

HPLC 测定芩蒺颗粒中黄芩苷的含量

汪文来¹, 郜志宏², 于智敏¹, 赵红霞^{1*}

(1. 中国中医科学院基础理论研究所, 北京 100700;

2. 山西晋城煤业集团总医院中医科, 山西 晋城 048006)

[摘要] 目的: 用 HPLC 测定芩蒺颗粒中黄芩苷的含量。方法: 采用 HPLC, 以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为流动相, 色谱柱 Alltech C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 25 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm。结果: 黄芩苷在 0.061 ~ 0.673 μg 线性关系良好, 平均回收率为 100.7%, RSD 1.7%。结论: 该工艺方法准确、简便, 可用于芩蒺颗粒中黄芩苷的含量测定。

[关键词] 芩蒺颗粒; 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0116-02

Determination of Baicalein in Qinloukeli by HPLC

WANG Wen-lai¹, GAO Zhi-hong², YU Zhi-min¹, ZHAO Hong-xia^{*}

(1. Institute of Basic Theory, China Academy of Traditional Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of Jincheng Coal, Jincheng 048006, China)

[Abstract] **Objective:** Determination of baicalein in Qinloukeli by HPLC. **Method:** The separation was performed on Alltech C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at 25 ℃. The mobile phase was composed of methanol-water-phosphorous acid solution (47:53:0.2) with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detective wavelength is at 280 nm. **Result:** Hesperidin was linear within the range of 0.057 2-0.629 2 μg ($r = 0.999\ 9$). The average recovery for hesperidin was 99%, and RSD was 1.23%. **Conclusion:** The method was selective, accurate and simple, and suitable for controlling the quality of Qinloukeli.

[Key words] Qinlou Keli; baicalein; HPLC

煤工尘肺是指煤矿工人在开采过程中由于工种不同, 工人很容易接触煤尘、煤矸混合粉尘和矽尘, 从而引起肺的弥漫性纤维化。煤工尘肺的防治, 目前还缺乏确实、有效的治疗药物, 有关中医中药防治本病尚处于零星探索阶段^[1-2]。芩蒺颗粒系由黄芩、丹参等中药组成, 具有清热化痰、理气活血、润肺止咳之功, 临床上可用于治疗尘肺病, 证见咳嗽, 咳痰, 气短气急, 胸闷, 胸痛, 呼吸困难, 疲倦乏力者。其君药为黄芩, 故以黄芩的活性成分黄芩苷为指标, 采用 HPLC 测定其含量, 为该制剂的质量控制提供了快速、准确的测定方法。

1 材料

1.1 仪器 HP1100 型全自动高效液相色谱仪, G1315B 二极管矩阵检测器, HPCHEM 化学工作站, GA1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1316A 恒温箱, G1314AVWD 检测器。

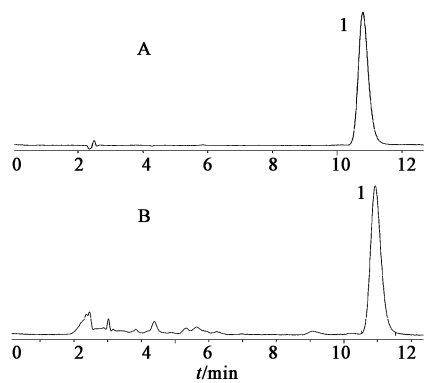
1.2 材料 黄芩药材购自北京燕京药材公司, 产地河北, 经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 干燥根的饮片; 黄芩苷对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号 110715-200815 (含量测定用); 甲醇 (色谱纯), 水为高纯水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3] 色谱柱 Alltech C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 25 ℃, 流动相 甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm。理论板数按黄芩苷峰计算不低于 2 500。见图 1。

[收稿日期] 2011-08-23

[通讯作者] * 赵红霞, Tel: 64014411-2516, 13693678283, E-mail: zhaohongxia7000@yahoo.com.cn



A. 对照品;B. 供试品; 1. 黄芩苷

图 1 芩菱颗粒中黄芩苷的 HPLC

2.2 样品制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取在 60 ℃ 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品 3.06 mg,加甲醇制成每 1 mL 含黄芩苷 0.061 2 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.1 g,精密称定,加 70% 乙醇 20 mL,加热回流 1 h,放冷,滤过,滤液置 100 mL 量瓶中,用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,即得。

2.3 测定方法 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1,3,5,7,9,11 μL,注入液相色谱仪,以峰面积积分值为纵坐标,对照品的量为横坐标,绘制标准曲线并计算回归方程,得到黄芩苷的回归方程为 $Y = 9\,564.85X - 2\,221.54$ ($r = 0.999\,9$),线性范围 0.061 ~ 0.673 μg。

2.4.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL,连续测定 6 次,记录峰面积并计算 RSD,黄芩苷峰面积 RSD 0.52%,表明精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批供试品(批号 100506)6 份,按供试品溶液制备方法制备,结果黄芩苷含量的 RSD 0.99%,表明重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取供试品溶液,按 2.1 项下条件,于 0,2,4,6,8,12,24 h 分别进样测定,计算。黄芩苷峰面积 RSD 0.87%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收试验 取已知含量的供试品(批号 100506),分别加入对照品适量,制备供试品溶液,测定,计算回收率,见表 1。

表 1 黄芩苷回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.051 5	3.989	3.80	7.831	101.1	100.7	1.7
0.048 5	3.761	3.80	7.512	98.7		
0.052 2	4.043	3.80	7.942	102.6		
0.047 2	3.662	3.80	7.416	98.8		
0.049 9	3.868	3.80	7.755	102.3		
0.0515	3.991	3.80	7.821	100.8		

2.5 样品测定 芩菱颗粒(批号 100506,100508,100510)按 2.2 项下制备溶液,分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪测定,见表 2。

表 2 3 批芩菱颗粒黄芩苷含量测定

批号	黄芩苷/mg·g ⁻¹			平均值	RSD
	1	2	3	/mg·g ⁻¹	/%
100506	77.1	77.7	77.7	77.5	0.45
100508	76.8	77.8	75.2	76.6	1.7
100510	77.2	78.0	76.0	77.1	1.3

3 讨论

黄芩苷的含量测定方法,已报道的有紫外分光光度法、高效液相色谱法等。本实验参照 2010 年版《中国药典》一部黄芩药材项下含量测定方法,采用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱,建立了芩菱颗粒制剂中黄芩苷含量测定的高效液相色谱法。实验中对供试品溶液制备方法进行了考察,比较了超声提取与回流提取,确定采用回流提取。在此基础上,采用正交设计 L₉(3⁴),以黄芩苷含量为指标,比较了提取溶剂甲醇、70% 乙醇和乙醇;提取时间 30,60,90 min;加入溶剂量 10,20,40 mL,确定 0.1 g 供试品加入 20 mL 70% 乙醇,加热回流提取 60 min。该方法简单、准确、重复性好,可作为该制剂质量控制的方法。

[参考文献]

[1] 霍建伟,李宝平,曾庆玉,等. 煤矿尘肺 853 例的死因分析[J]. 职业与健康,2009,25(1):24.
[2] 刘勇,沈航. 煤矿尘肺的发病及防治浅析[J]. 中国工业医学杂志,2010,23(1):79.
[3] 中国药典. 一部[S]. 2010:282.

[责任编辑 蔡仲德]