

高效液相色谱法测定安胎丸中黄芩苷的含量

胡寿荣*

(江西省食品药品检验所, 南昌 330029)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法测定安胎丸中黄芩苷的含量。方法: 高效液相色谱法, Kromasil C₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm), 0.1% 磷酸溶液-甲醇(45:55) 为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm, 柱温 25℃。结果: 黄芩苷在 5.096 ~ 30.576 μg 线性关系良好, $r=0.9999$, 回归方程 $Y=72808.17X-41785.27$, 仪器精密度的 RSD($n=5$) 为 0.03%; 方法重复性的 RSD($n=6$) 为 0.5%。平均回收率($n=6$) 为 100.23%, RSD 1.7%。结论: 本法快速简便, 重复性好, 测定准确灵敏。

[关键词] 安胎丸; 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0066-02

黄芩是安胎丸处方中的君药, 中医理论认为它具有清热燥湿, 泻火解毒, 止血安胎等功效。其有效成分主要有黄芩苷, 因此, 采用高效液相色谱法对制剂中黄芩苷的含量测定方法进行了研究, 建立了安胎丸中黄芩苷的含量测定方法。该方法操作简单、灵敏、准确, 能有效地控制制剂的内在质量。

1 仪器与试剂

LC-2010L HT 高效液相色谱仪(日本岛津公司)、LC solution 色谱工作站、Dikma C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μm)、LE163 电子天平(瑞士 Mettler 公司)、黄芩苷对照品(批号 0715-9708, 中国药品生物制品检定所提供), 甲醇为色谱纯, 水为纯化水外, 其它试剂均为分析纯。

[收稿日期] 2009-06-15

[通讯作者] * 胡寿荣, Tel: 13006218166

量型检测器, 其响应不依赖样品的光学性质, 只要样品的挥发性低于流动相即可被检测^[1], 故本实验选择 HPLC-ELSD 法对清咽胶囊中重楼皂苷和重楼皂苷进行含量测定。

由于本品为复方制剂, 成分复杂, 为使色谱图中重楼皂苷和重楼皂苷获得满意的分离, 曾对样品前处理方法进行多次实验。曾按中国药典 2005 年版一部^[2] 重楼含测项下供试品溶液处理方法进行试验, 结果干扰较大, 重楼皂苷和重楼皂苷色谱峰达不到基线分离。后参考文献方法^[3], 采用甲醇提取, 提取液蒸干后水溶解, 正丁醇萃取, 并用氨试液和正丁醇饱和的水洗涤纯化的方法, 结果可以达

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈, (5 μm, 250 mm × 4.6 mm)。流动相 0.1% 磷酸溶液-甲醇(45:55), 检测波长 280 nm; 流速 1 mL/min; 柱温 25℃。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 6.37 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度; 精密吸取上述对照品溶液 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加 50% 的甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品稀释溶液, 黄芩苷含量为 25.48 μg·mL⁻¹。

2.3 供试品溶液的制备 取安胎丸切碎, 精密称取 1.0 g, 置 50 mL 的量瓶中, 加入 70% 乙醇 40 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 2 mL, 至 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 检测波长的选择 分别取对照品溶液与供试品溶液进行全息扫描, 结果对照品与供试品在

到基线分离, 最终确定以该方法作为供试品的处理方法。经方法学研究, 结果表明该法简便、灵敏度高、重现性好、结果准确, 可用于本制剂的质量控制。

[参考文献]

- [1] 赵宇新, 李曼玲. 蒸发光散射检测器在中药成分分析中的应用[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 913.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 183.
- [3] 宋晓宁, 许乾丽, 茅向军. HPLC 测定复方岩连片重楼皂苷、重楼皂苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 196.

275.7 nm 处都有最大吸收, 又参照《中国药典》2005 年版一部黄芩药材含量测定项下的检测波长, 确定本法检测波长为 280 nm。

2.5 专属性考察试验 按处方比例制成黄芩苷阴性样品, 照 2.2 项下方法制备黄芩苷阴性对照品溶液, 精密吸取 20 μL, 测定, 结果在黄芩苷对照品相同保留时间位置上未见干扰, 见图 1。

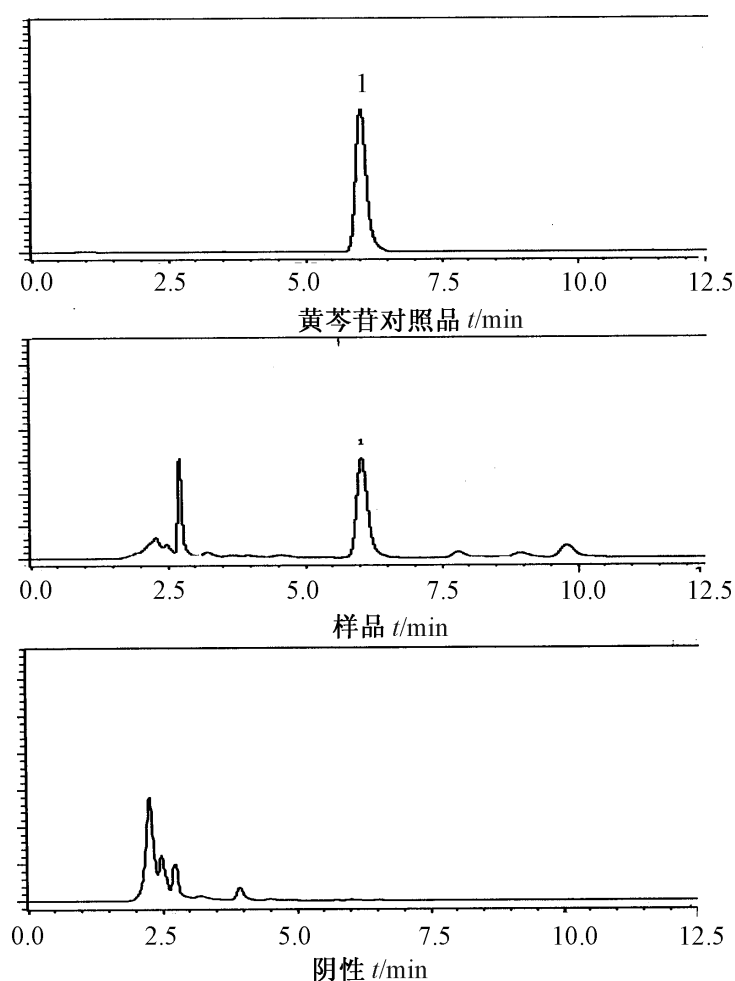


图 1 为黄芩苷对照品
1 为黄芩苷对照品

2.6 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 6.37 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度; 精密吸取上述对照品溶液 1, 0, 2, 0, 3, 0, 4, 0, 5, 0, 6, 0 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别进样 20 μL, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 对照品量为横坐标进行线性回归, 黄芩苷在 5.096 ~ 30.576 μg 具有良好的线性关系。回归方程为 $Y = 72\,808.17X - 41\,785.27$, $r = 0.99995$ 。

2.7 精密度实验 取对照品溶液(浓度为 20.384 μg · mL⁻¹), 在上述色谱条件下, 重复进样 5 次, 每次 20 μL, 记录色谱图与峰面积。计算 RSD($n = 5$) 为 0.03%, 结果表明, 仪器精密度良好。

2.8 稳定性实验 取同一供试品溶液分别于 0, 1,

3, 6, 10, 12 h 内, 在正文所述的色谱条件下, 分别进样 20 μL, 记录色谱图与峰面积, 计算 RSD($n = 6$) 为 0.05%, 结果表明, 样品在 12 h 内稳定性良好。

2.9 重复性实验 按正文所述的含量测定方法, 对同一批样品制备 6 份供试品溶液, 精密取 20 μL, 注入色谱仪, 记录图谱与峰面积, 计算 RSD($n = 6$) 为 0.5%, 结果表明重现性良好。

2.10 回收率实验 取已知含量的安胎丸(6.12 mg · g⁻¹) 6 份, 分别精密称定, 再分别加入芍药苷对照品溶液(0.8524 mg · mL⁻¹) 3 mL, 按上述供试品溶液制备项下操作, 记录色谱图, 考察本方法的加样回收率, 见表 1。

表 1 加样回收率试验

取样量 /g	含芍药苷的量 /mg	加入对照品的量 /mg	回收率 /%
0.421 2	2.577 7	2.557 2	99.83
0.540 2	3.306 0	2.557 2	102.24
0.431 1	2.638 3	2.557 2	97.27
0.635 6	3.889 9	2.557 2	101.42
0.560 1	3.427 8	2.557 2	100.52
0.429 9	2.631 0	2.557 2	100.11

注: 平均回收率 = 100.23%, RSD = 1.7%。

2.11 样品中黄芩苷含量测定 取安胎丸样品, 按正文含量测定项下的方法测定黄芩苷的含量, 分别制备对照品溶液与供试品溶液, 分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图与峰面积值, 计算黄芩苷质量分数, 3 批分别为 6.01, 6.05, 6.12 mg · g⁻¹。

3 讨论

分别选择了以甲醇-水-磷酸(47 53 0.2)^[1]、0.1% 磷酸-甲醇(45 55) 溶液为流动相进行试验, 检测波长为 280 nm, 柱温为 25 , 精密吸取黄芩苷对照品及供试品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 结果表明以 0.1% 磷酸溶液-甲醇(45 55) 分离效果最好, 保留时间适中。

[参考文献]

[1] 国家经典委员会. 中华人民共和国经典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 211.