

高效液相色谱法测定茵栀黄软胶囊的稳定性

高秀丽 蒋倩 张敏

【摘要】 目的 建立茵栀黄软胶囊中黄芩苷的高效液相色谱含量测定方法。并用此方法对茵栀黄软胶囊进行稳定性考察。**方法** 含量测定采用反相高效液相色谱法, Diamonsil- C_{18} 色谱柱, 流动相为甲醇-0.4% 磷酸(51:49), 检测波长为 277 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 40℃。稳定性研究采用加速实验法。**结果** 黄芩苷进样浓度在 0.051 49~0.574 mg/ml 范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.999\ 9$), 该制剂中黄芩苷的平均加样回收率为 98.4%, RSD=0.69% ($n=5$)。自制茵栀黄软胶囊经过 3 个月加速实验, 黄芩苷相对含量无明显变化。**结论** HPLC 法能很好地分离、检测茵栀黄软胶囊中的黄芩苷, 可用于该制剂中黄芩苷的含量测定; 自制茵栀黄软胶囊的稳定性较好。

【关键词】 黄芩苷; HPLC; 茵栀黄软胶囊; 加速实验法; 稳定性

Determination of stability of yinzhihuang soft capsules by HPLC GAO Xiu-li, JIANG Qian, ZHANG Min.

School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China

【Abstract】 Objective To establish HPLC method for determination of baicalin in Yinzhihuang Soft Capsules, and determinate the stability of the sample. **Methods** The HPLC method was carried on Diamonsil C_{18} column using methanol-0.4% phosphoric acid (51:49) as the mobile phase, and the detection wavelength was 277 nm, the flow rate was 1.0 ml/min and the temperature of column was 40℃. The stability of Yinzhihuang Soft Capsule was studied by accelerated test method. **Results** In the HPLC method the calibration curve for baicalin was linear in the range of 0.051 49-0.574 mg/ml. The average recovery was 98.4%, RSD was 0.69% ($n=5$). The relative content of baicalin in the soft capsule by accelerated test method is around 100%. **Conclusion** The HPLC method is convenient, precise and reliable for determine of baicalin in the yinzhihuang soft capsules, and the stability of the soft capsule is good.

【Key words】 Baicalin; HPLC; Yinzhihuang Soft Capsules; Accelerated test method; Stability

茵栀黄软胶囊系由茵栀黄口服液改变剂型制得^[1]。该药具有清热解毒, 利湿退黄, 有退黄疸和降低丙氨酸氨基转移酶的作用, 用于湿热毒邪内蕴所致急性、慢性肝炎和重型肝炎(I型), 也可用于其他重型肝炎的综合治疗^[2,3]。笔者以黄芩苷为测定指标, 采用 HPLC 法对茵栀黄软胶囊中黄芩苷的含量进行测定。并采用加速实验法对自制茵栀黄软胶囊进行了稳定性考察^[4]。

1 仪器与试剂

Agilent1100 系列高效液相色谱仪, AB104N-Mettler 电子天平。黄芩苷对照品(供含量测定用, 批号 110715-200514)由中国药品生物制品检定所提供。茵栀黄软胶囊(自制, 批号: 0801、0802、0803), 甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

2 实验方法

2.1 含量测定方法建立

2.1.1 色谱条件 Diamonsil- C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m), Phenomenex- C_{18} 保护柱(3 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸(51:49), 检测波长为 277 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 40℃。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取茵栀黄软胶囊内容物

约 0.2 g, 置于 250 ml 容量瓶中, 加入适量 70% 乙醇, 超声处理 30 min, 放冷, 加 70% 乙醇定容至刻度, 摇匀、滤过即得。

2.1.3 线性关系的考察 吸取对照品溶液储备液 1、2、3、4、5 ml 分别置于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别进样, 以峰面积为纵坐标, 样品浓度为横坐标进行线性回归, 线性方程为 $A=14\ 232.746\ 63C+7.533\ 77$ ($r=0.999\ 9$), 黄芩苷在 0.051 49~0.574 mg/ml 范围内呈良好的线性关系。

2.1.4 精密度的考察 依法对同一供试品溶液连续进样 5 次, 每次进样 5 μ l, 进行测定, 测定结果 RSD=0.36% ($n=5$)。

2.1.5 重现性考察 取同一批号茵栀黄软胶囊样品分别取样 5 份, 按供试品溶液制备项下方法制备, 分别依法测定。结果 RSD=0.61% ($n=5$)。

2.1.6 供试品稳定性考察 对同一供试品溶液(批号 0801)在 0、2、4、8、12、24 h 分别进样 5 μ l, 测定黄芩苷峰面积, 计算黄芩苷含量, RSD=1.02% ($n=5$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.7 回收率实验 精密称取 0.1 g 茵栀黄软胶囊样品(批号 0801)5 份, 分别加入黄芩苷对照品 20 mg, 按供试品溶液制备项下方法制备, 按上述色谱条件进行色谱分析, 分别测定含量 5 次, 以实测值与理论值之比计算加样回收率, 结果见表 1。

基金项目:贵阳市科技局支持项目(项目编号:2006-18)

作者单位:550004 贵州省贵阳医学院药学院

表 1 加样回收实验

序号	样品中的量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	21.67	19.94	41.15	97.67	98.4	0.69
2	20.86	20.42	41.16	99.40		
3	21.56	20.89	42.13	98.48		
4	19.86	21.15	40.56	97.89		
5	20.17	20.56	40.43	98.56		

2.2 自制茵栀黄软胶囊稳定性研究

2.2.1 茵栀黄软胶囊的制备 参照抗病毒口服液处方,采用均匀设计法,将提取物与不同比例的 PEG-400、玉米油混匀,得内容物,于不同温度下压制软胶囊。以胶囊的外观和物理稳定性为考察指标,优化制剂工艺。在最佳工艺条件下制得三批茵栀黄软胶囊(0801、0802、0803)。

2.2.2 稳定性考察 采用加速实验法。在温度为 40℃、相对湿度为 75% 的条件下放置 3 个月,分别于 1、2 和 3 个月取样测定,并与 0 月结果比较(0 月为 100%)。

2.2.3 黄芩苷相对含量测定 采用 HPLC 法。色谱条件同

“2.1.1”项,将各时间取样的样品,按“2.1.2”项方法制备供试品溶液,黄芩苷进样 20 μ l,以 0 时间的含量为 100%。计算各时间取样样品中黄芩苷的相对含量。

3 结果

3.1 色谱图 在选定的色谱条件下,分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照液 5 μ l 注入色谱仪,测得色谱图(见图 1)。由图可见,茵栀黄软胶囊中黄芩苷的保留时间与对照品保留时间一致。黄芩苷保留时间为 9.91 min,阴性对照色谱图在黄芩苷峰位置无假阳性峰。理论塔板数以黄芩苷峰计算为 6 046,对称因子为 0.91。

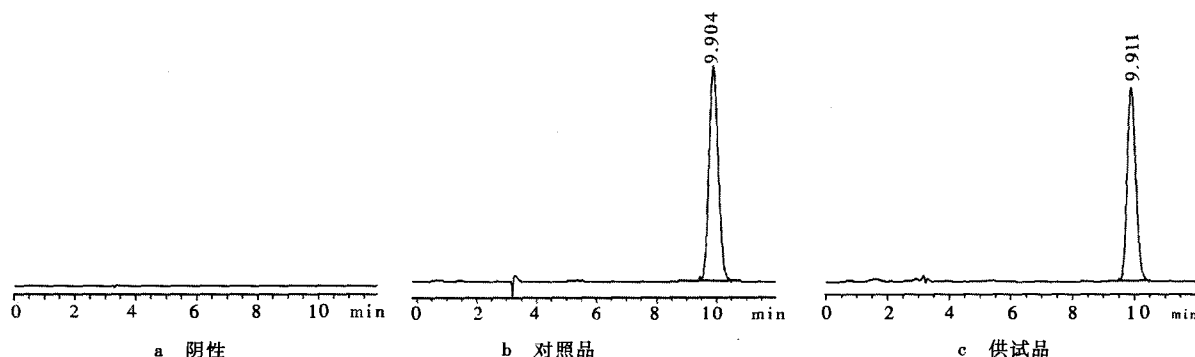


图 1 茵栀黄软胶囊供试品溶液色谱图

3.2 三批茵栀黄软胶囊中黄芩苷的含量 取三批茵栀黄软胶囊样品,精密称取一定量,照供试品溶液制备项下方法制成供试品溶液,照上述色谱条件测定、计算即得。结果见表 2。

表 2 茵栀黄软胶囊中黄芩苷的含量测定

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
0801	215.75	1.03
0802	259.63	0.95
0803	256.01	1.26

3.3 稳定性 稳定性考察实验结果见表 3。

表 3 茵栀黄软胶囊稳定性实验结果

批号	0 月	1 月	2 月	3 月
0801	100	100.3	99.5	101.6
0802	100	100.2	101.0	101.4
0803	100	99.7	100.4	102.1

4 讨论

4.1 采用 HPLC 法测定茵栀黄软胶囊中黄芩苷的含量 该方法简便、准确、重现性好,不同批号的茵栀黄软胶囊中样品测定结果表明,黄芩苷含量稳定,可用于质量控制。本文在茵栀黄软胶囊样品的处理研究上,对水和 70% 乙醇做为黄芩苷提取溶剂进行了考察,结果见表 4。

由下表可得,水作为提取溶剂提取黄芩苷的量明显少于 70% 乙醇为溶剂得到的量,且其重现性 RSD 很大,不符合要求。故选用 70% 乙醇为供试品溶液制备提取溶剂。

表 4 提取溶剂选择

溶剂	含量(mg/g)			RSD(%)
	样品 1	样品 2	样品 3	
水	191.23	162.38	175.56	8.19
70% 乙醇	196.87	197.48	195.46	0.53

4.2 将茵栀黄口服液剂改为软胶囊剂 处方中各种有效成分被包埋在囊皮中,避免了其与空气和光线的直接接触,提高了制剂稳定性。同时软胶囊剂不易破碎,较口服液剂易于运输和携带。较茵栀黄胶囊^[5],茵栀黄软胶囊中内容物为液态,在体内易于分散和吸收。

4.3 茵栀黄软胶囊在较高的贮藏温度下 由于水分的挥发,其外观和重量都会发生轻微变化。由于内容物重量的减轻,故黄芩苷的相对含量略有偏高。根据稳定性实验指导原则判断,自制茵栀黄软胶囊的稳定性良好。

参 考 文 献

- 1 卫生部药品标准. 中成药成方制剂,第十五册,1997:124.
- 2 陈秀清,齐香君,何恩铭. 中药黄芩研究新进展. 食品与药品,2006,(8)05:23-27.
- 3 谢秀娟,郭洛宏,曹晨,等. 茵栀黄口服液质量标准的研究. 中国实验方剂学杂志,2006,(12)9:17-19.
- 4 奚念朱. 药剂学(第三版),人民卫生出版社.
- 5 刘武占,卢英翠,庄学珍. HPLC 法测定茵栀黄胶囊中黄芩苷的含量. 山东医药工业,2001,(20)5:21-22.