

文章编号: 1008-9926(2009)04-0349-02 中图分类号: R927.2 文献标识码: A

高效液相色谱法测定茶黄酊中黄芩苷的含量

姜 韧, 刘 刚, 谭生建, 张 华

(解放军第306医院 药学部 北京 100101)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定茶黄酊中黄芩苷含量的方法。方法 色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(150mm ×4.6mm, 5μm)。乙腈-0.5%三乙胺溶液(21.79磷酸调pH值至3.0)为流动相,流速:1mL/min,检测波长278nm。结果 以峰面积对进样浓度线性回归,回归方程: $Y=0.03142X-0.3412$,线性范围22.40~201.6μg·mL⁻¹, $r=0.9999$ 。黄芩苷回收率为97.2%;RSD为1.2%。结论 本方法精密度高、准确度高,操作简便,可用于茶黄酊中黄芩苷的含量测定。
关键词: HPLC; 茶黄酊; 黄芩苷

Determination of Baicalin in Chahuang Ding by HPLC

JIANG Ren, LIU Gang, TAN Sheng-Jian, ZHANG Hua

(Department of Pharmacy, Hospital 306 of PLA, Beijing 100101 China)

ABSTRACT: **Aim** To develop an HPLC quantitative method for determination of baicalin in Chahuang Ding. **Methods** The chromatographic conditions involve Column C₁₈ (150mm ×4.6mm, 5μm) with acetonitrile-0.5% triethylamine (21.79 adjusted to pH 3.0 by phosphoric acid) as the mobile phase. The flow rate was 1mL/min and monitored at 278nm. **Results** The regression equation for baicalin was $Y=0.03142X-0.3412$, $r=0.9999$ and the linear range was 22.40~201.6μg·mL⁻¹. The average recovery of Catechin was 97.2%, RSD 1.2%. **Conclusion** This method is sensitive, time-saving and accurate.

KEY WORDS: HPLC; Chahuang Ding; Catechin

茶黄酊收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》(2002年版)中,由黄芩、黄柏、儿茶、红花、冰片和苯甲醇以80%乙醇为溶剂提取加工制成。具有清热消肿,燥湿收敛,止血功能。临床上用于Ⅰ、Ⅱ度烧伤创面的治疗。茶黄酊质量标准中只有性状、鉴别等质量控制项目。黄芩苷是茶黄酊中的有效成分。有关黄芩苷的含量测定方法报道有高效液相色谱法^[1,2],茶黄酊中黄芩苷含量方法未见报道,本文建立了高效液相色谱法测定茶黄酊中黄芩苷含量的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Agilent 1200系列): G1311A 四元色谱泵, G1329A 自动进样器, G1315B 二极管阵列检测器, G2170BA 色谱工作站, G1316A 柱温箱和 G1379B 在线脱气机(均为Agilent公司)。黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所);乙腈为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。茶黄酊(规格:100mL,本院制剂室,批号:071029、071102、

071103)。

1.2 溶液制备 (1)对照品溶液 精密称取黄芩苷对照品22.40mg置100mL量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为黄芩苷对照品储备溶液(含黄芩苷224.0μg·mL⁻¹)。精密量取10mL,置50mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为黄芩苷对照品溶液(含黄芩苷44.80μg·mL⁻¹)。(2)供试品溶液 精密量取茶黄酊5mL,置50mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。(3)阴性溶液 按茶黄酊处方及工艺制备不含黄芩的供试品溶液,精密量取5mL,置50mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为茶黄酊阴性对照品溶液。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(150mm ×4.6mm, 5μm),柱温30℃;以乙腈-0.5%三乙胺溶液(21.79,磷酸调pH值至3.0)为流动相;流速:1mL/min;检测波长278nm。

2.2 专属性 在上述色谱条件下,取黄芩苷对照品

作者简介:姜 韧(1959-),女,北京人,副主任药师。研究方向:药物分析。Tel: (010)66356172

溶液,茶黄酞阴性对照品溶液和茶黄酞供试品溶液各 10 μ L,分别进样,记录色谱图,黄芩苷保留时间约为 11min,与相邻峰的分度度 >1.5,理论板数约为 8 500,见图 1。

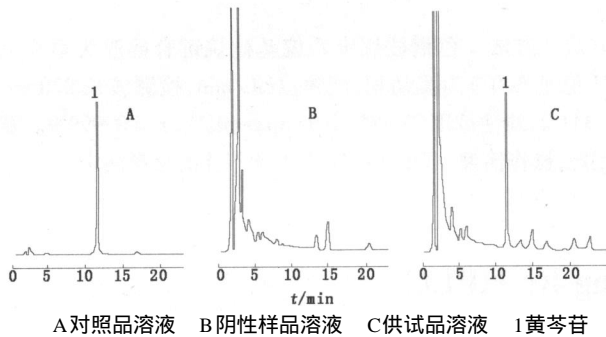


图 1 对照品和样品色谱图
Fig 1 HPLC Chromatogram of chemical reference substances and samples

2.3 精密度试验 取黄芩苷对照品溶液(黄芩苷 112.0 μ g \cdot mL⁻¹)重复进样 5 次,黄芩苷色谱峰面积平均为 3 578.7, RSD 为 0.24%。

2.4 重复性试验 取同一样品(批号:071029),每日测定 2 次,重复测定 3 日,黄芩苷平均含量为 0.564 1mg \cdot mL⁻¹, RSD 为 1.2%。

取同一样品(批号:071029),重复测定 6 次,黄芩苷平均含量为 0.565 8mg \cdot mL⁻¹, RSD 为 1.7%。

2.5 稳定性试验 配制供试品溶液,5h 内重复进样测定 12 次(约 25min 进样 1 次),黄芩苷含量的 RSD 为 2.0%,显示供试品溶液至少在 5h 内稳定。

2.6 线性关系 分别精密量取对照品溶液(含黄芩苷为 224.0 μ g \cdot mL⁻¹)1、2、5、6、9mL,置 10mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。分别精密量取 10 μ L 进样,记录色谱峰面积,以进样浓度(Y)对峰面积(X)线性回归,黄芩苷回归方程:

$$Y = 0.03142X - 0.3412, r = 0.9999$$

线性范围 22.40 ~ 201.6 μ g \cdot mL⁻¹。

2.7 定量限 取对照品溶液,用流动相稀释至峰高约为基线噪音的 10 倍进样,测得黄芩苷的定量限小于 0.2 μ g。

2.8 加样回收率试验 取同一样品(批号:071029),制备供试品溶液,按样品测定项下方法测定含量。精密量取茶黄酞 2mL,置 25mL 量瓶中,精密加入黄芩苷对照品溶液(黄芩苷 206.2 μ g \cdot mL⁻¹)5mL,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为加样回收测定样品,按样品测定项下方法测定并计算回收率。回收率测定结果见表 1。

表 1 回收率测定结果 (n = 6)

Tab 1 Recovery of baicalin (n = 6)

取样量 (mL)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
2	1.116	1.031	2.105	95.9		
2	1.116	1.031	2.128	98.2		
2	1.116	1.031	2.113	96.7	97.2	1.2
2	1.116	1.031	2.105	95.9		
2	1.116	1.031	2.127	98.1		
2	1.116	1.031	2.132	98.5		

2.9 含量测定 按照上述方法制备黄芩苷的对照品溶液和茶黄酞供试品溶液,分别取对照品溶液和供试品溶液 10 μ L 依法测定,以外标法峰面积计算。测定了 3 批茶黄酞的含量,结果见表 2。

表 2 含量测定结果 (n = 3)

Tab 2 Results of sample determination (n = 3)

样品批号	黄芩苷含量 (mg \cdot mL ⁻¹)
071029	0.5579
071102	0.6031
071103	0.5963

3 讨论

3.1 在线光谱显示黄芩苷最大吸收波长在 278nm 左右,故确定 278nm 作为检测波长。

3.2 在研究分析的过程中可以看出,流动相中有机相和水相的比例有小的变动(1%变化)、pH 值在 2.6 ~ 3.2 范围变动,对测定结果也没有明显影响。

3.3 本方法精密度、准确度好,操作简便,可用于茶黄酞中黄芩苷的含量测定。

参考文献:

- [1] 刘刚,王海涛,赵森,等. HPLC 同时测定双黄连口服液中原绿原酸和黄芩苷含量 [J]. 解放军药学报, 2007, 23 (4): 299
- [2] 谭生建,刘刚,姜韧,等. 高效液相色谱法测定枳实导滞丸中橙皮苷和黄芩苷含量 [J]. 解放军药学报, 2006, 22 (5): 387
- [3] 刘冰,王蓉华,徐永波. HPLC 法同时测定银黄胶囊中绿原酸、黄芩苷含量 [J]. 中国药事, 2006, 20 (5): 303

(收稿日期: 2009-01-19; 修回日期: 2009-03-15)

(本文编辑 梁爱君)