

测定注射用灯盏花乙素含量测定的两种方法研究*

董知旭¹, 张国丽¹, 张伟¹, 李潇颖², 文纳¹

(1. 昆药集团股份有限公司药物研究院, 云南 昆明 650100; 2. 云南中医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 用紫外分光光度法和高效液相色谱法测定注射用灯盏花乙素中灯盏花乙素的含量。方法 紫外分光光度法用甲醇作为溶剂, 选择 335nm 作为测定波长。高效液相色谱法采用 Luan C₁₈(150×4.6 nm)作为分析柱, 流动相为 0.05%的磷酸水—乙腈梯度洗脱, 柱温 35℃, 流速 1 mL/min, 检测波长 335 nm。结果 紫外分光光度法, 灯盏花乙素在 5.0~15.0μg/mL 范围内与吸光度呈良好线性关系 ($r=0.999\ 85$), 平均回收率为 99.20% ($n=9$), $RSD=0.82\%$ ($n=9$), 精密度与重复性 RSD 良好, 分别为 0.15% 和 0.93%; 高效液相色谱法, 灯盏花乙素在 10.0~80.0 μg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.999\ 8$, 平均回收率为 100.69%。结论 紫外分光光度法虽然简便、快速, 但专属性不好, 易受外界环境影响。所以综合考虑选择用高效液相色谱法测定注射用灯盏花乙素含量比较优。

关键词: 灯盏花乙素; 注射用灯盏花乙素; 紫外分光光度法; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R286.0 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)01-0031-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.01.008

灯盏花是菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz 的干燥全草, 又名灯细辛、冬菊, 主要分布在云南、广西等地。灯盏花性寒, 微苦, 甘辛温, 具有散寒解表、祛风除湿、活血化瘀、通经活络、消炎止痛的功效^[1-5]。灯盏花乙素从 20 世纪 70 年代末首次分离至今, 已经被开发成各种剂型应用于临床, 灯盏花乙素副作用少, 对很多疾病和症状疗效确切, 是医药界的一代宠儿, 可与三七、天麻等天然药物相媲美的一个大品种产品。

灯盏花乙素的含量测定方法以 HPLC 为主, 此外还有紫外分光光度法 (UV)、薄层层析法 (TLC)、毛细管电泳法等。近几年随着社会快速发展, 国家对药品的质量要求越来越严格, 建立一个可控、经济、准确的含量测定方法成为一个药品质量研究者的首要任务。通过大量文献检索没有发现关于介绍高效液相法与紫外分光光度法测定注射用灯盏花乙素含量常用两种方法的系统对比研究试验, 故下文系统的展开了此类研究, 以探寻出测定注射用灯盏花乙素含量的简便、经济、可靠的方法, 保障药品的质量。

1 仪器与试剂

注射用灯盏花乙素样品 (20140820-1、

20140820-2、20130612-1、20130512-1、20130426-1, 昆制药集团股份有限公司), 野黄芩苷对照品 (110842-201106; 中国药品生物制品检定所; 含量: 92.7%), 乙腈 (色谱纯, 批号: 0000056692, J.T.Baker)。甲醇 (分析纯, 批号: 20130302, 天津市风船化学试剂科技有限公司)。紫外分光光度计 (紫外分光光度法-2450, 日本岛津公司), 电子天平 (XP205, 梅特勒-托利多公司); 高效液相色谱仪 (LC-20AD, 日本岛津公司), PDA 检测器, 高效液相色谱仪 (Waters e2695, 美国沃特世公司), 紫外检测器; 色谱柱: Luan C₁₈(150×4.6nm)。

2 紫外分光光度法测注射用灯盏花乙素含量

2.1 测定波长的选择

对照品储备液制备: 精密称取灯盏花乙素对照品适量, 加甲醇溶解制成每 1mL 含 500 μg 的灯盏花乙素对照品作为储备液。

精密量取对照品储备液适量置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 定容摇匀, 照紫外-可见分光光度法在 200~400 nm 波长范围内扫描 (如果样品溶液浓度过高则继续稀释直到样品扫描最大吸收波长时吸光值在 0.2~0.8 范围), 扫描灯盏花乙素紫外光谱图 (见图 1、2)。

* 基金项目: 云南省重点新产品开发计划项目 (2014BC009)

收稿日期: 2015-12-09

作者简介: 董知旭 (1986-), 男, 云南墨江人, 助理工程师, 主要从事新药开发质量研究工作。E-mail: dongzhixu668@163.com

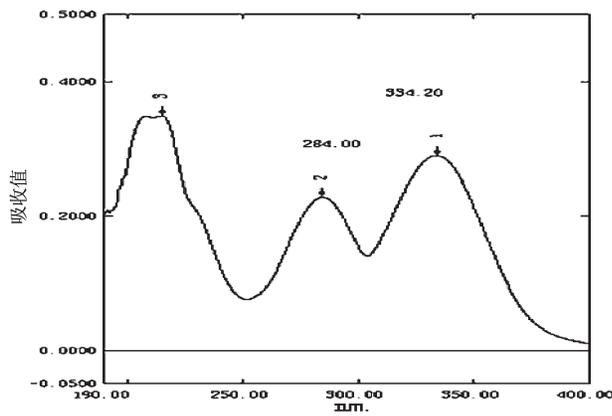


图1 野黄芩苷对照品紫外光谱图

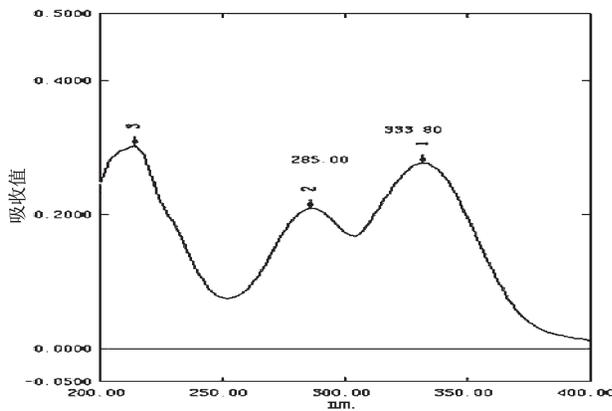


图2 注射用灯盏花乙素紫外光谱图

结果:从扫描图谱中可以看出,野黄芩苷对照品与注射用灯盏花乙素在 335nm 波长处有最大吸收峰,故选择 335nm 作为测定波长。

2.2 测定浓度的确定

精密量取储备液适量,分别配制成 5, 10, 15, 20 $\mu\text{g/mL}$ 浓度供试品;在 335 nm 处测吸光度(见表 1)。

结果:由相关规定可知,吸光度在 0.3~0.7 之间

为宜。确定测量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 灯盏花乙素不同浓度下的吸光度

浓度/ $\mu\text{g/mL}$	5	10	15	20
吸光度	0.283	0.571	0.857	1.137

2.3 空白辅料的影响

精密取空白辅料适量置 100 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为空白辅料供试液。取上述供试液在 200~400 nm 波长范围内扫描。(如图 3)

结果表明,空白辅料在 200~400 nm 波长范围内无吸收,对注射用灯盏花乙素在 335 nm 处的含量测定无影响。

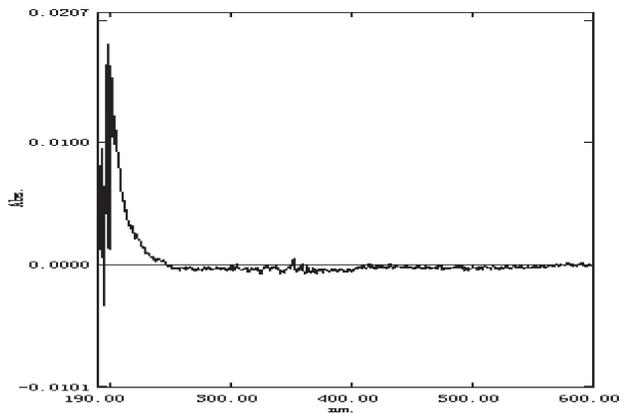


图3 空白辅料紫外光谱图

2.4 专属性

试验方案:用酸、碱、氧化、高温、光照等手段(如表 2)对本品进行强力破坏^[6],使其降解。在 335 nm 处测含量并扫描紫外光谱图。结果破坏前后样品吸光度变化不大,破坏前后扫描紫外光谱图一样。试验表明,破坏产生的杂质干扰样品测定。紫外分光法专属性不强,干扰测定结果准确性。

表 2 专属性破坏溶液的配制及处理

名称	数量	稀释倍数	破坏条件
未破坏 供试品	1 支	100	---
酸破坏 酸碱空白	---	100	1mol/L 盐酸溶液 1mL 和 1mol/L 氢氧化钠溶液 1mL
供试品	1 支	100	1mol/L 盐酸溶液 1mL, 放置 48 h 后, 加入 1mol/L 氢氧化钠溶液 1mL 中和
碱破坏 供试品	1 支	100	1mol/L 氢氧化钠溶液 1mL, 放置 48 h 后, 加入 1mol/L 盐酸溶液 1mL 中和
氧化破坏 氧化空白	--	100	1mL 双氧水溶液(30%)
供试品	1 支	100	1mL 双氧水溶液(30%), 放置 48 h
高温破坏 供试品	5 支	100	105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱, 放置 25 d
光照破坏 供试品	5 支	100	4500 Lax 日光灯下照射 20 d

备注:“---”表示该空不适用。

2.5 仪器精密度测定

精密称取注射用灯盏花乙素样品适量,加甲醇溶解并稀释配制成含灯盏花乙素 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在 335 nm 处测吸光度,平行测定 6 次。(结果见表 3)

表 3 注射用灯盏花素紫外分光光度法含量测定仪器精密度结果

测定次数	1	2	3	4	5	6
吸光度	0.609	0.608	0.608	0.609	0.610	0.610
RSD	0.15%					

结果:平行操作测定同一份供试品溶液吸光度 6 次,其 RSD 为 0.15%,说明所用紫外分光光度计精密度良好。

2.6 线性范围

精密称量灯盏花乙素对照品适量加甲醇溶解并稀释,制得浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的储备液。精密量取储备液适量,加甲醇稀释浓度分别为 5, 6, 10, 12, 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的供试品溶液。分别在 335 nm 处测吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,绘制标准曲线^[7]。结果:线性回归方程为: $Y=0.0598X-0.0002$, 相关系数 $r=0.99985$,表明注射用灯盏花乙素在 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

2.7 加样回收实验

配制相当于 1.2 项下确定的样品进样浓度的 80%, 100%, 120% 的供试品溶液,进行回收率测定^[8],操作如下:

对照储备液的配制:精密称取灯盏花乙素对照品适量加甲醇溶解并配制成每 1mL 含灯盏花乙素 50 μg ,摇匀,作为对照品储备液。

供试品溶液的配制:精密称取 12 份注射用灯盏花乙素样品适量(相当于含灯盏花乙素 12.5 mg),分别置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀后精密量取 1 mL,分别置于 50 mL 容量瓶中;取其中 3 份直接加甲醇并稀释至刻度,摇匀,以此作为测定样品含量的溶液;取其中 3 份,分别精密加入 3 mL 对照储备液,用甲醇稀释定容,以此作为浓度为 80% 的供试品溶液;取其中 3 份,分别精密加入 5 mL 对照品储备液,用甲醇稀释定容,以此作为浓度为 100% 的供试品溶液;取其中 3 份,分别精密加入 7 mL 对照储备液,用甲醇稀释定容,以此作为浓度为 120% 的供试品溶液;

在 335 nm 处测定吸光度,按外标法以吸光度计算灯盏花乙素的回收率。结果表明:加样回收率平均值为 99.20%,RSD 为 0.82% 小于 2%,回收率良好,符合规定。

2.8 重复性测定

精密取注射用灯盏花样品适量(每份相当于含灯盏花乙素约 50 mg),加甲醇溶解并稀释至刻度,制成每 1 mL 含灯盏花乙素 10 μg 。平行配制 6 份。在 335 nm 处测定吸光度。结果:6 份供试品溶液中灯盏花乙素的含量为 99.8%,RSD 为 0.93%,说明此测定方法的重复性较好。

2.9 中间精密度

精密取注射用灯盏花样品适量(每份相当于含灯盏花乙素约 50 mg),加甲醇溶解并稀释至刻度,制成每 1 mL 含灯盏花乙素 10 μg 。平行配制 6 份。分别在两台不同紫外分光光度计上在 335 nm 处测定吸光度,用外标法测得注射用灯盏花乙素含量,两台仪器值求其 RSD 值。结果:两台紫外分光光度计测定供试品中灯盏花乙素的平均含量为 99.2%,其 RSD 为 1.02%,小于 2.0%,重现性良好。

2.10 稳定性试验

对照品溶液配制:精密量取对照品储备液 1mL 置 50 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液;供试品溶液配制:取注射用灯盏花乙素适量,加甲醇溶解配制成每 1 mL 含灯盏花乙素 10 μg 。

分别取对照品溶液及供试品溶液,于室温条件下放置,分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 取上述溶液在 335 nm 处测定吸光度,根据吸光度计算 12 h 内 RSD 值为 1.15% 表明:本品溶液在室温下放置 12 h 内稳定性良好。

2.11 耐用性试验

对照品溶液配制:精密量取对照品适量,加甲醇溶解配制成每 1mL 含灯盏花素对照品 10 μg ,作为对照品溶液。

供试品溶液配制:取注射用灯盏花素适量,加甲醇溶解配制成每 1 mL 含灯盏花素 10 μg 。

取对照品溶液及供试品溶液在 335nm 处测吸光度,分别在早上 8:00,中午 12:00,下午 17:00,不同 2 台紫外分光光度计仪器以及不同的批号石英杯各测一次。

结果表明:不同条件下测得本品含量的 RSD 为 1.18% 小于 2%。由此可说明用紫外分光光度法测注

射用灯盏花乙素含量易耐用性良好。

2.12 多批样品的含量测定

对公司提供的多批样品进行测定,在335 nm处测定吸光度,并计算含量,测定5批样品(20140820-1、20140820-2、20130612-1、20130512-1、20130426-1)中灯盏花乙素的含量分别为98.3%、99.4%、97.5%、99.5%、98.3%。

3 高效液相色谱法测注射用灯盏花乙素含量

3.1 试验条件筛选过程

3.1.1 检测波长选择

根据上面紫外分光光度法测定注射用灯盏花乙素含量部分可知灯盏花乙素最大吸收波长为335 nm,故选择335 nm为检测波长。

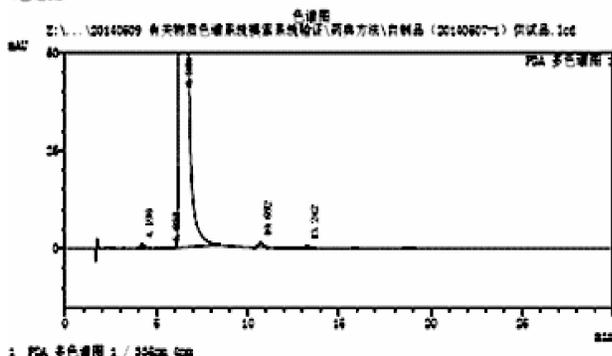
3.1.2 流动相选择

见表4,图4、5。

表4 流动相筛选结果(如图4、5)

流动相	比例	洗脱时间/min	拖尾因子	分离度	洗脱出杂质个数
甲醇-0.1%磷酸	2015版药典方法	35	1.63	1.2	4
乙腈-0.05%磷酸	梯度洗脱	35	1.19	3.8	6

<色谱图>



<定量结果>

图4 以2015版中国药典方法洗脱的供试品的HPLC色谱图

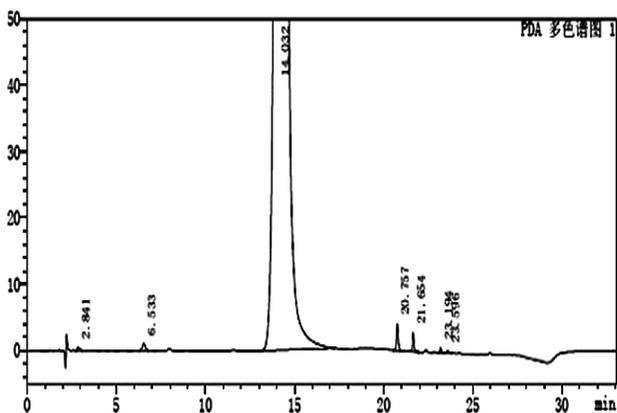


图5 按本文梯度洗脱方法的供试品的HPLC色谱图

根据实验结果选择表5流动相洗脱模式作为注射用灯盏花乙素含量测定。流动相A:乙腈;流动相B:0.05%磷酸水溶液;检测波长:335 nm;进样体积:10 μ L;柱温:35 $^{\circ}$ C;采集时间:35 min。

表5 流动相洗脱模式

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	20	80
15	20	80
25	60	40
26	20	80
35	20	80

3.1.3 流速、进样量以及进样浓度选择

查阅多篇文献^[9-17],关于高效液相色谱仪的流速一般情况下都是1.0 mL/min。故选择流速为1.0 mL/min。参照注射用灯盏花素2015版药典检测方法,结合试验情况,选择进样体积为10 μ L,进样浓度为50 μ g/mL。

3.2 仪器精密度测定

精密称取注射用灯盏花乙素样品适量(相当于含灯盏花乙素约50 mg),置25 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀后精密量取5 mL置50 mL容量瓶中,加水稀释至刻度。于高效液相色谱仪进样10 μ L,连续进样6次,记录色谱图。考察主峰面积变化。结果:平行操作测定同一份供试品溶液6次,记录主峰面积,其RSD为0.01%,说明所用高效液相色谱仪精密度良好。

3.3 专属性

3.3.1 空白辅料的干扰试验

取空白辅料溶液适量,加水配制成供试品溶液中所含辅料浓度,摇匀,作为空白辅料供试液,于高效液相色谱仪进样10 μ L,记录色谱图;试验结果:空白辅料对本品测定无干扰,本法专属性良好。

3.3.2 强制降解试验

试验方案:用酸、碱、氧化、高温、光照等手段(如表2)对本品进行强力破坏,使其降解。通过考察主峰的纯度,确认本法的检测能力^[18]。

结论:通过酸、碱、氧化、高温、光照等手段对本品进行强力破坏,灯盏花乙素主峰未检出不纯物,降解杂质峰与主峰之间的最小分离度符合要求,说明本方法的专属性良好。(如图6-图11)

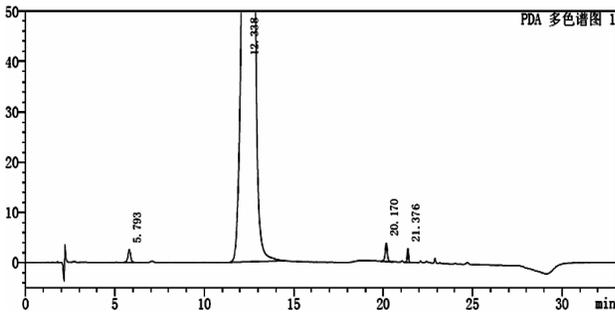


图 6 未破坏供试品 HPLC 光谱图

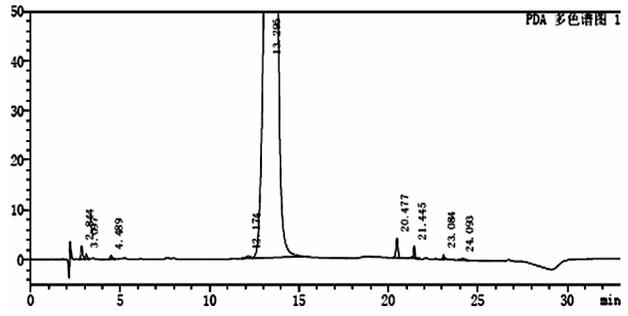


图 7 强酸破坏供试品 HPLC 光谱图

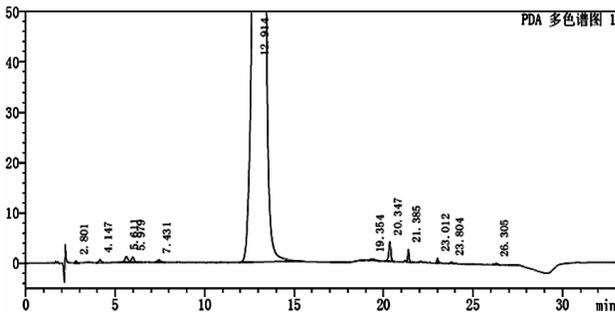


图 8 强碱破坏供试品 HPLC 光谱图

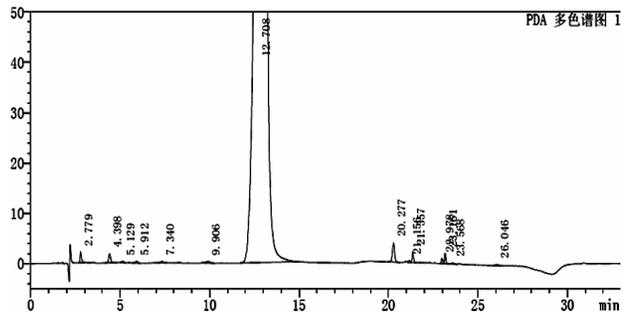


图 9 氧化破坏供试品 HPLC 光谱图

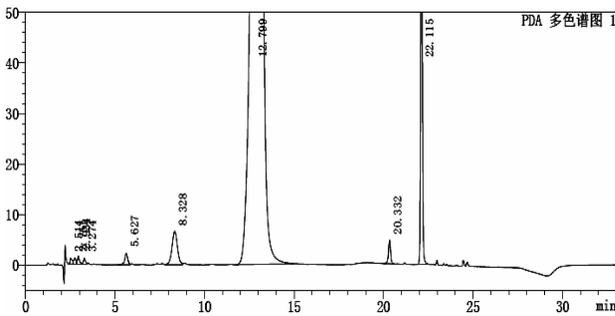


图 10 高温破坏供试品 HPLC 光谱图

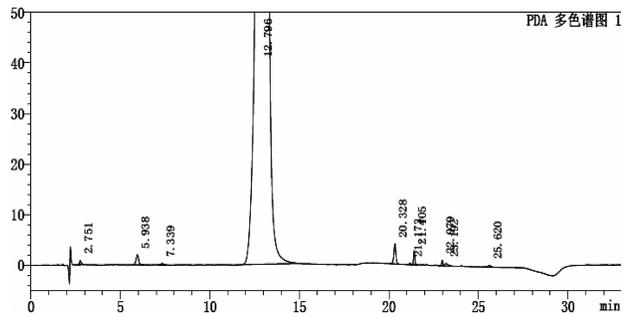


图 11 光照破坏供试品 HPLC 光谱图

3.4 线性和范围

精密称量灯盏花乙素对照品适量,置于 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度为 500 μg/mL 的溶液作为储备液。

精密量取储备液 1,2,3,4,5,7,8 mL,分别置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀后得一系列梯度浓度的溶液,进样体积为 10 μL,于高效液相色谱仪进行测定,以对照品浓度(μg/mL)为横坐标,峰面积为横坐标进行线性回归,绘制标准曲线。结果:得线性回归方程为 $Y=319\ 95x+1\ 524.7$,相关系数 $r=0.999\ 8$,线性范围 10.0~80.0 μg/mL。线性良好。

3.5 加样回收实验

为了考察测定结果与真实值的接近程度,配置相当于 2.1.3 项下确定的样品进样浓度的 80%、

100%、120%的供试品溶液,进行回收率测定,操作如下:

对照储备液的制备:精密称取灯盏花乙素对照品适量,置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度为 500 μg/mL 的溶液作为储备液。

供试品溶液的配制:精密称取 12 份注射用灯盏花乙素样品,每份相当于含灯盏花乙素 25 mg,分别置于 100 mL 容量瓶中,加水溶解定容后,精密量取 1 mL,分别置于 100 mL 容量瓶中;取其中 3 份直接加水稀释至刻度,摇匀,以此作为测定样品含量的溶液;取其中 3 份,分别精密加入 3 mL 对照储备液,用水稀释定容,以此作为浓度为 80%的供试品溶液;取其中 3 份,分别精密加入 5 mL 对照

品储备液,用水稀释定容,以此作为浓度为100%的供试品溶液;取其中3份,分别精密加入7 mL对照储备液,用水稀释定容,以此作为浓度为120%的供试品溶液;

于高效液相色谱仪进样体积10 μL ,记录色谱图,按外标法以峰面积计算灯盏花乙素回收率。结果表明:灯盏花乙素的加样回收率平均值为100.69%,*RSD*为0.64%,所以该方法的回收率符合要求,准确性好。

3.6 重复性测定

精密取注射用灯盏花样品适量(每份相当于含灯盏花乙素约50 mg),加水溶解并稀释至刻度,制成每1 mL含灯盏花乙素50 μg 。作为供试品溶液。平行配制6份。分别精密量取上述溶液10 μL ,注入高效液相色谱仪检测,记录色谱图。考察主峰面积变化(*RSD*)。结果:平行操作测定的6份供试品溶液中灯盏花乙素的含量为99.78%,*RSD*为0.56%,在规定范围内,说明此测定方法的重复性较好。

3.7 中间精密度测定

精密取注射用灯盏花样品适量(每份相当于含灯盏花乙素约50 mg),加水溶解并稀释至刻度,制成每1 mL含灯盏花乙素50 μg 。作为供试品溶液。平行配制6份。分别精密量取上述溶液10 μL 注入两台不同高效液相仪,在335 nm处测定,记录主峰面积,用外标法计算测得注射用灯盏花乙素含量,并合并2台仪器值求其*RSD*值。结果:2台高效液相色谱仪测定供试品中灯盏花乙素的含量为99.3%,其*RSD*为0.54%,小于2.0%,中间精密度良好。

3.8 稳定性试验

对照品溶液配制:精密量取对照品储备液5 mL置50 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

供试品溶液配制:取注射用灯盏花乙素适量,加甲醇溶解配制成每1 mL含灯盏花乙素50 μg 。

分别取对照品溶液及供试品溶液,于室温条件下放置,分别于0,1,2,4,6,8,12,24h取上述溶液,用高效液相色谱仪测定,进样体积为10 μL ,根据峰面积计算其*RSD*值为0.15%。结果表明:本品对照品溶液及供试品溶液在室温下放置24h内稳定性良好。

3.9 系统适用性

配制6份相同浓度的供试品溶液进行分析,主

峰峰面积的相对标准差应不大于2.0%,主峰保留时间的相对标准差应不大于1.0%。另外,主峰的拖尾因子不得大于2.0,主峰与杂质峰必须达到基线分离,主峰的理论塔板数应符合质量标准的规定。实验表明:主峰峰面积的相对标准差为0.15%,主峰保留时间的相对标准差为0.52%。另外,主峰的拖尾因子为0.95~0.97,主峰与杂质峰分离度为26,主峰的理论塔板数质量标准的规定。表明系统适用性良好。

3.10 耐用性

分别考察流动相比比例变化 $\pm 5\%$ 、流动相pH值变化 ± 0.2 、柱温变化 $\pm 5^\circ\text{C}$ 、流速相对值变化 $\pm 20\%$ 时,仪器色谱行为的变化,每个条件下各测试两次。可接受的标准为:主峰的拖尾因子不得大于2.0,主峰与杂质峰必须达到基线分离;各条件下的含量数据($n=6$)的相对标准差应不大于2.0%。

结论:对流速、pH、柱温的耐用性较好;使用不同品牌同型号、同品牌不同批号色谱柱,系统适用性均符合要求,含量测定结果基本一致,对色谱柱耐用性较好;增加流动相中有机相的比例,主峰与杂质峰的分离度远大于1.5,达到要求,各条件下的含量数据($n=6$)的相对标准差为0.78%小于2.0%。故耐用性良好。

3.11 样品的含量测定

对多批样品用高效液相色谱法进行含量测定。测得5批样品(20140820-1,20140820-2,20130612-1,20130512-1,20130426-1)中灯盏花乙素的含量分别为97.8%,101.2%,99.9%,101.0%,99.88%。

4 讨论

本文首次建立了2种测定注射用灯盏花乙素含量对比研究,经过系统试验研究表明:用紫外分光光度法和高效液相色谱法测定注射用灯盏花乙素含量几乎相等(差值在2%以内),单从测定结果看两种检测方法都适合作为注射用灯盏花乙素含量测定;而从本文研究结果看紫外分光光度法测定注射用灯盏花乙素含量方法的专属性不强会造成降解杂质干扰测定结果准确性。因而本研究者根据实验研究结果并结合了检测的成本、简便以及检测结果的准确性等综合考虑,认为用高效液相色谱法测定注射用灯盏花乙素的含量优于用紫外分光光度法。建议运用高效液相色谱法来测定注射用灯盏花乙素含量。

参考文献:

- [1] 史小琴,陈玉敏,王宇,等. 灯盏花乙素的研究进展[J]. 河北职工医学院学报,2008,25(4):80-84.
- [2] Beilharz EJ, Williams CE, Dragunow M, et al. Mechanisms of delayed cell death following hypoxic-ischemic injury in the immature rat: evidence for apoptosis during selective neuronal loss[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1995, 29(1): 1-14.
- [3] 张松,沈祥春,徐立,等. 注射用灯盏花素对麻醉犬急性心肌缺血的影响[J]. 中药药理与临床,2004,20(2):13-14.
- [4] 夏一帆,贾连旺. 灯盏花素片对冠心病心肌梗塞后无症状心肌缺血的疗效 [J]. 心血管康复医学杂志,2005,14(2):174-176.
- [5] 刘晓健,王欣楠,马岩,等. 灯盏花素注射液对大鼠心肌缺血再灌注心律失常的影响 [J]. 中药药理与临床,2008,24(1):33-34.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:374-377.
- [7] 方崇波. 紫外分光光度法测定灯盏花素粉末注射剂的含量[J]. 海峡药学,2012,24(10):78-80.
- [8] 龙海燕,刘雁鸣,黄晓燕,等. 紫外分光光度法测定灯盏细辛胶囊中总黄酮含量 [J]. 中南药学,2011,9(10):766-769.
- [9] 王群英,何选林. 高效液相色谱法测定灯盏花素片中灯盏花乙素的含量[J]. 中国药业,2008,17(16):37.
- [10] 戚爱棣. 高效液相色谱法测定灯盏花素片中灯盏花乙素的含量[J]. 中草药,2003,34(4):322-324.
- [11] 赵梅,谷俊峰. HPLC法测定灯盏花素注射液中灯盏花乙素的含量[J]. 贵州医药,2011,35(4):360.
- [12] 冯绍华,杨振乾,张静. HPLC法测定灯盏花素片中灯盏花乙素的含量[J]. 中国药品标准,2005,6(5):29-31.
- [13] 李守拙,潘海峰. HPLC测定半枝莲中野黄芩苷的含量[J]. 中草药,2003,34(2):183-184.
- [14] 张晓喻,李琪,杨必坤,等. RP-HPLC测定灯盏花素分散片中灯盏花乙素的含量 [J]. 现代仪器,2008,14(1):37-38.
- [15] 朱长福,同利琪,程功华,等. 灯盏花素片中灯盏花乙素的含量测定[J]. 河北中医药学报,2004,19(2):23-24.
- [16] 卢江燕,周井炎,涂一名,等. 高效液相色谱法测定灯盏花制剂中灯盏乙素含量 [J]. 分析测试技术与仪器,2004,10(2):118-120.
- [17] 何永志,刘新元. 灯盏花滴丸含量测定研究[J]. 中草药,2002,33(6):519.
- [18] 谢沐风. 如何建立高效液相色谱法测定有关物质的方法 [J]. 中国医药工业杂志,2007,38(1):45-48.

(编辑:杨阳)

Determination of Two Methods for Determination of the Content of Scutellarin for Injection

DONG Zhixu¹, ZHANG Guoli¹, ZHANG Wei¹, LI Xiaoying², WEN Na¹

(1. Drug Research Institute of Kunming Pharmaceutical Group Co., Ltd., Kunming 650100, China;

2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To determine the content of the injection Breviscapine by UV spectrophotometry and high performance liquid chromatography. **Methods** UV spectrophotometry using methanol as solvent, choose 335nm as wavelength. High performance liquid chromatography using Luan C₁₈ (150×4.6nm) as analytical column and the mobile phase was 0.05% phosphate water-acetonitrile gradient Elution. The column temperature was 35 °C, the flow rate was 1mL/min, the detection wavelength was set at 335 nm. **Results** UV spectrophotometry, Breviscapine in 5.0~15.0μg/mL within the range of absorbance was linear ($r=0.99985$), the average recovery was 99.20% ($n=9$), $RSD=0.82%$ ($n=9$), precision and repeatability RSD good, respectively for 0.15% and 0.93%; HPLC Breviscapine in 10.0~80.0μg/mL range and peak area showed a good linear relationship, $r=0.9998$, the average recovery was 100.69%. **Conclusion** Although UV spectrophotometry is simple, fast, but specificity is poor, susceptible to external environmental impacts. Therefore, considering the selective determination injection comparative advantage Breviscapine content by HPLC.

KEY WORDS: Breviscapine; Scutellarin for Injection; UV spectrophotometry; HPLC; determination