

反相高效液相色谱法 测定耳聋胶囊和其丸剂中黄芩甙的含量

郭绪林¹, 王铁军¹, 刘燕萍¹, 郭敏杰¹, 刘 哲²

(1. 北京医科大学药学院应用药物研究所, 北京 100083; 2. 河北安国制药厂, 河北安国 071200)

[摘要] 目的:控制耳聋胶囊和其丸剂的质量。方法:高效液相色谱法。结果:黄芩甙在 0.02248 ~ 0.8992 μg 线性关系良好, $r=0.9996$; 平均回收率为 99.27%。结论:该方法简单, 结果准确, 可用于生产控制产品质量。

[关键词] 耳聋胶囊; 耳聋丸; 黄芩甙; 高效液相色谱法

[收稿日期] 1999-02-10

耳聋丸为中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十三册收载品种^[1],由龙胆、黄芩、地黄、泽泻等制成的蜜丸;耳聋胶囊由蜜丸改剂型而得。对上焦湿热,头晕头痛,耳聋耳鸣,耳内流脓有良好的治疗效果。经药效学研究表明具有明显的镇痛、抗炎、抑菌作用。方中黄芩苦寒泻火,清上焦湿热,为方中臣药,所含黄芩甙有抗炎、抗菌、解热等作用,对本方的临床疗效有重要作用^[2]。以黄芩甙为定量监控指标可有效地控制产品质量。本文采用 HPLC 法测定了耳聋胶囊中黄芩甙的含量,并同法测定了耳聋丸中黄芩甙的含量。

1 材料与仪器

耳聋胶囊由北京医科大学药学院应用药物研究所生产,批号 980701,980702,980703。耳聋丸由唐山第三制药厂生产,批号 981001,981002,981003。

黄芩甙对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0715-9708)。

甲醇、乙醇、磷酸均为分析纯,水为重蒸馏水。

SP-8810 液相色谱仪,SP-100 紫外-可见光检测仪(美国光谱物理公司)。汉化色谱工作站(JS-3030)采集处理数据。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件

phenomenex-luna C₁₈(2),5 μm,4.60 mm × 250 mm;流动相甲醇-0.2%磷酸水溶液(47:53),流速 1 ml·min⁻¹,检测波长 280 nm,柱温 35 °C。理论板数按黄芩甙峰计算,不应低于 8500。

2.2 对照品纯度检查

取黄芩对照品加甲醇配制成 0.622 mg·ml⁻¹ 的溶液,精密量取该溶液 25 μl 注入高效液相色谱仪,重复进样 3 次,测定其峰面积。除去溶剂峰后,用归一化法计算,得黄芩甙的平均含量为 98.13%(n=3),符合含量测定对对照品的要求。

2.3 标准曲线测定

取黄芩甙对照品 11.24 mg,精密称定,置 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取此溶液用甲醇稀释并配制成每 1 ml 含黄芩甙 0.002248,0.01124,0.03372,0.0562,0.08992 mg 的对照品溶液。分别精密吸取上述 5 种不同浓度的对照品溶液各 10 μl,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,黄芩甙量为横坐标,数据

由计算机处理并绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 21162.52 + 4336652.4 X$, $r = 0.9996$,线性范围 0.02248 ~ 0.8992 μg。

2.4 精密度测定

精密吸取对照品溶液(0.0562 mg·ml⁻¹)5 μl,重复进样 5 次,结果黄芩甙峰面积积分值 RSD 1.28%。见图 1。

2.5 供试品溶液的制备与测定

2.5.1 胶囊 取耳聋胶囊 10 粒,倾出内容物,研细,混匀,精密称取约 0.2 g,置 100 ml 锥形瓶中,准确加入 70%乙醇 50 ml,称定重量,回流 20 min,冷却至室温,再称重,补足乙醇减失的重量,充分振摇,滤过。精密吸取续滤液 5 ml,水浴蒸去乙醇,残渣用流动相溶解并转移至 25 ml 量瓶中,调整体积至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,滤液作为供试品溶液。吸取 10 μl,注入高效液相色谱仪,结果见图 2。

2.5.2 取耳聋丸,剪碎,精密称取约 1 g,置 100 ml 锥形瓶中,准确加入 70%乙醇 50 ml,称定重量,回流 80 min,照上述胶囊供试品溶液制备方法自“冷却至室温”起,依法测定。

2.6 空白对照品溶液制备与测定

除黄芩外,按处方比例称取其他各药材,按工艺制成无黄芩的制剂,与供试品溶液同法制成阴性对照溶液,同时测定,结果如图 3。说明其他药材及辅料均不干扰黄芩甙的测定。

2.7 供试品溶液稳定性考察

取样品,按拟定的含量测定方法制备供试品溶液,在室温下自然放置,间隔一定时间(0,1,4,8,12,24,48 h)测定 1 次峰面积,RSD 1.33%。可见样品溶液中黄芩甙的含量至少在 48 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验

取已测知含量的样品细粉约 0.1 g,精密称定,置 100 ml 锥形瓶中,精密加入对照品浓溶液(0.422 mg·ml⁻¹)2 ml,水浴上加热至对照品溶液的溶剂(甲醇)挥尽,按供试品溶液制备方法制备,测定,计算回收率,结果见表 1。

2.9 样品测定

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μl,依上述色谱条件测定,3 批样品中黄芩甙的含量测定结果见表 2。

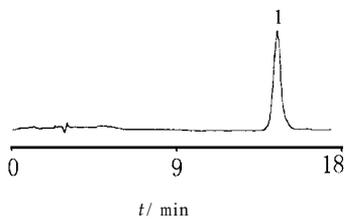


图 1 黄芩甙对照品 HPLC 图谱
1. 黄芩甙

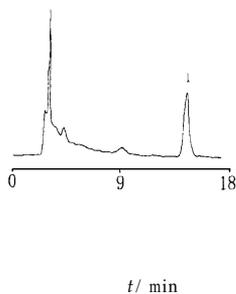


图 2 供试品 HPLC 图谱

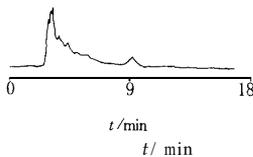


图 3 空白对照 HPLC 图谱

表 1 样品中黄芩甙的回收率测定结果

样品含量 / mg	测出量 / mg	回收率 / %	\bar{x} / %	RSD / %
1.4469	2.2563	95.90		
1.4509	2.2900	99.42		
1.2956	2.1600	101.42	99.27	2.14
1.3230	2.1725	100.65		
1.3098	2.1450	98.96		

注: ①添加量 0.844 mg ②n=3

表 2 样品中黄芩甙含量测定结果 %

样品	批号	\bar{x}	RSD
耳聋胶囊	980701	1.082	1.06
	980702	1.238	1.01
	980703	1.462	1.17
耳聋丸	981010	0.3675	1.93
	981011	0.3997	1.57
	981012	0.3595	1.34

3 讨论

3.1 据文献报道,黄芩甙的含量测定方法有比色^[3]、薄层层析-紫外分光光度^[4]、系数倍率-双波长紫外分光光度^[5]、薄层扫描^[6]、HPLC^[7-9]等多种方法;但耳聋丸及其胶囊由于其处方药味较多,成分复杂,企业一直未建立产品的定量控制标准,我们针对该产品研究并建立了适合生产质量监控的操作简便的黄芩甙含量测定方法。

3.2 耳聋丸及其胶囊有镇痛、抗炎、抑菌作用,耳聋丸部颁标准中无定量控制指标,黄芩为方中重要成分之一,其中所含的黄芩甙亦有抗炎、抗菌、解热活性,与耳聋胶囊的药理作用一致。以黄芩甙为指标成分对控制及评估耳聋胶囊的质量具有实际意义。

3.3 耳聋丸系蜜丸,在 70%乙醇中加热回流可分散,但因均以原药材细粉存在,提取时较胶囊需要更长时间,经 20,40,60,80,100,120 min 不同时间考察黄芩甙提出情况,结果表明回流 60 min 以上时,其提出率无明显变化,为保证提取完全,在供试品溶液制备中规定回流 80 min。

3.4 同法对黄芩原料分析结果表明胶囊中黄芩甙的转移率为 85.32%,说明工艺合理,可行。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂. 第十三册. 1997. 63.
- [2] 季宇彬. 中药有效成分药理与应用. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995. 60.
- [3] 张乃吉, 王健, 赵岚峰, 等. 茵栀黄注射液质量标准的探讨. 中成药. 1991, 13(11): 11.
- [4] 刘令勉, 郭贵强. 用聚酰胺薄膜分离复方制剂中黄芩甙及其定量方法. 中草药, 1986, 17(9): 13.
- [5] 栾士香, 谷正兆, 翟登奎. 系数倍率法测定双黄连注射液中黄芩甙、绿原酸、连翘甙的含量. 中国中药杂志, 1991, 16(10): 602.
- [6] 吕方军. 薄层扫描法测定银黄注射液中绿原酸与黄芩甙的含量. 药物分析杂志, 1988, 8(4): 236.
- [7] Kazuhiko Sagara, Yuji Ito, Toshiyuki Oshima, et al. Simultaneous Determination of Baicalein, Wogonin, Oroxylin A and Their Glucuronides in Scutellariae Radix By Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography. J Chromatogr, 1985, 328: 289.
- [8] Tadato Tani, Tadahisa Katsuki, Michiori Kubo, et al. Histochemistry. VII. Flavones in Scutellariae Radix. Chem Pharm Bull, 1985, 33(11): 4894.
- [9] 刘华钢, 黄海滨, 陈宏. HPLC 法测定柴黄片中黄芩甙的含量. 中国中药杂志, 1997, 22(12): 674.

[责任编辑 李禾]