

高效液相色谱法测定石磺抗菌片中黄芩苷的含量

吕翼¹, 高申蓉², 陈东生¹ (1. 华中科技大学协和医院药剂科, 武汉 430022; 2. 湖北省中医院药剂科, 武汉 430061)

摘要:目的 建立一种高效液相色谱法测定石磺抗菌片中黄芩苷的含量。方法 采用 Waters600 高效液相色谱仪, 选用 ODS C₁₈ 分析柱 (5 μ m, 3.9 $\times$ 150mm) 为固定相, 以甲醇-0.06% 磷酸 (43: 57) 为流动相, 流速 1.0mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温为 40 $^{\circ}$ C, 检测波长为 278nm。结果 石磺抗菌片中黄芩苷与其它组分良好分离。黄芩苷浓度线性范围在 0.1883~1.5007 μ g, $r=0.9993$ 样品加样回收率为 98.7% ($n=5$), RSD=1.9% ($n=5$)。结论 含量测定方法简便, 准确, 重复性好, 可用于控制石磺抗菌片的质量。

关键词: 石磺抗菌片; 黄芩苷; 含量测定; 高效液相色谱法

Content Determination of Baicaline in ShihuangKangjun Tablets with Reversed-phase HPLC

LV Yi¹, GAO Shen-rong², CHEN Dong-sheng¹ (1. Department of Pharmacy, Union Hospital Affiliated With the Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022 China; 2. Hubei Hospital of TCM, Wuhan 430061 China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a HPLC method for determination of the content of baicaline in ShihuangKangjun Tablets.

METHOD Baicaline was separated with a ODS-C₁₈ column by using methanol-0.06% phosphon acid (43: 57) as mobile phase. The velocity of flow was 1.0mL $\cdot$ min⁻¹, the column temperature at 40 $^{\circ}$ C and UV detection wavelength at 278nm. **RESULTS** There was a good linear relationship within a range of 0.1883~1.5007 μ g of baicaline, correlation coefficient $r=0.9993$, the average recover-

y was 98.7% (n = 5), RSD = 1.9%, (n = 5). **CONCLUSION** This method is simple, highly accurate and reproducible in the content determination of baicaline in ShihuangKangjun Tablets.

KEY WORDS: ShihuangKangjun Tablets; Baicaline; Content Determination; HPLC

石磺抗菌片是华中科技大学协和医院经多年研制的纯中药复方合剂,由黄芩、石榴皮、生地榆等中药制备而成,临床上用于菌痢,上呼吸道感染,扁桃体炎,尿路感染等疾病的治疗,疗效显著。方中的黄芩为君药之一,黄芩苷是黄芩中具有抗菌作用的主要有效成分。《中国药典》77 年版收集了石磺抗菌片,但未规定其定量方法^[1]。本研究建立了 HPLC 法测定石磺抗菌片中黄芩苷的含量方法。

1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪, Waters 2996 PDA 检测器, RE-52A 旋转蒸发器, AS-10200 型超声波发生器。黄芩苷对照品(中国药品生物制品鉴定所),石磺抗菌片(华中科技大学协和医院制剂室提供)(批号 030508, 030512, 030715, 030718, 030923),甲醇为色谱纯;磷酸为色谱纯;水为重蒸馏水,其余均为分析纯。实验所用中药饮片均购自武汉国药集团中药饮片厂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Symmetry® C₁₈(5μm, 3.9 × 150mm); 流动相:甲醇-0.06% 磷酸(47: 53); 流速 1.0mL · min⁻¹, 检测波长: 278nm; 柱温 40℃, 进样量 10μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密吸取黄芩苷对照品(60℃减压干燥至恒重)7.5mg 置 100mL 量瓶中,用甲醇溶解并超声 30 min,定容。

2.3 供试样品的制备

取石磺抗菌片适量,除去包衣,研细,精密称取 1g,加入 70% 乙醇 100mL,超声提取 30min,放冷,滤过,定容于 100mL 容量瓶中,用微孔滤膜(0.45μm)滤过,弃去初滤液,续滤液备用。

2.4 阴性样品溶液制备

按石磺抗菌片处方制备不含黄芩的片剂,同法制成阴性样品溶液备用。

2.5 线性关系考察

分别精密吸取 2.2 项下黄芩苷对照品溶液 2.5, 5, 10, 15, 20μL 进样,以峰面积积分值为纵坐标,以进样的对照品溶液浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程为: $Y = 3.96 \times 10^6 x + 4.55 \times 10^4$, $r = 0.9993$,结果表明黄芩苷进样量在 0.1883 ~ 1.5007μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 空白干扰试验

按照上述色谱条件,吸取对照品溶液,供试品溶液、空白溶液各 10μL 测定。在供试品色谱图中,与对照品色谱峰相应的位置上有一相同保留时间的色谱峰,而空白溶液在此保留时间无干扰。

2.7 精密度实验

精密吸取对照品溶液 10μL,重复进样 5 次,测定对照品

溶液峰面积,计算 RSD = 0.92%。(n = 5),表明精密度良好。

2.8 稳定性实验

精密取同一供试品溶液 10μL,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24h 注入液相色谱仪中测定,其峰面积基本保持不变, RSD = 1.32%,稳定性良好。

2.9 重现性试验

平均称取同一样品 5 份,按含量测定方法分别制备供试品液,测得密吸黄芩苷峰面积值并计算含量, RSD = 1.3% (n = 5)。表明本方法重现性良好。

2.10 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号为 20030718),精密吸取 6 份分别加入定量的黄芩苷对照品,按供试品的制备方法处理并测定,计算回收率为 98.7%, RSD = 1.9%。

表 1 石磺抗菌片加样回收率

取样量 (mg)	样品含量 (μg)	对照品加 入量(μg)	测得总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.1	0.1957	0.1656	0.352	97.4		
0.1	0.1957	0.1656	0.355	98.3		
0.1	0.1957	0.1952	0.380	97.2	98.7	1.90
0.1	0.1957	0.1952	0.394	100.8		
0.1	0.1957	0.2253	0.407	96.70		
0.1	0.1957	0.2253	0.428	101.7		

2.11 含量测定

精密吸取供试品溶液各 10μL,按上述色谱条件测定,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	含量(mg/mL)	RSD%
030508	5.63	1.2
030512	5.31	0.6
030715	5.21	0.3
030718	5.67	2.0
030923	5.85	0.1

3 讨论

中药复方制剂以黄芩苷含量为质量控制指标的文献报道很多^[1,2],只是样品大都经过回流提取步骤,我们根据本制剂的特点,结果在本实验条件下得到了较好分离,此种方法简便,准确,重复性好,空白无干扰,可作为石磺抗菌片中黄芩苷含量测定的定量方法,为医院制定石磺抗菌片的质量标准提供了快速准确的测定方法。

3.1 用 HPLC 法测定黄芩苷含量,文献中有多种流动相^[1-3],但用于本样品分离效果均不好,比较了多种比例的甲醇-水-磷酸,以甲醇-水(含 0.06% 磷酸)(47: 53)为优,分离效果好,出峰时间短。

3.2 超声时间比较实验:取石磺抗菌片适量,按供试品溶液制备方法制备,曾比较超声时间,分别超声 20, 30, 40min,发现 30 min 即可将石磺抗菌片合剂中的黄芩苷提取完全。

参考文献

- [1] 中国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社 2000. 240, 336, 404, 419.
- [2] 刘同祥, 王慧森. HPLC 法测定复方蒲苓片中黄芩苷的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(3): 225.
- [3] 李红兵, 孙立华, 王玲. 高效液相色谱法测定苦甘冲剂中的含量[J]. 中国药师, 2002, 5(2): 95.

收稿日期: 2004-07-16