

## 2.4 回收率试验

取盐酸丁卡因 1.0g, 精密称定, 置 100ml 量瓶中, 按处方<sup>[1]</sup>量加入氯化钠和羟苯乙酯, 加水溶解, 定容, 得模拟 1% (g/ml) 的盐酸丁卡因滴眼液。精密量取 3.5ml, 置 100ml 量瓶中, 加缓冲液至刻度, 摇匀, 精密量取稀释液 0.5ml 置 50ml 量瓶中, 加缓冲液至刻度, 摇匀, 以缓冲液为空白, 在 312nm 波长处测定吸收度, 计算回收率为 100.9%, *RSD* 为 1.06%, *n* = 3。同时, 精密量取模拟 1% (g/ml) 盐酸丁卡因滴眼液 20ml, 置蒸发皿中, 于 60℃ 水浴上蒸干, 以冰醋酸 25ml 分次溶解, 溶解液移入三角烧杯中, 按非水溶液滴定法<sup>[3]</sup>测定盐酸丁卡因的含量, 平均回收率为 99.93%, *RSD*% 为 0.98%, *n* = 3。对两种方法测定结果进行成对 *t* 检验。结果表明无显著性差异 (*p* > 0.05)。

## 2.5 样品的含量测定

取 1% (g/ml) 盐酸丁卡因滴眼液, 按“2.4 回收率试验”方法制备供试液, 以缓冲液为空白, 在 312nm 波长处测定吸收度, 计算盐酸丁卡因含量。同时按“2.4 回收率试验”方法, 精密量取 20ml 的 1% (g/ml) 盐酸丁卡因滴眼液制备供试液, 以非水溶液滴定法<sup>[3]</sup>测定盐酸丁卡因的含量, 结果见表 1。*t*

检验结果表明两种含量测定方法无显著差异 (*P* > 0.05)。

表 1 样品的含量测定结果 (*n* = 3)

批号	紫外分光光度法		非水溶液滴定法	
	标示量%	<i>RSD</i> %	标示量%	<i>RSD</i> %
20010614	100.14	0.94	99.23	0.70
20010811	99.08	0.74	99.75	1.09
200101123	100.12	1.12	99.98	1.32

## 3 讨论

实验结果表明, 以紫外分光光度法测定盐酸丁卡因滴眼液的含量, 方法简便易行, 结果准确可靠, 重现性好, 避免了以滴定法测定时, 因繁杂的操作或人为因素而可能造成的终点判断误差。本方法可替代滴定法作为盐酸丁卡因滴眼液的含量测定方法。

实验采用非水溶液滴定法与紫外分光光度法比较测定结果, 而不是与永停滴定法<sup>[1]</sup>比较, 结果表明 60℃ 水浴干燥样品制备供试液后, 再以非水溶液滴定法测定含量是可靠的。

## 参考文献:

- [1] 中国医院制剂规范. 1995: 177.
- [2] 中国药典. 二部. 2000: 附录 174
- [3] 中国药典. 二部. 2000: 543.

收稿日期: 2002-04-15

## 反相高效液相色谱法测定黄芩及其制剂中黄芩苷含量

宋红英<sup>1</sup>, 刘放<sup>2</sup> (1. 浙江省医学科学院制药厂, 杭州 310013; 2. 浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

**摘要** 目的: 建立反相高效液相色谱法测定黄芩及其制剂中黄芩苷的含量。方法: 在 Spherisorb C<sub>18</sub> 柱上, 以甲醇-水-磷酸 (51:49:0.1) 为流动相, 紫外检测波长 278nm, 外标法定量。结果: 线性范围 5.0~80.0 μg/ml (r = 0.9999)。方法回归方程为 A = 32365.56C - 1997.75, 平均加样回收率为 97.85% (*n* = 5), 精密度试验 *RSD* = 0.86% (*n* = 6)。结论: 本方法简便、快速、重现性好, 可作为该制剂中黄芩苷含量的测定方法。

**关键词:** 黄芩苷; 芩芩子阴道灌注液; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2002)05-0286-03

## Determination of baicalin in Qinlingzi vagina perfusate by RP-HPLC

SONG Hongying<sup>1</sup>, LIU Fang<sup>2</sup> (1. The Pharmaceutical Factory of Zhejiang Academy of Medical Sciences Hangzhou 310013, China; 2. The Institute of Materia Medica of Zhejiang Academy of Medical Sciences Hangzhou 310013, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To establish a reversed-phase HPLC method for determination of contents of baicalin in Qinlingzi vagina perfusate. **METHODS:** RP-HPLC analysis was carried out by using spherisorb C<sub>18</sub> column and methanol-water-phosphoric (51:49:0.1) as the mobile, the detection wavelength was 278nm. The concentration of baicalin was

quantified by external standard. **RESULTS:** The method was linear with the range of 5.0~ 80.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , the regression equation was  $A = 32365.56C - 1997.75$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 5$ ), the average recovery was 97.85% ( $n = 5$ ) and the *RSD* was 0.86% ( $n = 6$ ). **CONCLUSION:** The method is convenient, rapid and reproducible, it may be used for the quantitative determination of baicalin in Q inlingzi vagina perfusate.

**KEY WORDS** baicalin, Q inlingzi vagina perfusate, RP- HPLC.

芩芩子阴道灌注液是以黄芩、土茯苓等中药最新研制而成的中药复方制剂,具有清热解毒,除湿止带,杀虫止痒的功效,主治妇女湿热下注所致的阴道及带下异常。症见阴部瘙痒,甚则痒痛,带下量多,气味腥臭,心烦口苦,可见霉菌性阴道炎,滴虫性阴道炎等。该制剂主药之一黄芩的活性成分为黄芩苷,其分析方法主要有分光光度法<sup>[1]</sup>、薄层扫描法<sup>[2]</sup>、二阶导数光谱法<sup>[3]</sup>、离子色谱法<sup>[4]</sup>等。本文采用RP- HPLC法测定黄芩及其制剂中黄芩苷的含量,获得了满意的结果,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC- 6A HPLC 系统, SPD- 6A 紫外- 可见光检测器, C- R3A 数据处理机, CTO- 6A 恒温柱箱, 岛津 UV- 2100 紫外- 可见分光光度计。

1.2 试剂

黄芩苷(baicalin)对照品(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用: 批号 0715- 9708), 甲醇(色谱纯, 杭州化学试剂厂), 磷酸(AR 级, 浙江建德化工厂), 水为双蒸水, 芩芩子阴道灌注液(浙江锦江药业有限公司), 黄芩购自杭州张同泰药店。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷紫外吸收光谱测定

取黄芩苷对照品适量, 用甲醇稀释成每 1ml 约为 10 $\mu\text{g}$  的溶液, 于波长 190~ 400nm 范围内进行全扫描, 测得黄芩苷  $\lambda_{\text{max}} = 278\text{nm}$ , 见图 1。

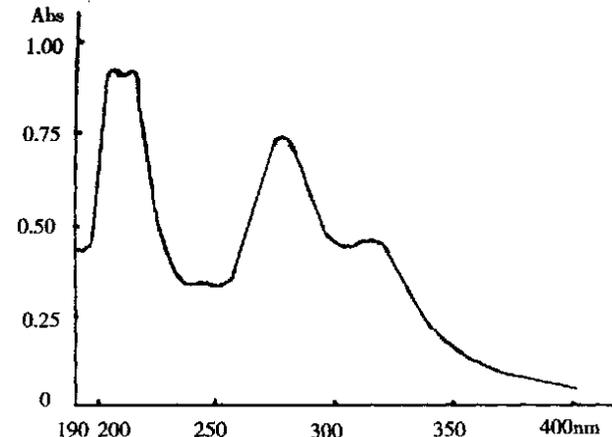


图 1 黄芩苷紫外吸收光谱

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: spherisorb C<sub>18</sub> 柱(4.6× 250mm, 10 $\mu\text{m}$ ) 流动相: 甲醇- 水- 磷酸(51 : 49 : 0.1), 紫外检测波长: 278nm, 流速: 0.8ml/min 灵敏度 0.05Aufs, 进样量: 10 $\mu\text{L}$ , 理论塔板数按黄芩苷峰计算应不低于 2000。黄芩苷峰与其它杂峰的分离度应大于 1.5。

2.3 对照品溶液制备

精密称取在 60 $^{\circ}\text{C}$  真空干燥 4h 黄芩苷对照品 25mg 置 25ml 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 其浓度为 1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; 精密量取此液 10ml 置 50ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度并摇匀, 其浓度为 200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

2.4 线性关系考察

精密吸收上述对照品溶液(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 和 4.0ml 分置 5 只 10ml 量瓶中, 用甲醇稀释成含黄芩苷 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 和 80.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  5 个浓度梯度的溶液。精密吸取上述黄芩苷系列对照品溶液各 10 $\mu\text{l}$  分别进样测定, 以峰面积对浓度进行回归, 求得回归方程:  $A = 32365.56C - 1997.75$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 5$ ), 结果表明黄芩苷浓度在 5.0~ 80.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  范围内呈良好性线性关系。

2.5 精密度试验

取同一浓度的黄芩苷对照品溶液(20.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), 连续进样 6 次(10 $\mu\text{l}$ ), 测得黄芩苷峰面积 *RSD* = 0.86% ( $n = 6$ )。

2.6 加样回收试验

精密吸取不含黄芩的空白对照液适量共 6 份, 分别加入黄芩苷对照品溶液(1 $\text{mg}/\text{ml}$ ) 用水稀释成每 1ml 中约含黄芩苷 20 $\mu\text{g}$  的溶液, 进样测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收试验( $n = 5$ )

试验次数	加入量 ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	测得量 ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	回收率 (%)	X (%)	RSD (%)
1	20.0	19.63	98.15	97.85	1.18
2	20.0	19.29	96.45		
3	20.0	19.37	96.85		
4	20.0	19.81	99.05		
5	20.0	19.75	98.75		

2.7 重复性试验

精密吸取同一批号芩芩子阴道灌注液 1ml, 置 10ml 量瓶中, 共 6 份, 分别加水稀释至刻度摇匀; 再精密量取此液 1ml 置 100ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀作为供试品溶液, 分别吸取上述同批号样品溶液各 10 $\mu$ l 进样测定, 另取黄芩苷对照品溶液 (20 $\mu$ g $\cdot$ ml $^{-1}$ ) 同法测定, 按外标法以峰面积进行计算, 结果黄芩苷含量测定的  $RSD=1.65\%$  ( $n=5$ )

## 2.8 样品含量测定

取黄芩药材中粉约 0.3g, 精密称定, 加 70% 乙醇 40ml, 加热回流 3h, 放冷滤过, 滤液置 100ml 量瓶中, 用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣, 洗液滤入同一量瓶中, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀, 精密量取

1ml 置 10ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试液 A; 另取芩芩子阴道灌注液 1ml, 按“2.7 重复性试验”方法, 制成供试液 B, 分别精密吸取供试液 A 和供试液 B 各 10 $\mu$ l, 按前述色谱条件, 进样测定, 记录色谱图和峰面积; 另取黄芩苷对照品溶液 (20.0 $\mu$ g $\cdot$ ml $^{-1}$ ), 同法测定, 结果见表 2 和图 2。

表 2 供试品含量测定结果

黄芩	A	15.53	1.25
	B	13.62	1.31
	C	15.17	1.19
芩芩子阴道灌注液	A	28.56	1.25
	B	26.73	1.31
	C	25.89	1.19

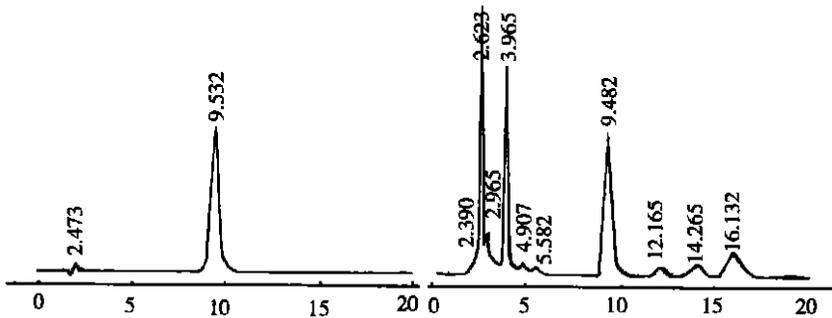


图 2 HPLC 色图谱

A- 黄芩苷对照品; B- 芩芩子阴道灌注液

## 3 讨论

**3.1 色谱条件的选择** 经测定黄芩苷的最大吸收波长为 278nm, 所以柱测波长定为 278nm。HPLC 法测定黄芩苷含量所用的流动相主要有甲醇-水-醋酸系统<sup>[5]</sup>, 甲醇-水-磷酸系统<sup>[6]</sup> 以及甲醇-水-四氢呋喃系统<sup>[7]</sup>, 经比较以甲醇-水-磷酸系统为好, 由于黄芩苷结构为 5,6,二羟基酮-7-0-葡萄糖醛酸苷, 在流动相中加入磷酸可抑制其解离, 防止色谱峰拖尾, 起到改善峰形的作用。

## 3.2 制样方法确定

由于本品黄芩苷含量较高, 供试品溶液制备采用水直接稀释后进样测定, 具有操作简便的优点, 经缺味空白对照试验在黄芩苷出峰时间及其附近无峰出现, 表明方法专属性较强。

## 3.3 方法简便

黄芩苷在本研究的色谱条件下可与其它成分达

到良好分离, 试验结果表明, 本法简单, 灵敏, 重现性好, 可用作控制芩芩子阴道灌注液内在质量。

## 参考文献:

- [1] 冯淑华, 乔卫. 黄芩及其制剂中黄芩苷含量测定的[J]. 中草药. 1995. 26(7): 381.
- [2] 吴齐贤, 张志荣, 郭荣. HPLC 法测色中药复方制剂中黄芩苷含量[J]. 华西药学杂志. 1994. 9(3): 142.
- [3] Sagara K, Ito Y, Oshima T *et al.* Simultaneous determination of baicalin, wogonin, oroxylin-A and their glucuronides in scutellariae radix by ion-pair high-performance liquid chromatography. J Chromatogr [J]. 1985. 328: 289.
- [4] 石淑琴, 郭君, 阚志军. 二阶导数光谱法测定双黄连注射剂中黄芩苷的含量[J]. 中成药. 1992. 14(5): 10.
- [5] 赵晓霞, 马二华, 卡子文. HPLC 法测定宁神口服液黄芩苷含量[J]. 中医药信息. 1995. (1): 46.
- [6] 中国药典. 2000 年版[S]. 一部. 部 2000: 248.
- [7] 高彦敏. RP-HPLC 法测定清肺止泻冲剂中黄芩苷含量[J]. 中国中药杂志. 1995. 20(10): 607.

收稿日期: 2002-03-06