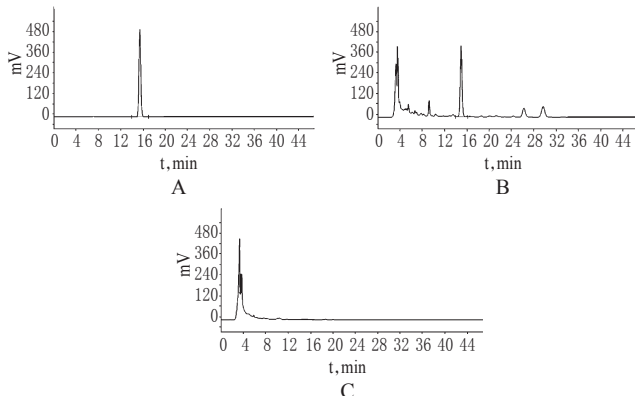


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control

黄芩苷检测质量浓度在10~200 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,测定峰面积。结果,黄芩苷峰面积的RSD=0.67%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:1210425)适量,分别于放置0、4、8、12、20、24 h时精密吸取10 μl注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积。结果,黄芩苷峰面积的RSD=0.83%,表明供试品溶液在24 h内稳定性较好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:1210425)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量。结果,黄芩苷的平均含量为7.87 mg/g,RSD=0.96%,表明本方法的重复性较好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:1210425)适量,共9份,分别按80%、100%、120%的比例精密加入“2.2.1”项下的对照品溶液适量,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=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

编号	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1	0.204 4	0.160 0	0.357 6	98.14		
2	0.204 4	0.160 0	0.368 1	101.02		
3	0.204 4	0.160 0	0.362 7	99.54		
4	0.204 4	0.200 0	0.402 5	99.53		
5	0.204 4	0.200 0	0.399 7	98.83	99.53	1.07
6	0.204 4	0.200 0	0.403 7	99.84		
7	0.204 4	0.240 0	0.447 6	100.71		
8	0.204 4	0.240 0	0.445 5	100.25		
9	0.204 4	0.240 0	0.435 3	97.96		

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶

液,按“2.1”项下色谱条件进样测定黄芩苷的峰面积并计算含量。结果,批号为120106、1210425、120718的样品平均含量分别为7.48、7.87、8.06 μg/g。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

笔者利用二极管阵列检测器在200~400 nm波长范围内扫描对照品溶液的吸收光谱,发现黄芩苷在278 nm波长处有最大吸收,灵敏度高,干扰较少,所以最终选择278 nm为本试验的检测波长。

3.2 流动相的选择

本试验先以甲醇-磷酸二氢钾为流动相,考察了不同比例的出峰情况,结果发现峰形拖尾均严重,改为加入0.02 mol/L磷酸溶液后峰形明显改善,表明在甲醇-水-0.02 mol/L磷酸(45:55:0.2, V/V/V)的条件下,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,其精密度、稳定性、回收率和重复性均能满足定量分析的要求。

3.3 研究的价值

从本试验所测青果丸中黄芩苷的含量可知,产品中黄芩苷含量变化较大。笔者认为,药材的产地及采收季节不同可能导致不同批次产品中黄芩苷的含量不同。故建议厂家加强对原料药材的质量监控,并制定相应的指标。

综上所述,本方法简便、准确、重复性好,可用于青果丸中黄芩苷的含量测定。

参考文献

- [1] 徐岳鑫.HPLC法测定青果丸中绿原酸的含量[J].中国药师,2013,16(2):255.
- [2] 吴英良,王勇年,商晓华,等.青果片与青果丸的抗炎抗菌作用比较[J].时珍国药研究,1995,6(3):11.
- [3] 侯艳宁,朱秀媛,程桂芳.黄芩苷的抗炎机理[J].药理学学报,2000,35(3):161.
- [4] 张喜平,田华,程琪辉.黄芩苷的药理作用研究现状[J].中国药理学通报,2003,19(11):1 212.
- [5] 文敏,李雪,付守廷.黄芩苷药理作用研究新进展[J].沈阳药科大学学报,2008,25(2):158.
- [6] 张建春,张华,施琰,等.黄芩苷的研究近况[J].时珍国医国药,2005,16(3):247.
- [7] 张蕾,张福堂.高效液相色谱法测定青果丸中芍药苷的含量[J].河南中医学院学报,2004,19(11):20.
- [8] 刘常青,柯颖川,何百寅,等.HPLC法同时测定撤热柴胡饮中连翘苷和黄芩苷的含量[J].中药新药与临床药理,2011,22(1):105.
- [9] 汪文来,郜志宏,于智敏,等.HPLC测定芩葵颗粒中黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):116.
- [10] 费超,陈然,曹杰,等.HPLC测定芩翘抗感颗粒中黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):63.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:797-798.

(收稿日期:2013-09-17 修回日期:2014-07-03)