

高分离度快速液相色谱法测定 牛黄解毒片中黄芩苷的含量

尔西丁·买买提^a 葛亮^a 王昕宇^a 田树革^{①a}

(新疆医科大学公共卫生学院 乌鲁木齐市新医路 393 号 830011)

^a(新疆名医名方与特色方剂学重点实验室 乌鲁木齐市 830011)

摘 要 采用高分离度快速液相色谱(RRLC)测定牛黄解毒片中黄芩苷的含量。色谱柱为 Zorbax XDB-C₁₈ (4.6 × 50mm, 1.8 μm), 流动相为 甲醇-水-磷酸(45 : 55 : 0.2), 检测波长 315nm, 流速 0.5 mL · min⁻¹, 柱温为 30℃。黄芩苷在 0.15—1.35 μg ($r = 0.9999$) 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系, 加样回收率为 100.41%, RSD = 1.42%。采用高分离度快速液相色谱(RRLC)测定复方牛黄解毒片中黄芩苷的含量, 缩短了保留时间, 提高了效率, 降低了成本。本方法简便、准确, 结果稳定。

关键词 高分离度快速液相色谱; 牛黄解毒片; 黄芩苷

中图分类号: O657.7⁺ 2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)04-1322-03

1 引言

牛黄解毒片为《中国药典》2005 年版一部收载品种, 由人工牛黄、大黄和黄芩等中药材组成, 临床用于治疗火热内盛, 咽喉肿痛, 牙龈肿痛, 口舌生疮, 目赤肿痛^[1]。黄芩为常用传统中药, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效^[2], 所含的黄芩苷是黄芩及其制剂的主要质控指标成分, 据药理学研究报道, 黄芩苷具有抗微生物、抗变态反应、降压和镇静、利胆和解痉等作用^[3]。本实验是采用高分离度快速液相色谱(RRLC)对牛黄解毒片中黄芩苷的含量进行测定, 通过实验发现, 采用 RRLC 分析时间明显缩短, 不仅节省溶剂, 同时可以提高效率, 值得进一步推广使用。

2 实验部分

2.1 仪器

Agilent 1200SL 高分离度快速液相色谱仪, 包括 G1322A 脱气装置、G1312B 二元高压泵、G1367C 高性能自动进样器、G1316B 柱温箱、G1315C 二极管阵列式检测器(美国安捷伦科技有限公司); AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

2.2 样品与试剂

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 牛黄解毒片(新疆制药厂, 批号: 090721, 090804, 090915)。实验用水为超纯水。

2.3 实验方法

2.3.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax XDB-C₁₈(4.6 × 50mm, 1.8 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸(45 : 55 : 0.2); 检测波

① 联系人, 电话: (0991) 4365195; E-mail: 624799002@qq.com

作者简介: 尔西丁·买买提(1964—), 男(维吾尔族), 乌鲁木齐市人, 副教授, 主要研究方向为统计分析研究。

田树革(1968—), 男, 山东省梁山县人, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中药活性成分筛选。

收稿日期: 2010-03-05; 接受日期: 2010-04-20

长: 315nm; 流速: $0.5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 30°C 。

2.3.2 对照品溶液制备

准确称取在 60°C 减压干燥 4h 的黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成 $150\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄芩苷对照品母液, 准确吸取 1mL 放入 5mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得 $30\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。

2.3.3 样品溶液制备

取牛黄解毒片 20 片(包衣片除去包衣), 研细, 混匀, 取约 1.0g, 准确称定, 加入 70% 乙醇 30mL, 超声处理 20min, 放冷, 过滤, 滤液置于 50mL 容量瓶中, 用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣, 溶液滤入同一容量瓶中, 加 70% 乙醇定容至刻度, 摇匀, 即得。采用安捷伦高分离快速液相色谱仪检测牛黄解毒片中黄芩苷, 色谱图如图 1 和图 2。

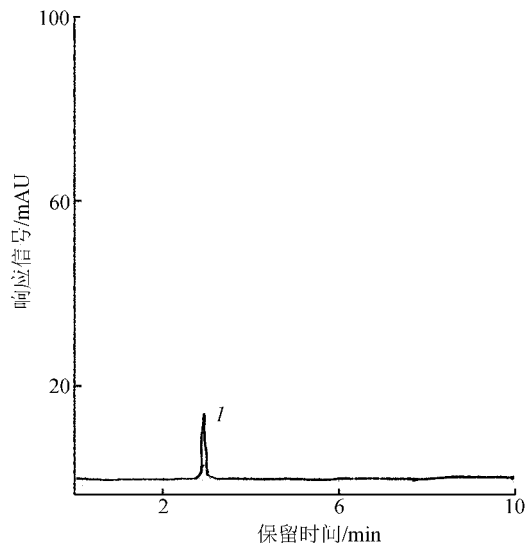


图 1 黄芩苷标准品色谱图
1——黄芩苷。

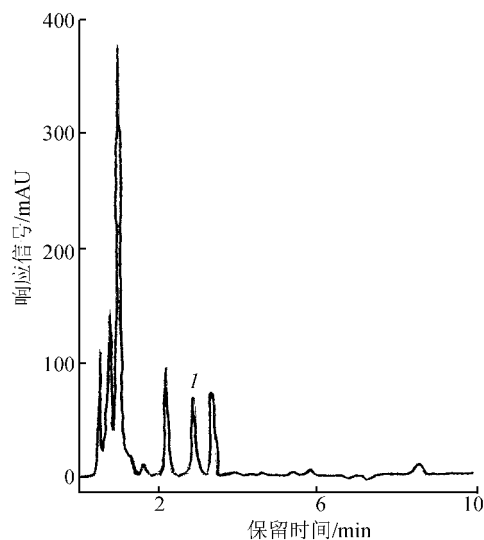


图 2 牛黄解毒片色谱图
1——黄芩苷。

通过使用 RRLC 测定牛黄解毒片中黄芩苷的含量, 发现其具有分析速度快, 分离效果好, 节省溶剂等优点。

3 结果和讨论

3.1 线性关系考察

分别准确吸取黄芩苷对照品母液($150\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1, 3, 5, 7, 9 μL , 分别进样, 以浓度 x 为横坐标, 峰面积 y 为纵坐标, 进行线性回归。经回归分析, 黄芩苷在 0.15—1.35 μg 内有良好的线性关系, 回归方程为 $y = 774.891x - 0.2584$, $r = 0.9999$ 。

3.2 精密度实验

准确吸取黄芩苷对照品溶液 5 μL , 连续进样 6 次, 测定黄芩苷峰面积, RSD 为 0.26%。

3.3 稳定性实验

准确吸取牛黄解毒片样品溶液 5 μL , 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24h 进样, 测定黄芩苷峰面积, RSD 值为 1.45%, 表明样品溶液在 24h 内稳定。

3.4 重复性实验

准确称取牛黄解毒片(包衣片除去包衣)粗粉 1.0g(批号 090804), 共 6 份, 按样品测定法测定, 测得黄芩苷含量平均值为 $5.95\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.76%。

3. 5 加样回收率实验

准确称取已知含量的牛黄解毒片(包衣片除去包衣)粗粉 0. 5g(批号 090804), 共 6 份, 分别准确加入黄芩苷对照品 3mg, 以下按样品溶液制备, 2. 3. 1 节色谱条件进样测定, 其平均回收率为 100. 41%, RSD 为 1. 42%。结果见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收率结果

编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	2. 9817	3. 0000	5. 9553	99. 12	100. 41	1. 42
2	3. 0243	3. 0000	6. 0684	101. 47		
3	3. 0047	3. 0000	6. 0212	100. 55		
4	2. 9871	3. 0000	5. 9805	99. 78		
5	2. 9739	3. 0000	5. 9421	98. 94		
6	3. 0157	3. 0000	6. 0940	102. 61		

3. 6 样品的测定

按“2. 3. 3”方法制备样品液, 准确吸取黄芩苷对照品溶液 5 μ L, 样品溶液 5 μ L, 分别注入 Agilent 1200SL 高分离度快速液相色谱仪, 测定色谱峰面积, 计算其含量, 含量平均值为 6. 12mg $\cdot$ g⁻¹, RSD 为 1. 24%。

3. 7 讨论

采用 RRLC 可以快速、准确的测定牛黄解毒片中黄芩苷的含量。RRLC 目前广泛运用于中药化学成分, 中药制剂, 中药复方成分的研究分析中, 具有分析时间短, 柱效高等优点, 为复杂体系的分离分析提供了良好的平台, 值得广泛推广使用^[4]。

参考文献

[1] 李静瑜. HPLC 法测定牛黄解毒片中黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2001, 4(5): 356—357.
[2] 宋立人, 洪诤, 丁绪亮等. 现代中药学大辞典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 1865—1869.
[3] 张建春, 张华, 施瑛等. 黄芩苷的研究近况[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(3): 247—249.
[4] 金高娃, 章飞芳, 薛兴亚. 超高速液相色谱在复杂体系中 药分离分析中的应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(3): 106—111.

Determination of Content of Baicalin in Niu Huang Jiedu Tablet by RRLC

ER Xiding-Maimaiti GE Liang^a WANG Xin-Yu^a TIAN Shu-Ge^a

(College of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, P. R. China)

a(Xinjiang Key Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi 830011, P. R. China)

Abstract The content of baicalin in Niu Huang Jiedu tablet was determined by RRLC. Zorbax XDB-C₁₈ (4. 6 $\times$ 50mm, 1. 8 μ m) was as the colum, with the methanol-water-phosphoric acid (45 : 55 : 0. 2) as mobile phase, at the flow rate of 0. 5mL $\cdot$ min⁻¹, and detection wavelength of 315nm. The linear range was 0. 15—1. 35 μ g, $r = 0. 9999$, the average recovery was 100. 41% with RSD of 1. 42%. The retention time of baicalin by RRLC is short. The method is efficient, cheap, simple, accuracy and stable.

Key words RRLC; Niu Huang Jiedu Tablet; Baicalin