

HPLC 测定清热醒脑灵片中黄芩苷

刘清新^{1*}, 焦艳¹, 潘海霞², 于永军¹

(1. 沧州医学高等专科学校, 河北 沧州 061001; 2. 沧州市药检所, 河北 沧州 061001)

[摘要] 目的:建立可靠的清热醒脑灵片中黄芩苷的含量测定方法。方法:采用 HPLC, Phenomenex Luna C₁₈(2) 色谱柱, 流动相甲醇-0.2% 磷酸(58:42, 用三乙胺调节 pH 3.0), 柱温室温, 检测波长 280 nm。结果:黄芩苷的线性范围为 22.18 ~ 110.92 mg·L⁻¹ ($r=0.9999, n=5$); 平均回收率为 101.72% (RSD 1.66%, $n=9$)。结论:方法操作简便, 专属性、重复性好, 可用于清热醒脑灵片的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱; 清热醒脑灵片; 黄芩苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0083-03

Determination of Contents of Baicalin in Qingre Xingnaoling Tablet by HPLC

LIU Qing-xin^{1*}, JIAO Yan¹, PAN Hai-xia², YU Yong-jun¹

(1. Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, China;

2. Cangzhou Institute for Drug Control, Cangzhou 061001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of the contents of baicalin in Qingre Xingnaoling Tablet. **Method:** Using HPLC method with Phenomenex Luna C₁₈(2) column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methol-0.2% phosphoric acid solution (58:42, pH adjusted to 3.0 using triethylamine). The column temperature was at room temperature. The detection wavelength was set at 280 nm. **Result:** The linear range of baicalin was 22.18-110.92 mg·L⁻¹ ($r=0.9999, n=5$). The average recovery rate was 101.72% (RSD 1.66%, $n=9$). **Conclusion:** The method is selective and reproducible, which can be used for the quality control method of Qingre Xingnaoling tablet.

[Key words] HPLC; Qingre Xingnaoling tablet; baicalin

清热醒脑灵片由黄芩、黄连、栀子、水牛角、冰片等 13 味药组成, 具有清热解毒、开窍醒脑、息风安神之效, 可用于脑炎、高血压及各种高烧^[1]。其现行标准收载于 1993 年国家卫生部颁布的《中药成方制剂》第八册。标准中只有显微法和化学法鉴别, 无含量测定项。本文采用 HPLC 测定清热醒脑灵片中黄芩苷的含量, 可为本品的质量控制提供科学依据, 保障临床用药的安全有效。

1 仪器与试剂

Agilent1100 型高效液相色谱仪 (G1315B 型 DAD 检测器, G1311A 型泵, G1311A 自动进样器, G1316A 柱温箱), Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), TU1810 型紫外-可见分光光度计, BS124S 型电子分析天平, KH-3200DB 型超声波清洗仪。

黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110715-201016, 供含量测定用), 甲醇为色谱纯 (天津市光复精细化工研究所), 水为超纯水, 清热醒脑灵片 (批号 20090212, 20090310, 20090320) 由河北天成药业有限公司生产, 阴性样品为自制; 其余试剂均为分析纯。

[收稿日期] 20110711(009)

[基金项目] 沧州市科学技术指导与发展指导计划项目 (09ZD259)

[通讯作者] * 刘清新, 高级工程师, 本科, 从事药物化学及药物分析检验, Tel:13171701881

2 方法

2.1 色谱条件 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温室温, 检测波长 280 nm, 流动相甲醇-0.2% 磷酸 (58:42, 用三乙胺调节 pH 3.0)。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 2 500。

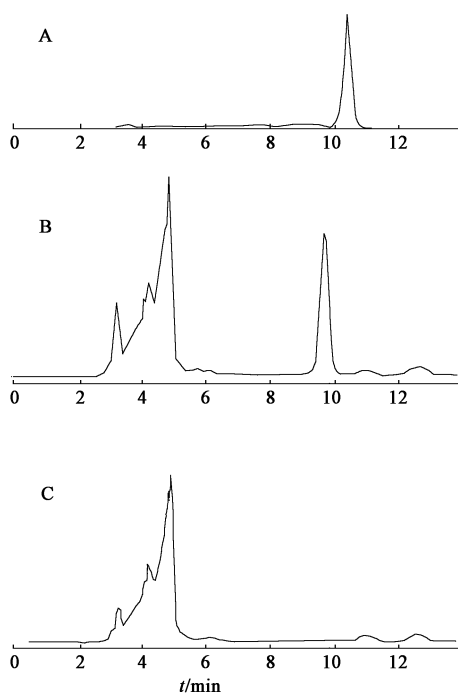
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成 200 mg·L⁻¹ 的溶液, 作为对照品贮备液。精密量取上述贮备液适量, 加甲醇稀释制成 60 mg·L⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 精密称取粉末适量 (约相当于 2 片重量), 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 30 min, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取不含黄芩的阴性样品, 照 2.2.2 项下方法制备, 即得。

2.3 空白干扰试验 取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。由图可知, 其他原辅料对黄芩苷的含量测定无干扰。



A. 黄芩苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

图 1 空白干扰试验

2.4 线性关系试验 精密量取对照品储备液 0.5, 1, 2, 4, 5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。取上述溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 量取峰面积。黄芩苷溶液在 22.18 ~ 110.92 mg·L⁻¹ 与其峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $A = 46.46C - 84.36$ ($r = 0.9999$)。

2.5 精密度试验 取黄芩苷对照品溶液, 连续进样 6 次, 测量峰面积。计算 6 次峰面积的 RSD 为 0.063%。说明本方法精密度良好。

2.6 重复性试验 取批号为 20090212 的样品 6 份, 照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别测定黄芩苷含量。结果平均含量为每片 0.954 mg, RSD 0.46%, 表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液, 在室温条件下放置, 分别于第 0, 1, 2, 4, 8 h 进样, 测量峰面积。5 次测定结果的 RSD 为 0.54%, 说明供试品溶液在室温下 8 h 内稳定。

2.8 回收率试验 取批号为 20090212 的样品, 按 2 片重量的 80%, 100%, 120% 称取供试品细粉, 每浓度称取 3 份, 共 9 份样品, 分别置 25 mL 量瓶中, 加甲醇适量超声处理 30 min, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过滤。分别精密量取续滤液 5 mL, 精密加入黄芩苷对照品溶液 5 mL, 混匀。分别取各溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。试验结果见表 1。

2.9 样品含量测定 取本品样品 3 批, 照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 照上述色谱条件分别测定含量。结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长的确定 取黄芩苷对照品溶液, 照分光光度法在 200 ~ 400 nm 扫描, 结果显示, 本品在 220, 275, 313 nm 处有吸收峰, 其中最大吸收波长为 275 nm, 参照黄芩与牛黄上清丸含量测定项下方法^[2-3] 及相关文献报道^[4], 并考虑药材来源, 故确定本法检测波长为 280 nm。

3.2 超声时间的选择 供试品溶液制备时以甲醇为溶剂超声提取, 考察了超声 20, 30, 40 min 的提取效果, 结果显示, 超声 30 min 时黄芩苷提取较完全, 参考有关文献^[5], 故超声提取时间确定为 30 min。

3.3 流动相的选择 分别选择了以甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2)^[2]、甲醇-0.2% 磷酸 (42:58, 用三乙胺调节 pH 3.0)、甲醇-0.2% 磷酸 (58:42, 用三乙胺调节 pH 3.0) 为流动相试验, 检测波长 280 nm, 进样

表 1 黄芩苷回收率试验 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

No.	称样量 /g	含黄芩苷量 /m·(5 L) ⁻¹	加入对照品量 /m·(5 L) ⁻¹	测得量 /m·(10 L) ⁻¹	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.718 5	0.304 4	0.332 8	0.636 4	99.75		
2	0.716 9	0.303 8	0.332 8	0.642 7	101.85		
3	0.717 4	0.304 0	0.332 8	0.639 1	100.70		
4	0.900 6	0.381 6	0.332 8	0.719 3	101.48		
5	0.900 1	0.381 4	0.332 8	0.711 4	99.19	101.72	1.66
6	0.899 2	0.381 0	0.332 8	0.723 2	102.85		
7	1.108 5	0.469 7	0.332 8	0.816 6	104.24		
8	1.108 1	0.469 5	0.332 8	0.807 9	101.69		
9	1.107 1	0.469 1	0.332 8	0.814 1	103.69		

表 2 样品黄芩苷含量测定 mg/片

批号	含量 1	含量 2	平均含量
20090212	0.958 8	0.961 7	0.960 2
20090310	0.977 7	0.977 0	0.977 3
20090320	0.962 7	0.977 7	0.970 2

量 10 μ L。结果前 2 种为流动相时,或黄芩苷峰与其他峰不能分离,或保留时间滞后、峰形不好,而以流动相甲醇-0.2% 磷酸(58:42),用三乙胺调节 pH 3.0 的分离效果比较好,保留时间适中。

经方法学研究,结果表明该方法操作简便,专属性、重复性好,可用于清热醒脑灵片的质量控制。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂. 第 8 册[S]. 1993:175.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005:211.
- [3] 徐泯. HPLC 测定大黄葶藶颗粒剂中黄芩苷的含量[J]. 中国医院用药评价与分析,2008,8(9):667.
- [4] 李冰岚,陈宗良,蒋士鹏. HPLC 法测定复方蒲公英片中黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(4):703.
- [5] 田雁钰. HPLC 法测定小儿肺热平胶囊中黄芩苷的含量[J]. 中国药房,2010,21(36):3438.

[责任编辑 蔡仲德]

欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,304 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发售,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com。