

高效液相色谱法测定清热解毒冲剂中黄芩甙的含量

刘晨江 赵志鸿 刘 健 张长征(河南省医学科学研究所 郑州 450052)

摘要 样品经甲醇提取后用高效液相色谱法测定。色谱条件:色谱柱: C_{18} (4.6mm \times 250mm),流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)。线性范围0.12 μ g \sim 1.2 μ g,平均回收率99.2%, $RSD=2.0\%$ 。

关键词 清热解毒冲剂 黄芩甙 高效液相色谱法

Determination of Baicalin Content in Qingre Jiedu Granules by HPLC

Liu Chenjiang, Zhao Zhihong, Liu Jian, Zhang Changzheng

(Henan Institute of Medical Sciences, Zhengzhou, 450052)

Abstract: Baicalin in the sample was extracted with methanol, and determined by HPLC. The chromatographic conditions were as follows: column: C_{18} (4.6mm \times 250mm); mobile phase: MeoH-H₂O-H₃PO₄ (47:53:0.2). The linear range was 0.12 \sim 1.2 μ g, and the average recovery of baicalin from the samples was 99.2%, $RSD=2.0\%$.

Key words: Qingre Jiedu Granules, Baicalin, HPLC

清热解毒冲剂是由清热解毒口服液^[1]改变剂型而研制的新药。本品由金银花、连翘、生石膏、知母、黄芩、栀子、板蓝根、甜地丁、龙胆、玄参、地黄、麦冬 12 味中药组成。具有辛凉解表、清热解毒之功效,临床上主要用于风热感冒(上呼吸道感染)和高热(气分证)。清热解毒口服液含量测定是用紫外分光光度法,以芦丁为对照品,测定总黄酮含量。而处方中 12 味药均不含芦丁,这只是一个间接方法。黄芩是本药清热解毒、抗菌消炎的主要药味,黄芩甙是其主要有效成分之一。我们采用高效液相色谱法测定清热解毒冲剂中黄芩甙含量,较口服液的总黄酮含量测定法更具科学性和先进性,质控标准得到提高,且方法简便、灵敏、可靠。现报道如下。

1 实验材料

1.1 药品和试剂 黄芩甙对照品由中国药品生物制品鉴定所提供(高效液相色谱法测定纯度为 98% 以上);甲醇、磷酸为分析纯,水为重蒸水;清热解毒冲剂为河南省中医研究院药厂生产,批号为 960615、960620、960625、960630。

1.2 仪器 LC-6A 高效液相色谱仪,C-R3A 数据处理,SPD-6A 紫外检测器,岛津产。

2 实验方法与结果

2.1 色谱分析条件 色谱柱 C₁₈(4.6mm × 250mm);流动相 甲醇-水-磷酸(47 : 53 : 0.2);流速 1ml/min;检测波长 280nm^[2];理论板数按黄芩甙峰计不低于 1000。

2.2 供试溶液制备

2.2.1 供试品溶液 取本品研细(过二号筛),精密称取 7g,置圆底烧瓶中,加甲醇 40ml,水浴加热回流 30min,放冷,滤过,滤液置 100ml 量瓶中,用 10ml 甲醇分 2 次洗涤容器和残渣,并滤入同一量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取 1ml,置 5ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液 精密称取经 60℃ 真空干燥 4h 的黄芩甙对照品适量,加甲醇制成每

1ml 含 60μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 2、4、10、16、20μl 按上述色谱条件测定,以峰面积积分值为纵坐标,黄芩甙对照品的量为横坐标绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = 2094387x + 21025$, $r = 0.9998$ 。黄芩甙在 0.12~1.2μg 范围内具有良好的线性关系。

2.4 精密度测定 精密吸取对照品溶液,重复进样 5 次,每次 10μl,黄芩甙峰面积积分值 $RSD = 1.9\%$ 。

2.5 加样回收率的测定 精密称取已知含量的样品 4g,分别精密加入一定量的黄芩甙对照品,按供试品溶液制备方法制备,在上述色谱条件下测定,平行做 4 组,结果见表 1。

表 1 黄芩甙回收率测定

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 %	\bar{x} %	RSD %
15.2	15.0	30.4	101.3		
15.3	15.2	30.3	98.7	99.2	2.0
15.2	15.1	30.3	100.0		
15.4	15.0	29.9	96.7		

2.6 空白对照溶液的制备与测定 按处方比例及工艺自制不含黄芩的空白样品,按供试品溶液的制备方法制备,依法测定,结果表明空白无干扰,见图 1、图 2。

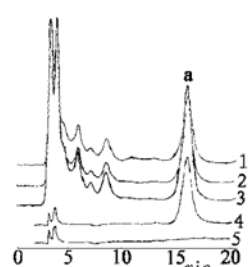


图 1 黄芩甙对照品和供试品的 HPLC 图谱
1、2、3 为供试品, 4 为黄芩甙对照品 5 甲醇溶剂
a 为黄芩甙峰

2.7 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液 10μl,按上述方法测定,计算样品中黄芩甙的含量,4 批样品测定结果列于表 2。

表 2 样品黄芩甙含量测定 (n=4)

批号	样品量 (g)	黄芩甙含量 (mg/g)	RSD (%)
960615	6.9973	2.8	1.9
960620	7.0021	2.6	1.5
960625	7.0058	2.9	1.7
960630	7.0018	3.1	2.0

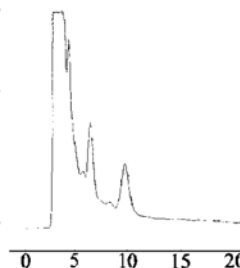


图 2 空白对照的 HPLC 图谱

3 讨论

3.1 以黄芩甙作为清热解

毒冲剂的质量控制指标,能反映该制剂的优劣,是目前文献报道中较理想、科学、可靠的指标。

3.2 样品前处理的好坏,直接影响色谱峰的分离效果。供试品溶液净化不好,对色谱柱柱效损害严重。冲剂中含有较多的蔗糖,提取时不宜选水煎法,而选用无水乙醇或甲醇进行

提取比较合适,又无水乙醇价格较昂贵,所以选用甲醇回流提取法,再经调整流动相,能达到较好的分离效果。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典·一部·广州:广东科技出版社,1995. 604,270 (收稿:1997-09-23)