

小柴胡颗粒中黄芩提取物检查项补充检验方法

SGLC-LC-384

摘要：本文建立了小柴胡颗粒中黄芩提取物补充检验的 HPLC 测定方法。参照小柴胡颗粒中黄芩提取物检查项补充检验方法（BJY 202304）色谱条件，采用色谱柱 Shim-pack Velox C18 分析，结果显示供试品色谱中呈现与对照药材参照物中 5 个主要特征峰保留时间相对应的色谱峰，其中峰 1 与峰 4 与对照品参照物峰保留时间一致。理论板数按黄芩苷峰计算远大于 5000，各特征峰峰形和分离度良好，满足检测要求。此方法可为小柴胡颗粒中黄芩提取物的检测提供参考。

关键词：小柴胡 黄芩提取物 补充检验方法 Shim-pack Velox C18 HPLC

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪；

色谱柱：Shim-pack Velox C18（2.7 μm ，4.6 \times 100 mm；P/N：227-32011-03）；

纯水机：PR-FP-0120 α -MT1（+ 60L 水箱 + 取水器）

SHIMSEN Disc HPTFE 针式过滤器（P/N：380-00341）；

LC-MS 认证样品瓶 LabTotal Vial（P/N：227-34001-01）；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10（P/N：380-00751-02）；

SHIMSEN Pipet PMII-100（P/N：380-00751-04）；

SHIMSEN Pipet PMII-1000（P/N：380-00751-06）。

1.2 参照物溶液的制备

取黄芩对照药材 0.1g，加水煎煮 1.5 小时，滤过，滤液浓缩至近干，加入 50%乙醇溶液 25 mL，密塞，超声处理（功率 350W，频率 37kHz）45 分钟，取出，放冷，摇匀，滤过，滤液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，作为对照药材参照物溶液。另取黄芩苷对照品和汉黄芩苷对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 各含 60 μg 的混合对照品溶液，摇匀，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，作为对照品参照物溶液。

1.3 供试品溶液的制备

取本品，混匀，研细，取 1g（相当于含黄芩生药量 0.056g），精密称定，置具塞锥形瓶中，

精密加入 50%乙醇溶液 25 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 350W，频率 37kHz）45 分钟，取出，放冷，再称定重量，用 50%乙醇溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，滤液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得

1.4 分析条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18（2.7 μm ，4.6 \times 100 mm；P/N：227-32011-03）

柱温：20 $^{\circ}\text{C}$

检测波长：270 nm

流速：0.6 mL/min

进样量：5 μL

流动相：A：0.5%甲酸

B：甲醇

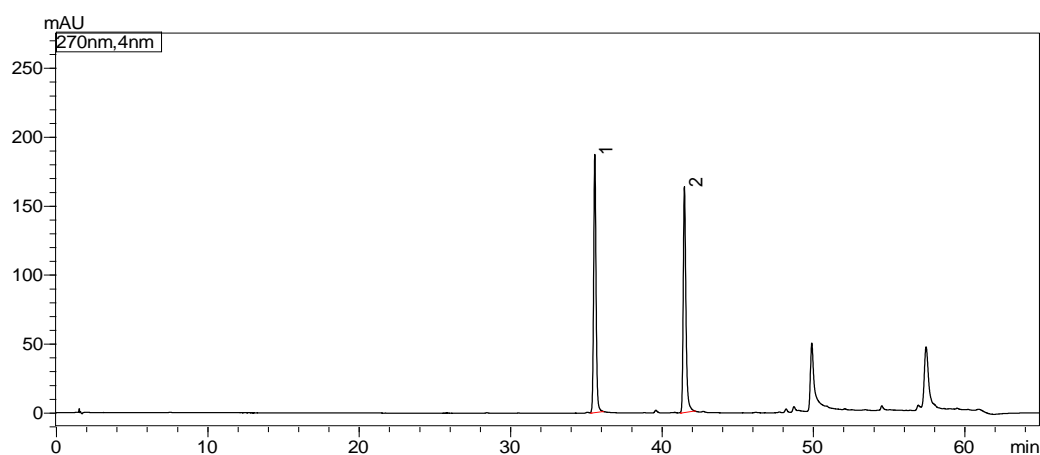
梯度程序如下：

时间 (min)	0	10	40	55	56	65
A (%)	95	75	45	20	95	95
B (%)	5	25	55	80	5	5

2. 实验结果

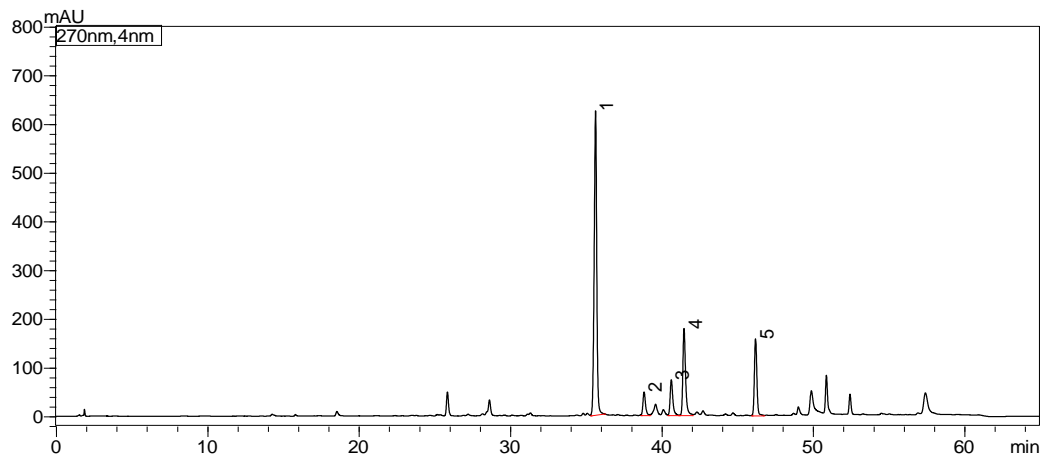
按照上述色谱条件（1.4）进行采集，参照物溶液和供试品色谱图如下：

对照品参照物溶液



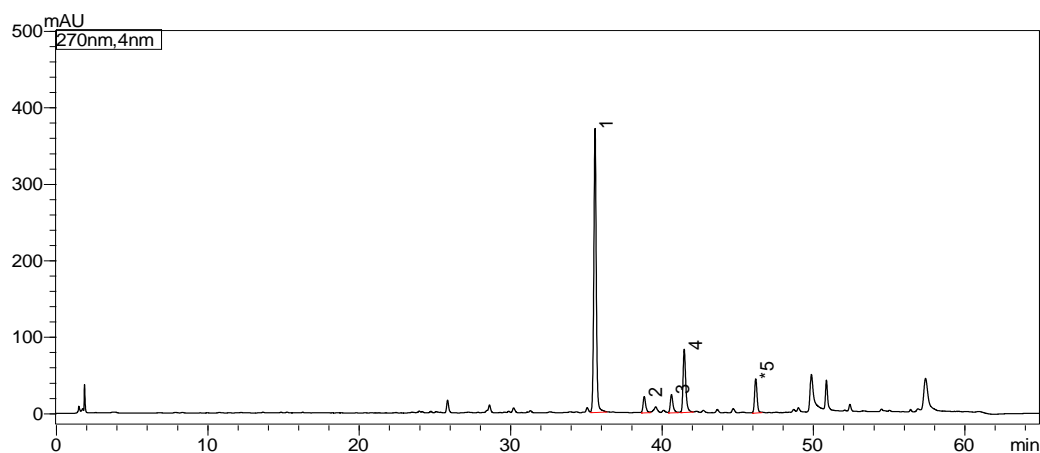
序号	目标物	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数	拖尾因子	分离度
1	黄芩苷	35.590	2075848	186794	251658	1.119	--
2	汉黄芩苷	41.514	2028087	163474	287606	1.318	20.020

对照药材参照物溶液



序号	目标物	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数	拖尾因子	分离度
1	黄芩苷	35.642	7406063	624410	220963	0.965	--
2	--	38.853	548035	47663	275173	1.207	10.741
3	--	40.646	884466	72464	285021	1.360	5.985
4	汉黄芩苷	41.489	2235408	177921	286000	1.339	2.747
5	黄芩素	46.212	1709905	157354	431758	1.106	16.008

供试品溶液



序号	目标物	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数	拖尾因子	分离度
1	黄芩苷	35.607	4170894	370620	249365	1.046	--
2	--	38.864	236081	20732	274269	1.181	11.219
3	--	40.657	280025	23282	283637	1.332	5.972
4	汉黄芩苷	41.501	1009737	81945	286282	1.321	2.751
5	黄芩素	46.224	468548	43683	428959	1.107	15.981

重现性

对照药材参照物溶液重现性

目标物	保留时间 (min, n=3)				峰面积 (Area, n=3)			
	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)
黄芩苷	35.642	35.642	35.627	0.02	7406063	7405341	7395545	0.08
峰 2	38.853	38.854	38.841	0.02	548035	549271	550327	0.21
峰 3	40.646	40.646	40.638	0.01	884466	886111	886337	0.12
汉黄芩苷	41.489	41.488	41.481	0.01	2235408	2237607	2234803	0.07
黄芩素	46.212	46.214	46.212	0.00	1709905	1715823	1719004	0.27

供试品溶液重现性

目标物	保留时间 (min, n=3)				峰面积 (Area, n=3)			
	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)
黄芩苷	35.607	35.571	35.571	0.06	4170894	4136160	4130522	0.53
峰 2	38.864	38.825	38.828	0.06	236081	234987	234066	0.43
峰 3	40.657	40.624	40.627	0.04	280025	278319	277894	0.40
汉黄芩苷	41.501	41.469	41.472	0.04	1009737	999602	999799	0.58
黄芩素	46.224	46.194	46.194	0.04	468548	466329	460739	0.86

3. 结论

本文建立了小柴胡颗粒中黄芩提取物的 HPLC 测定方法。参照小柴胡颗粒中黄芩提取物检查项补充检验方法（BJY 202304）色谱条件，采用色谱柱 Shim-pack Velox C18 分析，结果显示供试品色谱中呈现与对照药材参照物中 5 个主要特征峰保留时间相对应的色谱峰，其中峰 1 与峰 4 与对照品参照物峰保留时间一致。理论板数按黄芩苷峰计算远大于 5000，各特征峰峰形和分离度良好，满足检测要求。此方法可为小柴胡颗粒中黄芩提取物的检测提供参考。