

溶液在相同位置上
有浅紫色斑点,而
阴性对照溶液无此
斑点(见图1B),
证实有地黄存在。

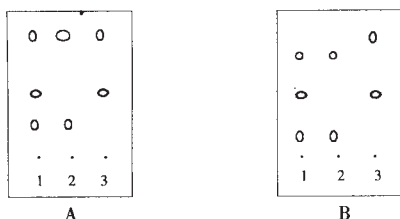


图1 薄层色谱图

2.2 含量测定

测定波长选
择:精密称取丹皮
酚对照品 3 mg,置
25 mL 量瓶中,加

水至刻度,精密量取稀释液 5 mL,置 100 mL 量瓶中,在 200~400 nm 波长范围内扫描,发现其在 276 nm 波长处有最大吸收,故选定 276 nm 为测定波长^[2]。

标准曲线绘制:精密称取丹皮酚对照品 3 mg,置 25 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,制成浓度为 120 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,精密量取上述溶液 3.4, 5.6, 7 mL,分别置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。在 276 nm 波长处测定吸收度,将测得数据进行直线回归,得回归方程: $A = -0.0034 + 0.07933C$, $r = 0.9999$ 。结果表明,丹皮酚在 3.6~8.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内吸收度与浓度呈良好的线性关系。

干扰性试验:取处方中除丹皮以外的其他药材,按工艺要求制成空白丸剂。取研碎后的细粉 2 g,精密称定,用水蒸气蒸馏,收集馏出液 200 mL,精取 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加水至刻度,在 200~400 nm 波长范围内扫描。结果其在 276 nm 波长处基本无吸收,说明其他药材不干扰丹皮酚的含量测定。

稳定性试验:将标准品溶液、空白干扰溶液及样品提取液于室温配置后立即测定吸收度,并与放置 24 h 后测定的吸收度比较,结果几乎无变化。

加样回收率试验:取已知含量的滋肾丸 1 g(批号:031124,平均含量为 1.59 mg/g),研碎,分别精密加入浓度为 0.5 mg/mL 的

丹皮酚对照品溶液 2.5, 3, 3.5 mL,用水蒸气蒸馏,收集馏出液 200 mL,精取 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加水至刻度。照分光光度法,在 276 nm 波长处测定吸收度,按回归方程计算,结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果

编号	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	$RSD(\%)$
1	1.0021	1.5933	1.25	2.8221	98.30	97.85	3.93
2	1.0014	1.5922	1.25	2.7736	94.51		
3	1.0009	1.5914	1.50	3.0944	100.2		
4	1.0017	1.5927	1.50	2.9684	91.71		
5	1.0010	1.5916	1.75	3.3609	101.1		
6	1.0022	1.5935	1.75	3.3663	101.3		

样品含量测定:精密称取 3 批样品各 3 份,每份 2 g,用水蒸气蒸馏,收集馏出液 200 mL,精取 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加水至刻度。照分光光度法,在 276 nm 波长处测定吸收度,计算平均含量,结果批号为 030623, 030915, 031124 的 3 批样品平均含量分别为 1.65, 1.54, 1.59 mg/g。

3 讨论

除文中收入的 2 种药材薄层鉴别外,笔者曾对方中知母、茯苓等药味也进行了薄层研究。但由于有阴性干扰,缺乏专属性,或由于工艺限制等原因,不能达到满意的效果,因而未能列入文中。2000 年版《中国药典(一部)》^[2]规定丹皮酚的最大吸收波长为 274 nm。经多台紫外分光光度计多次测定,丹皮酚的最大吸收波长均为 276 nm,所以本试验采用 276 nm 为测定波长。

参考文献:

- [1] 石翠斌,吴树鸣,张建平.蛇床子洗剂的制备及质量控制[J].时珍国医国药,2004,15(1):41-42.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2000:415.

(收稿日期 2004-08-19,修回日期 2004-10-19)

注射用复方苕草冻干粉针中野黄芩苷的含量测定*

吴莹,王永林,兰燕宇,王爱民,何迅,李勇军

(贵阳医学院药学院,贵州 贵阳 550004)

中图分类号:R286.0;R282.71

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2005)07-0032-01

摘要 **目的** 建立注射用复方苕草冻干粉针中野黄芩苷的定量测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法(HPLC法),以 C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈-0.1%磷酸(18:82)为流动相,检测波长为 335 nm。**结果** 野黄芩苷与其他组分峰的分离度均大于 1.5,线性范围为 0.15~2.4 μg , $r = 0.9999$,平均回收率为 99.89%, RSD 为 1.22%。**结论** HPLC 法简便、准确、重现性好,适用于该制剂的质量控制。

关键词 野黄芩苷;注射用复方苕草冻干粉针;高效液相色谱法;含量测定

Determination of Scutellarin in

Compound Hongcao Freeze-dried Powder Injection by HPLC

Wu Ying, Wang Yonglin, Lan Yanyu, Wang Aimin, He Xun, Li Yongjun

(School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou, China 550004)

Abstract **Objective:** To establish a method determining scutellarin in compound Hongcao freeze-dried powder injection. **Methods:** A C_{18} column (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of CH_3CN -0.1% H_3PO_4 (18:82), the detection wavelength of 335 nm, and the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 40°C. **Results:** The resolution is found to be over 1.5. A good linearity between the range of 0.15~2.4 μg was found ($r = 0.9999$). The average recovery was 99.89%, with RSD of 1.22%. **Conclusion:** The method was simple, accurate and reproducible for scutellarin determination, and is suitable for the use of quality control of compound Hongcao freeze-dried powder injection.

Key words scutellarin; compound Hongcao freeze-dried powder injection; HPLC; assay

* 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项基金项目,项目编号:黔科合中药专字[2004]03号。

注射用复方荛苒冻干粉针是在贵州民族用药基础上研制的中药新药,目前已批准进入临床研究。本品由荛苒、灯盏细辛等几味中药经提取加工而成^[1],具有化痰通络、活血止痛的功能,临床用于冠心病心绞痛心血瘀阻证。方中灯盏细辛主要成分为野黄芩苷(scutellarin),经药效学试验证明其为主要有效成分之一。为控制产品质量,确保临床疗效,笔者对制剂中野黄芩苷的含量测定方法进行了试验研究^[2-3],建立了用高效液相色谱法(HPLC法)测定注射用复方荛苒冻干粉针中野黄芩苷含量的方法,该法操作简便、快速,结果准确可靠,适用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

仪器:LC-10 Avp 高效液相色谱仪系统(日本岛津),包括 LC-10 ATvp 泵,SPD-10 Avp 紫外检测器,7725i 进样阀,TC-100 柱温箱(天津特纳科技公司),WML 色谱工作站(广西威玛色谱科技公司),TCQ-250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂)。

试剂:野黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号为 880-200001)注射用复方荛苒冻干粉针(贵阳医学院药物研究所,批号为 20011217,20011220,20011225);乙腈(色谱纯),甲醇(色谱纯),乙醇(分析纯),磷酸(分析纯),水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm,迪马公司);流动相:乙腈-0.1%磷酸(18:82);流速:1 mL/min;温度:40℃;检测波长:335 nm;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

对照品溶液:称取野黄芩苷对照品 21.3 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,制得每 1 mL 含野黄芩苷 0.819 mg 的对照品贮备液。

供试品及阴性对照液:称取本品约 50 mg,置 100 mL 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。同法制备不含灯盏细辛药材的阴性对照液。

2.3 系统适用性试验

取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 10 μL,分别注入液相色谱仪,记录色谱图(图 1)。可见,野黄芩苷的保留时间约为 18.3 min。在本试验条件下,供试品检出色谱峰与其他杂质峰分离度良好,分离度均>1.5,理论塔板数以野黄芩苷峰计为 10 000。

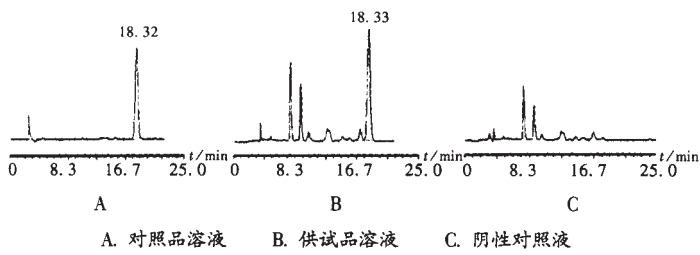


图 1 高效液相色谱图

2.4 线性关系考察

精密吸取野黄芩苷对照品贮备液 0.5, 1, 2, 4, 8 mL,分别置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述溶液 10 μL,注入液相色谱,记录色谱图,以峰面积 Y 为纵坐标、进样量 X 为横坐标进行线性回归计算,得回归方程 $Y = 1\,192\,906X - 3\,034$ ($r = 0.999\,9$),表明野黄芩苷进样量在 0.15~2.4 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL,重复进样 5 次,测定。结果峰面积平均值的 RSD 为 0.71%。

2.6 稳定性考察

吸取同一供试品溶液,分别在 0, 1, 2, 4, 8 h 进样,测定。结果峰面积平均值的 RSD 为 0.61%,表明供试品溶液中野黄芩苷在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验

取同一批号供试品,按供试品溶液的制备方法制备 5 份供试液,分别进样测定。结果野黄芩苷平均含量为 15.82%,RSD 为 1.25%。

2.8 加样回收率试验

取同一批号已知含量的样品,按供试品溶液制备方法制备,分别精密加入野黄芩苷对照品溶液适量,按上述色谱条件进样测定,记录色谱,计算回收率。结果见表 1。

表 1 野黄芩苷的回收率试验结果

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.373 4	0.205 0	0.576 7	99.17		
0.424 0	0.205 0	0.629 8	100.4		
0.398 7	0.205 0	0.604 0	100.1		
0.390 8	0.410 0	0.790 0	97.37		
0.409 7	0.410 0	0.822 3	100.6	99.82	1.26
0.431 9	0.410 0	0.836 5	98.68		
0.414 5	0.614 0	1.028 6	100.0		
0.452 5	0.614 0	1.076 9	101.7		
0.392 3	0.614 0	1.009 0	100.4		

2.9 样品含量测定

分别精密吸取供试品溶液及对照品溶液 10 μL,注入色谱仪,按上述色谱条件测定,记录色谱,以外标法计算样品中野黄芩苷含量。结果 3 批样品中野黄芩苷的平均含量分别为 15.94, 14.57, 15.83 mg/支($n = 3$)。

3 讨论

3.1 由于本品为冻干粉针剂,在水中易溶解,故在样品处理中只需称取适量的样品,用水溶解,定容即可。

3.2 试验选用了 Hypersil C₁₈ 柱(200 mm×5.0 mm,5 μm,大连依利特)和 Kromasil C₁₈ 柱(200 mm×5.0 mm,5 μm,大连依利特)和 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm,迪马公司)为色谱柱;分别以甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸为流动相。结果以 Diamonsil C₁₈ 柱为色谱柱,乙腈-0.1%磷酸(18:82)为流动相,制剂中野黄芩苷分离最好。

3.3 根据野黄芩苷对照品紫外光谱图的检测结果,野黄芩苷在 335 nm 波长处有最大吸收,故选择 335 nm 为检测波长。

通讯作者:王永林教授,贵阳医学院药学院院长。电话 0851-6908899 E-mail:gywyl@gme.edu.cn。

参考文献:

[1] 中国药品生物制品检定所. 中国民族药志(第二卷)[M]. 北京:人民卫生出版社,1990 229.
[2] 张世轩,牛玉娟,吕浩然,等. HPLC 法测定灯盏花素注射液中的野黄芩苷[J]. 中成药,2002,24(2):95.
[3] 华捷,陈超,许桢灿. HPLC 法测定灯盏花素片含量[J]. 海峡药学,2002,14(1):30.

(收稿日期 2004-11-23 修回日期 2005-02-06)