

高效液相色谱法测定小儿肾病合剂中黄芩苷含量

刘 喆

(山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

摘要:目的 建立测定小儿肾病合剂黄芩苷含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Diamonsil C₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-磷酸(30:100:0.04), 流速 1 mL/min, 柱温 35℃, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μL。结果 黄芩苷进样量在 0.100~1.300 μg 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.999$ ($n=5$), 平均回收率为 98.90%, RSD 为 1.40% ($n=6$)。结论 HPLC 法专属性强、灵敏准确、重现性好, 可作为小儿肾病合剂的质量控制方法。

关键词: 小儿肾病合剂; 质量标准; 高效液相色谱法; 黄芩苷; 含量

中图分类号: R286.0; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2008)13-0017-01

小儿肾病合剂由黄芩、栀子、当归、生地、苍术、三七粉(冲)、甘草等制成, 具有清热解毒、燥湿之功, 用于治疗小儿肾病。方中黄芩清热燥湿、泻火解毒为君药, 故以黄芩苷为指标, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定其含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪。乙腈(色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所); 小儿肾病合剂(本院国家中医药管理局中药制剂三级实验室提供, 共 5 批); 双蒸水(自制); 其他试剂(分析纯)。

2 方法与结果^[1-2]

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸(30:100:0.04); 流速: 1 mL/min; 柱温: 35℃; 检测波长: 280 nm; 进样量: 10 μL。在此条件下, 样品中黄芩苷与其他相关峰均能达到基线分离, 黄芩苷色谱峰峰形对称, 缺黄芩的阴性对照溶液在黄芩苷峰处基本无干扰, 色谱图清晰(图 1)。

2.2 溶液制备

精密称取黄芩苷对照品 0.8 mg, 置 20 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 0.04 mg/mL 的对照品溶液。精密吸取本品 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀即得供试品溶液(本品为提取的液体制剂, 因此精密吸取一定量稀释即可)。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 分别精密吸取黄芩苷对照品溶液 2.5, 5, 10, 15, 20 μL, 注入色谱仪, 记录色谱图, 测定峰面积, 以对照品进样量(μL)为横坐标(X), 峰面积积分为纵坐标(Y), 作图得一直线。回归方程为 $Y=1.03 \times 10^{-3}X-2.88 \times 10^{-2}$, $r=0.999$ ($n=5$)。结果表明, 黄芩苷进样量在 0.100~1.300 μg 范围内与峰面积积分值有良好的线性关系。

精密度试验: 取同一份供试品(批号为 070316)溶液, 重复进样

5 次, 测定峰面积, 结果的 RSD 为 0.90% ($n=5$)。

重现性试验: 取批号为 070316 的同一批样品 5 份, 照 2.2 项下方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液及对照品溶液各 10 μL 测定。结果黄芩苷峰峰面积积分值的 $RSD=0.86\%$ ($n=5$), 表明方法重现性良好。

稳定性试验: 取黄芩苷对照品溶液及供试品溶液(批号为 070316), 在 8 h 内每间隔 2 h 进样测定 1 次, 结果峰面积积分值变化不大, 对照品溶液的 RSD 为 0.67%, 供试品溶液的 RSD 为 0.89%, 表明黄芩苷在 12 h 内基本稳定。

加样回收试验: 精密称取黄芩苷含量为 1.993 mg/mL 的同一批(批号为 070316)样品, 分别加入黄芩苷对照品适量, 取其中 1.0 mL 混合溶液转移于 100 mL 量瓶中, 加溶剂至刻度, 摇匀, 再取稀释后的溶液 1.0 mL, 转移至 50 mL 量瓶中, 加溶剂至刻度, 摇匀。照 2.2 项下供试品溶液的制备溶液并进样测定。结果见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
0.398 6	0.181 1	0.563 1	97.13		
0.398 6	0.181 1	0.572 2	100.26		
0.398 6	0.226 4	0.612 6	98.02	98.90	1.40
0.398 6	0.226 4	0.625 5	100.08		
0.398 6	0.271 7	0.656 0	97.86		
0.398 6	0.271 7	0.661 7	100.06		

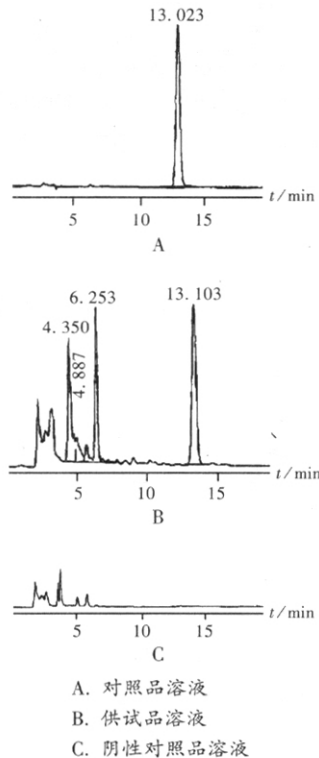


图 1 黄芩苷高效液相色谱图

2.4 样品含量测定

分别取 5 批样品内容物适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定其黄芩苷含量, 经过换算分别为 2.10, 1.98, 2.09, 2.01, 1.96 mg/mL。

3 讨论

采用 HPLC 法测定黄芩苷的含量, 具有较好的重现性。研究中发现, 用流动相乙腈-水-磷酸(30:100:0.04)为流动相, 得到的黄芩苷峰分离度好, 峰形对称。

检测了 10 批样品, 结果表明每 1 mL 小儿肾病合剂中黄芩苷含量最低的为 1.402 mg, 最高为 2.100 mg, 综合考虑各影响因素, 拟确定每 1 mL 小儿肾病合剂中黄芩苷的含量不得低于 1.300 mg。参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 211-212.
- [2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 881-882.

(收稿日期 2007-11-26, 修回日期 2008-01-02)