

HPLC法测定黄芩苷胶囊中黄芩苷的含量

杨昌云*,林淑瑜,李玉堂(解放军第180医院药学科,福建泉州 362000)

中图分类号 R283.65;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2182-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.25

摘要 目的:建立测定黄芩苷胶囊中黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Acclaim C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(47:53, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为280 nm,柱温为30 ℃。结果:黄芩苷的质量浓度在20.3~203.0 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密度、重复性、稳定性试验的RSD均<2%;平均加样回收率为99.63%,RSD=0.313%($n=9$)。结论:该方法准确、可靠、简单、快速,可用于黄芩苷胶囊的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;黄芩苷胶囊;黄芩苷;含量测定

Content Determination of Baicalin in Baicalin Capsules by HPLC

YANG Chang-yun, LIN Shu-yu, LI Yu-tang (Dept. of Pharmacy, No.180 Hospital of PLA, Fujian Quanzhou 362000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of baicalin in Baicalin capsules. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Acclaim C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (47:53, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm, and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear range of baicalin was 20.3-203.0 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 99.63% (RSD=0.313%, $n=6$). The RSDs of precision test, reproducibility test and stability test were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is accurate, reliable, simple and rapid. It is suitable for the quality control of Baicalin capsules.

KEY WORDS HPLC; Baicalin capsules; Baicalin; Content determination

黄芩是唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,主产于黑龙江、吉林、辽宁、河北、河南、山东、四川、云南、山西、陕西、甘肃、内蒙古等地^[1-2]。黄芩苷是从黄芩中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有显著的生物活性,如抑菌、利尿、抗炎、抗变态及解痉作用,并且具有较强的抗癌效能^[3]。黄芩苷胶囊主要用于急、慢性肝炎和迁延性肝炎的辅助治疗。目前,国内含有黄芩苷的制剂较多,但黄芩苷口服生物利用度低,因此对其含量的准确控制非常重要。为了控制本品的质量,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对黄芩苷胶囊主要有效成分黄芩苷的含量进行了测定。

1 材料

1.1 仪器

Ultimate3000 HPLC系统,包括LPG-3400SD四元泵、自动进样器、TCC-3000SD恒温柱温箱、VWD-3400紫外检测器(美国戴安公司);JA2003电子分析天平(上海方瑞仪器有限公司);pHS-3C实验室pH计(上海诚宁环保科技有限公司);KQ2200台式超声波清洗机(昆山市超声波仪器厂,频率:40 kHz,功率:100 W)。

1.2 药品与试剂

黄芩苷胶囊(江西普众药业有限公司,规格:0.25 g/粒,批号:20110806、20111012、20111202);黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110715-200212);甲醇、三乙胺、磷酸均为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Acclaim C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(47:53, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:280 nm;进样量:10 μl。色谱见图1。

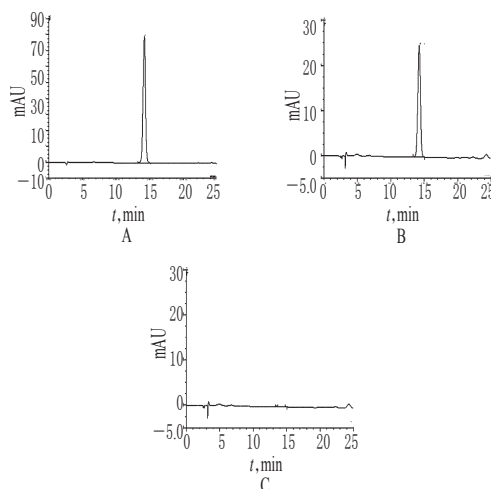


图1 高效液相色谱图

A. 黄芩苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms

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

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液 精密称取黄芩苷对照品5.075 mg,置于

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0595-28299531。
E-mail: yidalsy2005@163.com

5 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为 1.015 mg/ml 的溶液,作为对照品贮备液。避光,室温下贮藏,备用。

2.2.2 供试品溶液 A 取本品 20 粒,除去胶囊壳,精密称取 0.238 g,加 70% 乙醇溶液 40 ml,超声提取 40 min,放冷,滤过,滤液置 100 ml 量瓶中,滤饼用 70% 乙醇溶液 10 ml 溶解,再超声 10 min,滤过,滤液置同一量瓶中,重复操作三四次使滤饼上几乎无沉淀物,再用少许 70% 乙醇溶液分次洗涤容器,洗液并入同一量瓶中,加 70% 乙醇溶液至刻度,摇匀。精密吸取 1 ml,置 10 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.2.3 供试品溶液 B 取本品 20 粒,除去胶囊壳,精密称取 0.240 g,加甲醇 40 ml,超声提取 20 min,放冷,滤过,滤液置 100 ml 量瓶中,再用少许甲醇分次洗涤容器和滤饼,洗液并入同一量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取 1 ml,置 10 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.2.4 阴性对照溶液 按处方工艺制备除黄芩外的阴性样品,照“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 标准曲线的制备

分别精密吸取黄芩苷对照品贮备液 100、200、400、800、1 000 μl,置于 5 ml 棕色量瓶中,以甲醇稀释制成质量浓度分别为 20.3、40.6、81.2、162.4、203.0 μg/ml 的系列对照品溶液,按上述色谱条件分别进样 10 μl,测定峰面积。以对照品的质量浓度(*c*)为横坐标,峰面积积分值(*A*)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=422.49c(r=0.9999, n=5)$ 。结果表明,黄芩苷的质量浓度在 20.3~203.0 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取“2.3”项下高、中、低质量浓度(200、80、20 μg/ml)的对照品溶液各 5 份,同一日内连续测定 5 次,并连续测定 5 d,记录峰面积,计算日内精密度和日间精密度。结果,高、中、低质量浓度对照品溶液对应的日内 RSD 分别为 0.420%、0.608%、0.170% (*n* 均为 5); 日间 RSD 分别为 0.621%、1.907%、0.426% (*n* 均为 5),表明本方法精密度良好。

2.5 重复性试验

取同一批样品(批号:20110806)适量,共 6 份,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,RSD=0.170% (*n*=6),表明本方法重复性良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.3”项下的同一供试品溶液适量,分别放置 0、2、4、6、8、24 h,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,RSD=1.005% (*n*=6),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品(批号:20110806)适量,共 9 份,每 3 份为一组,分别加入适量低、中、高质量浓度(20、80、200 μg/ml)的对照品溶液,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表 1。

2.8 样品含量测定

取 3 批样品(批号:20110806、20111012、20111202)各适量,分别按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法制备供试品溶液 A 和 B。取 2 种供试品溶液和对照品溶液各 10 μl,按上述色谱条件进样测定,每批各测定 3 次,计算样品中黄芩苷的质量分数,结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果(*n*=9)

Tab 1 Results of recovery tests(*n*=9)

样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	\bar{x} , %	RSD, %
10.2	20.3	30.62	100.59		
10.2	40.4	51.12	101.28		
10.2	60.1	70.83	100.89		
40.1	20.3	60.13	98.69		
40.1	40.4	80.11	99.04	99.63	0.313
40.1	60.1	99.51	98.85		
100.4	20.3	120.54	99.23		
100.4	40.4	140.29	98.75		
100.4	60.1	160.12	99.37		

表 2 样品含量测定结果(*n*=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(*n*=3)

样品	批号	质量分数, %	RSD, %
供试品溶液 A	20110806	96.41	1.066
供试品溶液 A	20111012	105.85	3.619
供试品溶液 A	20111202	102.12	1.027
供试品溶液 B	20110806	101.28	1.624
供试品溶液 B	20111012	118.01	1.055
供试品溶液 B	20111202	117.38	1.157

3 讨论

3.1 检测波长的选择

文献报道对黄芩苷的检测波长为 274 nm^[4-5]或 280 nm^[6]。笔者取适量对照品溶液用流动相稀释至一定质量浓度,采用紫外分光光度仪在 200~800 nm 波长范围内扫描,发现黄芩苷在 274 nm 和 280 nm 波长处都有较大的吸收;后通过取 HPLC 仪的紫外检测器选择双通道分别为 274 nm 和 280 nm 进行测定,得出在 280 nm 波长处的主峰面积大于 274 nm 波长处,故确定检测波长为 280 nm。

3.2 不同提取方法对黄芩苷含量测定的影响

提取溶剂和样品处理方法对测定指标成分的含量有较大影响。笔者先参照 2010 年版《中国药典》(一部)黄芩项下黄芩苷的提取方法,以 70% 乙醇溶液加热回流提取 3 h,发现提取虽然完全但比较费时费力^[3]。也有研究者^[7]采用 70% 乙醇溶液作溶剂超声提取样品 20 min。因此,笔者在试验过程中考察了以甲醇作溶剂超声提取 30 min、以 70% 乙醇溶液作溶剂超声提取 20 min 的结果,提取次数固定为 1 次。结果表明,2 种不同溶剂提取的黄芩苷质量分数差异较大,用甲醇作溶剂超声提取黄芩苷提取较完全;用 70% 乙醇溶液作溶剂超声提取 20 min 只能提取样品中 50% 的黄芩苷,后改成超声 40 min,滤过,滤渣再用 70% 乙醇溶液超声 10 min,重复三四次(至滤饼上几乎无沉淀物),才可提取完全。这是因为黄芩苷胶囊中黄芩苷的质量分数(约 65%)比黄芩药材(不低于 9%)高很多,《中国药典》方法更适合于提取药材中的黄芩苷,而本制剂中的黄芩苷更适合用甲醇提取。从表 2 结果可知,以甲醇一次超声提取比 70% 乙醇多次超声提取更完全,故选用供试品溶液 B 进行其他试验。

3.3 小结

研究表明^[8-9],不同植物来源、不同地区、不同生长年限的黄芩中黄芩苷的质量分数有较大的差异;野生种与栽培种、不同的采收季节及不同的炮制方法,使黄芩中黄芩苷的质量分数也存在较大的差异。因此,为控制黄芩苷胶囊的质量,保证临床用药的安全、有效,有必要对制剂中黄芩苷的含量进行检测。

综上,本方法操作简便、准确、快速、重复性好,可为黄芩

芪蓉润肠口服液联合乳果糖治疗高龄老年功能性便秘的临床疗效观察

石振东*(沈阳医学院附属铁法煤业集团总医院, 辽宁 铁岭 112700)

中图分类号 R256 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2184-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.26

摘要 目的:观察芪蓉润肠口服液联合乳果糖治疗高龄老年功能性便秘的临床疗效。方法:将120例高龄老年功能性便秘患者随机分为A、B、C组,每组40例。A组患者口服芪蓉润肠口服液每次20 ml,每天3次+乳果糖每次30 ml,每天早餐后服用,2 d后无明显效果者酌情加量至60 ml;B组患者口服芪蓉润肠口服液每次20 ml,每天3次;C组患者口服乳果糖每次30 ml,每天早餐后服用,2 d后无明显效果者酌情加量至60 ml。三组疗程均为4周。以患者治疗前后大便频率、性状的变化和排便困难程度为指标评价临床总有效率、总复发率;以生命体征与辅助检查评价药物不良反应。结果:治疗4周后,A、B、C组总有效率分别为97.5%、82.5%和80%,总复发率分别为7.5%、17.5%和20.0%,不良反应发生率分别为2.5%、7.5%和7.5%。结论:芪蓉润肠口服液联合乳果糖治疗高龄老年功能性便秘疗效优于两药单用,并且不良反应较少。

关键词 芪蓉润肠口服液;乳果糖;功能性便秘;高龄;老年人;疗效

Clinical Observation of Qirong Runchang Oral Liquid Combined with Lactulose in the Treatment of Senile Functional Constipation

SHI Zhen-dong(Tiefa Meiye Group General Hospital of Shenyang Medical College, Liaoning Tieling 112700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the clinical efficacy of Qirong runchang oral liquid combined with lactulose in the treatment of senile functional constipation. METHODS: 120 elderly patients with functional constipation were randomly divided into group A, B, C with 40 cases in each group. The patients in group A received Qirong runchang oral liquid combined with lactulose (oral, Qirong runchang oral liquid 20 ml each time, 3 times a day; lactulose 30 ml, at breakfast, amount added to 60 ml because there was no significant effect 2 days later); patients in group B received Qirong runchang oral liquid (oral, 20 ml each time, 3 times a day); patients in group C received lactulose (oral, 30 ml, at breakfast, amount added to 60 ml because there was no significant effect 2 days later). Treatment course lasted for 4 weeks. The total clinical effective rate, recurrence rate and adverse drug reactions were calculated before and after treatment with defecation interval, phenotypic changes, difficult defecation degree, vitals and assistant examination as index. RESULTS: The total effective rates of group A, B, C were 97.5%, 82.5% and 80% after 4 weeks treatment, and the recurrence rate were 7.5%, 17.5% and 20.0%, and the incidence of adverse reaction were 5%, 7.5% and 7.5%, respectively. CONCLUSIONS: The effect of Qirong runchang oral liquid combined with lactulose is better than them alone in the treatment of senile functional constipation with less adverse drug reaction, which can provide reference for clinical use of drugs.

KEY WORDS Qirong runchang oral liquid; Lactulose; Functional constipation; Advanced age; Elderly people; Therapeutic efficacy

苷胶囊的质量标准及含量测定研究提供科学依据。

参考文献

- [1] 王盛民. 中药原色鉴别图谱[M]. 北京: 学苑出版社, 2005: 150.
- [2] 李玉山. 黄芩的化学成分及黄芩苷的提取方法[J]. 西北药学杂志, 2009, 23(6): 410.
- [3] 陈立柱, 赵怀清. HPLC法同时测定消炎片中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(6): 448.
- [4] 周晓宁, 杨滨. 高效液相色谱-电化学检测法测定黄芩中3种有效成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 47.
- [5] 李强, 巴小翠. UPLC法测定黄芩药材中黄芩苷的含量[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(4): 903.
- [6] 黄凯雁, 秦民坚, 周铜水. 高效液相色谱法同时测定黄芩及其制剂中4种黄酮的含量[J]. 安徽医药, 2008, 12(9): 799.
- [7] 骆晓红, 梁超峰. HPLC法测定黄芩片中黄芩苷的含量[J]. 中国医药导报, 2009, 7(6): 40.
- [8] 徐纪文, 罗素芳. HPLC法测定黄芩中不同部位的黄芩苷含量[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 235.
- [9] 周晓红, 邹佳丽, 袁月梅, 等. 大黄煎煮与浸渍过程中蒽醌类成分含量变化比较[J]. 中国药房, 2010, 21(23): 2148.

(收稿日期: 2012-07-04 修回日期: 2012-09-03)

* 主治医师。研究方向: 消化内科。电话: 024-76835472-391。
E-mail: szd666888@163.com