

比较 HPLC 法和紫外分光光度法测定清开灵注射液中黄芩苷的含量

李 慧¹, 姚惠芬²

(1.广州市药品检验所六分所, 广东广州 510800; 2.广州市花都区人民医院, 广东广州 510800)

[摘要] 目的: 比较 HPLC 法和紫外分光光度法测定清开灵注射液中黄芩苷的含量。方法: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 色谱柱 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以甲醇-水-磷酸 (47: 53: 0.2) 为流动相, 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 276 nm。结果: 清开灵注射液中黄芩苷在 10~70 μg/ml 浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.1%, RSD=0.75% (n=6)。结论: HPLC 法较紫外分光光度法简便、快速、准确、可靠, 可以作为清开灵注射液含量控制的有效方法。

[关键词] HPLC 法; 紫外分光光度法; 清开灵注射液; 黄芩苷

[中图分类号] R917

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-7210(2007)12(c)-162-02

清开灵注射液是一种中药复方制剂, 由板蓝根、金银花、栀子、黄芩苷、胆酸等 8 种中药组成^[1], 具有清热解毒、化痰通络、醒神开窍的作用。按现行标准《中国药典》2005 版一部^[2] 规定, 其主要成分黄芩苷的含量测定为高效液相色谱法, 原标准《卫生部药品标准中药成方制剂(第一分册)》^[3] 是采用紫外分光光度法测定, 本文对两种方法进行了比较, 结果有较明显的差异。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外可见检测器 (日本岛津公司); N2000 色谱工作站 (浙江大学智达信息工程有限公司); UV-2401PC 紫外分光光度计 (日本岛津公司); AE240 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多)。

1.2 试剂

黄芩对照品 (中国药品生物制品检定所生产, 批号 1538-200106); 清开灵注射液 (广东永康药业有限公司生产, 10 ml/支, 5 支/盒, 批号分别为 030612、030805、030813、031027、031105); 盐酸、乙醇、甲醇均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 紫外分光光度法

精密量取清开灵注射液 1.5 ml 置离心管中, 滴加 6 mol/L 盐酸溶液 2 滴, 搅拌均匀, 即析出沉淀, 离心, 弃去上清液, 沉淀用 0.2 mol/L 盐酸溶液 5 滴洗涤 1 次, 加 70% 乙醇约 5 ml, 微热使溶解, 定量转入 50 ml 量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 ml, 置 25 ml 量瓶中, 加 0.2 mol/L 盐酸溶液至刻度, 摇匀。照紫外分光光度法, 在 276 nm 波长处测定吸光度, 按黄芩苷 (C₂₁H₁₈O₁₁) 吸收系数 (E_{1%_{1cm}) 为 631 计算, 即得。结果见表 1。}

表 1 含量测定结果的比较

批号	紫外分光光度法		HPLC 法	
	含量 (mg/ml)	RSD (%)	含量 (mg/ml)	RSD (%)
030612	5.12	0.75	4.98	0.81
030805	4.99	0.60	4.89	0.76
030813	5.15	0.54	5.08	0.64
031027	4.90	0.89	4.82	0.98
031105	5.07	0.66	4.94	0.63

2.2 高效液相色谱法

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 色谱柱 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 以甲醇-水-磷酸 (47: 53: 0.2) 为流动相; 流速为 1.0 ml/min; 检测波长为 276 nm; 柱温为室温; 进样量为 20 μl。理论塔板数按黄芩苷峰计算不低于 3 000, 以外标法计算含量。

2.2.2 线性关系 精密称取干燥至恒重的黄芩苷对照品适量, 置 100 ml 量瓶中, 加 70% 乙醇适量使溶解, 加流动相 1 ml, 再加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液 (每 1 ml 中含黄芩苷 503 μg)。精密量取对照品贮备液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml 分别置 10 ml 量瓶中, 用 70% 乙醇稀释至刻度, 按上述色谱条件分别进样, 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 对照液浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=3\ 675X-91.42$, $r=0.999\ 8$ ($n=7$)。结果表明黄芩苷在 10~70 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.2.3 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μl (批号为 030805), 在 8 h 内每小时测定 1 次, 结果平均含量为 4.83 mg/ml, RSD=0.79% ($n=8$), 表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.2.4 精密度试验 取浓度为 50 μg/ml 的黄芩苷对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 20 μl, 记录峰面积, 结果 RSD=0.53% ($n=6$), 说明本法精密度良好。

2.2.5 重现性试验 取同一供试品溶液 (批号为 030813) 6 份, 按样品测定方法测定, 结果黄芩苷平均含量为 5.06 mg/ml, RSD=0.61%。

2.2.6 回收率试验 精密量取已知含量的样品 6 份, 分别加入一定量的黄芩苷对照品贮备液, 按照含量测定方法进行测定, 计算回收率, 平均回收率 99.1%, RSD=0.75%, 结果见表 2。

表 2 加样回收率试验 ($n=6$)

实验次数	样品含量 (mg)	加入对照品含量 (mg)	实测含量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.49	2.01	4.46	99.1	99.1	0.75
2	2.49	2.01	4.44	98.7		
3	2.49	2.52	4.97	99.2		
4	2.49	2.52	4.96	99.0		
5	2.49	3.02	5.45	98.9		
6	2.49	3.02	5.48	99.5		

HPLC 法测定复方黄松洗液中蛇床子素的含量

檀时新,王小兵

(1.南京市中医院,江苏南京 210001;2.江苏省人民医院,江苏南京 210029)

[摘要] 目的:建立 HPLC 法测定复方黄松洗液中蛇床子素的含量。方法:采用 SB-C₁₈ 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(65:35);检测波长:322 nm。结果:蛇床子素在 0.053~1.060 μg 范围内线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均回收率为 98.5%,RSD 为 3.6%。结论:本法操作简单、灵敏、准确,可用于复方黄松洗液的质量控制。

[关键词] 复方黄松洗液;蛇床子素;HPLC

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2007)12(c)-163-02

Content determination of osthole in Compound Huangsong Lotion by HPLC

TAN Shi-xin, WANG Xiao-bing

(1.Nanjing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001,China;2.The People's Hospital of Jiangsu Province, Nanjing 210029,China)

[Abstract] Objective: To establish the HPLC method for content determination of osthole in Compound Huangsong Lotion.

Methods: The SB-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm,5 μm) was used,the mobile phase consisted of acetonitrile-water (65:35) and the detective wavelength was at 322 nm. **Results:** The linearity range was 0.053~1.060 μg ($r=0.999\ 9$),and the average recovery was 98.5% with RSD of 3.6%. **Conclusion:** This method is simple,sensitive and accurate and available.It is can be used for the quality control of Compound Huangsong Lotion.

[Key words] Compound Huangsong Lotion; Osthole;HPLC

复方黄松洗液由地肤子、千里光、黄柏、岗松油、大叶桉油、满山香油、蛇床子等 7 味中药组成,具有清热燥湿,祛风止痒等作用,用于湿热下注所致的阴部瘙痒或灼热痛,带下量多,色黄;霉菌性、滴虫性阴道炎及外阴炎见以上证候者。蛇床子素为蛇床子有效成分,为了有效控制该洗液质量,本文采用 HPLC 法对复方黄松洗液中蛇床子素进行了含量测定,可作为该洗液的质量控制方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:waters1525 二元分析泵,waters717 自动进样器,waters2996 光电二极管阵列检测器,waters 柱温箱。

复方黄松洗液(广西源安堂药业有限公司提供);蛇床子素对照品(供鉴别用和含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供,批号:110822-200407);乙腈为色谱纯,水为双蒸

水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

ZORBAX SB-C₁₈ 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(65:35);流速 1 ml/min;检测波长 322 nm;柱温 25℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取蛇床子素对照品 5.3 mg 置 50 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配成 106 μg/ml 的母液;精密吸取 5 ml 母液于 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配成 53 μg/ml 的对照品溶液,过 0.22 μm 的微孔滤膜即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取 25 ml 复方黄松洗液,加 25 ml 蒸馏水稀释,用乙酸乙酯萃取 5 次,每次 50 ml。萃取液

2.2.2 样品测定 取清开灵注射液 1 ml,置 100 ml 量瓶中,用 70%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,作为供试品溶液;另取浓度为 50 μg/ml 的黄芩苷对照品溶液,各精密吸取 20 μl,分别注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法计算含量,结果见表 1。

3 讨论

在对不同批号的 5 批清开灵注射液中黄芩苷的含量测定过程中,我们发现紫外分光光度法测定值比 HPLC 法测定值稍高,分析原因可能是清开灵注射液处方中其他成分在 276 nm 处有吸收,在紫外分光光度法测量中亦被作为黄芩

苷的含量计算,因此测定结果与真实值有偏离。

HPLC 法测定清开灵注射液中黄芩苷的含量,测定成分为黄芩苷单一成分,专属性强,方法简单,重现性好,结果可靠,可作为清开灵注射液含量控制的有效方法。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国药典委员会.卫生部药品标准中药成方制剂(第 1 分册)[S].1996.160-162.
- [2] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005.610-613.

(收稿日期:2007-10-14)