

高效液相色谱法测定双黄口服液中芍药苷和黄芩苷含量

夏建洪, 冯桂英

(浙江省金华市人民医院, 浙江 金华 321000)

摘要: 目的 建立测定双黄口服液中芍药苷和黄芩苷含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm 5 μm), 流动相为甲醇-水-醋酸(35:65:1), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 244 nm。结果 芍药苷和黄芩苷质量浓度均在 25~250 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, 相关系数分别为 0.999 7 和 1.000 0, 平均回收率分别为 97.74% 和 97.06% (n=6)。结论 所用方法可同时测定双黄口服液中芍药苷和黄芩苷的含量, 且方法简便、准确。

关键词: 高效液相色谱法; 芍药苷; 黄芩苷; 含量测定

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2010)23-0032-02

Determination of Peoniflorin and Baicalin of Shuanguang Oral Liquid by HPLC

Xia Jianhong, Feng Guiying

(Jinhua Municipal People's Hospital, Jinhua, Zhejiang, China 321000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the content determination of peoniflorin and baicalin in Shuanguang Oral Liquid. **Methods** The chromatography column was the Ultimate XB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water-acetic acid(35:65:1). The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was 244 nm. **Results** The concentrations of peoniflorin and baicalin in the range of 25-250 μg/mL respectively showed the linear relation. The related coefficients were 0.999 7 and 1.000 0. The average recovery rates were 97.74% and 97.06% (n=6) respectively. **Conclusion** This method can simultaneously determine peoniflorin and baicalin in Shuanguang Oral Liquid, which is simple and accurate.

Key words: HPLC; peoniflorin; baicalin; content determination

双黄口服液由赤芍、大黄、黄芩、当归等 6 味中药组成, 具有清热凉血、润肠通便的功效, 用于便秘、痔疮等症有较好的疗效, 因而在我院临床广泛使用。曾有用高效液相色谱法^[1]分别测定芍药苷^[2-3]和黄芩苷^[4-5]含量的报道, 笔者用高效液相色谱法同时测定双黄口服液中芍药苷和黄芩苷的含量, 旨在为制订双黄口服液的质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

LC-2010 AHT 型高效液相色谱仪(日本岛津); XS 204DR 型电子天平(上海宏胜实业仪器有限公司)。芍药苷对照品(批号为 080323)、黄芩苷对照品(批号为 080803)均由中国药品生物制品检定所提供; 双黄口服液(本院制剂室自制, 规格为 10 mL×10 支, 批号分别为 20080301, 20081207, 20090508); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Ultimate XB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm 5 μm); 流动相: 甲醇-水-醋酸(35:65:1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 244 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 20 μL。在此色谱条件下, 芍药苷和黄芩苷的保留时间分别为 9.3 min 和 27.4 min, 理论板数分别为 7 684 和 39 857, 分离度大于 2; 峰面积的 RSD 为 1.2% (n=6)。从图 1 可以看出, 双黄口服液中芍药苷和黄芩苷与其他组分峰达到了基线分离, 峰形对称, 且阴性无干扰, 专属性好。

2.2 溶液制备

精密称取芍药苷对照品和黄芩苷对照品各 25 mg, 置 250 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得每 1 mL 含芍药苷和黄芩苷均为 0.1 mg 的对照品溶液。精密吸取双黄口服液 20 mL, 置 250 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 进样前用 0.45 μm 滤膜过滤, 即得供试品溶液。按处方组成, 取除赤芍和黄芩以外的其余药材, 按工艺要求制成不含赤芍和黄芩的口服液, 按供试品溶液项下方法操作, 即得阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 精密吸取芍药苷和黄芩苷对照品溶液 5, 10, 20, 30, 50 μL, 进样测定峰面积, 以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(C)为横坐标绘制芍药苷和黄芩苷的标准曲线, 回归方程分别为芍药苷 $A = 2 \times 10^4 C - 23\ 703$, $r = 0.999\ 7$ (n=5); 黄芩苷 $A = 3 \times 10^4 C + 23\ 703$, $r = 1.000\ 0$ (n=5)。结果表明, 芍药苷和黄芩苷质量浓度均在 25~250 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

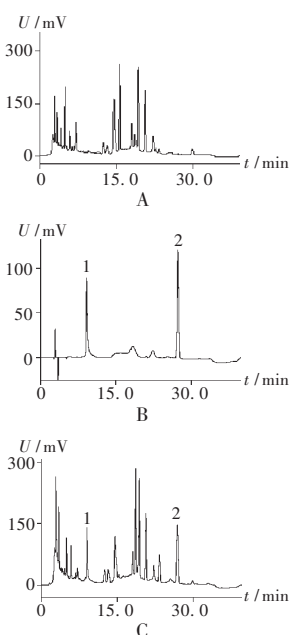
精密度试验: 精密吸取同一质量浓度的对照品溶液 20 μL, 重复进样测定。结果峰面积的 RSD 为 1.3% (n=6), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取同一批双黄口服液, 制备 6 份供试品溶液, 分别重复进样测定。结果峰面积的 RSD 为 1.7% (n=6), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 精密吸取已知含量(每 1 mL 含芍药苷 0.643 mg、黄芩苷 0.785 mg)的双黄口服液 6 份各 20 mL, 分别精确加入每 1 mL 含 2.57 mg 的芍药苷和 3.14 mg 黄芩苷的对照品溶液 4, 5, 6 mL, 按供试品溶液制备方法制备溶液, 进样测定峰面积, 以外标法计算含量。结果见表 1。

2.4 样品含量测定

取对照品溶液与供试品溶液 20 μL 进样, 测定含量。结果批号为 20080301, 20081207, 20090508 的 3 批双黄口服液中每 1 mL 含芍药苷和黄芩苷的量分别为 0.665 g/L 和 0.776 g/L, 0.643 g/L 和 0.785 g/L, 0.628 g/L 和 0.736 g/L。



1. 芍药苷 2. 黄芩苷
A. 阴性对照品溶液
B. 对照品溶液
C. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图

健胃十味丸质量标准的完善

吴朝旭¹, 陈艾明², 马小兵¹

(1. 湖北省随州市药品检验所, 湖北 随州 441300; 2. 湖北省随州市中医院, 湖北 随州 441300)

摘要:目的 完善健胃十味丸的质量标准。方法 采用显微鉴别法鉴别处方中的石榴、诃子、肉桂、胡椒、山柰、葶苈、薄荷、薄层色谱法鉴别豆蔻、肉桂、胡椒及葶苈, 采用挥发油测定法测定挥发油总量。结果 显微鉴别和薄层色谱法鉴别专属性强, 挥发油总量测定法简便, 能有效控制主药的含量。结论 所用定性、定量方法准确、快速, 可用于健胃十味丸的质量控制。

关键词: 健胃十味丸; 质量标准; 显微鉴别; 薄层色谱; 挥发油

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2010)23-0033-02

健胃十味丸是治疗胃病的非处方药品, 由石榴、豆蔻、诃子、肉桂、胡椒、光明盐、山柰、五灵脂、葶苈、寒水石组方, 收载于《卫生部药品标准蒙药分册》^[1], 但该标准对药品的主要成分无定性、定量分析要求, 不能有效控制药品质量。笔者进行了完善健胃十味丸质量标准的研究, 报道如下。

1 仪器与试剂

E200型电子显微镜(Nikon); Mettler-240型电子天平(瑞士); KQ 3200型超声波清洗器; ZF-2型四用紫外分析仪。不同厂家的5批健胃十味丸(市售品, 批号分别为081114, 080912, 090210, 081107, 090309); 桉油精对照品(批号为110748-200507)、桂皮醛对照品(批号为110710-200212)、胡椒碱对照品(批号为110775-200303)均购自中国药品生物制品检定所; 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别^[2]

取本品, 研细, 置显微镜下观察。镜下可见石细胞众多, 呈类圆形、方形、多角形、不规则形, 壁厚, 有一面较薄, 直径30~100 μm(鉴别石榴、肉桂、胡椒、葶苈); 纤维单个散在, 梭形, 壁厚, 木化(鉴别肉桂); 油细胞较多, 类圆形或类方形(鉴别豆蔻、肉桂、胡椒、山柰、葶苈); 草酸钙簇晶少见, 直径10~25 μm(鉴别石榴); 针晶细小, 成束或散在(鉴别肉桂)。

2.2 薄层色谱鉴别^[3]

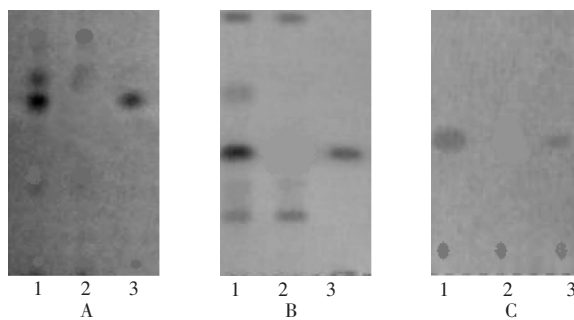
2.2.1 胡椒与葶苈的鉴别^{[4][15]}

取本品10丸, 研细, 加无水乙醇5 mL, 超声处理30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 另取胡椒碱对照品, 置棕色量瓶中, 加无水乙醇制成每1 mL含4 mg的溶液, 作为对照品溶液; 另取不含胡椒与葶苈的本处方药材, 按健胃十味丸生产工艺制备并进一步制成

阴性对照品溶液。照薄层色谱法[2005年版《中国药典一部》附录VI B]试验, 吸取上述3种溶液各2 μL, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-丙酮(7:2:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10%硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照品溶液无干扰(图1A)。

2.2.2 豆蔻的鉴别^{[4][9]}

取挥发油总量测定项下的挥发油作为供试品溶液; 取不含豆蔻的本处方药材, 按健胃十味丸生产工艺制备挥发油作为阴性对照品溶液; 另取桉油精对照品, 加乙醇稀释2倍, 作为对照品溶液。照薄层色谱法[附录VI B]试验, 吸取上述3种溶液各10 μL, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以苯-醋酸乙酯(19:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以5%香草醛硫酸溶液, 在105℃下加热至斑点显色清晰, 立即检视。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照品溶液无干扰(图1B)。



1. 供试品溶液 2. 阴性对照品溶液 3. 对照品溶液
A. 胡椒与葶苈 B. 豆蔻 C. 肉桂

图1 薄层色谱图

表1 芍药苷加样回收试验结果 (n=6)

样品含量 μg/mL		加入量 μg/mL		测得量 μg/mL		回收率 (%)		\bar{X} (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
51.44	62.80	41.12	50.24	91.36	112.12	97.08	98.17				
51.76	63.36	41.12	50.24	91.45	112.01	96.52	96.84				
51.92	62.40	51.40	62.80	102.75	123.65	98.89	97.53	97.74	97.06	0.93	0.75
51.12	62.08	51.40	62.80	101.38	123.11	97.78	97.18				
52.16	61.52	61.68	75.36	113.02	133.98	98.67	96.15				
51.92	63.60	61.68	75.36	112.06	136.32	97.50	96.50				

注: A为芍药苷, B为黄芩苷。

3 讨论

根据芍药苷对照品和黄芩苷对照品溶液的紫外扫描结果, 因二者在244 nm波长处均有较大吸收, 灵敏度高, 可减少取样量, 减少对柱污染, 故选择244 nm为检测波长。曾比较了甲醇-水-磷酸

(50:50:0.1)等多种流动相, 结果以本试验采用的流动相所得图谱的峰形及分离度最好。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 422.
- [2] 吕永宁, 张玉良, 徐楚鸿, 等. 反相高效液相色谱法测定疹痒康合剂中芍药苷的含量[J]. 医药导报, 2004, 23(5): 336-337.
- [3] 王凤玲, 陈静, 侯奋争, 等. 高效液相色谱法测定参芪心康胶囊中芍药苷的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(4): 294-295.
- [4] 黄庆文, 王红鑫, 陈立. 高效液相色谱法测定复方蒲苓胶囊中黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(5): 701.
- [5] 严劲松, 黄朝建, 高申蓉, 等. 高效液相色谱法测定肺炎I号合剂中黄芩苷的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(3): 214-215.

(收稿日期: 2009-12-24; 修回日期: 2010-04-20)