

黄芩及其制剂中黄芩甙含量测定方法

天津医科大学药理学系(300203) 冯淑华* 乔卫

摘要 含有黄芩的中药制剂中的复杂的化学成分常会干扰其中黄芩甙的含量测定,今综述近年来国内外对黄芩及其制剂中黄芩甙含量测定的方法。

黄芩具有抗菌消炎、降压利尿、解热、镇静、利胆解痉等作用。常与其它中草药制成复方制剂。黄芩甙是黄芩中的主要有效成分,测定其含量可作为黄芩制剂的质量控制标准之一。随着对其研究的深入,不断有新的测定方法出现。

1 分光光度法

含黄芩甙的制剂经过分离或不分离,在分光光度计上测定黄芩甙的吸收度,可计算出含量。并以回收率作为判断该法的精确的标准。

1.1 薄层层析——比色法:将黄芩制剂经过薄层层析分离,紫外灯下定位,用一定溶剂洗脱后,利用其结构上的酚羟基及其还原性进行显色。在721型分光光度计或72型光电分光光度计上测定吸收度,计算含量^[1]。

在该法中,薄层层析的回收率是测定含量精确的判断标准。

邵礼铮用聚酰胺薄膜测定中药复方制剂抗毒灵注射液中黄芩甙的含量,以30%醋酸为展开剂,在紫外灯下剪下黄芩甙的褐色斑点,用DMF浸泡3h,回收DMF,加入50%乙醇,显色,在721型分光光度计460nm处测定吸收度,计算黄芩甙的含量,平均回收率为92.5%,与紫外法比较无明显差异^[1]。

1.2 薄层层析—紫外分光光度法:含黄芩甙的样品经薄层层析分离后,紫外灯下定位,经洗脱在751G或752型分光光度计上测定最大吸收波长处的吸收度,计算含量。绘制黄芩甙的标准曲线,求出回归方程。a)黄芩甙薄层层析的回收率测定:有2种方法,其一绘制回收曲线,其二加量回收实验。为减少样品测定误差,可将一定量黄芩甙标品加入样品中,和样品一起进行处理和测定,以回归方程计算回收率^[2]。b)稳定性实验:样品在 λ_{max} 处测定的吸收度在一定时间内不变,方可说明结果的可靠性。c)样品的测定:定量量取一定量的样品经薄层展开后,于紫外灯下定位,取下色斑,用溶剂洗脱,测定 λ_{max} 处的吸收度值,从经过薄层后的标准曲线上查出相当于黄芩甙的含量,或用回归方程计算含量。在测定样品含量前,首先对不同剂型的制剂进行一定的处理,再行测定。

薄层层析可采用硅胶GF₂₅₄^[2]、硅胶H^[3]、聚酰胺薄膜^[4]。罗集鹏等测定鼻炎康片中黄芩甙含量时^[4],用聚酰胺膜层析,以36%乙酸为展开剂,取下斑点后,用含1%硼酸的50%乙醇于60℃洗脱20min,同时作空白,在279nm波长处测吸收度,从回归方程计算出含量,回归方程 $Y = 2 \times 10^{-4} + 5.67 \times 10^{-3} X$ ($r = 0.9999$),平均回收率96.1% ($CV = 1.1\%$)。葛建华等测定黛苓化痰丸中黄芩甙的含量时^[2],用硅胶GF₂₅₄作固定相,不经活化,以正丁醇—醋酸—水(4:1.5:4.2)为展开剂,取下斑点后,用甲醇—水(9:11)洗脱,于276.0nm波长处测吸收度,回归方程 $Y = 16.39C + 2.75 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9999$),回收率100.9% ($CV = 0.94\%$)测定时,吸收度值在3.5h内不变。

*Address: Feng Shuhua, Department of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin

该法测定的缺点是制剂成分复杂, 干扰组分多时, 能影响测定结果。薄层回收率受固定相、洗脱剂的影响, 选择适宜的固定相, 洗脱剂可得到令人满意的回收率。

1.3 双波长分光光度法: 对黄芩的复方制剂可不经分离, 直接在751G或UV—265紫外分光光度计及UV—3000型双波长双光束自记式分光光度计上^[5]测定 λ_1 (参比波长) 和 λ_2 (测定波长) 处的吸收度, 得吸收度差值 ΔA , 由此计算黄芩甙的含量。 λ_2 为测定波长, 是测定样品中黄芩甙的最大吸收波长, λ_1 为参比波长, 是测定样品中干扰成分与黄芩甙等吸收处的波长。干扰成分在此波长处不影响黄芩甙的吸收度, 不同成分的样品参比波长不同, 需实际测定来决定。在 λ_1 和 λ_2 处黄芩甙的吸收度差只与浓度成一定的函数关系, 在一定浓度范围内为线性关系。这样, 可通过测定 ΔA , 由标准曲线查出或由回归方程计算出含量。

双波长法是分光光度法中消除共存物干扰吸收的较理想的方法, 解决了普通分光光度法无法解决的问题, 同时可用单波长分光光度计进行双波长测定^[6], 回收率满意, 结果准确, 方便易行。栾士香等用双波长法测定双黄连注射液中黄芩甙的含量^[7]。平均回收率为96.68%。

2 薄层扫描法

将黄芩制剂在薄层板上经层析分离, 直接在CS-910, CS-930薄层扫描仪上, 在选定 λ_s 和 λ_R 范围内扫描, 得薄层斑点的面积积分值, 由回归方程计算出含量, 不受其它成分干扰, 方法简便, 准确, 见表。

3 HPLC法

用高效液相色谱仪, 在选定色谱柱上, 用适宜的流动相使黄芩制剂中黄芩甙内标物和其它成分达到良好的分离, 经紫外检测可得峰面积, 用内标法或外标法由回归方程计算含量,

表 薄层扫描法

题 目	仪 器	展 开 剂	固 定 相	薄 层 扫 描 参 数
薄层扫描法测定银黄注射液 中绿原酸与黄芩甙的含量 ^[8]	CS-930型薄层扫描仪	36%乙酸	聚酰胺-6薄膜	氙灯, $\lambda_s = 294\text{nm}$, 反射锯齿形程序扫描, 峰面积定量, 狭缝 $1.2 \times 0.4\text{mm}$ 扫
黄芩中黄芩甙和汉黄芩甙的 薄层扫描测定法 ^[9]	岛津CS-910型双波长 薄层扫描仪	醋酸乙酯-甲醇- 甲酸(8:1:1)	聚酰胺 薄膜	反射法, 直线扫描, $\lambda_s = 235\text{nm}$, $\lambda_R = 400\text{nm}$, 狭缝 $10 \times 0.5\text{nm}$
聚酰胺薄膜—薄层扫描法快 速测定黄芩中黄芩甙 ^[10]	岛津CS-930双波长薄 层扫描仪	乙醇—36%醋酸	聚酰胺 薄膜	反射法, 锯齿扫描, $\lambda_s = 282\text{nm}$, $\lambda_R = 215\text{nm}$, $S_x = 7$
黄芩及双黄连注射液中黄芩 甙含量的测定 ^[11]	岛津CS-930型双波长 薄层扫描仪	氯仿-乙酸乙酯-甲 醇-甲酸(7:3:1:1)	硅胶 GF ₂₅₄	反射法, 锯齿扫描, $\lambda_s = 297\text{nm}$, $\lambda_R = 365\text{nm}$, $S_x = 3$, 狭缝 $2.0 \times 2.0\text{mm}$, 程序扫描
小柴胡口服液黄芩甙含量测 定研究 ^[12]	岛津CS-910型双波长 薄层扫描仪	正戊醇-甲醇-甲 酸-水(7:1:1:1)	硅胶 GF ₂₅₄	反射法直线扫描, $\lambda_s = 280\text{nm}$, $\lambda_R = 207\text{nm}$, 狭缝 $8 \times 0.5\text{nm}$, CH = 2, $S_x = 3$
薄层扫描法测定防风通圣丸 中大黄素和黄芩甙的含量 ^[13]	岛津CS-930型薄层 扫描仪	甲苯-乙酸乙酯- 甲酸) 2:3:1.2)	硅胶 GF ₂₅₄	$\lambda_s = 280\text{nm}$, $\lambda_R = 207\text{nm}$

方法简便, 快速, 重现性好, 是质量控制的可靠手段。

测定注射液时, 可直接进行测定, 不经任何处理^[14,15]。陈定一等用HPLC法测定清开灵注射液中黄芩甙的含量, 用内标法计算含量, 回收率97.10% (CV = 0.58)。

对其它含有成分较多的剂型, 如先进行处理, 除去部分杂质, 可提高HPLC法测定的准确性^[16]。

周原用HPLC法测定儿童清肺口服液黄芩甙的含量时^[17], 由于样品中含有大量的蜂蜜、糖, 成分复杂, 分离困难, 且背景吸收大, 造成基线升高, 用Sep—Parkc—18预柱进

行处理,可除去蜂蜜、糖等极性大的杂质,再用HPLC测定,结果满意。平均回收率97.6%,外标法计算含量。用该法还可进行黄芩中成分的系统研究^[18, 19],结果令人满意。

4 离子对色谱法(PIC)(或离子对高效液相色谱法)

在高效液相色谱的流动相中,添加与样品离子相反电荷的反离子,使其与样品进行离子结合,形成中性状态的离子对,从而改变了离子型化合物在两相中的分配系数,增加保留值,而非离子型化合物的分配系数不受影响,使离子型化合物得以分离,通过紫外检测得以定量。相乐和彦等用离子对高效液相色谱法测定单方和各种复方制剂中的黄芩甙的含量,同时测定了黄芩中的其它成分^[20]。

5 脉冲极谱法

本法是用JMJ-2型多功能脉冲极谱仪,在一定的底液中测定生药黄芩及制剂中黄芩甙的含量,先确定黄芩甙的还原波处的电压,然后确定浓度与峰高的线性方程,由此可计算出黄芩甙的含量。张秀琴等用极谱法测定三黄片中的几种有效成分^[21],在同一底液中同时定量几种共存成分,方法灵敏,方便,快速。

氧气对该法测定有影响,测定时要通氮气,除去氧,所用底液是根据制剂中成分,通过实验而选择的。选择合适的底液可同时测定几个组分。

6 二阶导数光谱法

用UV-365紫外分光光度计测定黄芩甙标准品及阴性对照液的二阶导数光谱,从中找出黄芩甙有最大吸收而干扰成分的二阶导数为零时的吸收波长,在此波长处,经测定标准溶液得二阶导数与浓度的回归方程。由此,测定待测样品中黄芩甙的含量。该法能有效地消除其它成分的干扰,不需预先分离,方法简便,快速,结果满意。

石淑琴用该法测定双黄连注射剂中黄芩甙的含量^[22],回收率为99.51%(CV%=2.19)。

7 黄芩甙-聚氯乙烯(PVC)膜电极法

以黄芩甙与三辛基甲基氯化铵的缔合物为活性物质,制成PVC膜,以此为电极,Ag/AgCl作为参比电极, 10^{-3} mol/L黄芩甙溶液作内参溶液,可直接测黄芩甙的电位值。以标准溶液的电位值与溶液浓度的负对数作图,在一定范围内为线性相关($5.0 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-2}$ mol/L,斜率为 52 ± 1 mV $r=0.9999$)。由此可计算待测样品中黄芩甙的含量。

冯今明等用该法测定了粗黄芩甙中黄芩甙的含量,与紫外分光光度法比较结果基本一致^[23]。用该法测定时含有羟基的物质对电极有较大的干扰,故不适于含有羟基结构化合物的多组分的测定。

参 考 文 献

- 1 邵礼铮,等.中草药,1990,21(7):18
- 2 葛建华,等.现代应用药学,1990,21(7):18
- 3 刘丛盛,等.中国药科大学学报,1993,24(3):184
- 4 罗集鹏,等.中药材,1990,13(10):31
- 5 杨 桦,等.中国中药杂志,1991,16(8):471
- 6 陆存韞,等.中成药研究,1984,6(9):10
- 7 栾士香,等.哈尔滨医科大学学报,1989,23(6):447
- 8 吕方军.药物分析杂志,1988,8(4):236
- 9 于留荣,等.药物分析杂志,1983,3(1):18
- 10 章崇义,等.中成药,1993,15(6):43

(下转第385页)

1.7 复方丹参气雾剂

由吉林省中医中药研究院研制的复方丹参气雾剂对急性心肌缺血有立刻缓解病痛的效果。经临床研究对比：治疗组对心绞痛、心电图速效作用显著，总有效率为94.12%，片剂组仅8%，对心绞痛平均起效时间 3.461 ± 1.352 (min)，片剂基本无速效作用^[7]。

2 有效成分含量测定方法的研究

2.1 张淑芳等^[8]采用薄层层析、双波长锯齿形扫描测定复方丹参片有效成分丹参酮 I、丹参酮 II_A、隐丹参酮、原儿茶醛、丹参素在片中的含量。认为双波长锯齿形扫描可完全消除薄层板厚度局部不均匀引起的基线波动，消除了由于展开斑点形状不规则所引起的误差。以石油醚-四氢呋喃-甲醇 (50:5:2) 和苯-醋酸乙酯-甲酸 (80:50:8) 分别作为脂溶性和水溶性成分的展开剂，分离效果好，其中丹参酮 II_A回收率为103.4%，原儿茶醛为99.2%

2.2 粟晓黎等^[9]取三七和复方丹参片分别用甲醇提取后，再用乙醚萃取，然后在大孔吸附树脂上纯化，以三七皂甙 R₁、人参皂甙 Rg₁为标准品，用高压液相色谱法进行含量测定，实验表明该法灵敏度高，结果准确，平均回收率分为99.65%和101.48%，样品上大孔树脂吸附纯化后用水洗脱，可除去糖类杂质；流动相选用58%甲醇，其它杂质对测定无干扰。

2.3 吴乃峰等^[10]应用反相液相色谱法测定复方丹参滴丸中水溶性成分丹参素的含量。样品直接溶解，通过 C₁₈ 预处理小柱后进行测定流动相采用甲醇-水-冰醋酸 (25:75:10)，流速：0.8ml/min，纸速：0.25cm/min，检测器：M49 OE，可调波长紫外 180nm，0.1 a.u.。该方法操作简便，灵敏度高，平均回收率为98.89%。

2.4 王淑香等^[11]采用纸层析、紫外分光光度法测定丹参素的含量。用经典法测定复方丹参片中所含3种中药总黄酮甙含量，亦可有效控制质量。

2.5 冰片是治疗冠心病的有效成分之一，不同厂家冰片含量相差很大。仇洁等^[2]采用气相色谱法控制复方丹参胶丸中冰片含量。聚乙二醇20M为固定相，涂布浓度为20%。柱温200℃，检测器：F器；载气：N₂；内标物薄荷脑；塔板数按龙脑峰计算应不低于2500；异龙脑峰与内标峰的分离度应不大于2。结果冰片含量均在7.3mg以上。

参 考 文 献

- 1 吴乃峰，等。中国药房，1994，4(4)：37
- 2 仇洁，等。中成药，1992，14(11)：4
- 3 周亚球，等。中国中药杂志，1992，17(9)：540
- 4 窦秀明。中成药，1994，16(7)：4
- 5 王宜祥，等。中成药，1993，15(5)：8
- 6 周亚球，等。中草药，1992，23(6)：292
- 7 王隶书，等。中成药，1995，17(1)：5
- 8 张淑芳，等。中国医院药学杂志，1988，8(5)：196
- 9 粟晓黎，等。中成药，1990，12(3)：1
- 10 吴乃峰，等。中国药房，1992，3(6)：3
- 11 王淑香。哈尔滨医科大学学报，1989(4)：254

(1994-11-21收稿)

(上接第383页)

- 11 李学斌，等。中成药，1992，14(8)：16
- 12 于世春，等。中草药，1992，23(5)：239
- 13 蓝琪田，等。中国药科大学学报，1988，20(2)：106
- 14 徐凯建，等。中草药，1991，22(2)：53
- 15 陈定一，等。中成药，1992，14(6)：11
- 16 Wan K C, et al. J Chromatogr, 1993, 631, 241
- 17 周原，等。中成药，1993，15(10)：14
- 18 富森毅，他。生药学杂志(日)，1986，40(4)：381
- 19 姜顺善译。国外医药一植物药分册，1991，6(2)：71
- 20 相乐和彦，他。生药学杂志(日)，1986，40(1)：84
- 21 张秀琴，等。药物分析杂志，1986，5(5)：288
- 22 石淑琴，等。中成药，1992，14(5)：10
- 23 冯今明，等。分析化学，1991，19(8)：904

(1994-11-21收稿)