

HPLC 法测定安胎丸中黄芩苷的含量

陈小琼¹, 黄文峰²

(1.广东省江门市新会区中医院, 广东江门 529100; 2.广东省阳江市药品检验所, 广东阳江 529500)

[摘要] 目的: 测定安胎丸中黄芩苷的含量。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(50:50:1); 检测波长: 315 nm。结果: 黄芩苷的线性范围为 12.75~127.50 μg/ml, 平均加样回收率为 99.48%, RSD 为 1.49%。结论: 本法简便、准确、灵敏, 可用于安胎丸中黄芩苷的含量测定。

[关键词] 黄芩苷; 含量测定; 药品标准

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2007)11(c)-080-02

Content determination of baicalin in Antai Pill by HPLC

CHEN Xiao-qiong¹, HUANG Wen-feng²

(1.Xinhui Hospital of TMC, Jiangmen 529100, China; 2.Yangjiang Institute for Drug Control, Yangjiang 529500, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of baicalin in Antai Pill. **Methods:** High performance liquid chromatography(HPLC) was used with chromatographic column of Diamonsil C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol-water-glacial acetic acid (50:50:1) and the detective wavelength was 315 nm. **Results:** Baicalin had a good linearity in the range of 12.75~127.50 μg/ml, and the average recovery rate was 99.48% with RSD of 1.49%. **Conclusion:** This method is simple, quick, accurate, and suitable. It can be used for the quality control of Antai Pill.

[Key words] Baicalin; Content determination; Drug standard

安胎丸由黄芩、当归、白芍、白术、川芎五味中药组成, 有养血安胎的作用, 可用于治疗妊娠血虚、胎动不安、面色淡黄、不思饮食、神疲乏力。其药品标准已收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第1册^[1], 但无含量测定项。为确保药品质量, 保证用药有效, 笔者建立了 HPLC 法对主药黄芩中黄芩苷成分的含量测定项, 现将研究结果报道如下, 以供读者参考:

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-10ATvp 型岛津高效液相色谱仪; SPD-10Avp 紫外检测器; Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); SK3300H 型超声波清洗器(160 W, 50 kHz)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 715-200111, 含量测定用); 安胎丸(广东阳江制药有限公司生产, 批号: 060105、060106、060107、060108、060601、060602); 缺黄芩的阴性丸剂(广东阳江制药有限公司生产, 批号: 060106); 甲醇(Dima Technology Inc., 色谱纯); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 方法依据

参照《中国药典》2005年版一部“双黄连片”项下的含量测定方法^[2]来制定本品含量测定的方法。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以甲醇-水-冰醋酸(50:50:1)为流动相, 检测波长为 315 nm。理论塔板数按黄芩苷峰计算应不低于 2 000。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 ml 含 0.127 5 mg 的溶液即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品, 剪碎, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 100 ml, 密塞, 称定重量, 超声处理(160 W, 50 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.3.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例及制法制备缺黄芩的阴性样品(批号: 060106, 广东阳江制药有限公司提供), 按

[参考文献]

- 1 中华人民共和国国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 第15册. Z15-20.
- 2 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005. 22, 132, 156-157, 181-182.
- 3 袁金斌, 周志炎. HPLC 测定陈皮提取物及制剂中橙皮苷的含量[J]. 中成药, 2006, 28(3): 455-456.

(收稿日期: 2007-09-05)

为: 甲醇>70%乙醇>50%乙醇, 但由于本品为复方制剂, 以甲醇为提取溶剂所提取出的成分较复杂, 橙皮苷峰的分离度达不到要求。故本实验选择 70%乙醇作为提取溶剂, 既能大大减少杂质对含量测定的影响, 又能将橙皮苷提取完全。同时, 本实验还分别对回流和超声提取两种提取方式和提取时间进行了考察, 结果表明, 用 70%乙醇 50 ml, 回流提取 2 h, 能将山楂内消丸中的橙皮苷提取完全。

“2.3.2”方法制备缺黄芩的阴性对照溶液。

2.3.4 测定波长的选择 取黄芩苷对照品溶液(50 μg/ml)适量,在200-400 nm波长范围内扫描,结果在278 nm和315 nm波长处有最大吸收,但278 nm波长处杂质较多,峰面积所占比例较小,故选择315 nm波长处测定。

2.4 专属性试验

分别吸取黄芩苷对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液10 μl注入色谱仪。结果表明,对照品溶液、供试品溶液均在相同保留时间处出现色谱峰,阴性对照溶液的峰面积为样品峰面积的0.3%(<0.5%),可认为无干扰,色谱行为见图1。

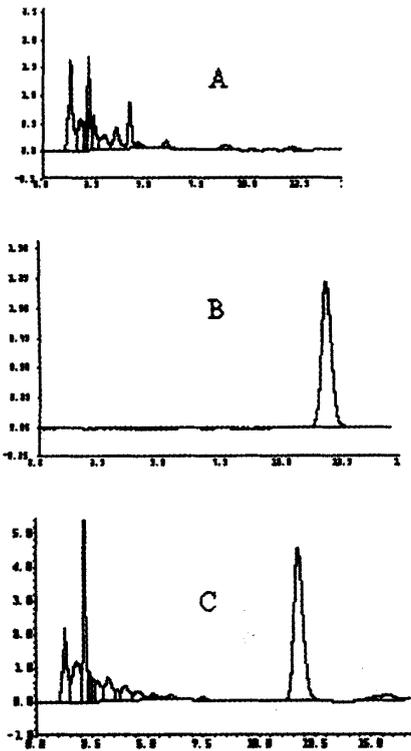


图1 各溶液的HPLC图谱
(A: 阴性对照溶液; B: 对照品溶液; C: 供试品溶液)

2.5 线性关系的考察

精密称取黄芩苷对照品12.75 mg于100 ml容量瓶中,加50%甲醇适量,振荡使溶解,加50%甲醇稀释至刻度。然后分别精密吸取1,3,5,7,10 ml加入10 ml容量瓶中,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀;分别吸取10 μl,注入高效液相色谱仪中,测定峰面积。

以对照品浓度(C)作为横坐标,峰面积(A)作为纵坐标,进行线性回归,得回归方程: $A=2.74 \times 10^3 C - 2.65 \times 10^4$, $r=0.9999$ 。结果显示,黄芩苷在12.75~127.50 μg/ml范围内具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验

取黄芩苷对照品溶液(63.75 μg/ml)10 μl注入液相色谱

仪中,测定6次,测得峰面积平均值为1 696 615, $RSD=0.22\%$ 。

2.7 重复性试验

取同一批供试品(批号060106)约0.5 g,按“2.3.2”方法制备并测定,测得平均含量为58.04%, $RSD=0.70\%$,表明方法重复性很好。

2.8 加样回收率试验

取同一批供试品(批号060106,黄芩苷含量为58.85 mg/丸)6份,精密称定,分别精密加入黄芩苷对照品2.420 0 mg,按“2.3.2”方法制备并测定,结果见表1。

表1 加样回收率试验

序号	样品中的含量 (mg)	加入对照 品量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	2.597 0	2.420 0	5.066 2	102.03	99.48	1.49
2	2.465 2	2.420 0	4.866 4	99.22		
3	2.460 4	2.420 0	4.835 1	98.13		
4	2.461 3	2.420 0	4.888 2	100.29		
5	2.595 1	2.420 0	4.994 0	99.13		
6	2.461 3	2.420 0	4.835 5	98.11		

2.9 稳定性试验

精密吸取同一批供试品(批号060106)溶液,分别在0, 2,4,6,8,10,24 h,注入高效液相色谱仪测定,结果 $RSD=0.60\%$,表明样品在24 h内具有很好的稳定性。

2.10 样品含量测定

在本实验的色谱条件下,分别取10 μl对照品溶液和供试品溶液注入液相色谱仪,测定6批安胎丸黄芩苷的含量,结果见表2。

表2 6批样品的含量测定

序号	批号	含量(mg/丸)	平均含量(mg/丸)	RSD(%)
1	060106	58.85	58.38	0.70
2	060105	58.60		
3	060107	58.29		
4	060108	57.80		
5	060601	58.69		
6	060602	58.04		

3 讨论

笔者曾将流动相甲醇-水-冰醋酸(50:50:1)和流动相甲醇-水-磷酸(50:50:0.2)比较,发现前者的理论塔板数相对较高,故将磷酸改为冰醋酸。

该法简便、准确、灵敏度高、重现性好,可用于该药的含量测定,暂定本品每丸含黄芩以黄芩苷($C_{21}H_{18}O_{11}$)计,不得少于43.0 mg。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 1989.76.
[2] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005.407,附录114.

(收稿日期:2007-09-03)