

高效液相色谱法测定消炎片中黄芩苷的含量

赵志刚, 刘晓丽

(辽宁省朝阳市药品检验所, 辽宁朝阳 122000)

[摘要] 目的: 建立测定消炎片中黄芩苷含量的高效液相色谱法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-磷酸溶液(32:68:0.2), 检测波长为 280 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为室温。结果: 得回归方程为 $Y=114\ 166.67X+462\ 893.57$, $r=0.999\ 8(n=6)$, 表明进样量在 0.40~2.40 μg 范围内有良好的线性关系, 平均回收率为(99.51±0.67)%, RSD 为 0.67%。结论: 本方法简便、准确、重现性好, 可用于消炎片的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 消炎片; 黄芩苷; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2009)07(a)-084-02

Content determination of baicalin in Xiaoyan Tablets by HPLC

ZHAO Zhigang, LIU Xiaoli

(Institute for Drug Control of Chaoyang City, Liaoning Province, Chaoyang 122000, China)

[Abstract] Objective: An HPLC method for the content determination of baicalin in Xiaoyan Tablets was established.

Methods: A Diamonsil C₁₈ column(200 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water-phosphate acid(32:68:0.2) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was room temperature. Results: The liner range was 0.40~2.40 μg ($r=0.999\ 8$, $n=6$), and the regression equation was $Y=114\ 166.67X+462\ 893.57$, the average recovery was (99.51±0.67)% with a RSD of 0.67%. Conclusion: The method is simple, accurate and repeatable, and it can be used in the quality control of Xiaoyan Tablets.

[Key words] HPLC; Xiaoyan Tablets; Baicalin; Content determination

消炎片主要由蒲公英、紫花地丁、野菊花、黄芩四味中药组成, 具有抗菌消炎、清热解毒的作用, 用于治疗呼吸道感染、发热、肺炎、支气管炎、咳嗽有痰、疖肿等。现质量标准收载于卫生部药品标准《中药成方制剂》第四册^[1], 标准中仅有定性鉴别, 无处方药味特征成分的含量测定项目。本文通过参考有关资料, 建立了高效液相色谱法测定黄芩中黄芩苷含量的方法, 获得了很好的分离效果, 本方法简单、准确、灵敏度高、重现性好, 能够较原标准更好地控制药品质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(美国 SP-8810, SP-100 检测器, N2010 色谱工作站)。

1.2 试剂

消炎片(广西千珍制药有限公司, 批号为 080526.080714、081025); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 批号为 110715-200514); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水-磷酸(32:68:0.2); 检测波长为 280 nm; 流速为 1.0 ml/min; 柱温为室温; 进样量为 20 μl。灵敏度为 0.1 AUFS, 理论板数不低于 3 000, 此色谱条件下, 峰形良好。

[作者简介] 赵志刚, 男, 汉族, 本科。现供职于辽宁省朝阳市药品检验所, 从事药物分析工作, 副主任药师, 任该所所长。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 105℃恒温干燥 3 h 的黄芩苷对照品 10 mg, 置于 50 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品储备液。精取 2.0 ml, 置 10 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除衣精称研细, 精密称定 2.5 g 片粉, 置于 100 ml 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇溶液 50 ml, 密塞, 称定重量, 加热 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液进样 20 μl, 记录色谱峰峰面积。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方组分比例及制备工艺, 制备缺黄芩的阴性样品, 同“2.2.2”项下方法操作, 即得。

2.3 阴性干扰试验

照上述色谱条件, 分别取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 20 μl, 注入色谱仪, 测定, 样品色谱图中, 黄芩苷与其他峰分离较好, 而阴性样品在黄芩苷出峰处无干扰峰出现, 证明本方法可行, 结果见图 1。

2.4 线性关系考察

精密移取上述对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml, 分别置于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 将上述溶液和黄芩苷对照品储备液各进样量 20 μl, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积 Y 为纵坐标, 进样量 X (μg) 为横坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y=114\ 166.67X+462\ 893.57$, $r=0.999\ 8(n=6)$, 表明进样量在 0.40~2.40 μg 范围内有良好的线性关系。

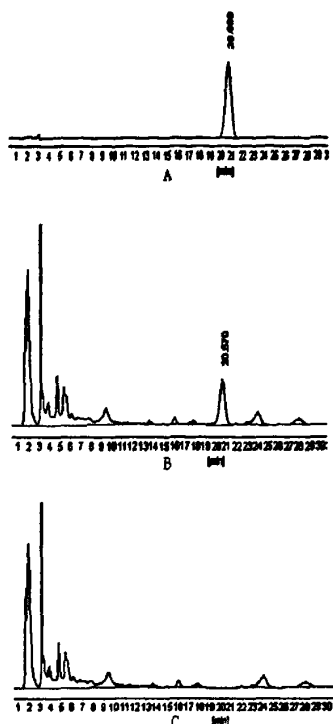


图 1 HPLC 色谱图
(A.对照品;B.供试品;C.阴性样品)
Fig.1 HPLC chromatograms
(A.Reference substance; B.Sample; C.Negative substance)

2.5 精密度试验

取同一供试品溶液(批号为 080526)20 μ l,重复进样 6 次,平均峰面积为 273 958, RSD 为 0.52%。

2.6 稳定性试验

取对照品溶液和供试品溶液(批号为 080526)分别于 0、3、6、12、24 h 分别进行测定,平均峰面积为 370 630 和 269 847, RSD 分别为 0.65%、0.86%,表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批号样品(批号为 080526)6 份,按含量测定方法分别进行测定,计算每片含黄芩苷 0.696 mg, RSD 为 1.2% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取 6 份已知含量的同一批号样品(批号为 080526,含量为 0.696 mg/片,平均片重为 0.500 2 g)2.0 g,每两份为一组,分别精密加入黄芩苷对照品适量配成低、中、高 3 个浓度,按“2.2.2”项下制备溶液,按样品测定方法进行测定,计算回收率,结果平均回收率为 99.51%, RSD 为 0.67% ($n=9$)。见表 1。

2.9 样品测定

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μ l,按上述色谱条件测定,按外标法计算含量。结果 3 批样品(批号为 080526、080714、081025),黄芩苷的含量分别为 0.696 mg/片、0.412 mg/片、0.340 mg/片, RSD 分别为 0.84%、0.68%、0.62%。

表 1 回收率结果($n=9$)

Tab.1 Results of recovery($n=9$)

序号	样品含量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.557	0.475	1.034	100.42		
2	0.559	0.475	1.030	99.15		
3	0.554	0.475	1.027	99.57		
4	0.562	0.712	1.271	99.57	99.51	0.67
5	0.556	0.712	1.260	98.87		
6	0.553	0.712	1.256	98.73		
7	0.557	0.950	1.514	100.73		
8	0.559	0.950	1.504	99.47		
9	0.559	0.950	1.501	99.15		

3 讨论

3.1 检测波长的选择

黄芩苷在 280 nm 和 315 nm 处有最大吸收,而在 315 nm 处吸收强度较小,因此选择 280 nm 作为检测波长。

3.2 溶剂的选择

本试验对提取条件进行了选择,结果发现,用 70%乙醇作为提取溶剂时,提取黄芩苷含量偏低;用甲醇作为提取溶剂,样品中的成分提取较完全,因此选用甲醇作为提取溶剂。

3.3 提取方法的选择

本试验分别超声 15、30、45 min 及加热回流 30、60、90 min 后测定黄芩苷的含量,结果表明,超声提取含量低于加热回流提取,而回流 60、90 min 含量无明显差别,因此确定加热回流 60 min。

3.4 流动相的选择

通过参考文献^[2-7],选择甲醇-水-磷酸,乙腈-水-磷酸,乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(磷酸调 pH 至 3.0)分别进行试验,调整流动相比例,确定乙腈-水-磷酸(32:68:0.2)为流动相,可获得较高柱效、良好的峰形和分离效果。

本文建立的 HPLC 法测定消炎片中黄芩苷的方法处理简单、回收率好、重现性、稳定性好,能够准确地控制药品质量。

【参考文献】

[1] 中华人民共和国卫生部.中药成方制剂(第 4 册)[S].WS3-B-0809-91,1991:152.
[2] 国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:211-212.
[3] 谢东,路玫.反相高效液相色谱法同时测定双黄消炎片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J].药物分析杂志,2008,28(5):782-784.
[4] 王晓彤,才谦.高效液相色谱法测定消炎片中黄芩苷的含量[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(6):186-187.
[5] 付艳敏,李伯军.HPLC 法测定双黄消炎片中黄芩苷的含量[J].中国药师,2008,11(6):654-656.
[6] 刘丽萍,王英杰.HPLC 法测定蒲地蓝消炎片中黄芩苷的含量[J].中国医药导刊,2008,10(3):455-456.
[7] 许国兵,刘志武.高效液相色谱法测定双黄消炎片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J].中南药学,2008,6(4):426-427.

(收稿日期:2009-01-05)