

高效液相色谱法测定大黄蛰虫丸中黄芩苷的含量

钱江 (浙江省宁波市药品检验所,浙江 宁波 315040)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定大黄蛰虫丸中黄芩苷含量的方法。方法 采用 LUNA C₁₈ (2)色谱柱,乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钠缓冲液(用磷酸调 pH 至 3.0)=25:75,流速为 1.0 mL·min⁻¹,检测波长为 278 nm。结果 黄芩苷线性范围为 526.4~2632.0 ng,平均回收率=98.87%,RSD=1.1%。结论 该方法简便、可靠、准确,可用于该制剂的质量控制。

关键词:大黄蛰虫丸;黄芩苷;高效液相色谱法

中图分类号:R917.792.1;R286 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)02-0153-03

Determination of baicalin in Dahuang Zhechong Wan by HPLC

中国现代应用药学杂志 2005年 4月第 22卷第 2期

Chin JMAP, 2005 April, Vol. 22 No. 2

• 153 •

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of baicalin in Dahuang Zhechong Wan. **METHOD** LUNA C₁₈ (2) column was used. The acetonitrile : 0.05 mol·L⁻¹ sodium phosphate monobasic solution (25: 75) was used as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set as 278 nm. **RESULTS** The linear range was 526.4 ~ 2632.0 ng, and the average recovery rate was 98.87%, with RSD = 1.1%. **CONCLUSION** The method is simple, reliable, accurate and can be applied to the quality control of the preparation.

KEY WORDS: Dahuang Zhechong Wan; baicalin; HPLC

大黄蛰虫丸是由熟大黄、土鳖虫、黄芩等十二味中药制成的丸剂,是 2000 年版中国药典一部收载的品种^[1]。药典规定对制剂中大黄、黄芩苷等作定性鉴别。本实验采用 HPLC 方法,测定大黄蛰虫丸中黄芩苷的含量,操作方便,定量专一,有利于对质量的有效控制。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪,二极管阵列检测器 (DAD), HP1100 化学工作站。乙腈为色谱纯,水为二次重蒸水,其他试剂均为分析纯;大黄蛰虫丸 (批号 0203XX, 0206XX, 0209XX, 0211XX, 湖南德康制药有限公司);黄芩苷对照品 (批号:110715-200212, 中国药品生物制品检定所)。

2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: LUNA C₁₈, 4.6 mm × 150 mm, 5 μm; 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠缓冲液-乙腈 (75: 25) 为流动相;流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 278 nm 进样量: 10 μL。理论塔板数按黄芩苷峰计算应不低于 5 000。

3 线性关系考察

精密称取黄芩苷对照品约 25.0 mg 置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,作为对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置于 10 mL 的量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,按上述色谱条件进样,以进样量 (ng) 峰面积进行线性回归,得回归方程为: $Y = 3.4281X - 9.62$ $r = 0.9998$ (线性范围: 526.4 ~ 2632.0 ng)

4 加样回收试验

精密称取已知含量的样品约 0.5 g (研细,过四号筛) 6 份,分别置 25 mL 量瓶中,分别精密加入贮备液 2.0 mL,另加入适量 50% 甲醇溶液,超声 30 min,放至室温,再加 50% 甲醇至刻度,照样品测定项下测定,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

序号	样品称量 (g)	黄芩苷含 量 (mg)	加入量 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)
1	0.2620	1.2576	1.0528	2.2937	98.41
2	0.2418	1.1606	1.0528	2.1993	98.66
3	0.2502	1.2009	1.0528	2.2457	99.24
4	0.2584	1.2403	1.0528	2.2653	97.36
5	0.2668	1.2806	1.0528	2.3389	100.52
6	0.2552	1.2249	1.0528	2.2676	99.04

注: (1) 样品批号为: 020615, 测得黄芩苷含量为: 0.48%; (2) 平均回收率 = 98.87% RSD = 1.1%

Note: (1) The batch number was 020615, the content of baicalin was 0.48%; (2) The average recovery was 98.87 with the RSD = 1.1%

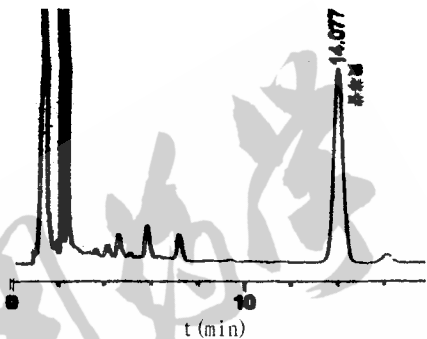


图 1 供试品色谱图

Fig 1 Chromatograms of sample

5 样品测定

取大黄蛰虫丸,研细,过四号筛,精密称取粉末约 0.5 g,置 25 mL 量瓶中,加入 50% 甲醇适量,超声 30 min,放至室温,再用 50% 甲醇稀释至刻度。用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。另取“3”项下对照品贮备液 2.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,作为对照品溶液,按“2”项下色谱条件进样,色谱图见图 1,结果以外标法计算,见表 2。

表 2 样品测定结果

Tab 2 Result of sample determination

批号	黄芩苷含量 (%)
0203xx	0.51
0206xx	0.48
0209xx	0.46
0211xx	0.54

6 精密度试验

取样品适量 (批号 020615),研细,过四号筛,精密称取粉末约 0.5 g (6 份),按“样品测定”项下方法测定,计算含量,黄芩苷 RSD = 0.3%。

7 讨论

7.1 本实验可为中国药典 2000 年版收载品种大黄蛰虫丸中黄芩苷含量测定提供方法学的依据。

7.2 用 DAD 检测器对黄芩苷对照品的色谱峰进行紫外扫描,黄芩苷在 278 nm 处有最大吸收,因此选择检测波长为 278 nm。

7.3 用 HP1100 化学工作站和 DAD 检测器对供试品图谱中

黄芩苷色谱峰进行纯度分析,结果表明,色谱峰纯度大于 990 (设定阈值),说明被检测物质在上述色谱条件中能得到完全分离。

7.4 对供试品预处理过程中,曾对水浴回流、超声提取、静置 24h 等提取方法进行比较,发现只要把大黄蛰虫丸研细充分(过四号筛),各种方法都能把黄芩苷提取完全。为了节约时间,减少操作步骤,故最终选择超声 30min 的提取方法。另外,对提取溶剂的选择上,曾对乙醇、50%乙醇、甲醇、50%甲醇进行筛选,发现除乙醇外,其他溶剂的提取都比较完全。

但为使溶剂极性与流动相接近,色谱峰峰型更好,故选择 50%甲醇作为溶剂,黄芩苷色谱峰的理论塔板数为 6 000 左右。

参考文献

- [1] 中国药典 2000 版.一部[S]. 2000: 358.
- [2] 赵路华.高效液相色谱法分析中成药成分手册[M].北京:中国医药科技出版社,1994: 539.

收稿日期: 2003-06-03