

毛细管区带电泳快速测定银黄口服液中的黄芩苷和绿原酸含量

王守箐(临沂师范学院, 山东 临沂 276005)

摘要:目的 建立了毛细管电泳法测定中药复方制剂银黄口服液中绿原酸、黄芩苷的方法。方法 以弹性石英毛细管柱为分离柱, 25 mmol · L⁻¹ 硼砂缓冲溶液(用 0.2 mol · L⁻¹ HAc 和 0.1 mol · L⁻¹ NaOH 调 pH 至 9.0) 为运行缓冲液, 分离电压为 15 kV, 检测波长为 325 nm。结果 在优化的条件下, 20 min 内实现了 2 种物质的良好分离, 绿原酸、黄芩苷峰面积和浓度分别在 0.1 ~ 1.0 和 0.2 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ 呈良好线性; 检出限分别为: 绿原酸 0.02 mg · mL⁻¹; 黄芩苷 0.04 mg · mL⁻¹, 回收率在 97% ~ 102%。结论 该方法适合该品种的质量控制。

关键词:毛细管电泳; 银黄口服液; 绿原酸; 黄芩苷

中图分类号: R917.105; R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)05-0390-03

Determination of Chlorogenic Acid and Baicalin in Yinhuang Oral Liquid by Capillary Electrophoresis

WANG Shou-qing (Linyi Normal University, Linyi 276005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A capillary electrophoretic method has been developed for the determination of chlorogenic acid and baicalin in Traditional Chinese Medicinal preparation Yinhuang oral liquid. **METHODS** An elastic quartz capillary tube at 20 °C was used with a running buffer of Na₂B₄O₇ (25 mmol · L⁻¹, pH=9.0), the separate voltage was 15 kV and detection wavelength was 325 nm. **RESULTS** Under optimized conditions, two components were separated in 20 min. A good linear relationship between the peak area and concentration was observed in the ranges of 0.1 ~ 1.0 and 0.2 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ for chlorogenic acid and baicalin, respectively. The detection limits were found to be 0.02 and 0.04 mg · mL⁻¹ for these two components, respectively. The recoveries of two components were all within 97% ~ 102%. **CONCLUSION** The method is suitable for the control of the drug.

KEY WORDS: capillary electrophoresis; Yinhuang oral liquid; chlorogenic acid; baicalin

作者简介: 王守箐, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0539) 7790271 E-mail: wsq23@126.com

银黄口服液是金银花提取物和黄芩苷组成的中药复方制剂,具有清热解毒、抗菌、消炎等作用。临床用于感冒引起的咽喉肿痛和急、慢性扁桃体炎等症,被誉为中药抗菌素。银黄口服液含量测定常用高效液相色谱法(HPLC)^[1-2]。高效毛细管电泳法(HPCE)与HPLC相比,具有选择性好、分离速度快、分离效率高、样品及试剂消耗量少和毛细管柱寿命长,容易清洗等优点。近年来在中药有效成分分析中逐渐得到应用推广^[3-4]。笔者采用HPCE,通过条件优化,利用区带毛细管电泳测定了银黄口服液中的绿原酸和黄芩苷两种有效成分,样品测定及加样回收实验得到满意的结果。

1 仪器和试剂

P/ACE MDQ 毛细管电泳仪,(配二极管阵列检测器, BECKMAN COULTER);弹性石英毛细管柱(60 cm × 50 μm, 河北永年光导纤维厂);pHS-2 型酸度计(上海雷磁仪器厂)。黄芩苷,绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所);银黄口服液(鲁南制药股份有限公司,批号 20041122)。其他试剂均为分析纯,水为二次石英蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

弹性石英毛细管柱为分离柱,25 mmol · L⁻¹ 硼砂缓冲溶液(用 0.2 mol · L⁻¹ HAc 和 0.1 mol · L⁻¹ NaOH 调 pH 至 9.0),分离电压为 15 kV,检测波长为 325 nm,柱温为 20 ℃,压力进样,进样时间 8 s,每次开机后分别用 0.1 mol · L⁻¹ NaOH,去离子水,运行缓冲液冲洗 2,3,5 min,每次进样之间用运行缓冲液冲洗 3 min。

2.2 标准溶液及样品溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 准确称取一定量绿原酸和黄芩苷对照品,分别用 75% 乙醇溶液-运行缓冲液(1:1)配成含绿原酸 1 mg · mL⁻¹ 和含黄芩苷 2 mg · mL⁻¹ 的溶液,用 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤,续滤液作对照品储备液。取绿原酸、黄芩苷储备液各 1.0 mL 混合,得对照品溶液。

2.2.2 样品溶液的制备 准确移取银黄口服液 5 mL,用 75% 乙醇-运行缓冲液(1:1)稀释 20 倍,用 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤,续滤液作样品溶液。

2.2.3 测定法 分别取对照品溶液和样品溶液置样品瓶中,以“2.1”所述条件测定,外标峰面积法计算含量。吸收图谱见图 1。

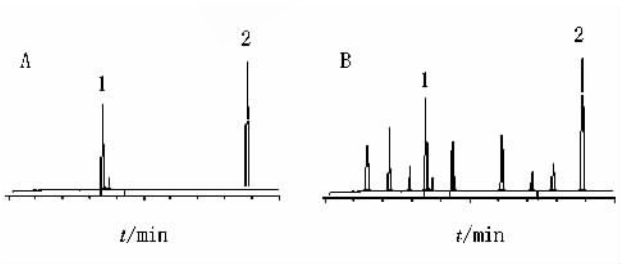


图1 样品和对照品图谱
A. 对照品;B. 样品;1. 绿原酸;2. 黄芩苷

Fig 1 HPLC chromatograms of sample and reference substance
A. reference substance; B. sample; 1. chlorogenic acid; 2. baicalin

2.3 线性关系

取绿原酸、黄芩苷对照品储备液以运行缓冲液稀释成含绿原酸、黄芩苷浓度分别为 0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg · mL⁻¹ 和 0.2,0.4,0.8,1.6,2.0 mg · mL⁻¹ 的溶液。按上述条件测定,以峰高对浓度进行线性回归,得绿原酸、黄芩苷的线性方程分别为 $A = 101.1326X - 0.9875 (r = 0.9991)$ 和 $A = 22.3759x + 1.05628 (r = 0.9989)$,表明绿原酸和黄芩苷在 0.1 ~ 1.0 mg · mL⁻¹ 和 0.2 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ 的范围内具有良好的线性关系。

2.4 空白试验

按银黄口服液的制备工艺制备不含黄芩苷和金银花提取物的空白溶液,按“2.2.2”方法制备空白试液,以“2.1”所述条件测定,结果表明:在 325 nm 波长处空白试液无吸收,不影响绿原酸和黄芩苷的测定。

2.5 样品重复性和检出限

连续 8 次注射含有绿原酸和黄芩苷分别为 0.5 和 1.0 mg · mL⁻¹ 的混合标准溶液计算了重复性,绿原酸和黄芩苷迁移时间和峰面积的相对标准偏差分别为 1.56%,1.62% 和 1.96%,2.39%。利用三倍信噪比法得到检出限分别为:绿原酸 0.02 mg · mL⁻¹;黄芩苷 0.04 mg · mL⁻¹。

2.6 回收率实验

采用半量加入法,取“2.2.2”中的样品溶液 5 mL,置 10 mL 的量瓶中,向样品中准确加入一定量的绿原酸、黄芩苷,使浓度为样品测定用浓度的 80%,100% 和 120%,做加样回收实验,实验结果表明:在三个浓度水平上,两种组分的平均回收率均在 97% ~ 102% 的范围内,相对标准偏差均小于 3%,基本令人满意。

2.7 样品测定结果

利用所建立的方法分析了三批银黄口服液(041101, 041102,041103)中的绿原酸和黄芩苷,结果见表 1,三批含量均符合规定,与液相色谱法测定结果基本一致。

表1 样品测定结果

Tab 1 Determination results of samples

批号	绿原酸含量/mg · mL ⁻¹	黄芩苷含量/mg · mL ⁻¹
041101	11.03	23.6
041102	11.60	23.2
041103	11.72	22.1

3 讨论

3.1 缓冲溶液 pH 的影响

缓冲溶液 pH 影响 Zeta 电位、电渗流及样品组分的带电情况,从而影响各组分的迁移时间和分离度^[5],实验发现:小于 8.2,两者分离较差,大于 9.5 后黄芩苷峰形变差,故选为 9.0。

3.2 缓冲溶液浓度的影响

缓冲溶液浓度的影响样品组分的迁移时间和分离度,实验发现:硼砂缓冲溶液浓度在 5 ~ 25 mmol · L⁻¹ 的范围内,浓度越高,分离度越大,但超过 25 mmol · L⁻¹ 时,分离度随浓度增加变小,可能是浓度大、焦耳热高的缘故。本法采用 25

mmol · L⁻¹ 硼砂缓冲溶液作运行缓冲液。

3.3 分离电压的影响

在 10 ~ 25 kV 范围内研究了分离电压对迁移时间和峰高的影响,实验结果表明:迁移时间随着分离电压的升高而降低;峰面积在 10 ~ 15 kV 范围内随着分离电压的升高而增加。当分离电压超过 15 kV 后峰高缓慢减小,而且随着分离电压的升高,基线噪音增加,分离度降低,综合考虑分离度、峰面积和分离时间等因素,选择 15 kV 作的分离电压。

3.4 有机添加剂的影响

为了进一步优化分离,试验了甲醇、乙醇、乙腈等有机溶剂对分离的影响,结果表明:加入这些有机溶剂对分离没有明显提高,但迁移时间增加,分离时间延长,因此. 本实验中不使用有机添加剂。

REFERENCES

[1] WANG S Q, WANG H, LI G Z, *et al.* Determination of chlorogenic

acid and baicalin in Yinhuang capsule by HPLC-PDA [J]. J Shangdong Pharm J (山东医药工业杂志), 2003, 22 (2): 14.

[2] YANG X J, WANG K. Determination of chlorogenic acid and baicalin in Yinhuang granule by HPLC [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2004, 18 (12): 752.

[3] AN D K, ZHANG Z H, SHENG L S, *et al.* Selected Topics on Modern Pharmaceutical Analysis (现代药物分析选论) [M]. Beijing: Chinese Pharmaceutical Science and Technology Press, 2001: 108.

[4] ZHENG Y N, XIE T Y, MO J Y, *et al.* Quantitative Determination of Baicalin in Shuanghuanglian Powder-injectable by High Performance Capillary Electrophoresis -Conductivity Detection [J]. J Instrum Anal (分析测试学报), 2001, 20 (6): 21.

[5] DENG Y Z, HE J L. High Performance Capillary Electrophoresis (高效毛细管电泳) [M]. 1st. Beijing: Science Press, 1995: 26.

收稿日期: 2006-04-24