

高效液相色谱法测定小柴胡颗粒中黄芩苷的含量

★ 潘雪英 (浙江亚东制药有限公司 诸暨 311800)

关键词:小柴胡颗粒;高效液相色谱测定法;含量测定;黄芩苷
中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

小柴胡颗粒由柴胡、黄芩、甘草等组成,其中柴胡为君药,但由于目前无法提供柴胡对照品,故未建立其含量测定方法;而目前对黄芩中黄芩苷的含量测定方法报道较多,且方法成熟。故采用高效液相色谱法测定小柴胡颗粒中黄芩苷的含量,方法简便、快捷,结果准确,可用于小柴胡颗粒的质量控制。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪;HP1100 检验器;岛津 UV-260 紫外分光光度计。

黄芩苷对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所);小柴胡颗粒:由浙江亚东制药有限公司制备,批号为 04111201、04111301、04111401;甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱:AgilentC₁₈(150 cm×4.6 cm);流动相:0.4%磷酸溶液-甲醇(56:44);检测波长为 280 nm;柱温 25℃,流速 1 ml/min;理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 2 000。

2.2 检测波长的选择 取黄芩苷对照品溶液(32.96 μL),在 200~400 nm 范围内扫描,结果显示,黄芩苷在 280.0 nm 波长处有最大吸收,故选择 280 nm 为检测波长。

2.3 测定方法 对照品溶液的制备:精密称取黄芩苷对照品适量,加 75%乙醇制成每 1 mL 含 50 μL 的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取本品适量,研细,取粉末 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75%乙醇 50 mL,密塞,摇匀,称定重量后,超声处理 30 分钟,放冷,再称定重量,用 75%乙醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.4 阴性干扰试验 取缺黄芩的阴性样品,按供试品同法制成阴性对照溶液。在上述色谱条件下,进样 20 μL,测定。结果表明,在与黄芩苷对照品峰相应的位置上,无干扰峰出现。

2.5 线性关系考察 分别精密量取黄芩苷对照品溶液(32.96 μg/mL)1、3、5、10、12 μL 注入液相色谱仪,以黄芩苷

峰面积为纵坐标,以进样量为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为:Y=3 292.8X-0.61,r=1.000 0,黄芩苷的进样量在 0.032 96~0.395 52 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度实验 取同一供试品溶液(04111201),按上述色谱条件,重复进样 6 次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.8% (n=6)。

2.7 稳定性实验 取同一供试品溶液(04111201),按上述色谱条件,每隔一定时间测定 1 次,结果表明待测定溶液至少 26 小时内稳定,RSD 为 1.1% (n=6)。

2.8 重现性试验 取同一批号样品(04111201)6 份,分别按含量测定方法进行测定,结果黄芩苷的平均含量为 2.40 mg/g,RSD=0.4%。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(批号 04111201)6 份,精密加入黄芩苷对照品适量,按供试液配制方法配制溶液,依法测定,并计算回收率,结果平均回收率为 100.5%,RSD 为 1.4% (n=6)。试验结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

编号	样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.2136	1.3570	2.5696	99.9		
2	1.2273	1.3570	2.5864	100.2		
3	1.2057	1.3570	2.5618	99.9	100.5	1.4
4	1.3194	1.3570	2.7209	103.3		
5	1.1978	1.3570	2.5613	100.5		
6	1.2007	1.3570	2.5494	99.4		

2.10 样品含量测定 取 3 批小柴胡颗粒样品,按上述条件与方法进行测定,测定结果见表 2。

表 2 3 批小柴胡颗粒测定结果(mg·g⁻¹,规格:10 g/袋)

批号	含量		平均含量
	1	2	
04111201	2.49	2.45	2.47
04111301	2.36	2.38	2.37
04111401	2.46	2.40	2.43

3 讨论

本法简便、专属性强,能更准确、方便地对小柴胡颗粒生产过程中的质量进行控制。

(收稿日期:2005-04-22)