

HPLC法测定复方鱼腥草合剂中黄芩苷的含量

赵 萍*

(浙江尖峰药业有限公司,浙江 金华 321000)

复方鱼腥草合剂由鱼腥草、黄芩、板蓝根、连翘、金银花 5味中药制成,具有清热解毒之功能,临床上主要用于外感风热引起的咽喉疼痛、急性咽炎、扁桃腺炎等。该药系根据复方鱼腥草片剂改而成(已收入《中华人民共和国药典》2000年版一部),而复方鱼腥草片的质量标准中仅有定性鉴别方法。为了控制产品质量,保证药物疗效,本研究采取了 HPLC法对复方鱼腥草合剂进行含量检测。

1 仪器与试药

岛津 LC-10 AD液相色谱仪, C-R7A 色谱数据处理机;黄芩苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号: 0715-9808,供含量测定用),复方鱼腥草合剂(自制,批号: 981112)

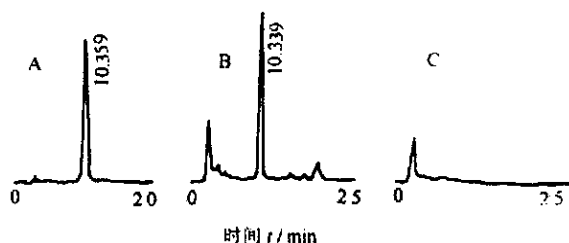
2 实验方法

2.1 流动相的选择: 黄芩苷含量测定所用流动相文献报道主要有甲醇-水、磷酸系统及甲醇-水-冰醋酸系统,经比较以甲醇-水-磷酸系统为佳。流动相中磷酸比例药典采用甲醇-水-磷酸(47: 53: 0.2),其水相磷酸浓度约为 0.4%,但 0.4%磷酸水溶液 pH值约为 1.8左右,低于 ODS柱使用范围(pH 2~8),与甲醇混合后 pH值有所上升,仍不利于色谱柱保护,故将磷酸浓度调整为 0.2%,其 pH值约为 2.0,与甲醇混合后 pH为 2.5左右。经试验以黄芩苷峰计算浓度改变后其理论塔板数未发生明显变化,实验所得理论塔板数为 4 046,系统适应性要求仍参照药典规定理论板数不得低于 2 500

2.2 检测波长的选择: 取黄芩苷对照品适量,用流动相溶解后作紫外扫描,测得最大吸收波长为 277.4 nm,所以检测波长定为 277 nm

2.3 色谱条件: 色谱柱: Novapak-C₁₈柱,流动相: 甲醇-0.2%磷酸水溶液(52: 48),流速: 1.0 mL/min,检测波长: 277 nm,柱温: 25℃。理论塔板数按黄芩苷峰计算应不低于 2 500 色谱图见图 1

2.4 供试品溶液的制备: 精密量取本品 1 mL,置 50 mL量瓶中,加 60%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得



A-黄芩苷对照品 B-复方鱼腥草合剂 C-缺黄芩空白

图 1 HPLC图

2.5 对照品溶液的制备: 精密称取在 60℃真空干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,加甲醇制成 50 μg/g 的溶液,摇匀,即得

2.6 线性关系考察: 取黄芩苷对照品适量,分别制得浓度为 16.24, 24.36, 48.72, 81.20, 162.40 μg/mL 的对照品溶液,各取 10 μL 进样,测定峰面积,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $A = 43.893C - 45.617$, $r = 0.9998$ 结果表明,在 16.24~162.40 μg/mL 范围内峰面积值与黄芩苷的进样量有良好的线性关系。

2.7 精密性考察: 取浓度为 48.72 μg/mL 的对照品溶液重复进样 6 次,测得峰面积值的 RSD 为 0.48%。

2.8 重现性考察: 按含量测定方法,对批号 981112 的样品进行 6 次测定,测得含量的 RSD 为 0.96%。

2.9 稳定性试验: 取批号 981112 样品,按含量测定项下方法制成供试品溶液,在 0, 1, 2, 3, 5, 8, 12 h 分别进样测定,测得峰面积的 RSD 为 1.09%。结果表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定,不影响含量测定。

2.10 回收率试验: 采用加样回收法,精密吸取已知含量的复方鱼腥草合剂(批号 981112) 0.5 mL,再精密加入黄芩苷对照品溶液(0.28 mg/mL) 5.0 mL,定容至 50 mL,依法测定得平均回收率为 101.6%, RSD 为 1.2% ($n = 5$)。

2.11 空白试验: 精密量取不含黄芩的空白样品,按“供试品溶液的制备”项下操作,精密吸取 10 μL 进

样测定。结果表明,空白样品在黄芩苷出峰处无干扰峰,流动相也无干扰

2.12 样品测定:精密吸取 5 个批号的复方鱼腥草合剂各 1 mL,按供试品溶液制备法制备,精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算含量,结果见表 1

表 1 复方鱼腥草合剂中黄芩苷含量的测定

批 号	981228	981129	990419	990421	990423
含量 (mg/mL)	2.2	2.2	2.5	2.4	2.3

据以上检验结果,将含量标准限度定为每毫升不得少于 1.8 mg,5 批样品均符合规定。

3 讨论

本品中鱼腥草虽为君药,但其抗菌活性成分癸酰乙醛作含量测定未见文献报道,而黄芩中有效成

分黄芩苷具有良好的抗炎、抗菌、抗变态反应等作用,故本品含量测定采用 HPLC 法测定黄芩苷的含量。

在本文所介绍的溶液的制备方法和色谱条件下,复方鱼腥草合剂中的黄芩苷峰分离良好,辅料对主峰测定不干扰,该方法具有样品前处理简单,灵敏度高,结果准确可靠的优点,可作为复方鱼腥草合剂的质量控制指标,用于建立该制剂的成品质量标准。

参考文献:

- [1] 中国药典 [S]. 2000 年版. 一部.
- [2] 黄泰康. 常用中药成份与药理手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994.
- [3] 马丽, 冷爱晶. 黄芩在中成药制剂中含量测定研究进展 [J]. 时珍国药研究, 1998, 9(2): 182.

离子对 RP-HPLC 法测定不同产地莲子心中甲基莲心碱的含量

寿国香¹, 刘冰¹, 郝连淑^{2*}

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津医科大学, 天津 300203)

莲子心为睡莲科植物睡莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根, 具有清心安神、交通心肾、涩精止血之功效^[1]。《中华人民共和国药典》2000 年版, 莲子心项下只有显微鉴别和一个生物碱的显色反应。莲子心中主要成分为莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱。关于莲子心中甲基莲心碱的含量测定, 已有正相高效液相色谱法^[2]报道, 本实验采用 ODS 柱, 对 10 余个不同产地的莲子心中甲基莲心碱的含量进行了测定。

1 仪器、药材与试剂

Waters 高效液相色谱仪, Waters 515 泵, 2487 紫外检测器, 岛津 C-R6A 色谱数据处理机; 莲子心药材采自全国各地; 甲基莲心碱对照品 (自制), UV, IR 数据与文献报道一致^[3], 纯度经归一化法测定为 99%。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其它试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 十八烷基键合硅胶为填充剂 (10 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相: 乙腈-水-十二烷基磺酸钠-冰醋酸 (55: 45: 15 mmol/L: 1); 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 282 nm; 记

录纸速: 1 mm/min; 灵敏度: 0.1 AUFS; 进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备: 取甲基莲心碱对照品适量, 精密称定, 加流动相制成每 1 mL 含 0.035 mg 的溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取莲子心细粉 (过四号筛) 约 0.3 g, 精密称定, 精密加入 2% 盐酸-甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 水浴回流 1 h, 冷却, 用 2% 盐酸-甲醇溶液补足质量, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察: 精密称取甲基莲心碱对照品 12.9 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。分别精密吸取储备液 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 进样测定, 以浓度 (mg/mL) 为横坐标 X , 峰面积为纵坐标 Y , 作标准曲线, 得回归方程: $Y = 916.44 - 957.974.58X$, $r = 0.9999$ 。结果表明甲基莲心碱在 0.005 16~0.098 04 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验: 取同一份供试品溶液, 按上述色