

高效液相色谱法测定生血合剂中黄芩苷的含量

宋振民,侯晓青,王连香 (山东省聊城市人民医院,山东 聊城 252000)

摘要:目的 建立测定生血合剂中黄芩苷的 HPLC测定方法。方法 黄芩苷测定以 kromasil ODS C₁₈ (4.6mm × 200mm, 5μm) 为固定相,甲醇-水-磷酸 (53:47:0.2, V/V/V) 为流动相,UV检测波长为 280nm。结果 黄芩苷在 0.20~1.80μg 范围内与峰面积呈直线关系。回归方程为: $Y = 251481.75X - 6859.95$, $r = 0.9999$, 平均回收率为 99.66%, RSD = 1.14%。结论 本法测定生血合剂中黄芩苷的含量简便、准确、快捷,可用于生血合剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 黄芩苷; 生血合剂

中图分类号: R917.792.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)03-0236-02

Determination of baicalin in Shengxue Heji by HPLC

SONG Zhen-min, HOU Xiao-qing, WANG Lian-xiang (*People's Hospital of Liaocheng, Shandong, Liaocheng 252000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC method for determination of baicalin in Shengxue Heji. **METHODS** Baicalin was separated on kromasil ODS C₁₈ (4.6mm × 200mm, 5μm) column and detected at 280nm, with methanol-water-phosphoric acid (53:47:0.2, V/V/V) as mobile phase. **RESULTS** There was good linearity from 0.20 to 1.80μg ($Y = 251481.75X - 6859.95$, $r = 0.9999$) in separation of baicalin. The average recovery was 99.66% with RSD of 1.14%. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, and accurate. This study provides the reference to establish quality standard for Shengxue Heji.

KEY WORD: HPLC; baicalin; Shengxue Heji

生血合剂系由黄芩、当归、地黄、党参、茯苓等 10 味中药经提取精致而成的复方中药制剂,可以补肾阳、补脾虚,对于

气血两虚及再生障碍性贫血有较好的疗效,我院已生产和应用多年。为提高产品质量,我们采用高效液相色谱法

(HPLC)^[1]测定生血合剂中黄芩苷的含量,报道如下。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 BECKMAN紫外光谱分析仪(贝克曼仪器香港有限公司),HPLC色谱仪(美国 TSP公司),色谱柱:kromasil ODS C₁₈固定相,4.6mm×200mm,5μm(美国 TSP公司)。

1.2 试剂与药品 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110715-200212),甲醇、磷酸(色谱纯),其他试剂均为分析纯,生血合剂(山东省聊城市人民医院),所有中药材均由山东省聊城市人民医院药检室鉴定。

2 方法和结果

2.1 色谱条件及系统适应性

Kromasil ODS C₁₈反相柱(20cm×4.6mm ID),粒径 5μm,流动相为甲醇-水-磷酸(53:47:0.2),流速为 1.0mL/min,检测波长为 280nm,灵敏度 0.1 AUFS,柱温 25℃,柱压 6864.9 kPa,理论塔板数以黄芩苷峰计应不低于 2500。

对照溶液的制备:精密称取 60℃真空干燥至恒重的黄芩苷对照品 25mg,置 50mL量瓶中,加 50%甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密吸取储备液 5mL,至 50mL量瓶中,用 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 0.05mg/mL黄芩苷对照品溶液。

供试品溶液的制备:精密量取生血合剂 1.0mL置 10mL量瓶中,加甲醇并稀释至刻度,超声处理 20min,静置 30min,离心(10000r/min,5min)。精密量取上清液 1.0mL,置 10mL量瓶中,加 50%甲醇至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

阴性供试液的制备:按本品制剂工艺制备不含黄芩的制剂,同供试品溶液制备方法制备,作为阴性供试液备用。

在前述色谱条件下,分别取供试品溶液、对照品溶液及阴性供试液 20μL进样,对照品峰与阴性供试液峰没有重叠。

2.2 线性关系的考察

分别精密量取上述对照品溶液 1.0,3.0,5.0,7.0,9.0 mL,置 50mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别进样 20μL,记录峰面积。以峰面积值(Y)对对照品溶液浓度(X)作回归计算,求得直线回归方程 $Y=251481.75X-6859.95$, $r=0.9999$,线性范围 0.20~1.80μg。

2.3 精密度试验

取同一浓度的对照品溶液重复进样 5次,测定黄芩苷峰面积并计算其相对标准偏差,测定结果 $RSD=1.37\%(n=5)$ 。

2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液,在 0,3,6,和 12h,分别进样 20μL测定峰面积。 $RSD=0.56\%$ 。

2.5 重复性试验

对同一批样品重复取样 6次,经处理后按前色谱条件测定黄芩苷的含量,结果 $RSD=1.87\%$ 。

2.6 加样回收率试验

精密称取对照品适量,加入到已知含量的样品,以下按供试品溶液项下操作,即得加样溶液,吸取 20μL,按色谱条件进样测定,峰面积,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 Experiment for the rate of sample recovery					
已知量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
6.896	4.608	11.401	97.76		
8.556	4.608	13.201	100.80		
7.993	4.608	12.594	99.85	99.66	1.14(n=5)
8.312	4.608	12.921	100.02		
7.898	4.608	12.500	99.87		

2.7 样品含量测定

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20μL,分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积计算即得。每批样品各测定 3次,结果见表 2。

3 讨论

黄芩是一味配伍率很高的中药,黄芩苷系黄芩的有效成分。测定制剂中的黄芩苷最常用的方法是高效液相色谱法。本法测定生血合剂中黄芩苷含量的方法简便、准确、快速,可用于该品的质量控制。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Determination for samples of different batch					
批号	含量 (mg/mL)		平均含量 (mg/mL)		RSD (%)
030521	8.774	8.690	8.723	8.729	0.48
030529	8.688	8.704	8.730	8.707	0.24
030614	8.605	8.710	8.621	8.645	0.65

黄芩苷的最大吸收波长为 280nm,且在此波长下制剂中其他成分对黄芩苷的出峰基本无干扰,因此可以选择 280nm 为黄芩苷的检测波长。

流动相是在参考有关文献^[2]及实验研究的基础上拟定的,当增大甲醇比例时,可缩短出峰时间,但黄芩苷与其他杂质不能达到基线分离;而当再减小甲醇比例时,黄芩苷可与其他杂质分离得更好,但会使出峰时间延长,导致峰形扩散并出现脱尾现象。

参考文献

[1] 中国药典 2000年版二部[S]. 2000:附录 VID.
[2] 张洪,徐德芳,雷嘉川,等. HPLC法测定鼻渊灵冲剂中黄芩苷含量[J]. 中国现代应用药学杂志,1999, 16(1):58.
收稿日期:2004-03-23