

微波协助提取在中药饮片含量测定中的应用(1) ——微波法与药典法测定黄芩中黄芩苷含量比较研究

方婧,付梅红*,杨洪军,张贝贝,王祝举,杨岚,张东
(中国中医科学院 中药研究所,北京 100700)

[摘要] 目的:建立微波协助提取法提取黄芩中有效成分黄芩苷,比较微波协助提取法与药典法提取黄芩苷优势。方法:采用 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),检测波长 280nm,柱温 30℃,流速 1 mL·min⁻¹。结果:微波提取时间 15 min,提取温度 120℃,提取溶剂 30% 乙醇。黄芩苷在 0.059 ~ 0.59 μg 呈良好线性关系, $r=0.9999$ 。平均回收率 99.36% ($n=6$)。结论:微波提取法较药典法提取黄芩苷更简便快速、结果准确,为一种符合绿色环保理念的含量测定方法,可用于检测黄芩饮片中有效成分黄芩苷含量。

[关键词] 微波提取;黄芩;黄芩苷;含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0046-03

Determination of Microwave-assisted Extraction of Chinese Cut Crude Drugs (1) Comparison of the Determination of Baicalin from *Scutellaria baicalensis* between Microwave-assisted Extraction and Chinese Pharmacopeia Method

FANG Jing, FU Mei-hong*, YANG Hong-jun, ZHANG Bei-bei, WANG Zhu-ju, YANG Lan, ZHANG Dong
(Institute of Chinses Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a microwave-assisted extraction(MAE) method for the extraction of the baicalin from *Scutellaria baicalensis*. Comparison of the determination of baicalin from *S. baicalensis* between MAE and Chinese pharmacopeia method. **Method:** Dikma Diamonsil C₁₈ column(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used. The mobile phase of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2). The temperature of column was 30℃. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was at 280 nm. **Result:** Microwave extractive time was 15 min, the temperature was 120℃, the extraction solvent was 60% ethanol. The calibration curve was in good linearity with in the range from 0.059 to 0.59 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 99.36% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, rapid, as well as precise and reliable, and can be used for the determination of baicalin in *S. baicalensis*.

[Key words] microwave-assisted extraction(MAE); *Scutellaria baicalensis*; baicalin; determination

微波提取是在传统的有机溶剂萃取基础上发展起来的一种新型萃取技术,具有快速,节省能源的特点,可降低环境污染。其操作方便,提取回收率高。最近几年来在中药微波提取中进行了尝试性研究。药典中提取时间在 40 min 以上的品种繁多,微波提取快速的特点,弥补了这一不足。我们对微波提取法跟药典中提取法含量测定进行了比较研究。

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis*

[收稿日期] 20110325(009)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003);国家科技支撑计划(2006BAI09B07-02)

[第一作者] 方婧,技师,从事中药化学成分与质量评价研究, Tel:010-64062692

[通讯作者] *付梅红,研究员,从事中药化学与质量评价研究, Tel:010-64062692

Georgi 的干燥根。其功能主治为清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎。用于湿热、暑湿,胎动不安等证^[1]。黄芩苷为黄芩中主要活性成分,研究表明黄芩苷对孤养小鼠有显著的抗焦虑作用^[2],对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用^[3],有明显的解热作用^[4]等。《中国药典》(2010年版一部)黄芩项下,供试品溶液的制备方法为取黄芩粉末加30%乙醇加热回流3h。微波萃取技术提取的成分已涉及生物碱类、蒽醌类、黄酮类、皂苷类、多糖、挥发油、色素等^[5]。郭振库等对通过正交实验设计对微波提取溶剂、加热溶剂压力和微波辐射时间进行了考察^[6]。目前国内尚无微波用于有效成分含量测定中的文献报道,我们在完成黄芩饮片中有效成分微波提取方法的基础上,测定对购自北京同仁堂、永安堂、人卫饮片厂黄芩饮片的微波提取法与《中国药典》提取法黄芩苷的含量进行比较。

1 仪器与试剂

MDS-6型微波消解仪购自上海新仪微波化学科技有限公司,LC-20A型岛津高效液相色谱仪,黄芩苷购自中国药品生物制品检定所(110715-200514),甲醇为色谱纯(Fisher),乙腈为色谱纯(Fisher),水为重蒸馏水。

黄芩饮片购自北京同仁堂、永安堂、人卫饮片厂,采购日期2010年9月—12月,经本所何希荣主管药师鉴定为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* 的干燥根。

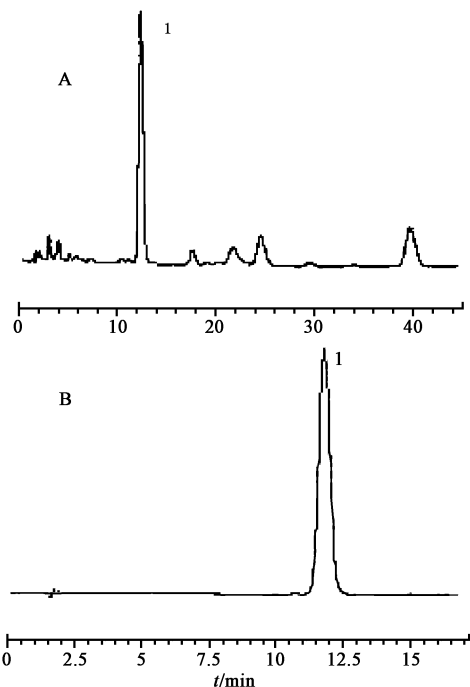
2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取黄芩饮片样品,粉碎(过40目筛),精密称定约0.15g,置微波提取罐中,精密加入30%乙醇20mL,称定质量,微波协助萃取,5min内升温至120℃,保温10min,取出,冷却至室温,再精密称定,用30%乙醇补足减失的质量,过滤,取续滤液1mL置10mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.2 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1mL含60μg的溶液,摇匀,即得。

2.3 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈色谱柱(4.6mm×150mm,5μm),流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),检测波长280nm,柱温30℃,流速1mL·min⁻¹。

2.4 检测限及定量限 取对照品储备液逐级稀释



A. 黄芩苷; B. 供试品; 1. 黄芩苷

图1 黄芩饮片 HPLC

后,按2.3色谱条件进行测定。以S/N=10求得黄芩苷的定量限为54ng;以S/N=3求得黄芩苷的检测限为16.4ng。

2.5 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品适量,分别配成0.059,0.118,0.236,0.354,0.472,0.59g·L⁻¹的对照品溶液,按2.3色谱条件进行测定,得回归方程为 $Y = 3\ 076\ 658.324X - 426.512$ ($r = 0.999\ 9$),表明黄芩苷在0.059~0.59μg呈良好的线性关系。

2.6 精密度考察 精密吸取同一对照品溶液10μL,在2.3色谱条件下进行测定,测得黄芩苷对照品峰面积RSD 0.11% ($n = 6$),表明精密度良好。

2.7 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液10μL,分别间隔0,1,5,7,9,24h,在2.3色谱条件下进行测定,测得黄芩苷峰面积RSD 0.21%,表明在24h内样品稳定性良好。

2.8 重复性考察 取同一批次本品粉末(过40目筛)6份,精密称定,分别按2.1供试品溶液的制备项下制备,分别精密吸取10μL注入液相色谱仪,按2.3色谱条件进行测定并计算黄芩苷含量,RSD 2.43% ($n = 6$),表明此法重复性良好。

2.9 回收率试验 采用加样回收法,取已知含量的黄芩饮片粉末约0.07g,精密称定6份,分别精密加

入约 6 mg 的黄芩苷对照品, 再按 2.1 供试品溶液的制备项下制备, 按 2.3 色谱条件进行测定, 测得平均回收率为 99.36% ($n=6$), RSD 2.84%, 结果见表 1。

表 1 黄芩饮片中黄芩苷加样回收试验

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.070 6	7.038 8	6.02	12.993 1	98.91	99.36	2.84
0.072 8	7.258 2	6.23	13.663 2	102.81		
0.071 2	7.098 6	6.08	13.167 2	99.81		
0.069 2	6.899 2	6.00	12.618 4	95.32		
0.070 2	6.998 9	6.05	12.885 9	97.31		
0.070 4	7.018 9	6.02	13.159 3	102.00		

2.10 样品测定 取购自同仁堂、永安堂、人卫饮片厂的黄芩样品, 按 2.1 供试品溶液的制备项下制备, 按 2.3 色谱条件进行测定, 计算黄芩苷的含量, 见表 2。

表 2 微波提取法样品中黄芩苷的含量 %

样品来源	微波法	药典法
同仁堂	8.02	8.22
永安堂	7.92	8.00
人卫饮片厂	9.89	9.82

3 微波提取法与药典法测定黄芩中黄芩苷含量的比较

分别取购自北京同仁堂、永安堂、人卫饮片厂的黄芩饮片(过 40 目筛)约 0.3 g, 精密称定, 加 30% 乙醇 40 mL, 加热回流 3 h, 放冷, 滤过, 滤液置 100 mL 量瓶中, 用少量 30% 乙醇分次洗涤容器和残渣, 洗液滤入同一量瓶中, 加 30% 乙醇至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。按 2.3 色谱条件进行测定, 计算黄芩苷的含量, 结果见表 2。

从测定结果可知, 微波提取法比药典法大幅度缩短了提取时间, 由加热 3 h 缩短为微波提取

15 min, 微波法比药典法提取时间缩短了 94.4%。因此微波提取法可用于黄芩中黄芩苷的含量测定。

4 讨论

作者考察了水、30% 乙醇、70% 乙醇、无水乙醇的不同溶剂提取黄芩饮片, 测定黄芩苷含量, 测得 30% 乙醇提取率最高, 因此选定提取溶剂为 30% 乙醇。

考察了 60, 100, 120 °C 的不同微波提取温度提取黄芩饮片, 测定黄芩苷含量, 测得在提取温度为 120 °C 时提取率最高, 因此选定微波提取温度为 120 °C。

考察了加热至 120 °C 后分别保温 0, 5, 10, 20 min 的不同保温时间, 测定黄芩苷含量, 测得在保温时间为 10 min 提取率最高, 因此采用保温 10 min 为最佳提取时间。

比较微波提取方法与药典法, 微波提取法与药典法测定的黄芩中黄芩苷含量 RSD < 2%, 其提取率非常近似, 而微波提取所用时间只有 15 min, 远小于药典法提取 3 h, 符合低碳、环保绿色理念, 值得推广应用。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:282.
- [2] 魏秀岩, 杨静玉, 吴春福. 黄芩苷对孤养小鼠的抗焦虑作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(2):142.
- [3] 胡秀梅. 黄芩苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 山西医科大学学报, 2010, 41(2):100.
- [4] 李倩楠, 葛晓群. 黄芩苷的解热作用及对细胞因子的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8):1068.
- [5] 傅荣杰, 冯怡. 微波萃取技术在中药及天然产物提取中的应用[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9):804.
- [6] 郭振库, 金钦汉, 范国强, 等. 黄芩中黄芩苷微波提取的实验研究[J]. 中草药, 2001, 32(11):985.

[责任编辑 蔡仲德]