

· 药物分析 ·

高效液相色谱法同时测定扁咽口服液中黄芩苷和肉桂酸的含量

马建丽¹, 刘皈阳¹, 李翔¹, 黄欣欣¹, 姚飞¹, 马晓晖² (1. 解放军总医院第一附属医院药剂药理科, 北京 100048; 2. 北京军区空军门诊部药房, 北京 100061)

[摘要] 目的 建立高效液相色谱法同时测定扁咽口服液中黄芩苷和肉桂酸的含量。方法 色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-2% 冰醋酸溶液 (23 : 77); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 室温; 进样量: 10 μl。结果 黄芩苷和肉桂酸分别在 0.085 1 ~ 3.404 8 g ($r=0.999\ 9$) 和 0.020 3 ~ 0.811 2 g ($r=0.999\ 9$) 范围内与其峰面积线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率 ($n=6$) 为 101.68% 和 101.46%, RSD 为 2.85% 和 2.07%。结论 本方法快速、简便、准确, 能更全面控制和评价扁咽口服液的质量。

[关键词] 扁咽口服液; 黄芩苷; 肉桂酸; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)06-0451-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.06.015

Determination of baicalin and cinnamic acid in Bianyan oral solution by HPLC

MA Jian-li¹, LIU Gui-yang¹, LI Xiang¹, HUANG Xin-xin¹, YAO Fei¹, MA Xiao-hui² (1. Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China; 2. Department of Pharmacy, Beijing Military Region Air Force Outpatient, Beijing 100061, China)

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC method for determination of baicalin and cinnamic acid in Bianyan oral solution simultaneously. **Methods** The Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, the mobile phase consisted of ACN-2% acetic acid (23 : 77), the flow rate was 1.0 ml/min, the detection wavelength was at 280 nm, the column temperature was at room temperature, and the inject volume was 10 μl. **Results** A good linear correlation was observed within the range of 0.085 1 ~ 3.404 8 g for baicalin ($r=0.999\ 9$) and 0.020 3 ~ 0.811 2 g for cinnamic acid ($r=0.999\ 9$). The average recovery ($n=6$) was 101.68% with RSD 2.85% for baicalin and 101.46% with RSD 2.07% for cinnamic acid. **Conclusion** The method was rapid, simple and accurate, which could be used for the overall quality control of Bianyan oral solution.

[Key words] Bianyan oral solution; baicalin; cinnamic acid; HPLC; determination

扁咽口服液是由黄芩、玄参、连翘、穿心连、黄连、桔梗等十七味中药采用现代制剂工艺制备而成, 具有清热解毒, 利咽生津, 软坚散结的功效, 临床主要用于治疗急慢性咽炎、扁桃体炎。扁咽口服液为医院制剂, 经长期的临床应用证明其具有较好的治疗作用。黄芩、玄参作为该制剂的主药, 都具有泻火解毒的功能^[1]。黄芩苷与肉桂酸分别为黄芩与玄参的主要药效成分之一, 黄芩苷具有抗菌、抗病毒等多种作用^[2], 肉桂酸也被证实具有抗菌消炎的功效^[3]。但目前尚无报道采用 HPLC 法同时测定扁咽口服液中以上两种成分。为进一步完善扁咽口服液的质量控制方法, 本实验采用 HPLC 法对制剂中的黄芩苷和肉桂酸进行了含量测定, 方法简单、快速、可靠, 准确度高, 可以为全面控制扁咽口服液的质量

提供科学依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (包括四元泵, VWD 检测器, 自动进样器, ChemStation 化学工作站); Mettler AE240 电子天平 (梅特勒公司)。

黄芩苷对照品 (批号: 715-200111)、肉桂酸对照品 (批号: 110855-200801) 均购自中国药品生物制品检定所; 药材由北京市鹤延龄中药饮片有限公司提供; 扁咽口服液 (规格: 10 ml/支, 解放军总医院第一附属医院); 甲醇和乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-2% 冰醋酸溶液 (23 : 77); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 280 nm;

[基金项目] 解放军总医院第 304 临床部科研课题 (YJ200922)。

[作者简介] 马建丽 (1965-), 女, 副主任药师。Tel: (010) 66867082, E-mail: jianli.ma@163.com。

柱温:室温;进样量:10 μl 。在此条件下,黄芩苷和肉桂酸与样品中其他色谱峰分离良好,保留时间约为8 min和15 min,分离度为1.87和1.69,理论塔板数均不低于4 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取在60 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥4 h的黄芩苷对照品10.64 mg,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为1.064 mg/ml的对照品储备液。精密称取肉桂酸对照品10.14 mg,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为1.014 mg/ml的对照品储备液。分别精密量取黄芩苷对照品储备液0.8 ml,肉桂酸对照品储备液0.2 ml,

置10 ml量瓶中,用甲醇定容,即得含85.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 黄芩苷和20.28 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 肉桂酸的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取本品2 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照品溶液 按处方比例及生产工艺制备缺黄芩和玄参的阴性样品,按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照品溶液。

2.3 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液,按上述色谱条件测定,记录色谱图。结果显示,阴性对照品对黄芩苷和肉桂酸的测定无干扰,具体见图1。

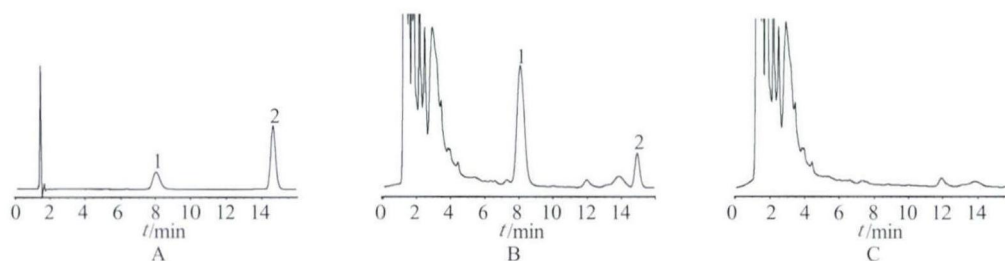


图1 扁咽口服液色谱图

A-对照品溶液;B-供试品溶液;C-阴性对照品溶液;1-黄芩苷;2-肉桂酸

2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液1、2、5、10、20、40 μl ,注入液相色谱仪。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,见表1。结果表明,黄芩苷和肉桂酸在各自范围内与峰面积线性关系良好。

表1 对照品的回归方程、相关系数及线性范围

对照品	回归方程	r	线性范围(μg)
黄芩苷	$Y = 364.3X - 0.7163$	0.9999	0.0851 ~ 3.4048
肉桂酸	$Y = 759.1X + 0.0786$	0.9999	0.0203 ~ 0.8112

2.5 精密度试验 精密吸取对照品混合溶液10 μl ,连续进样6次。结果黄芩苷和肉桂酸峰面积的RSD分别为0.19%和0.33%,表明该法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:111121),分别在0、2、4、8、12、24 h进样10 μl 。结果黄芩苷和肉桂酸峰面积的RSD分别为2.03%和2.44%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.7 重复性试验 取同一样品(批号:111121),按“2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液6份,各取10 μl 进样测定黄芩苷和肉桂酸的含量。结果黄芩苷和肉桂酸平均含量分别为415.4、25.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$,RSD为2.13%和1.68%,表明该法的重现性良好。

2.8 加样回收率试验 精密量取黄芩苷和肉桂酸已知含量分别为415.4和25.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的样品(批号:111121)6份,分别精密加入1.064 mg/ml黄芩苷对照品储备液0.4 ml,0.101 mg/ml肉桂酸储备液0.25 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,10 μl 进样,测定黄芩苷和肉桂酸的含量,计算回收率,结果见表2。

2.9 样品测定 按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样,测定20批样品中黄芩苷和肉桂酸的含量,结果见表3。

3 讨论

通过比较对照品溶液的紫外吸收光谱可以发现,黄芩苷和肉桂酸在280 nm附近均呈现最大吸收,故选择280 nm作为检测波长。在此波长下,两种成分均具有较好的色谱相应,且与相邻色谱峰可以达到基线分离,符合含量测定的要求。

分别尝试采用梯度洗脱和等度洗脱两种方式进行黄芩苷和肉桂酸的分离测定,结果显示,在不同流动相条件下,两种化合物均能成功分离。从节省色谱运行时间和流动相成本等角度考虑,确定采用等度洗脱的方式进行黄芩苷和肉桂酸的含量测定。

表2 加样回收率试验

成分	取样量(ml)	样品中量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
黄芩苷	1.0	415.4	425.6	849.2	101.93	101.68	2.85
	1.0	415.4	425.6	854.8	103.25		
	1.0	415.4	425.6	834.7	98.53		
	1.0	415.4	425.6	831.4	97.75		
	1.0	415.4	425.6	858.7	104.15		
	1.0	415.4	425.6	860.1	104.49		
肉桂酸	1.0	25.98	25.35	51.83	101.97	101.46	2.07
	1.0	25.98	25.35	51.34	100.04		
	1.0	25.98	25.35	51.67	101.36		
	1.0	25.98	25.35	50.98	98.61		
	1.0	25.98	25.35	51.82	101.92		
	1.0	25.98	25.35	52.56	104.85		

表3 样品含量测定结果(n=3, μg/ml)

编号	批号	黄芩苷	肉桂酸	编号	批号	黄芩苷	肉桂酸
1	111121	415.4	25.98	11	120320	512.8	23.11
2	111128	295.2	24.58	12	120326	868.3	14.71
3	111205	163.9	22.05	13	120409	785.7	14.83
4	111212	271.9	22.49	14	120410	622.0	24.91
5	111219	458.2	15.63	15	120416	719.7	18.42
6	111226	271.9	19.60	16	120423	650.2	15.38
7	120305	269.2	17.11	17	120424	525.7	16.55
8	120306	430.7	17.74	18	120507	676.4	13.70
9	120312	265.7	24.21	19	120521	698.2	11.91
10	120319	702.5	14.97	20	120528	645.7	11.37

笔者前期曾对扁咽口服液中黄芩苷的含量进行测定,并对其在生产过程中的转移率进行了评价^[4,5]。为了更加准确地检测有效成分,提供扁咽口服液质量评价与控制的相关依据,本实验通过HPLC法同时测定黄芩苷和肉桂酸含量,能够有效保证制剂的一致性和稳定性。

【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010年版一部[S].

北京:中国化学工业出版社,2010:108.

[2] 雷 芳. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 中国药业, 2010, 19(15): 87.
[3] 张春乐,宋康康,陈祥仁,等. 肉桂酸及其衍生物的抑菌活性研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2006, 45(增):16.
[4] 李 翔,刘饭阳,马建丽,等. HPLC法测定扁咽口服液中黄芩苷的含量[J]. 解放军药学学报,2012,28(3):254.
[5] 李 翔,刘饭阳,马建丽,等. 扁咽口服液生产过程中黄芩苷转移率的研究[J]. 药学实践杂志,2012,30(4):289.

[收稿日期]2012-12-17

[修回日期]2013-04-08

(上接第414页)

[4] Heby O. Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation[J]. Differentiation,1981,19(1): 1.
[5] Herrero AB, Lopez MC, Garcia S, et al. Control of filament formation in Candida albicans by polyamine levels[J]. Infect Immun, 1999,67(9): 4870.
[6] 江 丽,杭太俊,张婷婷,等. 柱前衍生化 HPLC法测定复方布洛芬片中精氨酸的含量[J]. 药学进展,2006,30(5):221.

[7] 付 敏,赵卫红,苗 辉,等. 高效液相色谱法测定海水中游离态腐胺、亚精胺和精胺[J]. 分析化学研究报告,2010,38(10):1445.
[8] Cao YY, Zhu ZZ, Chen XF, et al. Effect of amphotericin B on the metabolic profiles of Candida albicans[J]. J Proteome Res, 2013,12(6): 2921.

[收稿日期]2013-08-28

[修回日期]2013-10-31