

反相高效液相色谱法测定珍黄丸中黄芩苷的含量

胡思一,徐晓卫(浙江省温州医学院附属第一医院,浙江 温州 325000)

摘要 目的:应用高效液相色谱法测定珍黄丸中黄芩苷的含量。方法:色谱柱为 Alltima C₁₈ (5 μ m, 4.6 \times 150mm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1),检测波长为 273nm,流速为 1.0mL/min。结果:黄芩苷在 7.4444~37.220 μ g 范围内进样量与峰面积呈良好线性关系($r=0.9997$);平均加样回收率为 98.58%, $RSD=0.65\%$ ($n=5$)。结论:本方法测定结果准确、灵敏、重现性好。

关键词 反相高效液相色谱法;珍黄丸;黄芩苷

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2005)04-0224-02

Determination of baicalin in Zhenhuang Wan by RP-HPLC

HU Si-yi, XU Xiao-wei (The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College of Zhejiang Province, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT **Objective:** To develop a RP-HPLC method for determination of baicalin in Zhenhuang Wan. **Methods:** Alltima C₁₈ column was used and methanol-water-acetic acid glacial (50:50:1) was used as mobile phase, detection wavelength was 273nm. **Results:** There was a good linear relationship between the concentration of baicalin and absorption area value in range of 7.444~37.220 μ g $r=0.9997$. The average recovery was 98.55% with $RSD=0.65\%$ ($n=5$). **Conclusion:** The method was repeatable and accurate.

KEY WORDS RP-HPLC; Zhen huang Wan; baicalin

珍黄丸由牛黄、珍珠、黄芩、三七等七味中药组成的制剂,用于治疗咽喉肿痛,疮疡热疔。处方中黄芩具有良好的抗炎、抗菌、抗变态反应的作用^[1],对该制剂的疗效具有较大的支持作用,其质量标准收载于《卫生部药品标准—中药成方制剂》^[2],该标准仅收载简单的定性检查,无法真正控制其内在质量,本实验选择黄芩苷作为内控指标,采用反相高效液相色谱法对黄芩苷进行含量测定。

1 仪器和试剂

Waters 515 高效液相色谱仪、Waters 2487 检测器(美国),HS 色谱数据处理软件。TU-1901 紫外分光光度计, BP211D 电子天平(1/10 万)。

黄芩苷对照品(批号 715—200010,由中国药品生物制品检定所提供);珍黄丸(批号 040419、040329、040212、040209、031211、031126,浙江天一堂药业有限公司生产);甲醇(色谱纯),其它试剂为分析纯;水为重蒸馏水。

2 实验方法

2.1 色谱条件 Alltima C₁₈ 色谱柱(5 μ m, 4.6 \times 150mm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1),检

测波长为 273nm,流速为 1.0mL/min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 60 $^{\circ}$ C 减压干燥 4h 的黄芩苷对照品适量,置 50mL 量瓶中,加 50% 甲醇适量,振摇,使溶解,超声处理 20min,放冷,用 50% 甲醇稀释至刻度,制得 0.0744mg/mL 溶液,摇匀即得。

2.2.2 样品溶液的制备 取珍黄丸适量,研细,混匀,精密称取 0.1g,置 25mL 量瓶中,加 50% 甲醇适量,振摇超声处理 20min,放冷,用 50% 甲醇稀释至刻度,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照液的制备 依处方量,按标准^[2]制备不含黄芩的阴性对照样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照液。

2.3 系统适应性试验 分别取对照品溶液、样品溶液、阴性对照液 20 μ L 注入色谱仪,记录色谱图,见图 1。

图 1 显示,黄芩苷保留时间为 10.6min,阴性对照色谱图在黄芩苷峰位置无假阳性峰,即本试验条件下黄芩苷与其他组分分离完全,表明其他组分对测定无干扰。黄芩苷与其他组分峰的分离度 >1.5 ,理论塔板数以黄芩苷峰计算为 3558。

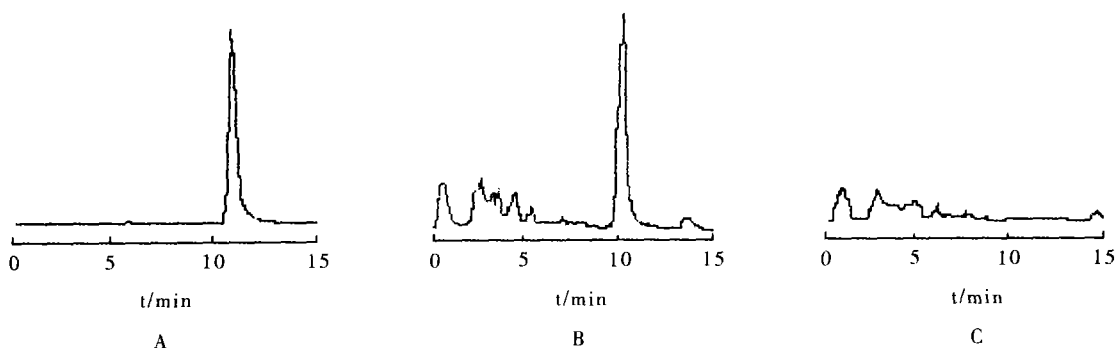


图1 高效液相色谱图

A - 对照品溶液; B - 样品溶液; C - 阴性对照液

3 结果

3.1 线性关系考察 分别精密量取1、2、3、4、5mL对照品溶液,置10mL量瓶中,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀。各浓度进样20 μ L,以峰面积为纵坐标,样品浓度为横坐标进行线性回归。得回归方程为 $Y = 229\ 756.18X + 5\ 202.39$ ($r = 0.9997, n = 5$),结果表明,黄芩苷在7.444 ~ 37.220 μ g范围内呈良好的线性关系。

3.2 精密度试验 依法对同一对照品溶液(0.0744mg/mL)连续进样5次,每次进样20 μ L,并进行测定,测定结果的 $RSD = 1.21\%$,表明所选定的色谱条件系统稳定。

3.3 重现性试验 取同一批批号珍黄丸样品,按“2.2.2”项下方法制备,分别依法测定。黄芩苷含

量 $RSD = 1.21\%$,表明所选定的色谱条件系统稳定。

3.3 重现性试验 取同一批批号珍黄丸样品,按“2.2.2”项下方法制备,分别依法测定。黄芩苷含量 $RSD = 0.97$ 表明本方法重现性好。

3.4 稳定性试验 按照含量测定条件,对同一批样品(040419)在0、2、4、8、12、24、36h,分别进样20 μ L,测定黄芩苷峰面积,计算黄芩苷含量, $RSD = 0.69\%$,表明样品稳定性好。

3.5 回收率试验 精密量取已知黄芩苷含量的样品(批号040419)5份,分别加入黄芩苷对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备,按给定色谱条件,分别测定含量5次,以实测值与理论值之比计算加样回收率,结果见表1。

表1 黄芩苷分析方法回收率试验($n = 5$)

样品中黄芩苷含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.2844	0.2835	0.5645	98.80		
0.3118	0.2835	0.5941	99.58		
0.2952	0.2835	0.5728	97.92	98.58	0.65
0.3203	0.2835	0.5987	98.20		
0.3284	0.2835	0.6074	98.41		

3.6 样品含量测定 分别吸取对照品溶液与供试品溶液,用0.45 μ m微孔滤膜滤过,各进样20 μ L,按前述色谱条件,以峰面积按外标法测定含量,结果见表2。

表2 制剂中黄芩苷含量测定结果($n = 6$)

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
040419	4.16	0.36
040329	4.56	1.52
040212	4.25	1.94
040209	4.19	1.96
031211	4.61	0.58
031126	4.55	1.15

较黄芩苷对照品及样品溶液在150~400nm间的紫外吸收光谱,结果表明在本实验条件下,黄芩苷在273nm处有最大吸收峰,故选择273nm为检测波长。

4.2 采用RP-HPLC法测定黄芩苷含量,操作准确简便、灵敏度高、重现性好,可用于药品质量的控制。

参考文献:

[1] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998:47.
 [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 卫生部药品标准-中药成方制剂[S]. 第八册. 北京:中国医药科技出版社,1995:115.

4 讨论

4.1 检测波长的选择 用紫外分光光度计分析比

收稿日期:2004-12-06