

HPLC 测定小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量

唐慧慧¹, 蔡清宇¹, 张丽娟^{2*}

(1. 海军总医院药剂科, 北京 100048; 2. 首都医科大学燕京医学院, 北京 101300)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量方法。方法: Agilent XDB C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (47:53); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 280 nm 柱温: 40 °C。结果: 回归方程为 $A = 34\ 884.9C - 19\ 478.8$, $R^2 = 1.000\ 0$ 。黄芩苷在 1.482 ~ 148.2 mg·L⁻¹ 线性关系良好, 平均回收率为 97.8%, RSD 1.9% ($n = 6$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为小儿清肺化痰颗粒黄芩苷含量的测定。

[关键词] HPLC; 小儿清肺化痰颗粒; 黄芩苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0112-03

Determination of Baicalin in Xiaerqingfei huatan Granule by HPLC

TANG Hui-hui¹, CAI Qing-yu¹, ZHANG Li-juan^{2*}

(1. Department of Pharmacy, Naval General Hospital, Beijing 100048, China;

[收稿日期] 20120416(293)

[第一作者] 唐慧慧, 副主任药师, 从事中药的质量研究, Tel:010-66958175, E-mail:tanghui106@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 张丽娟, 副教授, 硕士, 从事中药的生化机制研究, Tel:010-69427565, E-mail:lijuanzh@sohu.com

表 3 验证集样品黄芩苷含量的 NIR 预测

No	分析值	预测值	绝对 偏差	平均 回收率/%	RMSEP
1	2.059	2.052	-0.007		
2	1.939	1.993	0.054		
3	1.812	1.836	0.024		
4	1.798	1.777	-0.021		
5	1.840	1.903	0.063		
6	1.881	1.888	0.007		
7	2.200	2.161	-0.039		
8	2.155	2.168	0.013	100.299	0.039 9
9	2.107	2.126	0.019		
10	2.243	2.262	0.019		
11	2.083	2.109	0.026		
12	2.291	2.248	-0.043		
13	1.979	1.995	0.016		
14	2.020	2.049	0.029		
15	2.131	2.146	0.015		
16	2.330	2.225	-0.105		

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 619.
- [2] 朱山寅, 张关顺, 赵亚疑, 等. 清热解暑口服液黄芩苷高效液相色谱定量法的改进[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(4): 46.
- [3] 白雁, 李艳英. 近红外光谱法快速分析不同厂家的一清颗粒[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2413.
- [4] 蔡佳良, 郭念欣, 黄洁燕, 等. 运用近红外光谱法建立广藿香中白秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113.
- [5] 聂黎行, 王刚力, 李志猛, 等. 近红外光谱法在中药辅料质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 14.
- [6] 滑荣, 韩建国, 齐晓, 等. 近红外漫反射光谱法预测紫花苜蓿草颗粒营养价值[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(12): 2826.
- [7] 史贵连, 叶福丽. 近红外漫反射光谱法在中药材分析中的数学模型及其评价[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 120.
- [8] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 2版. 北京: 中国石化出版社, 2007: 44.

[责任编辑 顾雪竹]

2. Capital Medical University, Yanjing College of Medicine, Beijing 101300, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the determination of baicalin in Xiaerqingfei huatan granule by HPLC. **Method:** HPLC was used on an Agilent XDB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm) column with acetonitrile-0.4% phosphoric acid (47:53) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ with detection wavelength at 280 nm and column temperature at 40 °C. **Result:** The regression equation of baicalin is $A = 34\ 884.9C - 19\ 478.8$, $R^2 = 1.000\ 0$ ($n = 6$). The linear range of baicalin was from 1.482-148.2 g · L⁻¹. The average recovery was 97.8%, and RSD was 1.9% ($n = 6$). **Conclusion:** The method is simple, fast and accurate with good reproducibility. It can be used for the determination of Xiaerqingfei huatan granule.

[Key words] HPLC; Xiaerqingfei huatan granule; baicalin

小儿清肺化痰颗粒是由麻黄、苦杏仁、黄芩等药材制成的复方制剂,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第十七册^[1],具有清热化痰、止咳平喘的功效,用于小儿肺热感冒引起的咳嗽痰喘。黄芩是方中的主药之一,有清热燥湿、凉血安胎、解毒的功效,黄芩苷为其有效成分。本文参照《中国药典》^[2]的含量测定方法,结合原质量标准,采用 HPLC 法对小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷进行含量测定。

1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20A 高效液相色谱仪,SPD-20A 二极管阵列检测器,LC-20AT 溶液传输单元,SIL-20A 自动进样器,CTO-20A 柱温箱,LC solution 数据处理系统(日本岛津);黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110715-200815,供含量测定用);小儿清肺化痰颗粒(6 g/袋,北京长城制药厂,批号 11051601, 11010501, 11051001, 11041102, 10030602); Millipore 超纯水,甲醇(HPLC 级, Fisher),乙醇(分析纯,北京化工厂),磷酸(分析纯,北京化工厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent XDB C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm),流动相甲醇-0.4% 磷酸溶液(47:53),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 280 nm,柱温 40 °C。进样量 10 μL,流动相均过 0.22 μm 微孔滤膜。

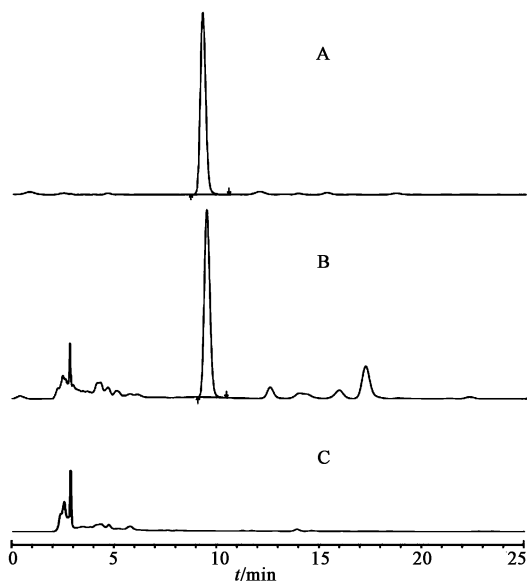
2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 7.41 mg,置 50 mL 量瓶中,加入 70% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成对照品储备溶液。分别精密量取上述对照品储备溶液 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇溶液定容至刻度,制成质量浓度分别为 1.482, 7.410, 14.82, 29.64, 74.10 mg · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取小儿清肺化痰颗粒适

量,研细,取约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇溶液 25 mL,称定质量,加热回流 3 h,放冷,再称定质量,用 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,作为供试品溶液。

2.4 阴性供试品溶液的制备 按处方比例取处方中除黄芩外的其他药材,按制备工艺制成阴性供试品。按供试品溶液的制备方法制成阴性供试品溶液,注入液相色谱仪。

2.5 线性关系考察 分别取 2.2 项下的对照品溶液以及对照品贮备液各 10 μL 进样,测定峰面积,如图 1 所示,以对照品浓度为自变量,峰面积为因变量,得回归方程为 $A = 34\ 884.9C - 19\ 478.8$, $R^2 = 1.000\ 0$ 。表明黄芩苷在 1.482 ~ 148.2 mg · L⁻¹ 线性关系良好。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性

图 1 小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的 HPLC

2.6 稳定性试验 取同一批号(11051001)的小儿清肺化痰颗粒,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,依上述色谱条件,分别于供试品溶液制备后第 0,1,2.5,5,10,16,24,36 h 注入液相色谱仪,分别测定峰面积。结果黄芩苷峰面积的 RSD 0.37%,表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.7 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液,每次 10 μL,连续进样 6 次,测定峰面积。结果供试品溶液中黄芩苷峰面积的 RSD 0.12%。表明仪器精密度良好。

2.8 重复性试验 取小儿清肺化痰颗粒(批号 11010501)研细,精密称取 6 份,照上述色谱条件进行测定,结果小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量为 0.504%,RSD 0.48%,表明该方法有良好重复性。

2.9 加样回收率试验 精密吸取小儿清肺化痰颗粒(批号 11010501),每份约 0.25 g,平行 6 份,每份分别加入约 1.38 mg 黄芩苷对照品,按 2.3 项下方法制备溶液,分别进样,测定黄芩苷峰面积,见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品含量 /%	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.252 8	0.55	1.40	2.77	98.27	97.80	1.90
2	0.254 2	0.55	1.40	2.78	98.51		
3	0.251 2	0.55	1.39	2.76	99.08		
4	0.253 0	0.55	1.35	2.73	98.88		
5	0.251 8	0.55	1.34	2.65	94.09		
6	0.250 1	0.55	1.37	2.72	97.95		

2.10 专属性试验 取阴性对照溶液 10 μL 进样,结果表明阴性对照液在黄芩苷的色谱峰处未发现吸收峰,表明专属性良好,结果见图 1。

2.11 样品测定 取 5 批小儿清肺化痰颗粒,研细,按 2.3 项下方法制备溶液,分别进样 10 μL,测定峰面积,如图 1 所示,外标法计算黄芩苷含量,测定见表 2。

表 2 小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量

批号	黄芩苷含量/%	RSD/%
11010501	0.55	0.59
11051001	0.50	0.48
10030602	0.51	1.40
11041102	0.56	0.52
11051601	0.44	1.64

$$P = \frac{(A_{\text{供试品}} - b) \times V_{\text{供试品}}}{a \times m_{\text{供试品}} \times 1\,000 \times 1\,000} \times 100\%$$

式中, P 为供试品样品中黄芩苷的含量值(%)。 $A_{\text{供试品}}$ 为供试品溶液峰面积, a 为标准曲线的斜率, b 为标准曲线的截距, $V_{\text{供试品}}$ 为供试品的稀释体积(mL), $m_{\text{供试品}}$ 为供试品样品量(g)。

3 讨论

HPLC 是一种现代分析测试技术,中药复方制剂由于其成分复杂,测定过程中各成分相互之间经常有干扰现象,因此需要利用液相色谱的高效分离能力和高灵敏的检测能力,达到对复杂体系进行准确分析检测的目的。HPLC 测定中药^[3,4]及制剂中黄芩苷含量可以选择甲醇-冰醋酸水溶液^[5],乙腈-磷酸水溶液^[6-7],甲醇-磷酸水溶液^[8-9]等作为流动相的组成,通过方法摸索与优化,结果发现以甲醇-0.4%磷酸溶液(47:53)作为流动相体系时分离度和峰形较好,且保留时间适宜。

研究表明,本文建立的 HPLC 方法准确、灵敏、快速、重复性好。鉴于目前 2010 年版《中国药典》中还没有小儿清肺化痰颗粒的质控标准,本文建立的小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量测定方法,可为该制剂的质量控制和稳定性考察提供参考。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 药品标准·中药成方制剂第十七册[S]. 北京:中国医药科技出版社,1998:15.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:282.
- [3] 朱俊霖,闫永红,张学文,等. 不同干燥方法对黄芩有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):7.
- [4] 龙月红,邢朝斌,劳风云,等. 高效液相色谱测定不同生境黄芩中的黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):97.
- [5] 徐虹. 高效液相色谱法测定小儿肺热平胶囊中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2011,20(14):31.
- [6] 刘海. 高效液相色谱法测定清肺合剂中黄芩苷含量[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(22):2813.
- [7] 师永清,师永花. HPLC 同时测定牛黄清胃丸中栀子苷和黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):86.
- [8] 赵容,王栋. HPLC 梯度洗脱法测定双黄连片中黄芩苷和绿原酸的含量[J]. 黑龙江医药,2010,23(6):874.
- [9] 朱晶晶,王智民,张启伟,等. 一测多评法同时测定黄芩药材中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(23):16.

[责任编辑 顾雪竹]