

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.15.018

高效液相色谱法测定射麻口服液中黄芩苷含量

杨巧虹¹, 邓开英², 申丽莎^{3△}

(1. 重庆医疗器械质量检验中心, 重庆 401147; 2. 重庆市食品药品检验检测研究院·重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121; 3. 重庆市中药研究院, 重庆 400061)

摘要:目的 建立测定射麻口服液中黄芩苷含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters SunFire C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液(47:53, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30℃, 检测波长为 280 nm, 进样量为 10 μL。结果 黄芩苷进样量在 0.041 91~0.838 20 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$, $n=5$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 分别为 0.63%, 0.58%, 0.84% ($n=5$); 平均加样回收率为 98.51%, RSD 为 2.19% ($n=6$)。结论 所建立的高效液相色谱法操作简便, 重复性好, 准确度高, 可用于射麻口服液中黄芩苷的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 射麻口服液; 黄芩苷; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)15-0065-03

Content Determination of Baicalin in Shema Oral Liquid by HPLC

YANG Qiaohong¹, DENG Kaiying², SHEN Lisha³

(1. Chongqing Quality Testing and Inspection Center for Medical Devices, Chongqing, China 401147; 2. Chongqing Institute for Food and Drug Control·Chongqing Engineering Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing, China 401121; 3. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing, China 400061)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography(HPLC) method for the content determination of baicalin in Shema Oral Liquid. **Methods** The chromatographic column was Waters SunFire C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.2% phosphoric acid solution(47:53, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30℃, the detection wavelength was 280 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear range of baicalin was 0.041 91~0.838 20 μg ($r=0.999\ 9$, $n=5$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were 0.63%, 0.58% and 0.84% ($n=5$), respectively. The average recovery of baicalin was 98.51% with RSD of 2.19% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, reproducible and accurate, which can be used for the content determination of baicalin in Shema Oral Liquid.

Key words: HPLC; Shema Oral Liquid; baicalin; content determination

第一作者: 杨巧虹, 女, 大学本科, 副主任药师、副编审, 研究方向为医疗器械检验检测实验室质量监督管理、药品质量控制方法研究论文的设计与编撰, (电话)023-67786713(电子信箱)87831702@qq.com。

△通信作者: 申丽莎, 女, 大学本科, 工程师, 研究方向为中药质量控制, (电子信箱)shenlisha@163.com。

- tion of trastuzumab, lapatinib and chemotherapy in HER2-positive metastatic breast cancer: A multicenter retrospective study[J]. European Journal of Cancer, 2020, 138(Suppl 1): s66.
- [2] 卜德永, 赵连, 周应强. 卡培他滨联合拉帕替尼治疗 HER2 阳性乳腺癌的效果观察[J]. 中国实用医刊, 2017, 47(17): 95-98.
- [3] LI Y, GONG CE, LU QY, et al. Real-World Data of Triplet Combination of Trastuzumab, Lapatinib, and Chemotherapy in HER2-Positive Metastatic Breast Cancer: A Multicenter Retrospective Study[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 271.
- [4] YANG F, HUANG X, SUN CX, et al. Lapatinib in combination with capecitabine versus continued use of trastuzumab in breast cancer patients with trastuzumab-resistance: a retrospective study of a Chinese population[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 7-30.
- [5] 黄蕾. 聚乙二醇偶联(拉帕替尼与变构的 PKI-587)的化学合成及生物测试[D]. 重庆: 重庆理工大学, 2020.
- [6] 张宏, 王艳戎, 罗兰, 等. 2-氨基苯腈合成拉帕替尼药物中间体工艺[J]. 实验室研究与探索, 2019, 38(6): 49-53.
- [7] 赵心瑜, 徐明超, 郭庆美, 等. 拉帕替尼合成工艺的研究进展[J]. 化工进展, 2017, 36(3): 1018-1032.
- [8] 郭卿, 李雁武, 任学状, 等. 拉帕替尼新中间体的合成[J]. 化学通报, 2017, 80(4): 392-395.
- [9] 赵灿. 新型抗乳腺癌药甲磺酸盐拉帕替尼——水合物的合成工艺及初步晶型研究[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [10] 刘娟, 张娅玲, 张喜全, 等. 拉帕替尼类似物的合成及抗肿瘤活性研究[J]. 化学通报, 2016, 79(4): 360-365.
- [11] 姜玲, 李伯男, 张庆伟, 等. 抗肿瘤药拉帕替尼有关物质的合成[J]. 中国药物化学杂志, 2016, 26(3): 185-188.
- [12] 李飞, 王武伟, 季兴, 等. 拉帕替尼合成中间体的制备工艺: CN200910033327.8[P]. 2009-11-11.
- [13] 张继东, 卢江, 张世应, 等. 顶空气相色谱法检测他达拉非原料药中 4 种溶剂残留量[J]. 中国药业, 2020, 29(9): 125-127.
- (收稿日期: 2020-12-21; 修回日期: 2021-02-04)

射麻口服液由黄芩、麻黄、胆南星、射干、醋五味子等10味药材提取制成,具有清肺化痰、止咳平喘功效,临床主要用于外邪犯肺、入里化热所致咳嗽、痰多稠黏、胸闷憋气、气促作喘、喉中痰鸣、发热或不发热、舌苔黄或黄白、或舌质红、脉弦滑或滑数等证,效果良好^{[1]314}。方中黄芩清热燥湿、泻火解毒,用于胸闷呕恶、湿热痞满、肺热咳嗽等^{[1]1469},但现行质量标准未对其进行含量控制。本研究中参考文献[2-14],建立了测定射麻口服液中黄芩所含有效成分黄芩苷含量的高效液相色谱(HPLC)法,为其质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦仪器公司);BP211S 型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度为十万分之一);Simplicity-185 型超纯水机(美国密理博公司)。

1.2 试药

黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号为171241-201508,含量为93.3%);射麻口服液(海南中盛合美生物制药有限公司,批号分别为20190102,20190301,20190401,规格为每支10 mL);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters SunFire C₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.2% 磷酸溶液(47:53, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:280 nm;进样量:10 μL。在此色谱条件下,供试品溶液的黄芩苷色谱峰达到基线分离,峰形对称,分离度良好,且阴性对照无干扰,分离度大于1.5,理论板数按黄芩苷峰计不低

于5 000。色谱图见图1。

2.2 溶液制备

对照品溶液:取黄芩苷对照品0.011 23 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。精密量取对照品贮备液2 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液:取射麻口服液适量,混匀,精密量取1 mL,置25 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液1 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

阴性对照品溶液:按处方比例和制备工艺制备不含黄芩的阴性样品,照供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

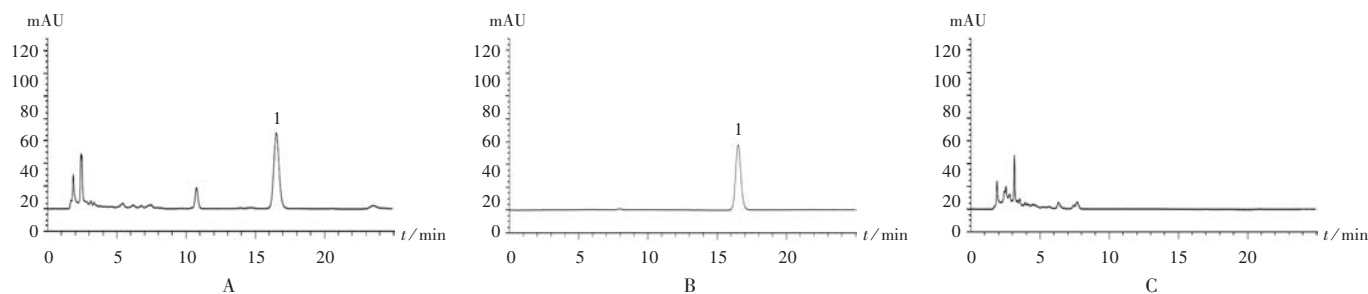
2.3 方法学考察

线性关系考察:分别精密吸取2.2项下对照品溶液1,5,10,15,20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 3\,693.4X - 5.843\,3$, $r = 0.999\,9$ ($n = 5$)。结果表明,黄芩苷进样量在0.041 91~0.838 20 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2项下对照品溶液10 μL,按2.1项下色谱条件连续进样测定5次,记录峰面积。结果黄芩苷峰面积的RSD为0.63% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0,2,4,8,12 h时各进样10 μL,测定并记录峰面积。结果黄芩苷峰面积的RSD为0.58% ($n = 5$),表明供试品溶液室温下放置12 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为20190102)样品



1. 黄芩苷

A. 供试品溶液 B. 对照品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. baicalin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 黄芩苷加样回收试验结果($n=6$)
Tab.1 Results of the recovery test of baicalin($n=6$)

取样量(mL)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.5	6.230 0	3.241 2	9.543 4	102.23	98.51	2.19
0.5	6.230 0	3.241 2	9.361 7	96.62		
0.5	6.230 0	6.482 4	12.544 1	97.40		
0.5	6.230 0	6.482 4	12.496 2	96.66		
0.5	6.230 0	9.723 6	15.918 7	99.64		
0.5	6.230 0	9.723 6	15.806 9	98.49		

适量,精密称定,混匀,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,平行5份,按2.1项下色谱条件进样测定。结果黄芩苷含量的RSD为0.84%($n=5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:分别精密量取已知含量的样品(批号为20190102)各0.5 mL,共6份,分别置25 mL容量瓶中,分别加入一定量的黄芩苷对照品溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算加样回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

取样品3批(批号分别为20190102,20190301,20190401),按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。结果样品中黄芩苷的含量分别为12.46 g/L,11.08 g/L,12.41 g/L。

3 讨论

参考文献[2-14],考察了不同流动相甲醇-水-磷酸溶液(47:53:0.2, V/V/V)、甲醇-0.2%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液、甲醇-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液对黄芩苷含量测定结果的影响。甲醇比乙腈的毒性小,价格便宜,为检测实验室常用试剂,故参照2020年版《中国药典(一部)》黄芩药材含量测定项下色谱条件,即色谱柱为C₁₈柱,流动相为甲醇-水-磷酸溶液(47:53:0.2, V/V/V),检测波长为280 nm。本研究中将流动相简化为甲醇-0.2%磷酸溶液(47:53, V/V),检测波长为280 nm。经试验考察,于280 nm波长下检测,以甲醇-0.2%磷酸(47:53, V/V)为流动相,射麻口服液中黄芩苷分离效果良好,且阴性对照无干扰。经二极管阵列检测器检测,供试品溶液中黄芩苷色谱峰与黄芩苷对照品溶液色谱峰紫外光谱图一致。

考察供试品溶液制备方法时,取样品,分别加入70%乙醇、甲醇稀释,结果加入70%乙醇时样品中未见沉淀产生,加入甲醇则产生了大量沉淀,沉淀后的溶液颜色明显变浅,故制备供试品溶液时采用甲醇,以沉淀

的方式除去杂质。

本研究中采用了2个不同品牌的色谱柱和2个不同厂家的液相色谱仪对供试品溶液进行了检测,结果黄芩苷色谱峰均达到基线分离,色谱效果和含量测定结果一致,表明方法耐用性良好。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2020.
- [2] 孔艳娥,段坤元. HPLC法同时测定胃病丸中8种成分[J]. 中成药,2021,43(5):1144-1147.
- [3] 徐静娟,栗金权. 高效液相色谱法测定健儿消食口服液黄芩苷含量[J]. 海峡药学,2019,31(10):89-90.
- [4] 董臣林,姜迪,李拓新,等. 清热止痢合剂质量标准提升研究[J]. 中国药业,2021,30(5):73-75.
- [5] 郑佳,林海霞. HPLC法同时测定气管炎丸中6个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志,2021,41(2):219-225.
- [6] 齐喜红,高萌,贺凯,等. HPLC双波长法同时测定舒肝止痛丸中芍药苷和黄芩苷的含量[J]. 宁夏医科大学学报,2021,43(2):199-202.
- [7] 刘淑,闫晓楠,袁婷婷. 补肺颗粒质量控制研究[J]. 中草药,2020,51(16):4201-4207.
- [8] 陈锋,孟庆海,赖新华,等. 高效液相色谱法测定痔复康颗粒中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2020,29(21):70-72.
- [9] 闫海霞,傅欣彤,陈有根,等. 清开灵滴丸质量控制方法的优化研究[J]. 中国药理学杂志,2020,55(6):465-472.
- [10] 徐丹洋,周溢,张金星,等. 止咳化痰合剂质量标准改进[J]. 中国药业,2020,29(1):47-50.
- [11] 高晓箐. 高效液相色谱法测定湿毒清片中黄芩苷的含量[J]. 临床合理用药,2019,12(31):132-133.
- [12] 车珂科,杨帆,邓开英. HPLC法测定养阴合剂中黄芩苷的含量[J]. 中国药房,2016,27(24):3410-3412.
- [13] 林梦,蒋斌,张华峰,等. 高效液相色谱法测定大黄滴眼液中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2018,27(22):37-39.
- [14] 何艳,胡小祥,张霞,等. HPLC测定杜仲降压片中的绿原酸、迷迭香酸和黄芩苷[J]. 华西药学杂志,2019,34(4):410-412.

(收稿日期:2021-02-08)