

· 药物分析 ·

薄层扫描法测定健肝合剂中的黄芩苷含量

董冰¹, 原源², 袁继民², 宋茹² (1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 济南军区药品检验所, 济南 250022)

摘要:目的: 建立健肝合剂的质量控制标准。方法: 采用双波长薄层扫描法, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1)为展开剂, 检测波长 $\lambda_s = 275\text{nm}$, 参比波长 $\lambda_R = 365\text{nm}$, 测定该制剂中黄芩苷含量。结果: 线性范围0.80~2.40 μg , $r = 0.9990$, 平均回收率为97.74%, $RSD = 1.23\%$ ($n = 5$)。结论: 本法准确、简便, 适合该制剂中黄芩苷含量的测定。

关键词: 健肝合剂; 黄芩苷; 双波长薄层扫描法; 含量测定

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0111(2001)05-0296-02

Determination of baicalin in Jiangan mixture by TLCS

DONG Bing¹, YUAN Yuan², YUAN Ji-ming², SONG Ru² (1. College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Institute for Drug Control of the Jinan Military Region, Jinan 250022, China)

ABSTRACT; OBJECTIVE: To establish a method for the determination of baicalin in Jiangan mixture. **METHODS:** The content of baicalin was determined by dual-wavelength TLC-Scanning method with 275nm and 365nm as the detection and reference wavelength respectively and with the upper of EtOAc; Butanone; MeOH: H₂O (5:3:1:1) as developer. **RESULTS:** The linear range of baicalin was 0.80~2.40 μg , The average recovery was 97.74% ($RSD = 1.23\%$, $n = 5$) with linear relationship ($r = 0.9990$). **CONCLUSIONS:** The method is simple and accurate, which could be used for the quality control of Jiangan mixture.

KEY WORDS: Jiangan mixture; baicalin; TLCS; determination

健肝合剂系由茵陈、龙胆草、黄芩等中药制成的复方制剂, 对各种急性慢性肝炎、梗阻性黄疸等有较好的疗效^[1]。其中黄芩为佐药, 其有效成分为黄芩苷。为了有效的控制制剂的质量, 本文用薄层扫描法测定了健肝合剂中黄芩苷的含量^[2]。

1 仪器、试剂和材料

CS-9000型双波长薄层扫描仪(日本岛津); 微量定量毛细管(美国Drummond); 紫外分析仪UV-1型(上海顾村电光仪器厂); AS3120A超声震荡器(Autoscience)

硅胶G薄层色谱预制板(北京军事医学科学院)10cm×10cm; 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所); 所用试剂均为分析纯。健肝合剂由解放军第115医院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 薄层层析及扫描条件

取硅胶G薄层板, 110°C活化1h, 置干燥器中

备用; 展开剂: 醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1); 紫外光灯(365nm)下定位; 扫描条件: 参比波长 $\lambda_s = 275\text{nm}$, 检测波长 $\lambda_R = 365\text{nm}$, 反射法锯齿扫描, 宽度120mm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品, 加甲醇制成0.16mg·ml⁻¹的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品20ml, 水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解, 超声提取30min, 滤过, 滤器及残渣用甲醇分次洗涤, 合并滤液与洗液, 转移至50ml量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系的考察

精密吸取黄芩苷对照品溶液5, 8, 10, 12, 15 μl , 分别点于同一薄层板上, 按上述条件层析, 扫描测定。结果, 黄芩苷点样量(X)在0.80~2.40 μg 范围内与峰面积的积分值(Y)呈良好的线性关系, 回归

方程为:

$$Y = 38955X + 2.19424 \quad r = 0.9990$$

2.5 精密度试验

精密吸取黄芩苷对照品溶液 2 μ l, 5 份, 分别点于同一薄层板上, 按上述条件测定峰面积的积分值。结果 $RSD = 2.01\%$ ($n = 5$)。

2.6 稳定性试验

取层析后的薄层板立即进行测定和室温下放置不同时间进行测定。结果, 斑点峰面积积分值在 3h 内稳定, $RSD = 3.26\%$ ($n = 5$)。

2.7 重复性试验

取同一样品 5 份, 按“样品测定”项下的方法, 测定样品中黄芩苷的含量, 结果 $RSD = 2.53\%$ ($n = 5$)。

2.8 干扰试验

按处方量取除黄芩外的其余各药味按相同工艺制成阴性对照品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。取供试品溶液、对照品溶液及阴性对照溶液, 分别点于同一薄层板上, 按上述条件展开, 置紫外灯(365nm)下检视, 阴性对照溶液在与对照

品溶液相应的位置上无相应特征斑点显示。薄层色谱图见图 1。

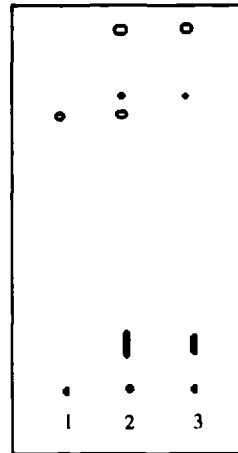


图 1 以黄芩苷为对照品的 TLC 图

1 - 黄芩苷 2 - 健肝合剂样品
3 - 无黄芩的健肝合剂样品

2.9 回收率试验

精密量取已测知含量的样品 1ml, 5 份, 分别精密加入黄芩苷对照品溶液各 1ml, 依法提取测定, 测定结果见表 1。

表 1 黄芩苷样品的回收率实验结果

取样量 ml	含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x} \pm s$	RSD (%)
1	0.2234	0.16	0.44013	98.9	97.74 \pm 0.94	1.23
1	0.2234	0.16	0.43321	97.4		
1	0.2234	0.16	0.43285	97.3		
1	0.2234	0.16	0.43807	98.5		
1	0.2234	0.16	0.42981	96.6		

2.10 样品测定

精密吸取供试品溶液 10 μ l, 黄芩苷对照品溶液 5 μ l 与 8 μ l, 分别交叉点于同一薄层板上, 按上述条件层析, 扫描测定, 以外标两点法计算, 测定结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

点样量 ml	测定值 mg/ml	含量 mg/ml ($\bar{x} \pm s$)	RSD%
10	0.28596	0.28478 \pm 0.004	1.19
10	0.28432		
10	0.28106		
10	0.29007		
10	0.28013		

3 讨论

3.1 样品中黄芩苷的提取实验曾比较了用纯甲醇和 50% 甲醇超声提取两种方法, 在使用纯甲醇提取后, 经薄层层析仍可检出黄芩苷, 故需在甲醇提取完全后用热水再提; 直接用 50% 甲醇提取, 测得结果

与上法无显著差别, 以 50% 甲醇超声提取较方便。

3.2 薄层层析条件曾试用硅胶 G 板, 氯仿 - 甲醇 - 丁酮 - 乙酰丙酮(16 : 10 : 5 : 1)、醋酸乙酯 - 甲醇 - 甲酸(8 : 1 : 1)、醋酸乙酯 - 丁酮 - 甲酸 - 水(5 : 3 : 1 : 1)等多种展开剂, 以醋酸乙酯 - 丁酮 - 甲酸 - 水(5 : 3 : 1 : 1)所得色谱最理想, 展开斑点较圆整, 易于扫描。

3.3 在上述条件下,利用薄层层析, 扫描测定健肝合剂中黄芩苷的含量, 具有准确、快速、微量的特点。实验结果表明, 健肝合剂中确含有一定剂量的有效成分黄芩苷。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2000 版一部. 2000. 248.
[2] 胡 斯, 张武标, 王申东. 薄层扫描法测定复方逍遥合剂中黄芩苷的含量[J]. 中成药. 2000, 22(8): 584.