

HPLC 测定芩翘抗感颗粒中黄芩苷的含量

费超¹, 陈然², 曹杰¹, 张海鸣¹, 方睿¹, 刘子沐¹, 杜树山^{1*}

(1. 中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100875;

2. 北京超微生物制品有限责任公司, 北京, 100007)

[摘要] 目的: 建立芩翘抗感颗粒中黄芩苷的高效液相含量测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1% 磷酸溶液 (48:52) 为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm, 柱温 30 °C。结果: 黄芩苷含量测定的线性范围 0.49 ~ 2.46 μg (r=0.999 9), 精密度试验 RSD 0.25%, 平均加样回收率 100.54%, RSD 1.89%。结论: 方法快速、简便、准确、重复性较好, 结果可靠, 可为芩翘抗感颗粒的质量评价提供有效手段。

[关键词] 芩翘抗感颗粒; 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2011)07-0063-03

Determination of Baicalin in Qinqiao Kanggan Granules by HPLC

FEI Chao¹, CHEN Ran², CAO Jie¹, ZHANG Hai-ming¹, FANG Rui¹, LIU Zi-mu¹, DU Shu-shan^{1*}

(1. Protection and Utilization of Traditional Chinese Medicine of Beijing

Area Major Laboratory, Beijing 100875, China;

2. Beijing Chaowei Pharmaceutical Co. Ltd., Beijing 100007, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an accurate method for the determination of baicalin in Qinqiao Kanggan granules. **Method:** Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column in an oven at 30 °C was used, with a mobile phase consisting of methanol-0.1% phosphoric acid (48:52) and a UV detector at 280 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The linear ranges of baicalin was 0.49 – 2.46 μg (r = 0.999 9). The RSD of measurement precision test was 0.25%; The average recovery was 100.54% (RSD 1.89%, n = 5). **Conclusion:** The method was simple and accurate, and can be used for the quality control of Qinqiao Kanggan granules.

[Key words] Qinqiao Kanggan granules; baicalin; HPLC

芩翘抗感颗粒是北京中医药大学附属东直门医院姜良铎教授多年临床经验方, 由黄芩、广藿香、连翘、麻黄、甘草、知母、生石膏、柴胡、杏仁等 9 味药组成, 具有清热解表, 宣肺止咳, 用于感冒风寒, 肺有郁热, 症见发热头痛, 恶寒无汗或少汗, 周身酸痛, 咳嗽, 咳痰不爽等属于表寒里热实证者。黄芩为本品方中的君药, 故以黄芩苷为指标进行含量测定, 采用高效液相色谱法测定黄芩苷的含量。控制成品的

质量^[1]。

1 仪器与试剂

Waters1525 高效液相色谱仪 (Waters2487 紫外检测器, Mellennium³² 色谱工作站), 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号 0715-200111); 甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 磷酸等其他试剂均为分析纯。芩翘抗感颗粒 (自制, 批号 20060201, 20060203, 20060206)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液 (48:52), 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。理论板数按黄芩苷峰计算不低

[收稿日期] 20100728 (001)

[基金项目] 北京市新医药学科群重点支持项目 (sk100270569)

[通讯作者] * 杜树山, 副教授, 从事中药及其民族药物物质基础研究, Tel: 010-62208032

于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 5.47 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即为对照品储备液。精密吸取储备液 3.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 滤过, 即得(0.164 1 g·L⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下的内容物适量, 研细, 取粉末约 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 的锥形瓶中, 加入 70% 乙醇 50 mL, 称重, 超声处理 50 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 取出, 放至室温, 再称重, 70% 乙醇补足失去的质量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.4 阴性供试品溶液的制备 按成品制剂方法制得缺黄芩的阴性样品制剂。取阴性样品制剂, 研细, 取约 0.2 g, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法制得阴性供试品溶液。

2.5 系统适用性试验 按前法分别测定样品溶液、对照品溶液、阴性溶液, 见图 1。结果表明, 黄芩苷对照品与芩翘抗感颗粒中黄芩苷的保留时间基本一致, 阴性供试品溶液在相应位置处无相应的峰出现, 同时与其他组分分离完全, 分离度为 7.14, 理论板数以黄芩苷峰计算不低于 2 000。

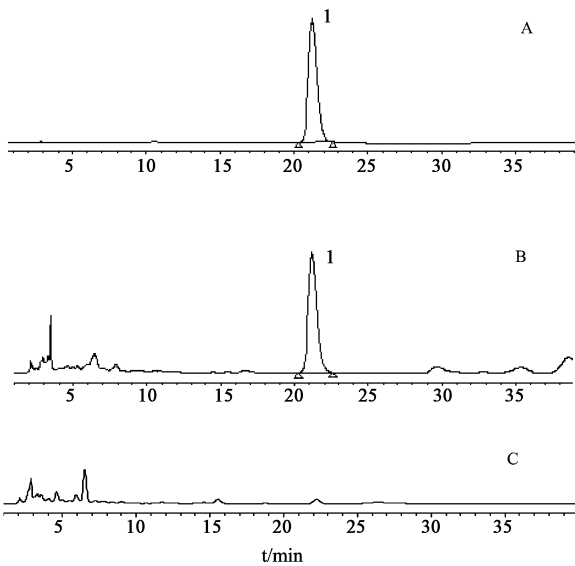


图 1 芩翘抗感颗粒 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 黄芩苷

2.6 线性关系考察 精密自动吸取对照品溶液 3, 5, 8, 10, 12, 15 μL 对照品, 注入液相色谱仪, 测定, 按上述色谱条件测定色谱峰面积, 以对照品的进样

量 X(μg) 对峰面积的积分值 Y 进行线性回归, 结果表明, 黄芩苷进样量在 0.49 ~ 2.46 μg 线性关系良好, 其线性回归方程为 $Y = 3\ 618\ 800X - 152\ 816$ ($r = 0.999\ 9$)。

2.7 精密度试验 取同一供试品溶液(批号 20060201), 同法连续测定 5 次, 测定对照品对应的色谱峰峰面积, 计算其 RSD 0.25%, 表明本方法精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 20060201), 在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 分别测定峰面积, 试验结果表明, 色谱峰面积无明显变化, RSD 0.43%, 表明在 12 h 内供试品化学性质稳定。

2.9 重复性试验 取 6 份样品(批号 20060201), 平行操作, 测定黄芩苷的含量, 计算其 RSD 0.84%, 表明在方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 5 份(批号 20060201), 每份 0.1 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中。精密加入黄芩苷对照品溶液(3.745 mg), 照供试品溶液制备方法制成供试品溶液, 按上述色谱条件进样, 测定含量, 并计算样品的回收率, 结果见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收率试验

取样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.105 6	3.601	7.325 1	99.44		
0.108 7	3.706 7	7.526 5	102.00		
0.106 8	3.641 9	7.386 2	99.98	99.64	1.74
0.109 9	3.747 6	7.429 1	98.30		
0.111 6	3.805 6	7.446 2	97.21		

2.11 样品测定 取 3 个批次的芩翘抗感颗粒, 照 2.3 项方法制成供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 依法测定 3 批样品中黄芩苷的含量, 分别为 272.0, 270.1, 270.9 mg/袋。

含量限度的制定: 3 批产品黄芩苷测定平均值为 271.0 mg/袋, 暂定为成品中含黄芩苷不少于 217 mg/袋。

3 讨论

本实验用 HPLC 法测定黄芩苷含量时曾试验了多种流动相系统, 为乙腈-0.1% 磷酸溶液(18:82), 乙腈-0.1% 磷酸溶液(13:87), 甲醇-0.1% 磷酸溶液(9:87), 甲醇-0.1% 磷酸溶液(48:52)等^[2-5] 多种系

活血养阴颗粒质量标准研究

陈士翠¹, 鞠建明²

(1. 金湖食品药品监督管理局, 江苏 金湖 211600;

2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] 目的: 建立活血养阴颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对活血养阴颗粒中的葛根、益母草进行定性鉴别; 采用 HPLC 对制剂中葛根素进行了含量测定, 高效液相色谱条件 Alltima C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.3% 磷酸溶液 (26:74), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35 °C, 以外标法计算含量。结果: TLC 色谱中能检出葛根、益母草; 高效液相色谱测定葛根素在 0.041 8 ~ 1.002 2 μg 呈良好的线性关系, $r=0.999 9$, 平均回收率 99.4%, RSD 1.4% ($n=6$)。结论: 该法可准确地进行定性、定量, 可有效地控制活血养阴颗粒的质量。

[关键词] 活血养阴颗粒; 益母草; 葛根; 葛根素; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0065-03

Study on the Quality Control Standard of Huoxue Yangyin Granules

CHEN Shi-cui¹, JU Jian-ming²

(1. Jintu SFDA, Jintu, 211600, China;

2. Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Huoxue Yangyin granules composed of *Herb Leonuri*, *Radix Puerariae Lobatae*. **Method:** The quality of each raw material was identified by TLC. The quantity of the preparation was conducted by HPLC and the method was developed with the condition as follows: Alltima C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase methanol-0.3% phosphoric acid (26:74), the temperature of column 35 °C, flow rate 1.0 mL·min⁻¹, calculating the content with external standard method. **Result:** *Herb Leonuri*,

[收稿日期] 20100602(005)

[基金项目] 江苏省社发项目(BS2007071)

[第一作者] 陈士翠, 主管中药师, 从事中药质量标准研究及制剂工艺研究, Tel: 0517-6809653

统, 其中以甲醇-0.1% 磷酸溶液(48:52)系统的色谱峰对称性好, 供试品中所测组分离度好, 没有杂质干扰。

黄芩苷的提取方法有多种, 如水提取, 醇提取, 加热回流, 超声波提取等。黄芩苷在乙醇中的溶解度明显高于其在水中的溶解度, 由于加热回馏的提取方法较为复杂, 所以本文采用乙醇超声提取的方法。并且考察了超声 15, 30, 50, 75 min 处理的提取效果, 结果显示, 超声 50 min 黄芩苷提取完全。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:224.

[2] 聂明华, 曾芳俐. 高效液相色谱法测定鼻嗅通喷雾剂中黄芩苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(2):281.

[3] 杨菊辉. HPLC 法测定清开灵颗粒中黄芩苷、绿原酸含量[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(21):8.

[4] 石钺, 李开通, 杨帅, 等. 感冒一小时胶囊中黄芩苷及盐酸小檗碱的 HPLC 测定[J]. 中成药, 2008, 30(10):147.

[5] 贾星. HPLC 测定湿必清注射液中黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7):15.

[责任编辑] 蔡仲德