

RP-HPLC 法测定小儿清热灵片中黄芩苷的含量

邱海蕴, 袁才琼, 周 俊, 刘传珍 (湖北省宜昌市药品检验所, 宜昌 443003)

摘要: 建立 HPLC 法测定小儿清热灵中黄芩苷的含量。以 Diamonsil C₁₈ 为分析柱; 甲醇-水-磷酸溶液 (50: 50: 0.3) 为流动相; 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长为 276 nm, 采用外标法定量测定。线性范围: 0.0832~0.915 μg ($r=0.9999$)。平均回收率为 100.1%; RSD 为 0.9% ($n=9$)。方法简便、快速、准确, 适用于该制剂的质量控制。

关键词: HPLC; 黄芩苷; 小儿清热灵片

中图分类号: R927.2; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2008) 08-0695-02

Determination of Baicalin in Xiao'er Qingreling by RP-HPLC

Qiu Haiyun, Yuan Caiqiong, Zhou Jun and Liu Chuanzhen (Yichang Institute for Drug Control, Hubei Province, Yichang 443003)

ABSTRACT The HPLC method was established for the determination of baicalin in Xiao'er Qingreling. A Diamonsil C₁₈ column was used with methanol-water-phosphoric acid (50: 50: 0.3) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and detecting wavelength was 276 nm. The linear range was 0.0832~0.915 μg ($r=0.9999$), average recovery was 100.1%, RSD=0.9% ($n=9$). This method is simple, rapid, reliable and suitable for the quality control of the drug.

KEY WORDS HPLC; baicaline; Xiao'er Qingreling

小儿清热灵片是由黄芩、柴胡等 16 味药组成的中药复方制剂。本品原检验标准^[1] 制定检验项目。为了进一步控制药品质量, 本文对小儿清热灵片主要成分黄芩中黄芩苷的含量测定方法进行了研究, 参考有关文献^[2-9] 及《中国药典》2005 年版一部黄芩含量测定方法的色谱条件^[10], 采用 RP-HPLC 法对黄芩苷进行测定, 方法简便、快速、准确。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪; METTER-AE240 电子分析天平。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: 110715-200514); 小儿清热灵片 (修正药业集团股份有限公司, 批号: 050601, 050602; 长春海王生物制药有限责任公司, 批号: 20060201); 甲醇为色谱纯; 水为去离子双蒸馏水; 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

对照品溶液 精密称取 60℃ 干燥 4 小时黄芩苷对照品 41.60 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀 (为储备液), 再精密量取 5 mL, 置 25 mL 的量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.0832 mg · mL⁻¹ 的溶液。

供试品溶液 取本品 10 片, 研细, 精密称取约相当于 1 片的细粉量, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加 70% 乙醇溶液 25 mL, 精密称重, 超声处理 (功率 300 W, 频率 50 kHz) 30 分钟, 放冷, 用 70% 乙醇溶液补足减失的重量, 滤过, 取续滤液, 即得。

阴性样品溶液 取除黄芩外按处方量配制的样品适量, 精密称定, 按“2.2”项操作即得。

2.2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); **流动相:** 甲醇-水-磷酸溶液 (50: 50: 0.3); **流速:** 1.0 mL · min⁻¹; **检测波长:** 276 nm; **柱温:** 25℃; **理论板数:** 以黄芩苷峰计算

不低于 6000。在此实验条件下，黄芩苷与相邻干扰峰完全分离，分离度：大于 1.5。

2.3 方法学考察

2.3.1 阴性对照实验 取阴性样品溶液按上述色谱条件测定，记录色谱图。结果显示在与黄芩苷相应的保留时间附近无干扰峰检出，见图 1。

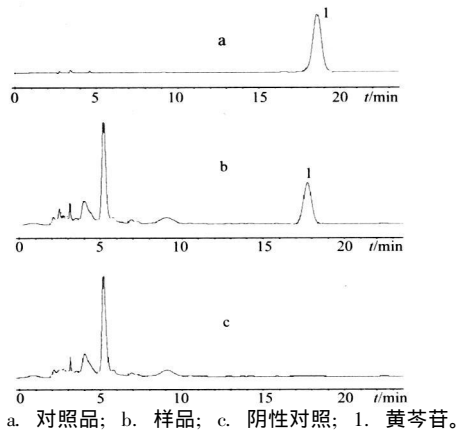


图 1 小儿清热灵片 HPLC 色谱图

2.3.2 线性关系考察 精密量取按“2.1”项下方法配制的对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9, 11μL 注入色谱仪。以色谱峰面积为纵坐标，以进样量 (μg) 为横坐标，求得回归方程：

$$Y = 3.5905 \times 10^3 X - 5.8700 \quad r = 0.9999$$

结果表明：黄芩苷的进样量在 0.0832~ 0.915μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度试验 取“2.1”项下的对照品溶液，连续进样 5 次，每次进样 5μL，测得峰面积平均值为 1452.6，RSD 为 0.1%。进样精密度较好。

2.3.4 稳定性试验 取同一批样品 (批号：050602) 溶液，于 0, 2, 4, 6, 8, 10 小时分别测定 1 次，进样 5μL，峰面积平均值为 1031.6，RSD 为 0.8%。样品溶液稳定性较好。

2.3.5 重复性试验 取同一批样品 (批号：050601) 0.2036, 0.2233, 0.2147, 0.2132, 0.2109g，按“2.2”项下方法制备 5 份样品溶液，并按样品测定项下方法进行含量测定，进样量为 5μL，测得黄芩苷平均含量为每片 1.54mg，RSD 为 0.7%。

2.3.6 回收率试验 精密称取同一批已知含量 (批号：050601，含量：1.54mg·片⁻¹) 的样品 9 份，分为低、中、高浓度 3 组，每组精密加入“2.1”项下黄芩苷对照品储备溶液 (0.416mg·mL⁻¹) 2mL，混匀，按“2.2”项下方法制备所需溶液，按上述色谱条件进样 5μL，测得峰面积，计算平均回收率和 RSD。结果见表 1。

表 1 加样回收实验结果 (n= 9)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.803	0.832	1.64	100.6		
0.808	0.832	1.64	100.0		
0.811	0.832	1.66	102.0		
0.996	0.832	1.83	100.2		
1.03	0.832	1.86	99.8	100.1	0.9
1.01	0.832	1.84	99.8		
1.20	0.832	2.03	99.8		
1.20	0.832	2.03	99.8		
1.19	0.832	2.01	98.6		

2.4 样品测定

精密吸取“2.1”项下对照品溶液和样品溶液各 5μL，分别注入色谱仪，按上述色谱条件测定，以外标法计算黄芩苷的含量。3 批样品测定结果见表 2。

表 2 样品含量测定 (n= 3) mg·片⁻¹

批号	050601	050602	20060201
含量	1.54	1.55	1.24

3 讨论

用 HPLC 法测定黄芩苷含量，文献中有多种流动相^[2-10]，其中以甲醇-水-磷酸溶液 (50:50:0.3) 为优，保留时间适中，约为 18 分钟，峰形对称，分离度好。用 50% 甲醇溶液和 70% 乙醇溶液同法处理样品，70% 乙醇溶液提取完全。

参考文献：

[1] 卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂. 5 册, 1992: 26.
[2] 郑美善, 崔东焕, 金桂花. 高效液相色谱法测定小儿清热灵片中黄芩苷含量 [J]. 中国药业, 2007, 16 (13): 26
[3] 李继睿, 郭君, 刘松长. RP- HPLC 法测定中成药中黄芩苷的含量 [J]. 浙江化工, 2007, 38 (11): 26
[4] 张湛睿, 李巧如, 杜洪霞, 等. HPLC 法测定炎热清胶囊中黄芩苷的含量 [J]. 中国药房, 2007, 18 (36): 2847
[5] 左宏笛, 鲍家科, 茅向军. HPLC 法测定小儿清热宁颗粒中黄芩苷的含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8 (5): 74
[6] 郭冬, 李巧如, 陈瑞云. 炎热清胶囊质量标准研究 [J]. 西北药学杂志, 2007, 22 (5): 251
[7] 高辉, 王雪萍, 吴政宏. 清热康肤合剂质量标准的研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34 (10): 1452
[8] 李国川, 朱学梅, 宋晓宇, 等. RP- HPLC 法测定鼻渊灵颗粒剂中黄芩苷含量 [J]. 河北中医药学报, 2007, 22 (3): 37
[9] 陈兆军, 李中, 王栋. RP- HPLC 法测定小儿肺炎合剂中黄芩苷含量 [J]. 海峡药学, 2007, 19 (9): 31
[10] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 211.