技术方法 文章编号:0253-3626(2009)02-0210-02

HPLC 法同时测定蓝芩口服液中盐酸小檗碱与黄芩苷的含量

胡茂华,钟 玲,黄小玉,尚京川
(重庆医科大学药学院药物分析教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立同时测定蓝芩口服液中盐酸小檗碱和黄芩苷的含量方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱:Zorbax XDB-C18 柱(4.6×150 mm,5 μm),流动相:甲醇-0.5%磷酸溶液梯度洗脱,比例为 0~16.5min,甲醇 38%~40%,流速 1 ml/min;16.8~18 min ,甲醇 99%,流速 1.6 ml/min;18.1~22min,甲醇 38%,流速 1.6 ml/min;22.1~23min,甲醇 38%,流速 1 ml/min。检测波长为 275 nm,柱温 30℃。结果:盐酸小檗碱在 6.8~65.28μg/ml,黄芩苷在 31.2~299.52μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系。加样回收率在 97.0%~101.3%,RSD 小于 2.0%。结论:本法操作简便、结果准确、分离效果好,可用于蓝芩口服液中盐酸小檗碱和黄芩苷含量的测定。

【关键词】高效液相色谱法;蓝芩口服液;盐酸小檗碱;黄芩苷
【中国图书分类法分类号】R927.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-05-07

Simultaneous determination of berberine hydrochloride and baicalin in lanqin oral liquid by HPLC

HU Mao-hua, et al
(*Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To simultaneously determine the contents of berberine hydroehloride and baicalin in Lanqin Oral Liquid via an HPLC method. *Method*: The HPLC with a Cl8 column (4.6×150 mm, 5 μm) was used. The mobile phases were as follows: the methanol-0.5% orthophosphoric acid (0~16.5 min, methanol 38%~40%, V=1 ml/min; 16.8~18 min, methanol 99%, V=1.6ml/min; 18.1~22min, methanol 38%, V=1.6ml/min; 22.1~23 min, methanol 38%, V=1 ml/min.). The wavelength for detection was located at 275nm. Result: The linear ranges of berberine hydrochloride and baicallin were 6.8~65.28 μg/ml and 31.2~299.52 μg/ml, respectively, both showing a good linar relationship, and the average spotting recoveries were higher than 97.0%. The coefficient of variation was smaller than 2.0%. *Conclusion*: The method is convenient and can be used for controlling the quality of Lanqin Oral Liquid.

【Key words】HPLC; Lanqin oral liquid; Berberine hydrochloride; Baicalin

蓝芩口服液是由板蓝根、黄芩、栀子、黄柏、胖大海等药物组成,其中板蓝根清热解毒、辛凉解表,黄芩、栀子清热燥湿、解毒凉血,胖大海清利咽喉。全方以甘寒为用,以达清热解毒之功,对上呼吸道感染等均有明显的抗病毒、抗菌消炎作用,尤其在退热、消除咽痛、咳嗽等症状方面,疗效确切。盐酸小檗碱(Berberine hydrochloride)和黄芩苷(Baicalin)是蓝芩口服液中的有效成分,本文采用超声提取 HPLC 法同时测定蓝芩口服液中盐酸小檗碱和黄芩苷的含量,可有效地分离杂质,方法简便、灵敏、快速、准确,可用于蓝芩口服液质量控制。

作者介绍:胡茂华(1981-),男,硕士,
研究方向:天然产物及体内药物分析。
通讯作者:尚京川,男,副教授,E-mail:sjc20@126.com。

1 材 料

1.1 药品与试剂

黄芩苷和盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110715-200212,110713-200208),蓝芩口服液(由重庆青阳药业有限公司提供, 批号为 060201、060202、060203),甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司),其余所用试剂均为分析纯,超纯水。

1.2 仪器

美国 Angilent1100 高效液相色谱仪,美国 Angilent1100-UV 检测器及数据处理系统,KQ2200B型超声清洗仪,BS210S 电子分析天平(精度0.000 1 g,Sartorious 公司);LD-50G-D 型超纯水器(重庆利迪实验仪器设备有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Zorbax XDB-C18 柱(4.6×150 mm,5 μm),流动

相:甲醇-0.5%磷酸溶液梯度洗脱,比例为 0~16.5 min,甲醇 38%~40%,流速 1 ml/min;16.8~18 min,甲醇 99%,流速 1.6 ml/min;18.1~22 min,甲醇 38%,流速 1.6 ml/min;22.1~23 min,甲醇 38%,流速 1 ml/min。检测波长为 275 nm,柱温 30℃。进样量 10 μl,数据处理方法为外标法。

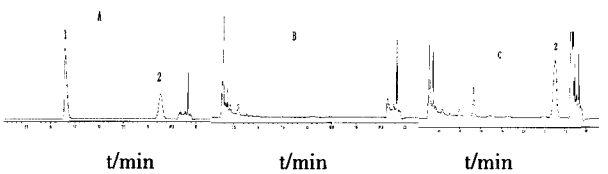
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品混合溶液的制备 分别精密称取对照品盐酸小檗碱 2.72 mg 和黄芩苷 12.48 mg 于 10 ml 容量瓶中,用 70%的甲醇溶液溶解稀释到刻度,得对照品混合溶液,盐酸小檗碱 0.272 mg/ml,黄芩苷为 1.248 mg/ml,4℃冷藏备用。

2.2.2 供试品溶液和阴性样品溶液的制备 精密量取蓝芩口服液 10 ml 于 50 ml 容量瓶中,加入 30 ml 的 70%的甲醇溶液,超声溶解 40 min 冷却到室温时定容,取上清液离心 15 000 r/min,15 min,离心后的上清液用 0.45 μm 的滤膜过滤,得到供试品溶液。另外按处方比例制备缺盐酸小檗碱和黄芩苷药材的阴性样品,依上述方法制备阴性样品溶液。

2.3 系统适应性试验

在上述色谱条件下,分别取对照品混合溶液和样品溶液以及阴性样品溶液进样,所得色谱图见图 1。盐酸小檗碱和黄芩苷与相邻其他组分峰分离完全,保留时间分别为 6.6 min 和 16.3 min。盐酸小檗碱和黄芩苷具有较好的特异性。



A. 对照品;B. 阴性样品;C. 样品; 1. 盐酸小檗碱;2. 黄芩苷

图 1 盐酸小檗碱和黄芩苷专属性色谱图

2.4 标准曲线制备

分别精密吸取 "2.2" 项下对照品混合溶液 0.125、0.250、0.400、0.500、0.600、1.000、1.200 ml,置于 5 ml 量瓶中,加 70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得每 1ml 含盐酸小檗碱 6.80、13.60、21.76、27.20、32.64、54.4、65.28 μg,含黄芩苷 31.20、62.40、99.84、124.8、149.76、249.6、299.52 μg 的对照品混合溶液。各取 10 μl 进样,取 3 次峰面积的平均值作图,以峰面积(Y)与对照品浓度(X)进行线性回归,得盐酸小檗碱和黄芩苷回归方程分别为:

盐酸小檗碱:Y_1=30.741 X_1-9.2622,r_1=0.9993(n=3);

黄芩苷:Y_2=36.107 X_2-169.43,r_2=0.9991(n=3)。

结果表明,盐酸小檗碱在 6.80~65.28 μg/ml,黄芩苷在 31.20~299.52 μg/ml 浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μl 连续注入液相色谱仪 5 次,考察方法的日内精密度,盐酸小檗碱和黄芩苷峰面积的 RSD 分别为 1.9%,1.8%。连续 5 d 测定上述供试品溶液,考察方法的日间精密度,盐酸小檗碱和黄芩苷峰面积的 RSD 分别为 3.1%、2.0%。

2.6 重复性试验

精密称取同一批号的 5 份样品,按"2.2"项制备供试品溶液,取 10 μl 进样,测定盐酸小檗碱和黄芩苷含量,RSD 值分别为 0.87%、0.3%。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试液 10 μl,分别在 0、1、2、4、6、8、12 h 注入液相色谱仪,盐酸小檗碱和黄芩苷峰面积 RSD 分别为 1.56%、1.28%,说明样品在 12 h 内稳定性。

2.8 回收率试验

精密量取已知含量(盐酸小檗碱:25 μg/ml,黄芩苷:125 μg/ml,)样品,按照"2.2"项制备供试品溶液,分别加入盐酸小檗碱对照品 8、12、16 μg,黄芩苷对照品 20、40、80 μg,按"2.2"项制备供试品溶液,取 10 μl 进样,HPLC 测定含量,计算回收率。得盐酸小檗碱高、中、低 3 个浓度的回收率分别为 97.7%、98.7%、99.3%,RSD 分别为 1.9%、1.6%、1.8%;黄芩苷高、中、低 3 个浓度的回收率分别为 98.2%、99.7%、101.3%,RSD 分别为 1.2%、1.0%、1.4%。

2.9 样品测定

精密称量 3 个批号的样品各 5 份,按"2.2"项制备供试品溶液,测定盐酸小檗碱和黄芩苷的含量。结果见表 1。

表 1 蓝芩口服液中盐酸小檗碱和黄芩苷含量的测定结果(n=5)

批号	盐酸小檗碱		黄芩苷	
	(mg/ml)	RSD(%)	(mg/ml)	RSD(%)
060201	0.175		0.858	
060202	0.164	0.83	0.865	0.67
060203	0.160		0.852	

3 讨 论

3.1 检测波长的选择

紫外扫描显示盐酸小檗碱最大吸收波长为 223、269、335 nm 处,在 223 nm 和 335 nm 下杂质峰较多,黄芩苷最大吸收波长 275nm,考虑组分中黄芩苷与盐酸小檗碱含量的关系,本实验选用 275nm 作为检测波长,同时测定两种组分的含量。

3.2 流动相的选择

本实验用了梯度洗脱法测定蓝芩口服液中盐酸小檗碱与黄芩苷,分离效果较好,与文献[1,2]相比大大缩短了测定时间。黄芩苷在酸性条件下易析出,故在每次进样前应将供试溶液充分振摇。

本文建立了同时[3]测定蓝芩口服液中盐酸小檗碱和黄芩苷含量的 HPLC 测定法,具有良好的准确性和重复性,可用于蓝芩口服液的质量控制,亦可分别用于盐酸小檗碱和黄芩浸膏原料药的含量检测,达到控制蓝芩口服液质量的目的。

参 考 文 献

[1] 张国庆,杨更亮,李志伟,等.安宫牛黄胶囊中的黄芩苷和盐酸小檗碱的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志,2005,36(3):176-178.

[2] 李建勋,张 亮,王淑珍.HPLC 法同时测定黄片中盐酸小檗碱与黄芩苷的含量[J]. 中国药师,2005,8(6):479-480.

[3] 周 卿,兑丹华,代广会,等. RP—HPLC 法同时测定清胰汤颗粒中栀子苷、芍药苷的含量[J]. 重庆医科大学学报,2007,32(3):268-270.

(责任编辑:冉明会)