

中药制剂中黄芩苷的定量分析方法研究进展

★ 陈秀华 刘强 (第一军医大学中医系 广州 510515)

关键词:黄芩苷;定量分析;研究进展

中图分类号:R 284.2 文献标识码:A

黄芩苷具有抗菌消炎、降压利尿等作用,是中药黄芩的主要有效成分之一。黄芩苷几乎不溶于水、乙醚、苯、氯仿,难溶于甲醇、乙醇、丙酮,微溶于热冰乙酸、碳酸氢钠,易溶于N,N-二甲基甲酸胺、吡咯。测定黄芩苷含量常在中药制剂中作为质量控制标准之一。本文综述了中药制剂中黄芩苷常用的含量测定方法,供药学工作者参考。

1 分光光度法

分光光度法是中药制剂中含量测定中最常用的方法,具有灵敏度高、操作简便等优点。但由于中药制剂中成分复杂,共存组分常干扰测定,需要先对制剂进行分离再进行测定,此外还可以应用双波长、导数分光光度法等消除干扰组分的影响。要注意应用这些方法不经分离直接测定中药制剂中主要成分的含量时,必须要有被测成分标准品及空白群药(干扰组分),然后分别制备其吸收曲线。

1.1 薄层洗脱——紫外分光光度法 该方法是将样品用薄层层析分离,常光或紫外灯下确定斑点位置,刮取斑点所处的固定项,用一定的溶剂洗脱,离心,取上清液于紫外分光光度计中测定其吸收度。薄层分离可采用硅胶 GF254、硅胶 H 或聚酰胺薄膜。陶涛等^[1]用薄层-紫外分光光度法测定双解口服液(黄芩、大黄、葛根、薄荷等 14 味中药)中黄芩苷的含量,用硅胶 H 作固定项,乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1)为展开剂,样品液直接点样,刮下斑点后用 50% 乙醇洗脱,同时做空白,在岛津 UV2100,278 nm 处测定其吸收度,标准曲线为 $Y = 18.871X + 0.4376$ ($r = 0.9999$),平均回收率为 98.2%。该方法优点是样品液不必经过分离直接点样,简单,快速。但该方法主观因素很多,容易造成较大误差,重复性差,所以现已较少使用。

1.2 双波长紫外分光光度法 将中药制剂分离得

到的样品液直接在单波长或双波长双光束紫外分光光度计中测定,分别测定参比波长 A_1 和测定波长 A_2 处黄芩苷的吸收度,其中参比波长 A_1 为样品中黄芩苷的最大吸收波长,测定波长 A_2 为样品中干扰成分与黄芩苷等吸收处的波长。由于参比波长 A_1 和测定波长 A_2 处黄芩苷的吸收度与其浓度成一定的函数关系,在一定的浓度范围内为线性关系,这样可通过测定 A_1 和 A_2 的差值 ΔA ,由标准曲线计算出黄芩苷的含量。该方法能消除制剂中复杂成分对黄芩苷干扰吸收,能够解决普通分光光度法不能解决的问题。同时方法简便,准确可靠。

孟蕾蕾^[2]用双波长——等吸收点紫外分光光度法测定小儿安金丸(黄芩、百部、川贝母等 11 味中药组成)中黄芩苷的含量,在以光束紫外可见分光光度计 TU-1901 下测定,参比波长为 250 nm,测定波长为 278 nm,结果标准曲线为 $C = 0.619 + 23.754 \Delta A$ ($r = 0.9994$, $n = 9$),平均回收率为 99.80%, $RSD = 1.23\%$ 。

1.3 一阶导数——分光光度法 闫雪生等^[3]用柱层析——阶导数分光光度法测定了感冒止咳口服液中黄芩苷(黄芩、金银花、葛根等 9 味中药)的含量,测得黄芩苷在波长 288~306 nm 处振幅与浓度呈良好的线性关系,可消除其他成分的干扰,平均回收率为 98.33%, $RSD = 1.29\%$ 。

2 薄层扫描法

该方法是将含有黄芩苷的制剂在薄层板上经层析分离后,直接在薄层扫描仪中测定,由回归方程计算出含量,不受其他成分干扰,方法简便,准确。颜耀东等^[4]采用双波长薄层扫描法测定牛黄清胃丸中黄芩苷(大黄、牵牛子、黄芩、牛黄等)的含量,样品用甲醇提取,在聚酰胺板上用醋酸-乙醇(6:1)二次展开分离后,在岛津 CS930 双波长薄层扫描仪中以

LR=280 nm, XS=207 nm 进行扫描测定, 平均回收率为 98.19%, $RSD=1.47\%$ 。应用该方法测定牛黄清胃丸中黄芩苷含量, 分离效果好, 结果准确。卢劲伟^[5]采用双波长薄层扫描法对凉膈散中黄芩苷(大黄、黄芩、芒硝、甘草、山栀子仁、薄荷、连翘组成)的含量进行了测定, 样品用 50% 乙醇提取, 在聚酰胺薄膜上用 30% 醋酸展开, 在岛津 CS930 双波长薄层扫描仪中以测定波长 $\lambda_s=282\text{ nm}$; 参比波长 $\lambda_R=360\text{ nm}$ 测定, 平均回收率为 98.9%, $RSD=1.03\%$ 。本法采用聚酰胺薄膜, 对黄芩苷分离效果好, 不用特殊处理就可将干扰成分与欲测成分分离, 方法简便, 灵敏, 可作为凉膈散黄芩苷质量控制手段之一。

3 极谱法

黄芩苷的化学结构中含有羰基, 在酸性条件下, 可在滴汞电极上发生还原反应生成 CHOH , 于 -1.55 V 处出现的导数极峰的原理, 可采用极谱法进行含量测定。王增理等^[6]采用二阶导数差示脉冲法对药材黄芩中有效成分黄芩苷的含量进行了测定, 扫描范围为 -0.60~2.40 V, 扫描速度为 500 mV/s, 电流灵敏度为 50 tA/V, 脉冲振幅为 20 mV, 标准曲线为 $Y=2.202\,01X+1.545\,9$, $r=0.999\,5$, 平均回收率为 99.69%, $RSD=0.57$, 表明该法精密度较高。

4 高效液相色谱法

由于中药制剂成分复杂, 很难对其进行较好的分离, 采用高效液相色谱法就可以较好地解决这个问题。制剂可不用进行分离就可在高效液相色谱仪中测定其有效成分的含量。2005 版药典中, 黄芩苷的含量测定方法就是采用高效液相色谱法, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2), 检测波长为 280 nm, 理论塔板数按黄芩苷峰计算不低于 2 500。

张玲莉等^[7]用高效液相色谱法测定一清颗粒(黄芩、大黄、黄连)中黄芩苷的含量, 色谱柱为 ODS C_{18} (3.9 mm×150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸(47:52:0.2), 检测波长为 278 nm, 样品用甲醇超声下提取, 结果表明黄芩苷在 0.1~1.0 μg 范围内进样量与峰面积呈现良好的线性关系, 标准曲线为 $Y=4.98\times 10^7X-1.74\times 10^4$ ($r=0.999\,7$), 平均加样回收率为 98.2%, $RSD=2.3\%$ ($n=5$)。宋卫青等^[8]用高效液相色谱法测定芩苈胶囊中黄芩苷的含量, 以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相, 甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为流动相, 检测波长为 280 nm, 样品用 70% 乙醇提取, 结果表明黄芩苷在 0.193~

0.772 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, 标准曲线为 $Y=2\,697.889\,83X-14.454\,76$, $r=0.999\,6$, 平均加样回收率为 98.2%, $RSD=1.84\%$ ($n=5$)。罗世江等^[9]采用 HPLC 法测定四通感冒茶(黄芩、葛根、柴胡、枳壳等)中黄芩苷的含量, 在 KF C_{18} (250 mm×4.6 mm)上, 用甲醇-水-磷酸(4:53:0.2)为流动相, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 278 nm, 室温下进行测定, 用外标法定量; 样品用甲醇超声提取, 结果表明黄芩苷对照品线性范围为 0.093~0.46 μg , 标准曲线为 $Y=-8\,431.2+54\,153.33X$, $r=0.999\,7$, 平均回收率 100.6%, $RSD=2.21\%$ 。

5 讨论

(1)应用紫外分光光度法测定制剂中黄芩苷含量, 需要对黄芩苷进行分离, 一般采用薄层色谱法, 但该方法精密度低, 重复性较差; 为了消除制剂中其他成分的干扰, 现在一般采用计算分光光度法, 如双波长、导数分光光度法。

(2)薄层扫描法是 2000 版药典黄芩苷的含量测定方法, 方法较紫外分光光度法简便, 避免了人手刮取斑点洗脱的缺点, 但该方法精密度较低, 而且回收率较差。

(3)应用高效液相色谱法对中药制剂中黄芩苷的含量测定, 样品不用事先进行分离, 简便, 准确, 重复性好, 是目前黄芩苷定量分析方法中较为优越的方法, 也是质量控制中较常用的方法。

参考文献

- [1]陶涛, 钟慧琦. 薄层-紫外法测定双解口服液黄芩苷含量[J]. 广东药学, 2001, 2: 38
- [2]孟蕾蕾. 双波长紫外分光光度法用于小儿安金丸中黄芩苷的定量分析[J]. 山东医药工业, 2003, 22(2): 19
- [3]闫雪生, 于宗渊, 孙仲凡. 柱层析——阶导数分光光度法测定感冒止咳口服液中黄芩苷的含量[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(5): 279
- [4]颜耀东, 裴颖, 黄晓洁, 等. 双波长薄层扫描法测定牛黄清胃丸中黄芩苷的含量[J]. 南京中医药大学学报, 1997, 13(5): 277
- [5]卢劲伟. 双波长薄层扫描法测定凉膈散中黄芩苷含量[J]. 广西中医学院学报, 2003, 6(2): 43
- [6]王增理, 梁云爱, 景志坚. 二阶导数差示脉冲极谱法用于黄芩中黄芩苷的定量研究[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(9): 554
- [7]张玲莉, 彭燕, 吕翼. 高效液相色谱法测定一清颗粒中黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2003, 6(10): 628
- [8]宋卫青, 倪艳, 王瑞明, 等. 高效液相色谱法测定芩苈胶囊中黄芩苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(1): 4
- [9]罗世江, 唐冰. 高效液相色谱法测定四通感冒茶中黄芩苷的含量[J]. 淮海医药, 2003, 21(4): 333
- [10]冯淑华, 乔卫. 黄芩及其制剂中黄芩苷含量测定方法[J]. 中草药, 1995, 26(7): 381

(收稿日期: 2005-01-05)