

• 制剂工艺 •

HPLC 测定湿必清注射液中黄芩苷的含量

贾 星*

(山西省大同市第七人民医院, 山西 大同 037000)

[摘要] 目的: 采用 HPLC 法测定湿必清注射液中黄芩苷的含量。方法: 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB- C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1), 检测波长 274 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 保留时间约为 5.5 min。结果: 黄芩苷进样量在(0.103 2~2.064) μg 范围内, 峰面积与进样量之间呈良好的线性关系($r = 0.999\ 98$)。平均回收率 99.3%, RSD 为 0.78%。结论: 该方法适用于检测湿必清注射液中黄芩苷的含量。

[关键词] 高效液相色谱法; 湿必清; 黄芩苷; 含量

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0015-02

湿必清注射液系由黄芩、金银花、蒲公英、丹参、党参、巴戟天、按叶等药材组成, 经蒸馏、煎煮、过滤、浓缩、混合及搅拌等一系列工艺制得的中药复方制剂。黄芩苷为该制剂的有效成分之一, 且含量较高, 因此选用高效液相色谱法测定样品中黄芩苷的含量, 控制制剂质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司, 2695 型), 2487 紫外检测器。超声波(昆明市超声波仪器有限公司, KQ-250E); 黄芩苷对照品(批号: 110715-200413), 购于中国药品生物制品检定所; 湿必清注射液由山西伟业生物技术有限公司提供(批号: 20070301-20070302-20070303); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1] 色谱柱为 Agilent, ZORBAX SB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 274 nm, 柱温 30 ℃。理论塔板数按黄芩苷计算应不低于 2 000。(对照品、供试品及阴性样品 HPLC 图谱见图 1)

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 置水浴中振摇使溶解, 放置至室温, 稀释至刻度, 摇匀, 即

得。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 超声处理 20 min, 放置至室温, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 干扰实验 取处方中除黄芩外的全部药味, 按成品工艺及供试品溶液的制备方法制备黄芩阴性对照溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 结果表明: 阴性样品溶液在黄芩苷对照峰保留时间处, 无其他成分干扰。

2.5 线性关系考察 取 2.2 中对照品溶液, 分别进样 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。以黄芩苷对照品溶液的峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 进行线性回归, 回归方程为: $Y = 3.07 \times 10^6 X - 1.09 \times 10^5$, 相关系数: $r = 0.999\ 98$ 。结果表明黄芩苷在(0.103 2~2.064) μg 范围内, 峰面积与进样量之间呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液(批号: 20070301), 重复进样 5 次, 峰面积 RSD 为 0.23%。结果表明, 仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: 20070301), 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 后测定, 含量 RSD 为 0.12%。结果表明, 供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一供试品溶液(批号: 20070301), 依法平行测定 5 份, 含量分别为: 6.79、6.82、6.85、6.84、6.83 mg·mL⁻¹, RSD 为: 0.34%。结果表明, 该方法的重复性良好。

2.9 回收率试验 采用加样回收方法, 精密量取 5

[收稿日期] 2007-12-25

[通讯作者] * 贾星, Tel: 13593052999; E-mail: JiaXing200808@

Yeah.net

份已知含量的供试品溶液(批号: 20070302, 含量: $6.84 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 分别加入一定量的黄芩苷对照品, 同 2.3 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品取样量(mL)	样品含黄芩苷量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.5	3.42	3.46	6.85	99.13		
0.5	3.42	3.43	6.87	100.58		
0.5	3.42	3.52	6.89	98.58	99.3	0.78
0.5	3.42	3.39	6.79	99.41		
0.5	3.42	3.50	6.88	98.86		

试验表明, 该方法具有良好的回收率。

2.10 样品测定 取 3 批样品(批号分别为: 20070301 20070302 20070303), 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 含量分别为: $6.86, 6.84, 6.88 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 平均含量为: $6.86 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

黄芩苷的高效液相色谱分离条件与含量测定方法对湿必清注射液的质量控制具有重要意义。根据 3 批样品测定结果, 可将本品含量限度定为每 1 mL 含黄芩苷不得少于 6 mg。但含量限度的制定尚需更多批次的测定结果。本试验参考《药典》中双黄连口服液项下的色谱条件^[1], 经多次试验黄芩苷与其它组分的分离效果较好, 柱效较高, 理论塔板数以黄芩苷峰计算可达 4 000 以上, 但是为了方法的普遍适用性, 将其定为 2 000。从对照品与样品的色谱图可看出, 保留时间一致, 约 5.5 min 即可分离。本方法具有简单、快速、准确、稳定且重复性好的特点, 可以作为该制剂的质量控制手段之一。

[参考文献]

- [1] 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. 405-406.