

HPLC 法测定小儿咳喘颗粒中黄芩苷

潘桂玲

徐州医学院附属医院, 江苏 徐州 221002

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定小儿咳喘颗粒中黄芩苷的方法, 控制产品的质量。方法 采用高效液相色谱法对小儿咳喘颗粒中的黄芩苷进行测定。色谱柱: Hypersil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 280 nm; 柱温室温。结果 黄芩苷的线性范围分别为 0.049 5~1.485 0 μg, 平均回收率为 99.99%, RSD 为 0.52%。结论 方法可行、重现性好, 能有效地控制小儿咳喘颗粒的质量。

关键词: 小儿咳喘颗粒; 黄芩苷; 外标法; 质量控制; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)02-0291-02

Determination of baicaline in Children's Kechuan Granula by HPLC

PAN Gui-ling

Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China

Key words: Children's Kechuan Granula; baicaline; external standard method; quality control; HPLC

小儿咳喘颗粒为《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第十册收载品种, 由麻黄、川贝母、苦杏仁 (炒)、黄芩、天竺黄等 15 味中药组成, 清热宣肺, 化痰止咳, 降逆平喘, 用于小儿发热, 咳嗽, 气喘。原标准中只有 4 味药材的定性鉴别, 且均为理化鉴别。为了有效控制其质量, 本实验采用高效液相色谱法对其所含黄芩苷进行了测定。结果表明, 方法简便可行, 重现性好, 能有效地控制小儿咳喘颗粒的质量并确保产品临床用药的安全有效。

1 仪器与材料

LC-2010A 系列全自动高效液相色谱仪, 色谱柱 (大连依力特有限公司提供); PC-2501 UV 紫外分析仪; BP211D 分析天平。

黄芩苷对照品 (批号 110715-200212) 由中国

药品生物制品检定所提供。小儿咳喘颗粒由西安碑林药业股份有限公司提供, 每袋装 6 g (相当于原生药 12.63 g)。

甲醇为色谱纯 (天津市科密欧化学试剂开发中心); 其余试剂为分析纯; 水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1]

色谱柱为 Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 280 nm; 柱温室温。在此色谱条件下, 小儿咳喘颗粒中黄芩苷分离良好, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品 9.9 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为对

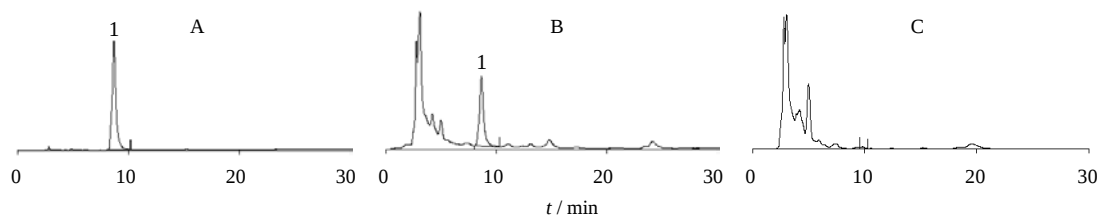


图 1 黄芩对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of baicaline reference substance (A), Children's Kechuan Granula (B), and negative sample (C)

照品储备液。精密量取该溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取装量差异下的本品, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%乙醇 100 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 3 h, 放冷, 再称定质量, 用 70%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方比例准确称取处方中除黄芩以外的其他各味药材, 模拟本品的制备工艺和供试品溶液的制备方法, 制成缺黄芩的空白溶液。

2.5 线性关系考察

称取黄芩苷对照品 9.9 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 0.5、1、5、10、15 μ L, 分别注入液相色谱仪, 测定峰面积。以峰面积对进样质量进行线性回归, 得回归方程 $Y=3 \times 10^6 X+28\ 850$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明, 在此色谱条件下, 黄芩苷在进样量为 0.049 5~1.485 0 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验

精密吸取 9.9 μ g/mL 黄芩苷对照品溶液 10 μ L, 分别进样 5 次, 记录黄芩苷峰面积, 结果 RSD 为 0.65%。

2.7 重现性试验

取批号 080901 的样品, 分别称取 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得黄芩苷平均质量分数为 3.46 mg/g, RSD 为 0.34%。

2.8 稳定性试验

取批号 080901 的样品, 制备供试品溶液, 分别放置 0、1、2、4、6、8 h 后进样测定, 记录色谱图, 结果黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.27%。

2.9 加样回收率试验

取批号 080901 的样品 (含黄芩苷 3.68 mg/g) 6 份, 每份约 3.00 g, 精密称定, 分别准确加入 0.550 8 mg/mL 黄芩苷对照品溶液 20.0 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果平均加样回收率为 99.99%, RSD 为 0.52%。

2.10 样品测定

取小儿咳喘颗粒 10 批, 分别制备供试品溶液, 依法操作, 每批平行测定两份, 结果见表 1。可见

黄芩苷的质量分数为 3.30~3.70 mg/g, 考虑到黄芩药材的质量差异, 故规定黄芩苷不得少于 3.30 mg/g。

表 1 小儿咳喘颗粒中黄芩苷的测定结果

Table 1 Determination of baicaline in Children's Kechuan Granula

批号	黄芩苷/(mg·g ⁻¹)	批号	黄芩苷/(mg·g ⁻¹)
080615	3.59	080807	3.44
080621	3.55	080813	3.42
080627	3.60	080826	3.65
080705	3.52	080901	3.68
080801	3.71	080915	3.62

3 讨论

本实验对黄芩苷的甲醇溶液进行紫外区扫描, 结果黄芩苷在 (278±2) nm 有最大吸收峰。参考《中国药典》2010 年版一部黄芩药材项下黄芩苷测定检测波长, 并经实验比较, 在 280 nm 处测定基线波动小, 峰形理想, 样品中其他组分干扰小, 故检测波长选用 280 nm。

参考《中国药典》2010 年版一部黄芩药材项下黄芩苷测定方法, 以甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2) 为流动相, 检测波长为 280 nm。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 2 500。在上述色谱条件下, 吸取供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 结果表明, 用此流动相测得的色谱图中主峰的分离度、保留时间均合适, 故选择甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2) 为本品中黄芩苷测定的流动相。

有报道采用 HPLC 法测定小儿咳喘颗粒中麻黄碱^[2], 笔者在研究时发现其在 210 nm 处有最大吸收, 但此波长处接近末端吸收, 干扰较大。本实验定量黄芩苷的依据是通过方法学的系统考察, 黄芩苷的检测波长为 280 nm, 用上述方法测得的色谱图中主峰的分离度、保留时间均合适, 该方法的重现性、稳定性、精密度、回收率试验均符合有关规定, 且专属性好、简便可行, 能有效地控制小儿咳喘颗粒的质量, 故选择黄芩苷作为含量测定的指标。

参考文献

- [1] 冯 波, 施春玲, 郝乘仪, 等. RP-HPLC 法测定芎菊上清丸中黄芩苷 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 743-745.
- [2] 张俊宏, 雒西萍, 付 彬. 小儿咳喘颗粒质量标准研究 [J]. 西北药学杂志, 2010(5): 355-356.