

HPLC 法测定消炎清热胶囊中黄芩苷的含量

杨立伟*, 龙飞, 肖树雄(广东省药品检验所, 广州市 510180)

中图分类号 R283.65;R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2008)21-1632-03

摘要 目的: 建立以高效液相色谱法测定消炎清热胶囊中黄芩苷含量的方法。方法: 色谱柱为 Thermo ODS-2 Hypersil(150 mm ×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%磷酸(43:57), 检测波长为 277 nm, 柱温为 30℃。结果: 黄芩苷进样量在 0.217 8~3.267 0 μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r = 0.999 9$); 平均回收率为 100.73%, $RSD = 2.23\%$ ($n = 6$)。结论: 本方法灵敏、准确、重复性好, 可用于消炎清热胶囊的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 黄芩苷; 消炎清热胶囊; 含量测定

Determination of Baicalin in Xiaoyan Qingre Capsules by HPLC

YANG Li - wei, LONG Fei, XIAO Shu - xiong (Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510180, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop an HPLC method for the determination of Baicalin in Xiaoyan Qingre capsules. METHODS: The separation of sample was performed on Thermo ODS-2 Hypersil (150 mm ×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid(43:57). The detection wavelength was 277 nm, and the temperature of column was 30℃. RESULTS: The linear range of Baicalin was 0.217 8~3.267 0 μg ($r = 0.999 9$). The average recovery was 100.73% ($RSD = 2.23\%$, $n = 6$). CONCLUSION: The method is sensitive, accurate, reproducible, and suitable for the quality control of Xiaoyan qingre capsule.

KEY WORDS HPLC; Baicalin; Xiaoyan qingre capsules; Content determination

表 6 纯化工艺正交试验结果

试验号	因素			浸膏得率 / %	黄芪甲苷含量 / mg
	A	B	C		
1	1	1	1	1.36	87.74
2	1	2	2	1.23	91.27
3	1	3	3	2.21	85.37
4	2	1	2	2.15	65.89
5	2	2	3	2.87	68.92
6	2	3	1	3.29	87.56
7	3	1	3	2.18	58.76
8	3	2	1	2.01	80.55
9	3	3	2	2.12	72.99
浸膏得率 K_1	4.80	5.69	6.66		
K_2	8.31	6.11	5.50		
K_3	6.31	7.62	7.26		
R	3.51	1.92	1.76		
黄芪甲苷 K_1	88.13	70.80	85.28		
含量 K_2	74.12	80.25	76.72		
K_3	70.77	81.97	71.02		
R	7.36	11.17	14.26		

3 讨论

用水煎煮法提取黄芪中的皂苷类成分比较合理, 经试验证实其最佳提取条件为加 6 倍量水煎煮 3 次, 每次 1 h, 其中水煎次数对提取效果的影响最大。

D-101 型大孔吸附树脂对黄芪的皂苷类成分有较好

广州市科技计划项目(2006Z3-E5181)

* 主管药师, 博士。研究方向: 中药质量标准与应用。电话: 020-81886161。E-mail: yangliwei33@yahoo.com.cn

表 7 浸膏得率测定方差分析结果

方差来源	离差平方和	n	方差	F	P
A	508.730 2	2	254.365 1	45.28	<0.05
B	217.201 8	2	108.600 9	19.33	<0.05
C	309.415 6	2	154.707 8	27.53	<0.05
误差	11.235 1	2	5.616 7		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

表 8 黄芪甲苷含量测定方差分析结果

方差来源	离差平方和	n	方差	F	P
A	2.066 6	2	1.033 2	80.20	<0.05
B	0.686 8	2	0.343 4	26.70	<0.05
C	0.533 7	2	0.266 8	20.70	<0.05
误差	0.025 7	2	0.012 8		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

的分离纯化作用, 溶液的相对密度、洗脱剂量和洗脱速度均可影响其纯化效果。

参考文献

- [1] 阎巧娟, 韩鲁佳. 黄芪皂苷的提取分离方法[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(6): 61.
- [2] 刘友平, 鄢丹. 大孔吸附树脂纯化中药有效成分的影响因素[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(14): 21.

(收稿日期: 2007-07-25 修回日期: 2008-01-08)

消炎清热胶囊是由黄芩苷、珍珠粉、栀子提取物等 10 几味中药加工制成的胶囊剂,具有清热解毒、镇静安神的作用,用于治疗外感风热引起的发烧、咽喉肿痛、扁桃腺炎、咽炎等症。黄芩苷具有清热燥湿、泻火解毒的作用^[1],因此,控制黄芩苷含量对控制该制剂的质量具有重要意义。本文参照相关文献^[2-6]建立了高效液相色谱(HPLC)法,用于测定方中黄芩苷的含量。

1 仪器与试剂

2695 Separations Module 系列高效液相色谱仪、Empower 化学工作站(美国 Waters 公司);纯水器(美国 Millipore 公司)。乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);甲醇、乙醇(分析纯,广州化学试剂厂);水为超纯水;黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110715-200514);消炎清热胶囊(广东药学院中药学院研制,批号:070801、070802、070803)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo ODS-2 Hypersil (150 mm ×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(43:57);流速:1 mL·min⁻¹;检测波长:277 nm;柱温:30℃;进样量:5 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含黄芩苷 0.2 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备:取本品适量,研细,取约 0.2 g,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇近刻度,超声处理 15 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,静置,取上清液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备:取 1/10 处方量的除黄芩苷以外的各组分,按消炎清热胶囊制备工艺制成阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适应性试验

取上述阴性对照、对照品和供试品溶液,照“2.1”项下色谱条件注入液相色谱仪,记录色谱图。结果,阴性无干扰;待测峰与其它组分峰分离度良好,黄芩苷的理论塔板数不低于 2 000。色谱见图 1。

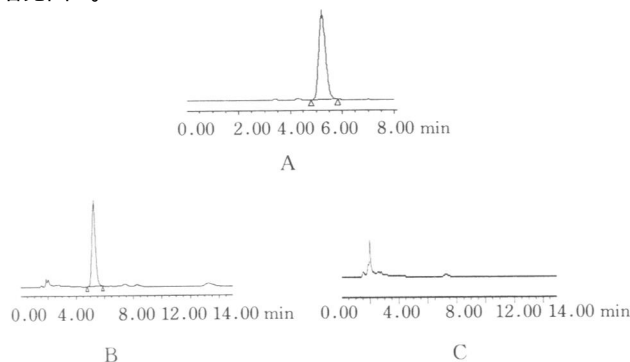


图 1 高效液相色谱

A. 黄芩苷对照品;B. 供试品;C. 阴性对照

Fig 1 HPLC

A. Baicalin reference substance; B. sample; C. negative control sample

2.4 线性关系考察

取对照品溶液,按上述色谱条件分别进样 1、2、5、10、15 μL,记录色谱图。以黄芩苷进样量(X , μg)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 3.55 \times 10^6 X - 1.97 \times 10^5$ ($r = 0.9999$, $n = 5$)。结果表明,黄芩苷进样

量在 0.217 8~3.267 0 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

2.5.1 重复性试验:取同一批样品(批号:070801),按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按上述色谱条件测定。结果,黄芩苷的平均含量为 31.00 mg·g⁻¹, $RSD = 1.58\%$ ($n = 6$)。

2.5.2 中间精密度试验:取同一批样品(批号:070801),由 3 个不同操作人员分别测定黄芩苷含量。结果,黄芩苷平均含量为 30.80 mg·g⁻¹, $RSD = 2.33\%$ ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别在 0、2、4、6、12、16 h 依次进样。结果,黄芩苷峰面积的 $RSD = 0.85\%$ ($n = 6$),表明供试品溶液在 16 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:070801)约 0.1 g,平行 6 份,精密称定,分别添加黄芩苷对照品溶液(0.687 2 mg·mL⁻¹) 5 mL,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定含量,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果($n = 6$)

Tab 1 Results of recovery test($n = 6$)

称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	\bar{x} /%	RSD /%
0.099 7	3.091 4	3.436 0	6.636 0	103.16		
0.109 2	3.386 0	3.436 0	6.799 6	99.35		
0.105 9	3.283 7	3.436 0	6.706 4	99.61	100.73	2.23
0.100 3	3.110 1	3.436 0	6.656 4	103.21		
0.103 6	3.212 4	3.436 0	6.697 0	101.41		
0.101 8	3.156 6	3.436 0	6.511 1	97.63		

2.8 耐用性试验

分别选取 3 种不同型号的 C₁₈ 色谱柱(Thermo ODS-2 (150 mm ×4.6 mm, 5 μm)、Alltima C₁₈(250 mm ×4.6 mm, 5 μm)、Phenomenex Gemini C₁₈(250 mm ×4.6 mm, 5 μm),按上文拟定方法测定同一批样品(批号:20060801)中黄芩苷含量。结果,黄芩苷平均含量为 30.42 mg·g⁻¹, $RSD = 1.87\%$ ($n = 6$)。

2.9 样品含量测定

取 3 批消炎清热胶囊(批号:070801、070802、070803),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进样分析,计算。结果,3 批样品中黄芩苷含量分别为 31.00、29.01、28.90 mg·g⁻¹。

3 讨论

试验考察了加热回流提取法与超声提取法 2 种样品处理方法,结果 2 种方法的提取效率接近。考虑到操作的简便性,最终选择超声提取法。

试验表明,本方法灵敏、准确、重复性好,可用于消炎清热胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2005 年版. 北京:化学工业出版社, 2005:122.
- [2] 谢友良,曾惠芳,林吉,等. HPLC 测定黄芩正气管囊中橙皮苷、黄芩苷、和厚朴酚、厚朴酚的含量[J]. 中成药, 2006, 28(1):34.
- [3] 沙红玉,胡少飞,吴庆娜,等. HPLC 法测定清脑降压片

海桐果壳和种子脂肪酸成分研究

石磊^{1*},王金梅²,康文艺^{1,2#}(1. 解放军第155中心医院,开封市 475003;2. 河南大学天然药物研究所,开封市 475004)

中图分类号 R284.1;R931.71 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2008)21-1634-02

摘要 目的:分析并比较海桐果壳和种子的脂肪酸成分。方法:采用有机溶剂抽提海桐果壳和种子的挥发油,用KOH-NaOH溶液进行甲酯化,采用气相色谱-质谱联用法分离并确认二者的化学成分。结果:从2种样品中共鉴定出了13种脂肪酸,主要成分均为棕榈酸和油酸。结论:海桐果壳和种子均可作为保健型食用油而开发利用。

关键词 海桐;果壳;种子;脂肪酸成分;气相色谱-质谱联用法

Components of Fatty Acids in the Oil from Rinds or Seeds of *Pittosporum tobira*

SHI Lei, WANG Jin - mei, KANG Wen - yi (The 155th Central Hospital of PLA, Kaifeng 475003, China)
WANG Jin - mei, KANG Wen - yi (Institute of the Natural Products, Henan University, Kaifeng 475004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the fatty acids in rinds or seeds of *Pittosporum tobira*. METHODS: The oil from rinds or seeds of *Pittosporum tobira* was extracted with organic solvent, and the fatty acids were methyl-esterified with KOH-NaOH solution and identified by GC-MS. RESULTS: 13 fatty acids were identified from rinds and seeds of *Pittosporum tobira*, mostly the palmitic acid and oleic acid. CONCLUSION: Both rinds and seeds of *Pittosporum tobira* can be exploited as an edible oil for health care.

KEY WORDS *Pittosporum tobira*; Rinds; Seeds; Fatty acids; GC-MS

海桐 *Pittosporum tobira* (Thunb.) Ait. 为海桐花科海桐花属植物,主要分布在福建、广东、广西、贵州等地^[1],为园林绿化观赏树种。海桐的根、叶和种子均能入药:根能祛风活络、散瘀止痛;叶能解毒、止血;种子能涩肠、固精等。化学成分研究表明,海桐种子中含有三萜和类胡萝卜素2类化合物^[2-5],并且含有大量软脂酸和油酸^[6];李玲玲等^[7]还发现海桐种子及果壳提取物中均含有抑菌成分。为进一步开发利用海桐资源,笔者采用气相色谱(GC)法测定了海桐果壳和种子的脂肪酸组成及含量;同时,用气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪对其脂肪酸成分进行了分析测定。

1 材料与方法

1.1 仪器

GC 6890N/5975 MS型 GC-MS 联用仪(美国安捷伦公司);EYELA N-1001型旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社);AL-104型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 药材

海桐果实于2007年10月底采集于河南大学校园,经河南大学药学院袁王俊讲师鉴定为海桐科海桐属植物海桐 *Pittosporum tobira* (Thunb.) Ait., 标本存放于河南大学天然药物

研究所。剥离海桐果实黑褐色果壳,得红色种子。果壳和种子均于室温下阴干,备用。

1.3 分析条件

1.3.1 GC条件:HP-5MS石英弹性毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);载气为高纯氦(He);流量为1 mL · min⁻¹;进样口温度为250 °C;色谱柱初始温度为50 °C(保持3 min),以10 °C · min⁻¹速率升至180 °C(保持2 min),以4 °C · min⁻¹速率升至250 °C(保持20 min);分流进样,分流比为20:1;进样量为1 μL。

1.3.2 MS条件:电离方式为电轰击电离(EI),能量为70 eV;离子源温度为230 °C;四极杆温度为150 °C;传输线温度为280 °C;质量范围为30~550 amu,溶剂延迟3 min;电子倍增器电压为1765 V。谱图检索:采用RTLPEST和NIST05谱库。

1.4 脂肪酸甲酯化

取阴干的海桐种子和果壳粉末各10 g,以石油醚为溶剂,采用索氏抽提法制备海桐种子和果壳油试样。准确称取试样油各0.200 g,置于10 mL试管中,加入石油醚-乙醚(4:3)溶剂至5 mL,振荡溶解,加入0.5 mol · L⁻¹ KOH 甲醇溶液4

中黄芩苷的含量[J]. 齐鲁药事,2006,25(1):26.

[4] 戚雪勇,傅海珍,戴恩达,等. HPLC法测葛根芩连微丸

* 副主任药师。研究方向:中药制剂、医院药学。电话:0378-3958759。E-mail:155SL@163.com

通讯作者:副教授,硕士研究生导师。研究方向:中药活性成分及新药研究。电话:0378-3880680。E-mail:kangweny@hotmail.com

中黄芩苷含量[J]. 江苏大学学报,2006,16(2):53.

[5] 陈晓虎. HPLC法测定清开灵注射液中的黄芩苷含量的不确定度分析[J]. 中国药房,2007,18(15):1168.

[6] 宋群亮,张平,夏源,等. 黄芩苷分散片的制备及质量控制[J]. 中国药房,2007,18(15):1144.

(收稿日期:2008-02-19 修回日期:2008-06-16)