

HPLC 法测定四季三黄片中黄芩苷的含量

★ 许江红 张若良 (江西赣州市食品药品检验所 赣州 341000)

关键词:黄芩苷;四季三黄片;HPLC 法

中图分类号:TQ 460.7 文献标识码:B

四季三黄片由大黄、黄芩、栀子、黄柏等药组成,具有消炎退热、通便利水的功效,用于口鼻生疮、咽疼齿痛、口干舌燥、目眩头晕、大便秘结、小便赤黄。方中黄芩的有效成分为黄芩苷,本文用 HPLC 法测定药品中黄芩苷的含量,该法快捷、灵敏、准确。

1 仪器与试剂

仪器:Waters 高效液相色谱仪、2487 紫外检测器、7725i 型进样器、BP211D 型电子天平;试剂:黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所 批号:715-200111);其他试剂:甲醇为色谱纯、乙醇与磷酸均为分析纯,重蒸馏水;样品:四季三黄片。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: C_{18} (200 mm $\times$ 4.6 mm,5 μ m);流动相:甲醇-0.5%磷酸溶液(53:47);流速:1.0 mL/min;检测波长 277 nm;理论板数按黄芩苷峰计应不低于 2 000。

2.2 溶液的制备 对照品溶液的制备:精密称取黄芩苷对照品,加 70%乙醇制成每毫升含黄芩苷 20 μ g 的溶液。供试品溶液的制备:取供试品 10 片,研细,精密称取 0.2 g,加入 70%乙醇 25 mL,称定重量,超声处理 20 分钟取出,放冷,称定重量,加 70%乙醇补足减失重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 3 mL 置 50 mL 量瓶中,加 70%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 10.30 mg 置 100 mL 量瓶中,加入 70%乙醇溶解并稀释至刻度,精密量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加入 70%乙醇至刻度,摇匀,各取 10 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以黄芩苷进样量为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算出回归方程: $Y = 4\ 379\ 517.152\ 1X - 9\ 038.266\ 7(r = 1.000\ 0)$ 。表明黄芩苷在:0.051 5~0.515 μ g 范围内是有良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取“2.2”项下供试品溶液,重复进样 5 次,峰面积的 RSD 为 0.11%。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液(见“2.2”项,批号 20050720)于配制后 0、2、4、6、8 小时,分别量取 10 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积,结果峰面积的 RSD 为 0.13%,可见供试品溶液在 8 小时内稳定。

2.6 重复性试验 取供试品(批号 20050720)照“2.2”项下

共制备 5 份,分别量取 10 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积,计算含量,RSD 为 0.58%。

2.7 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的四季三黄片(批号 20050720,含量:47.57 mg/g)0.1 g 共 6 份;另精密称取黄芩苷对照品 47.50 mg 置 50 mL 量瓶中,加 70%乙醇溶解并稀释至刻度($C = 0.95$ mg/mL)。上述 6 份样品中,其中 3 份精密加入上述对照品溶液 5 mL 与 70%乙醇 20 mL,另外 3 份精密加入上述对照品液 6 mL 与 70%乙醇 19 mL,照“2.2”项下处理,各取 10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图,计算回收率,结果平均加样回收率为 99.9%, $RSD = 0.71\%$ ($n = 5$)。

2.8 阴性样品试验 按处方比例配制不含黄芩的空白样品,照“2.2”制备阴性样品溶液,按“样品测定”项下操作,结果阴性空白溶液色谱在黄芩苷出峰处无干扰峰。

2.9 样品测定 分别取 10 批供试品,照“2.2”样品溶液制备项下制备,分别取对照品溶液与样品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图,以外标法计算样品中黄芩苷的含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果($n = 3$)

批号	黄芩苷平均含量/mg $\cdot$ 片 $^{-1}$	RSD(%)
20050720	12.7	0.41
20050721	13.0	0.56
20050722	12.3	0.24
20050723	12.4	0.70
20050724	12.1	0.51
20050725	10.7	0.57
20050726	11.8	0.91
20050727	12.9	0.78
20050728	13.4	0.80
20050729	12.2	0.46

3 讨论

(1)曾试验比较用甲醇与 70%乙醇分别超声和回流提取,结果用 70%乙醇超声提取 20 分钟效果好,回收率高。

(2)曾用甲醇-水(53:47)为流动相,所得色谱图基线不平,且峰形不好,改用甲醇-0.5%磷酸溶液(53:47)后获得良好的效果。

(收稿日期:2006-07-03)