

HPLC 测定复方野菊花含片中黄芩苷和蒙花苷含量

陈红英^{1,2}, 倪健^{1*}, 张辉²

(1. 北京中医药大学, 北京 100190; 2. 华润三九医药股份有限公司, 深圳 518110)

[摘要] 目的: 建立复方野菊花含片中黄芩苷和蒙花苷含量测定的方法。方法: 采用 HPLC, Kromasil-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相乙腈-0.1% 磷酸 (25:75), 检测波长 334 nm。结果: 黄芩苷和蒙花苷进样量分别在 0.460 ~ 2.760 μg ($r=0.9995$), 0.020 ~ 0.400 μg ($r=0.9999$) 线性关系良好; 黄芩苷和蒙花苷平均回收率分别为 101.77% (RSD 0.98%), 98.36% (RSD 1.68%)。结论: 该方法简便易行, 重复性好, 可用于复方野菊花含片中黄芩苷和蒙花苷含量测定。

[关键词] 复方野菊花含片; 黄芩苷; 蒙花苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0122-03

[doi] 10.11653/syjf2013100122

Simultaneous Determination of Baicalin and Buddleoside in Compound Yejuhua Buccal Tablets by HPLC

CHEN Hong-ying^{1,2}, NI Jian^{1*}, ZHANG Hui²

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100190, China;

2. China Resources Sanjiu Medical and Pharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518110, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a RP-HPLC method for simultaneous determination of baicalin and buddleoside in Compound Yejuhua Buccal Tablets. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of baicalin and buddleoside. The Kromasil-C₁₈ Column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with the mobile phase consisting of acetonitrile-0.1% aqueous phosphoric acid (25:75); the detection wavelength was set at 334 nm. **Result:** There was good linearity between the peak area and concentration within the range of 0.460-2.760 μg ($r=0.9999$) for baicalin and 0.020-0.400 μg ($r=0.9999$) for buddleoside respectively. The average recoveries of baicalin and buddleoside were 101.77% (RSD 0.98%) and 98.36% (RSD 1.68%) respectively ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate and specific for quality control of Compound Yejuhua Buccal Tablets.

[Key words] Compound Yejuhua Buccal Tablets; baicalin; buddleoside; HPLC

复方野菊花含片是华润三九医药股份有限公司自主研发的中药 6 类新药, 目前已经通过了国家食品药品审评中心技术审评, 即将获得新药证书和生产批件。其处方来源于临床经验方, 由野菊花、黄芩等中药材组成, 具有清热解毒、利咽止痛功效^[1]。方中野菊花和黄芩共为君药, 野菊花中主要有效成

分为蒙花苷, 而黄芩中主要有效成分为黄芩苷, 为了更好地控制复方野菊花含片的质量, 本文建立了同时测定其所含有效成分蒙花苷和黄芩苷中的含量。

1 材料

戴安 Ultimate 3000 系列高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, BP211D 型电子天平 (Sartorius LS), SK5200H 型超声提取器 (功率 200 W, 频率 59 kHz)。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 甲醇、磷酸为分析纯。

黄芩苷对照品 (批号 110715-200815)、蒙花苷对照品 (批号 111528-200504), 均为中国药品生物制品见检定所提供。复方野菊花含片, 批号

[收稿日期] 20121211(016)

[第一作者] 陈红英, 硕士, 高级工程师, 从事中药制剂与质量标准研究, Tel: E-mail: chy9988@mail.999.com

[通讯作者] *倪健, 教授, 博士生导师, 从事中药制剂新技术与体内过程研究, Tel: E-mail: njtem@263.net

090901,090902,090903,100601,100602,100603,由华润三九医药股份有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 Kromasil-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸 (25:75) 为流动相, 检测波长 334 nm, 进样量 20 μL, 记录色谱图至蒙花苷峰保留时间的 2 倍。理论塔板数按蒙花苷峰计算不低于 3 000。

2.2 样品的制备

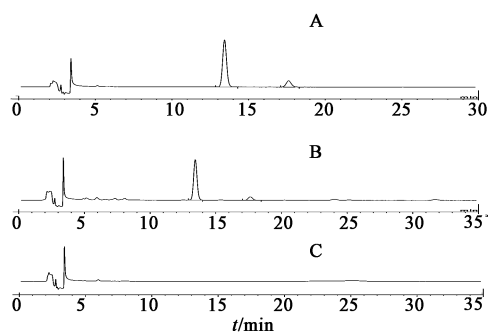
2.2.1 混合对照品溶液的制备 取蒙花苷对照品、黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 1 mL 含蒙花苷 10 μg、黄芩苷 70 μg 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取质量差异项下本品, 除去薄膜衣, 精密称定, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇约 20 mL 超声处理 (功率 200 W, 频率 59 kHz) 10 min, 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 按处方及制法, 制成缺黄芩和野菊花药材的阴性对照样品。取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μL, 分别测定, 结果阴性对照溶液在相同保留时间处未见干扰。对照品和样品色谱图见图 1。



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 黄芩苷; 2. 蒙花苷

图 1 复方野菊花含片 HPLC

2.3.2 线性关系考察 精密吸取 0.383 4 g·L⁻¹ 黄芩苷对照品储备液 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0, 3.6 mL, 0.100 g·L⁻¹ 蒙花苷对照品储备液 0.1, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2 mL 分别对应置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 测得峰面积。以峰面积 Y 为纵坐标, 进样质量浓度 X (mg·L⁻¹) 为横坐标, 绘制标准曲线。黄芩苷与蒙花

苷的回归方程分别为 $Y_{\text{黄芩苷}} = 0.4573X - 0.4003$ ($r = 0.9995$), $Y_{\text{蒙花苷}} = 0.749X - 0.0263$ ($r = 0.9999$)。

结果表明, 黄芩苷进样量在 0.460 ~ 2.760 μg, 蒙花苷进样量在 0.020 ~ 0.400 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度试验 取同一份对照品溶液, 按上述色谱条件 2.1 项下, 连续进样 5 次, 记录色谱峰面积。黄芩苷 RSD 0.63% ($n = 5$), 蒙花苷 RSD 0.52% ($n = 5$), 结果表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 精密称取复方野菊花含片细粉 0.1 g, 共 6 份, 按供试品溶液方法制备, 依上述色谱条件测定, 黄芩苷含量平均值为 16.89 mg·g⁻¹, 蒙花苷含量平均值为 1.33 mg·g⁻¹, RSD 分别为 0.47%, 1.42%, 结果表明重复性良好。

2.3.5 稳定性考察 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 依次进样, 测定峰面积值, 黄芩苷 RSD 0.41%, 蒙花苷 RSD 0.74%, 结果表明供试品在 24 h 内稳定。

2.3.6 加样回收率试验 取同一批已知含量的复方野菊花含片样品 (黄芩苷 17.05 mg·g⁻¹, 蒙花苷 1.31 mg·g⁻¹) 9 份, 每份取样量为规定取样量 (0.1 g) 的 50%, 以当前取样含量的 0.8, 1.0, 1.2 倍, 分别精密加入黄芩苷、蒙花苷对照品溶液, 依法测定, 分别计算黄芩苷和蒙花苷的回收率。黄芩苷总平均回收率 ($n = 9$) 为 101.77% (RSD 0.98%); 蒙花苷总平均回收率 ($n = 9$) 为 98.36% (RSD 1.68%), 结果见表 1。

2.4 供试品的含量测定 取供试品 6 批, 按含量测定方法测定, 结果见表 2。

根据所测含量结果, 复方野菊花含片含量限度暂定为: 每片含野菊花以蒙花苷计不得少于 1.0 mg, 含黄芩以黄芩苷计不得少于 20.0 mg。

3 讨论

在供试品溶液的制备过程中, 为了保证样品中黄芩苷和蒙花苷充分提取, 采用同一批样品分别对提取溶剂、提取方法、提取时间进行了对比试验, 结果表明采用甲醇, 超声处理 10 min, 黄芩苷和蒙花苷提取效果最佳。

考察了甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2)、甲醇-水-冰醋酸 (26:23:1)、乙腈-0.1% 磷酸 (25:75)、乙腈-0.1% 磷酸 (20:80)、乙腈-0.1% 冰醋酸等^[2-9], 结果表明采用乙腈-0.1% 磷酸 (25:75) 为流动相, 蒙花苷和黄芩苷均无杂质干扰, 分离度良好, 峰形对称,

表 1 加样回收率试验

成分	取样量 /g	加入量 /mg	实测值 /mg	样品 含量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
黄芩苷							
1	0.052 1	0.675 2	1.563 0	0.888 3	99.93	101.77	0.98
2	0.049 6	0.675 2	1.541 3	0.845 7	101.29		
3	0.050 9	0.675 2	1.553 3	0.867 8	101.52		
4	0.052 4	0.844 0	1.751 6	0.893 4	101.68		
5	0.050 4	0.844 0	1.719 5	0.859 3	101.91		
6	0.050 5	0.844 0	1.714 2	0.861 0	101.08		
7	0.053 2	1.012 8	1.952 4	0.907 1	103.21		
8	0.049 5	1.012 8	1.886 0	0.844 0	102.89		
9	0.048 8	1.012 8	1.869 3	0.832 0	102.42		
蒙花苷							
1	0.052 1	0.151 6	0.343 1	0.197 1	96.38	98.36	1.68
2	0.049 6	0.151 6	0.341 2	0.194 5	96.79		
3	0.050 9	0.151 6	0.347 5	0.196 2	99.81		
4	0.052 4	0.194 9	0.391 6	0.197 3	99.68		
5	0.050 4	0.194 9	0.385 2	0.197 6	96.27		
6	0.050 5	0.194 9	0.382 4	0.195 1	96.11		
7	0.053 2	0.238 3	0.437 0	0.196 9	100.77		
8	0.049 5	0.238 3	0.433 3	0.194 7	100.12		
9	0.048 8	0.238 3	0.436 6	0.195 2	101.30		

表 2 复方野菊花含片中两种成分测定 mg/片

批号	黄芩苷	蒙花苷
090901	23.0	1.2
090902	23.8	1.4
090903	24.1	1.5
100601	23.6	1.3
100602	24.9	1.6
100603	23.9	1.4
平均	23.9	1.4

保留时间适中,阴性对照无干扰,分离度达到要求。

本试验测得多批复方野菊花含片中黄芩苷和蒙花苷平均含量分别为 23.9 mg/片和 1.4 mg/片。但考虑到以后大生产中中药材受采收季节、贮存时间等各种因素的影响,将复方野菊花含片含量限度定为:每片含野菊花以蒙花苷计不得少于 1.0 mg,含黄芩以黄芩苷计不得少于 20.0 mg。

[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, 2010:282, 295.

[2] 殷忠东,陈慕媛,魏刚. HPLC 法测定双柏散中蒙花苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3):291.

[3] 郭巧生,房海灵,申海进. 不同产地野菊花中绿原酸、咖啡酸和蒙花苷含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(9):1160.

[4] 谭晓杰,贾英,陈晓辉,等. RP-HPLC 法测定野菊花中蒙花苷含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(6):434.

[5] 苏强,倪艳,王瑞明,等. 祛斑洁颜胶囊的薄层鉴别和黄芩苷的含量测定[J]. 中成药, 2003, 25(1):30.

[6] 林丽美,王永炎,许招懂,等. RP-HPLC 法同步测定野菊花中绿原酸、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷和蒙花苷含量[J]. 中南药学, 2009, 7(8):574.

[7] 宋宏刚,裴彩云,赵韶华,等. 不同产地野菊花药材中蒙花苷及总黄酮含量测定[J]. 中成药, 2008, 30(4):556.

[8] 陈顺钦,黄璐琦,袁媛,等. 光照对黄芩悬浮细胞内源激素与有效成分相关性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):72.

[9] 魏东华,李林章,陈淑欣,等. 不同土壤营养条件对黄芩苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):56.

[责任编辑 顾雪竹]