

离子对-反相高效液相色谱法测定小柴胡胶囊制剂中黄芩苷的含量

徐宏祥 方兴华 汤掌根¹ 傅应华²(嘉兴 314001 浙江嘉兴市药品检验所;¹浙江玉龙药业有限责任公司;²浙江省嘉兴卫生学校)

摘要 目的:研究了离子对-反相高效液相色谱法测定小柴胡胶囊制剂中黄芩苷的含量。方法:用50%甲醇作溶剂,超声波振荡法提取样品。色谱条件用 μ -Bondpak C₁₈作分析柱,Waters Guard-PAK C₁₈作保护柱,水相(取庚烷磺酸钠0.40g,磷酸二氢钠3.90g,冰醋酸20ml,加水溶解并稀释至1000ml)-甲醇(56:44)作流动相,流速1ml/min,UV检测波长为275nm。结果:黄芩苷与其它组份峰分离良好,柱效高,保留时间约为12min,在浓度0.03~0.20mg/ml之间与峰面积(A/10⁷)呈良好线性关系,回归方程为:A=0.008+5.608c,r=0.99996,5次的加样回收率为100.2%,RSD=0.84%,日内、日间变异(RSD)分别为0.86%和1.42%。结论:本法简便、准确,适合于制剂中黄芩苷含量的测定。

关键词 黄芩苷;小柴胡胶囊;离子对-反相高效液相色谱法;含量测定

Quantitative determination of baicalin in Xiaochaihu capsules by IP-RPHPLC

Xu Hongxiang(Xu HX), Fang Xinghua(Fang XH), Tang Zhanggen(Tang ZG), et al(Jiaxing Institute for Drug Control of Zhejiang Province, Jiaxing 314001)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To determine the content of baicalin in Xiaochaihu capsules by ion-pair reverse-phase high performance liquid chromatography. **METHOD:**The sample was extracted with 50ml of methanol-water(1:1) by ultrasonic wave vibration for 40 minutes. Baicalin was separated by μ -Bondpak C₁₈(10 μ m, 300 \times 3.9mm ID). The mobile phase was water(mix 0.40g sodium octanesulfonate, 3.90g sodium dihydrogen phosphate and 20ml glacial acetic acid, and add water to 1000ml)-methanol(56:44) with sodium octanesulfonate as counterion. The detective wavelength was 275nm and the flow

rate was 1 ml/min. **RESULTS:** There was a good linear relationship in the concentration range of 30 ~ 200 $\mu\text{g/ml}$ with $r = 0.99996$. The average recovery and the relative standard deviation was 100.2% and 0.84% ($n = 5$), respectively. The relative standard deviation of within-day and between-day were 0.86% and 1.42%. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate, and can be suitable for the determination of baicalin in the preparation

KEY WORDS baicalin, Xiochaihu capsules, ion-pair RPHPLC, assay

小柴胡胶囊是根据《卫生部药品标准》中药成方制剂第8册^[1]记载的小柴胡冲剂处方,该处方由柴胡、姜半夏、黄芩、党参、甘草、生姜及大枣等7味中药组成,采用与冲剂提取工艺相同的方法,即将姜半夏、生姜用乙醇经渗漉法提取,其余几味用水煎煮提取,并经真空干燥,得到提取液的药物干粉,在制剂过程中加少量淀粉作赋形剂,装入胶囊中即得。由于冲剂质量标准中对含量未作控制,因此,本文研究了小柴胡胶囊制剂的含量测定方法,以提高胶囊剂的质量标准。黄芩苷是黄芩的主要有效成份,其测定主要有紫外分光光度法^[2]和高效液相色谱法^[3-7]。本文首次报道采用庚烷磺酸钠作为反离子的离子对-反相高效液相色谱法测定小柴胡胶囊剂中黄芩苷的含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),510 型输液泵;484 型可变波长紫外检测器;745B 型色谱数据处理机;U₆K 手动进样器;上海 CQ-250 型超声波清洗器;黄芩苷对照品(批号:0715-9708,中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯,庚烷磺酸钠,磷酸二氢钠及冰醋酸均为分析纯,水为蒸馏水。小柴胡胶囊样品由厂家提供 3 个不同批号的干浸膏粉:961223,961226 和 961228。

2 实验条件

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: μr Bondpak C₁₈ 柱(10 μm , 300 \times 3.9 mm id), 保护柱: Waters Guard-PAK C₁₈, 流动相: 水相(取庚烷磺酸钠 0.40g, 磷酸二氢钠 3.90g, 冰醋酸 20ml, 加水溶解并稀释至 1000ml)-甲醇(56:44), 流速 1 ml/min, 检测波长 275nm, 纸速 0.25cm/min, 进样量 10 μl , 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

按上述色谱条件注入小柴胡胶囊样品溶液及空白样品溶液(按小柴胡胶囊的处方及生产工艺,去除黄芩制得的样品),记录色谱图。结果表明小柴胡胶囊样品中黄芩苷与其他各成份峰之间分离良好,保留时间约为 12min,空白样品各组分吸收峰对黄芩苷的测定无干扰影响。按黄芩苷峰计算色谱柱的理论板数应大于 2500(见图 1)。

2.2 线性范围

精密称取经 60 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥至恒重的黄芩苷对照

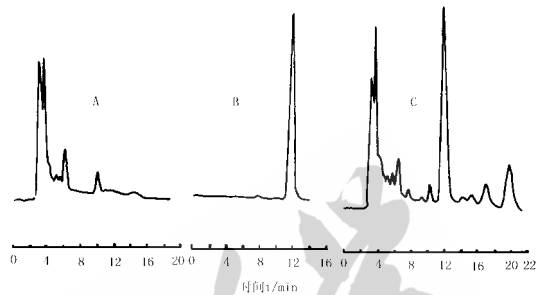


图 1 HPLC 图

A - 空白样品; B - 黄芩苷对照品; C - 小柴胡胶囊制剂品,用 50% 甲醇制成 1.0 mg/ml 的贮备液,再精密吸取 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5 和 2.0 ml 分置于 6 只 10 ml 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,再各精密量取 10 μl 注入液相色谱仪,测定峰面积。以浓度(c)为横坐标,峰面积($A/10^7$)为纵坐标,作图得标准曲线,回归方程为: $A = 0.008 + 5.608c$, $r = 0.99996$, 线性范围: 0.03 ~ 0.20 mg/ml。

2.3 含量测定

精密称取样品 0.2g,置 50ml 量瓶中,加 50% 甲醇约 40ml,超声波处理 40min,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,溶液经用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,弃初滤液,精密量取续滤液 10 μl ,注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法以峰面积计算,即得。

2.4 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的同一批号样品 5 份,每份 0.1g,各精密加入黄芩苷对照品液(37.50 mg ~ 25.0ml) 2ml,分别加 50% 甲醇约 40ml,依法处理,HPLC 分析,得平均加样回收率为 100.2%, $RSD = 0.84\%$ ($n = 5$)。

2.5 精密度与重现性试验

取同一份供试品溶液,精密吸取 10 μl ,重复进样 5 次,计算精密度,结果黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.59%;另分别称取同一批样品 5 份,每份约 0.2g,依法测定含量,结果平均含量为 3.14%, $RSD = 1.24\%$ ($n = 5$)。

2.6 日内及日间误差

取同一批样品溶液,在同一天内,每隔 2h 测定 1 次,连续 5 次,计算日内误差,结果 $RSD = 0.86\%$;再用同一批样品,在 4d 内,每天称量,制样,每个样品进样 3

次,计算日间误差,结果 $RSD=1.42\%$ 。

2.7 样品测定结果

按本文含量测定方法测定 3 批样品,其结果分别为 4.18% 、 3.06% 和 2.96% ($n=2$)。

根据样品测定结果,最低含量为 2.96% ,所以将本品按黄芩苷($C_{21}H_{18}O_{11}$)计算,控制在不少于 2.5% 为宜。

3 讨论

3.1 超声处理时间选择

取同一批样品 5 份,分别超声处理 20、30、40、50 和 60 min,依法测定。结果表明,以 50% 甲醇为提取液,超声波处理 40 min 即可提取完全。

3.2 流动相条件

经试验,当庚烷磺酸钠浓度增至 0.002 mol/L 时,黄芩苷的容量因子 k' 显著增加,与其他组分有较好分离。磷酸二氢钠浓度增至 0.02 mol/L ,黄芩苷峰形明显变窄,柱效增加。同时,提高酸度,柱效可进一步提高,为保护柱子,以控制 2% 为宜。从图 1 可知,采用水相(取庚烷磺酸钠 0.40g ,磷酸二氢钠 3.90g ,冰醋酸 20ml ,加

水稀至 1000ml)-甲醇($56:44$)为流动相,使小柴胡胶囊剂中黄芩苷与其他成份峰得到良好的分离,黄芩苷峰的保留时间约为 12min 。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 卫生部药品标准(中成药方制剂第 8 册). 1993: 28.
- 2 四川省卫生厅. 四川省药品标准. 成都: 四川科学技术出版社, 1993: 257.
- 3 李光慧, 李虹, 侯晓明, 等. HPLC 测定御感袋泡茶中葛根素和黄芩苷的含量. 中国药学杂志, 1996, 31(11): 680.
- 4 郭平, 李章万, 蒋学华, 等. HPLC 测定 12 种中药制剂中黄芩苷含量. 药物分析杂志, 1995, 15(5): 13.
- 5 袁俊贤, 邵依因, 仵培竖, 等. 黄芩中黄芩苷与黄芩苷元的 HPLC 测定法. 中成药, 1993, 15(1): 21.
- 6 王强, 张晓平. 中药复方感冒安中黄芩苷、绿原酸的高效液相色谱法测定. 中草药, 1989, 20(8): 15.
- 7 陈定一, 周原, 谢文. 高效液相色谱法测定清开灵注射液中绿原酸和黄芩苷的含量. 中成药, 1992, 14(6): 11.