

反相高效液相色谱法测定双黄补缓释药条中黄芩苷的含量

赵春颖,高晓燕(承德医学院中药研究所,河北 承德 067000)

摘要:目的 建立双黄补缓释药条中黄芩苷的含量测定方法。方法 采用 RP-HPLC法测定双黄补缓释药条中黄芩苷的含量。色谱柱:Kromasil C₁₈(100mm×4.6mm, 5μm);流动相:乙腈-0.05mol/L磷酸二氢钾(pH=3.5)(28:82);流量:1.0mL/min;柱温:室温;检测波长:270nm。结果 黄芩苷在 4.59~114.80μg/mL浓度范围内线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率为 99.63%,RSD为 0.84%。双黄补缓释药条中黄芩苷的含量为 16.28mg/g($n=5$)。结论 本方法灵敏度高,重现性、稳定性好,检测迅速,结果准确。

关键词:黄芩苷;双黄补缓释药条;反相高效液相色谱法

中图分类号:R917.792 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)02-0150-02

Determination of baicalin in Shuanghuangbu sustained release medicinal strips by RP-HPLC

ZHAO Chun-ying, GAO Xiao-yan(Institute of Chinese Material Medica, Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of baicalin in Shuanghuangbu sustained release medicinal strips by RP-HPLC. **METHOD** Using Kromasil C₁₈(100mm×4.6mm, 5μm) as a stationary phase and acetonitrile-0.05M potassium dihydrogen phosphate(28:82) as the mobile phase and detection wavelength at 270nm. **RESULTS** The standard curve was linear in the range of 4.59~114.8μg/mL with the excellent correlation coefficient of 0.9999. The average recovery was 99.63% (RSD=0.84%). The content of baicalin in Shuanghuangbu sustained release medicinal strips was 16.28mg/g ($n=5$). **CONCLUSION** The method is simple and accurate with a good reproducibility and can be applied to quantitative analysis for this preparation.

KEY WORDS: determination; baicalin; Shuanghuangbu sustained release medicinal strips; RP-HPLC

双黄补缓释药条是由黄芩、黄连、骨碎补三种中药按一定比例混合提取后,再加入一定的缓释辅料研制而成,主要用于牙周炎的治疗。本研究采用 RP-HPLC首次建立双黄补缓释药条中黄芩苷的含量测定方法,从而为双黄补缓释药条的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

日本岛津公司 LC-10A型高效液相色谱仪,惠普 HP-8453型紫外分光光度计,梅特勒 AG-254型十万分之一电子分析天平,试剂均为色谱纯,对照品黄芩苷(含量测定用)购自中国生物制品鉴定所。双黄补缓释药条为河北医科大学第四附属医院研制。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(100mm×4.6mm, 5μm);流动相:乙腈-0.05M磷酸二氢钾(pH=3.5)(28:82);流量:1.0mL/min;柱温:室温;检测波长:270nm。

2.2 线性关系的考察

对照品溶液的配制:取对照品黄芩苷 5mg,精密称定,用甲醇溶解并定溶于 25mL量瓶中,摇匀,0.45μm微孔滤膜滤过。分别精密吸取上述溶液 0.2、0.4、0.6、1.0、2.0、3.0、5.0mL置 10mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,得到系列对

照品溶液,分别进样,进样量为 10μL。按上述色谱条件测定对照品峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,黄芩苷的对照品浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $A=32100.40977C_X-38126.39762$,相关系数 $r=0.9999$,说明黄芩苷在 4.59~114.80μg/mL范围内线性关系良好。

2.3 精密度的考察

取浓度为 45.92μg/mL的黄芩苷对照品溶液进样,重复进样 5次,分别记录色谱峰面积积分值,计算峰面积的 RSD为 1.34%。

2.4 溶液稳定性考察

将浓度为 0.04592mg/mL的黄芩苷对照品溶液在 2、4、6、8、10h分别进样,测得黄芩苷的峰面积日内 RSD为 0.49%;将该溶液在冰箱内保存,分别在第 1天、第 2天、第 3天、第 5天、第 7天进样,测得黄芩苷的峰面积日间 RSD为 1.90%。由此得出:黄芩苷对照品溶液在日内 10h稳定,在日间 10d冰箱内保存是稳定的。

2.5 重复性

取同一批号(批号:020411)缓释药条 19mg,精密称定,共称取 5份,分别加入 75%乙醇 20mL,加热回流 1.5h,放冷,静置,滤过,滤液置蒸发皿中,用少量 75%乙醇多次洗涤容器和残渣,合并滤液置蒸发皿中,70℃水浴蒸干,干膏用甲醇溶

解并定容置 10mL量瓶中,摇匀,离心,取上清液进样,记录峰面积积分值,计算缓释药条中黄芩苷的平均含量为 1.681%,
RSD=1.79% (n=5)。

2.6 回收率试验

精密称取缓释药条 10mg,共 5 份 (黄芩苷含量为 1.681%),加 75%乙醇 20mL,再分别加入浓度为 114.8μg/mL 的对照品溶液 1.5mL,水浴回流 1.5h,放冷,静置,滤过,滤液置蒸发皿中,用少量 75%乙醇多次洗涤容器和残渣,合并滤液置蒸发皿中,70℃水浴蒸干,干膏用甲醇溶解并定容置 10mL量瓶中,摇匀,离心,取上清液进样。

表 1 回收率测得结果

Tab 1 The results of recovery test

序号	药条量 (mg)	药条中 黄芩苷 量 (μg)	加入量 (μg)	检出量 (μg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	10.13	170.29	172.2	344.24	101.02		
2	9.87	165.92	172.2	336.78	99.22		
3	10.67	179.36	172.2	349.6	98.86	99.62	0.84
4	10.56	177.51	172.2	349.23	99.72		
5	9.89	166.25	172.2	337.34	99.35		

2.7 样品的测定

取不同批号的缓释药条 20mg,精密称定,称取 5 份,每份重复二次,分别加入 75%乙醇 20mL,加热回流 1.5h,放冷,静置,滤过,滤液置蒸发皿中,用少量 75%乙醇多次洗涤

容器和残渣,合并滤液置蒸发皿中,70℃水浴蒸干,干膏用甲醇溶解并定容置 10mL量瓶中,摇匀,离心,取上清液进样。记录峰面积积分值,计算缓释药条中黄芩苷的平均含量为 16.28mg/g。

2.8 空白试验

按处方比例制成缺黄芩药材的缓释药条,然后按样品含量测定项下操作,制备供试液,进行上样分析,结果在黄芩苷出峰位置无吸收峰,表明缓释药条中其它成分对黄芩苷的测定无干扰。

3 讨论

流动相根据参考文献^[1,2]考察比较了甲醇-水-磷酸 (不同比例);0.05mol/L磷酸二氢钠 (pH=3)-乙腈 (不同比例);乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH=5.2)-甲醇 (不同比例);乙腈-0.05M磷酸二氢钾 (pH=3.5) (不同比例),最后选择了乙腈-0.05M磷酸二氢钾 (pH=3.5) (28:82)为流动相,且分离效果较为理想。

参考文献

[1] 宋红英,刘放.反相高效液相色谱法测定黄芩及其制剂中黄芩苷含量[J].药学实践杂志,2002,20(5):286.
[2] 袁秀芝,许明旺,陈斌,彭松.高效液相法测定银杏口服液中含黄芩苷的含量[J].中国现代应用药学,2003,20(1):51.

收稿日期:2003-11-21