

高效液相色谱法测定清热止咳颗粒中黄芩苷的含量

李荣生, 娄敏, 乔少华, 董卫红, 韩曼雪(中国中医研究院实验药厂, 北京 100700)

关键词: 清热止咳颗粒; 黄芩苷; HPLC

中图分类号: 284.1 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)06-0016-02

清热止咳颗粒是由黄芩、连翘、桔梗等十味中药经提取后配制成的复方制剂, 临床上具有清热止咳之功效。为便于本品的定量监控, 以黄芩苷含量作为测定指标, 有关黄芩苷含量测定的方法, 文献报道有 HPLC 法^[1-2]等。但因该制剂中成分较多, 采用文献报道的方法分离并不理想。本文经优选确定了黄芩苷成份分析的高效液相色谱系统, 获得了满意的结果。

1 仪器和药品

日本岛津高效液相色谱仪; 高压泵 LC-10Avp; 检测器 SPD-10A; 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所); 乙腈(上海脑海生物科技有限公司 HPLC 试剂); 乙醇(南京化学试剂厂, AR 级)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Hypersil ODS C₁₈(250×4.6mm 10μ); 流动相: 0.05mol/L 磷酸溶液-乙腈(60:40), 流速: 1ml/min; 检测波长: 278nm; 灵敏度: 0.2AUFs; 进样量: 10μl; 理论塔板数: 以黄芩苷峰计算应不低于 2500。

2.2 干扰试验 按处方配比, 配制不含黄芩

的空白颗粒,提取后进行测定。结果表明,颗粒中其它成分对黄芩苷的测定无干扰。

2.3 标准曲线的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加70%乙醇配成200.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,作为贮备液备用。

精密吸取贮备液0.25、0.5、1、2、2.5、3及4ml,分别置5ml量瓶中,各加入70%乙醇溶液稀释定容,配成浓度分别为:10.04、20.08、40.16、80.32、100.4、120.48、160.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准溶液。精密吸取各标准溶液10 μl ,注入液相色谱仪,记录峰面积。

以浓度为横座标(x),峰面积为纵坐标(Y),进行回归,方程为:

$$Y = 1607.7x - 2116.7, r = 0.9999$$

结果表明在10.04~160.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围线性关系良好。

黄芩苷最小检出浓度为:3.35 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.4 加样回收率试验 精密称取已测含量的清热止咳颗粒细粉,加入精密称定的对照品制成模拟制剂,提取,测定。结果见表1。平均回收率为97.38, RSD 1.1%。

称样量 (g)	含量 (mg)	对照品加 入量(mg)	总测得量 (mg)	对照品测 得量(mg)	回收率 %
0.1002	2.06	1.42	3.43	1.37	96.47
0.1002	2.06	1.48	3.52	1.46	98.65
0.1002	2.06	1.96	3.99	1.93	98.47
0.0998	2.05	1.90	3.89	1.84	96.84
0.1001	2.06	2.14	4.15	2.09	97.66
0.0993	2.04	2.10	4.06	2.02	96.19

2.5 精密度试验 取样品供试溶液按色谱条件连续进样5次,记录峰面积分别为:155885、156826、156541、158165、157919,平均为157067, RSD 为0.61%。

2.6 重现性试验 取同一批样品5份,按样品

提取方法同法提取,测定。平均含量为19.15 mg/g , RSD 1.47%。结果表明重现性良好。

2.7 含量测定

2.7.1 提取方法 取样品约0.3g,研匀,精密称定,加70%乙醇40ml,置水浴中加热回流0.5h,放冷,滤过,滤液置50ml量瓶中,用少量70%乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,加70%乙醇稀释至刻度,摇匀。再用微孔滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液作为样品供试溶液。

2.7.2 含量测定 精密吸取对照品溶液与样品供试液各10 μl ,注入液相色谱仪,记录峰面积,计算含量。结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

批号	含量平均值(mg/g)
980816	19.24
980822	19.98
980829	19.29

3 讨论

3.1 试验结果表明,样品经0.5、1h提取所测得的黄芩苷含量基本一致,由此可将提取时间定为0.5h。

3.2 本试验中,采用不同浓度的磷酸和不同比例的流动相,进行优选。结果表明,本文所确立的色谱系统使制剂中黄芩苷与其他组份能很好分离,而且样品处理简单,分析时间短,可用于制剂的定量分析。

参考文献:

- [1] 章仲懿,谈宣忠.黄芩酒炙时间与成分的关系考察[J].中成药,1993,15(10):17~18.
- [2] 孙德峰,丁淑华.高效液相色谱法测定黄芩及其制剂中黄芩苷的含量[J].辽宁中医杂志,1997,24(5):234~235.