

HPLC 法测定复方黄芩片中黄芩苷的含量

潘 楣 (茂名市药品检验所, 广东 茂名 525011)

摘要:目的 建立复方黄芩片中黄芩苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法测定, Diamonsil C₁₈ 色谱柱(5 μm, 250 mm × 4.6 mm), 流动相为甲醇-水-磷酸(体积比 47:53:0.2, 检测波长为 280 nm)。结果 黄芩苷在 10~60 μg/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系($r = 0.9997$); 精密度与重复性试验结果 RSD 分别为 0.63% 和 0.74%; 平均回收率为 100.1%, RSD = 1.21%。结论 本方法测定复方黄芩片中黄芩苷的含量, 方法简便、准确, 结果稳定, 可用于控制该制剂的质量。

关键词: 复方黄芩片; 黄芩苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8783(2005)06-0689-01

复方黄芩片是由黄芩、虎杖、穿心莲、十大功劳等中药材组成, 具有清热解毒, 凉血利咽的功效。黄芩苷是黄芩的有效成分, 现行标准^[1]采用薄层色谱法检验, 但无含量测定方法。本文建立高效液相色谱法测定其黄芩苷的含量, 为控制该产品的质量提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SP8810 型高效液相色谱仪(美国 TSP 公司), UV100 紫外检测器, ANASTAR 色谱工作站, Diamonsil C₁₈ 柱(5 μm, 250 mm × 4.6 mm)。

1.2 试剂

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 10715-200212), 甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为超纯水, 复方黄芩片(肇庆星湖制药有限公司, 批号为 040105, 040603, 040902)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(5 μm, 250 mm × 4.6 mm), 流动相为甲醇-水-磷酸(体积比 47:53:0.2), 流

速为 1.0 mL/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为室温。

2.2 溶液的制备

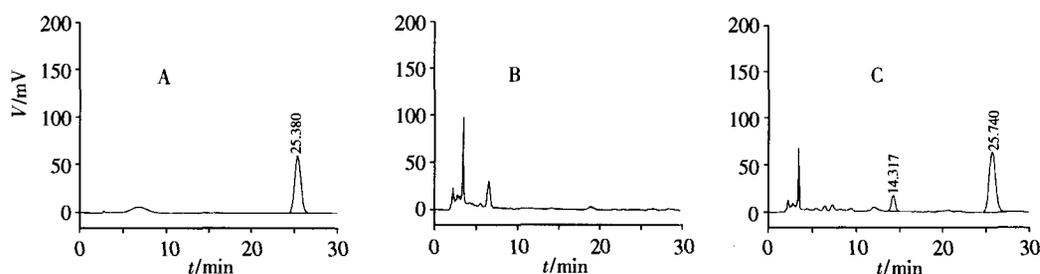
2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 60 °C 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量, 置棕色容量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 中含 60 μg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 精密称取约 0.1 g, 置 50 mL 容量瓶中, 加入 70% (φ) 乙醇约 45 mL, 超声 45 min, 放冷至室温, 加 70% (φ) 乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 阴性对照液的制备 取除黄芩外其余几味药材适量, 加水煎煮 2 h, 煎液加 95% 乙醇使不产生沉淀, 滤过, 滤液蒸干, 残渣按供试品的制备方法制得阴性对照液。

2.3 系统适应性试验

分别吸取对照品溶液、样品溶液和阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。理论板数经多次结果显示按黄芩苷峰计算不低于 3 000, 供试品黄芩苷与其他组分均能达到基线分离, 阴性对照液不干扰样品测定。



A: 对照品; B: 阴性对照; C: 样品

图 1 高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系

精密吸取对照品溶液(0.2 mg/mL) 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻

度, 摇匀, 各进样 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标进行线性回归。回归方程为 $Y = 37\,127.5X - 75\,508.8$, $r = 0.9997$ 。结果表明黄芩苷浓度在 10~60 μg/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系。

(下转第 692 页)

作者简介: 潘楣 (1976-), 女, 药师, 主要从事药物分析及药品检验工作。

以总干膏量作为衡量指标,初步评价工艺的提取效果。提取工艺研究结果表明,煎煮时间对工艺的影响较小,为次要因素,而加水量和煎煮次数对广藿香提取工艺具有显著的影响,是该药材提取工艺的重要因素。从生产实际考虑,提取次数太多和时间过长都会带来很多方面的困难和麻烦,经综合分析比较最终确定提取工艺为10倍量水、煎煮2 h、共2次,经再次重复验证,提取率为8.5%,工艺及结果合理稳定。

4.2 成分分布研究表明,各供试品中成分存在差别,不同提取工艺中所含成分不同,水提后药渣中存在较多的低极性成分,水提液只能将大部分水溶性成分提取出来,乙醇可以提取到部分水溶性和低极性成分。

4.3 薄层色谱研究结果表明,箭头①②③所示斑点为广藿香水提成分的主要鉴别点,其Rf值分别为0.42、0.28、0.12,可以作为广藿香配方颗粒的水溶性成分的鉴别特征点。此外,水提后药渣中仍存在低极性成分,其是否为有效成分有待进一步研究,从而生产中提取工艺是否应该采用醇提还需进一步研究。

(上接第689页)

2.5 精密度试验

取同一浓度对照溶液(60 μg/mL)依法连续进样5次,每次10 μL,测定峰面积,计算结果平均峰面积为2386824, RSD=0.63%。

2.6 稳定性试验

取同一批号的样品(040105)溶液在0、2、4、24 h分别进样10 μL,依法测定峰面积,结果RSD=1.04%,表明样品在24 h内较为稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号的样品(040105)5份,按样品制备方法提取,测定,结果测得黄芩苷平均含量为17.9 mg/片, RSD=0.74%。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的供试品适量,精密加入一定量的黄芩苷对照品溶液,按样品制备方法提取,测定黄芩苷含量,计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果

Tab.1 The results of recovery test

批号	m(样品中的量)/ mg	m(加入量)/ mg	m(测得量)/ mg	回收率/ %
040105	4.786	1.070	5.874	101.68
040105	5.002	1.070	6.077	100.46
040603	4.371	2.042	6.383	98.53
040603	4.726	2.042	6.779	100.53
040603	4.265	2.042	6.293	99.31

平均回收率:100.1%, RSD=1.21%

2.9 样品含量测定

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[Z]. 北京:化学工业出版社, 2000. 33.
 - [2] 封锡志, 徐经纬, 宋少江. 藿香属植物化学及药理活性的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 1998, 15(2): 144.
 - [3] 杜一民, 陈汝筑, 胡本荣. 广藿香的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(4): 238.
 - [4] 朱金照, 冷恩仁, 桂先勇, 等. 白术、藿香等中药对胃排空、肠推进影响的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6(1): 21~23.
 - [5] 刘中煜. 藿香正气水解痉、镇痛和抗菌作用实验观察[J]. 中草药, 1984, 15(12): 543.
 - [6] 张广文, 王发松. 广藿香中的黄酮类化合物[J]. 中草药, 2001, 32(10): 871.
 - [7] Miyazawa M, Okuno Y, Nakamura S, et al. Antimutagenic activity of flavonoids from Pogostemon cablin[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(3): 642.
 - [8] Park EJ, Park HR, Lee JS, et al. Licochalcone A: an inducer of cell differentiation and cytotoxic agent from Pogostemon cablin[J]. Planta Med, 1998, 64(5): 464.
- (收稿日期:2005-06-12;修回日期:2005-10-21)

取对照品溶液(60 μg/mL)和样品溶液(3批),用0.45 μm微孔滤膜滤过,各进样10 μL,测定峰面积,按外按法计算含量,结果见表2。

表2 样品测定结果

Tab.2 Results of assay test of samples(n=3)

批号	黄芩苷含量/(mg/片 ⁻¹)
040105	17.9
040603	19.7
040902	22.0

3 讨论

3.1 在实验过程中,尝试用甲醇、50%(φ)甲醇、70%(φ)乙醇在30 min和45 min分别超声提取,发现采用70%(φ)乙醇超声45 min效果好,提取完全,无需复杂的过程。

3.2 采用高效液相色谱法测定黄芩苷的含量,有效成分分离较好,方法操作简单,重复性好。不足之处是保留时间较长,其他组分多,通过实验知道当样品中黄芩苷峰检测出来后,再让基线延长至5~8 min,可令后面的其他组分峰出现在下一个样品的黄芩苷峰前面,而不影响每一个样品的含量测定,可作为该制剂含量测定的检测方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第十八册)[Z]. 1997.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[Z]. 北京:化学工业出版社, 2000. 248.

(收稿日期:2005-04-21;修回日期:2005-08-18)