

高效液相色谱法测定葛根芩连微丸中黄芩苷的含量

谭晓梅, 戴开金, 刘欢欢, 罗佳波

(第一军医大学中药新药研究实验室, 广州 510515)

摘要: 报道了葛根芩连微丸中黄芩苷的定量方法。HPLC 方法: C-18 色谱柱(250 × 4mm 10 μ m); 柱温为室温; 流速为 1.0ml/min; 检测波长为 280nm; 流动相为甲醇: 0.2% 磷酸(48: 52); 理论塔板数以黄芩苷计不低于 3000; 平均回收率为 100.8%, RSD% = 1.075% (n = 4)

关键词: HPLC; 葛根芩连微丸; 黄芩苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)04-0004-02

Determination of Baicalin in *Gegen-qinlian* Pill by HPLC

TAN Xiao-mei, DAI Kai-jin, LIU Huan-huan, LUO Jia-bo

(Key laboratory of Research of Traditional Chinese Medicine and New Drug of the First Military Medical University, Guangzhou, 510515)

Abstract: The quantitative method of baicalin in *gegen-qinlian* pill was reported. The HPLC conditions as follows: C₁₈ Column(250 × 4mm, 10 μ m), in room temperature, CH₃OH: 0.2% H₃PO₄ = 48: 52 as mobile phase, flow rate in 1.0ml/min, detected wave length at 280nm, and the number of theoretical plates calculated by baicalin peak was not less than 3000. The average recovery and relative standard deviation were 100.8% and 1.075% (n = 4), respectively.

Key words: HPLC method, *gegen-qinlian* pill, baicalin

葛根芩连微丸是由葛根、黄芩、黄连、甘草制成, 收载于中国药典 2000 年版一部。具有解肌清热, 止泻止痢的功效。黄芩为其中重要的一味药, 其主要活性成分为黄芩苷, 黄芩苷具有抗菌、解热、镇静及抗炎抗变态反应等作用^[1]; 因此测定黄芩苷的含量对于控制产品质量、确保临床疗效具有重要意义^[2,3]。本室继去年完成了本制剂中葛根素的含量

测定^[4]之后, 于今年又建立了高效液相色谱法测定葛根芩连微丸中黄芩苷的含量。

1 仪器与试剂

美国惠普 HP-1100 高效液相色谱仪(检测器: G1315A 紫外-可见光二级管阵列检测器); 甲醇(分析纯)(色谱纯-美国 Fisher 公司); 磷酸(分析纯); 对照品: 黄芩苷(中国药品生物制品检定所); 葛根芩连微丸(柳州市中药厂, 批号 980923, 990607, 990622)

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:大连依利特 G-18 柱(250×4mm 10μm);流动相:甲醇:0.2%磷酸(48:52);流速:1.0ml/min;柱温:室温;检测波长:280nm。

2.2 标准曲线 精密称取黄芩苷对照品 5.98mg,置 50ml 容量瓶中,加 20ml 甲醇溶解,加水至刻度制成标准品溶液。精确吸取标准溶液 1ml 2ml 4ml 6ml、8ml 于 10ml 量瓶中,70%的甲醇定容。各精密吸取 5μl 进样,测得峰面积,以浓度(μg/ml)对峰面积进行线性回归,得回归方程: $Y = 14.4441042X - 6.723247$, $r = 0.99998$ 。结果表明黄芩苷在 11.95-95.68(μg/ml) 浓度范围内线性关系良好。

2.3 精密度实验 取标准溶液重复进样 5 次,每次 5μl,结果见表 1。RSD 为 0.32%,结果表明,精密度较好。

表 1 精密度试验结果

序号	1	2	3	4	5	RSD%
峰面积	677.30951	678.93805	678.20827	680.55377	680.65649	0.32

2.4 供试品溶液的制备 取葛根芩连微丸,研细,精密称取约 0.5g,至 100ml 量瓶中,加 70% 甲醇 30ml,超声提取 1h,用 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤,进样 5μl,测得浓度,计算含量,结果见表 2。

2.5 阴性液的制备 按处方配比及制备工艺制备阴性样品,称取与葛根芩连微丸样品相当量的阴性样品,按供试品制备方法制备阴性液。

表 2 样品测定结果(n=3)

样品批号	黄芩苷含量(mg/g)	RSD(%)
980923	8.13	1.03
990607	10.41	1.44
990622	12.02	0.81

2.6 加样回收率实验 精密称取已测定黄芩苷含量的葛根芩连微丸粉末约 0.3g,至 100ml 量瓶中,加入黄芩苷对照品约 6mg,以 70% 甲醇 30ml,超声提取 1h,用 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤,进样 5μl,测得浓度,计算含量,求得平均回收率为 100.8% (n=4),RSD=1.075%,结果见表 3。

表 3 加样回收率测定结果

序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.510	5.90	8.516	101.8		
2	2.419	5.93	8.337	99.80		
3	2.413	6.08	8.610	101.92	100.8	1.075
4	2.511	5.73	8.223	99.69		

2.6 稳定性考察 取黄芩苷对照品和样品液各一份,在同一天内四个不同时间进样 5μl,测定浓度结果见表 4。

表 4 标准液和样品液的稳定性考察结果(n=5)

	溶液的浓度(μg/ml)					RSD (%)
	9:00	13:00	17:00	21:00	次日 9:00	
样品溶液	36.91537	36.85433	37.36894	36.97143	37.10817	0.343
标准液	59.68043	59.30859	59.10474	59.87414	59.74325	0.541

3 讨论

3.1 采用 70% 甲醇分别回流提取、超声提取 0.5、1、3h,结果表明,超声 1h,提取完全,本提取方法省时、简单。

3.2 三批样品测定结果表明黄芩苷的含量相差较大,建议生产厂家严格控制原料的质量以及进一步提高葛根芩连微丸质量标准,以控制产品质量。

3.3 本方法还为葛根芩连汤配伍规律的研究提供了黄芩苷含量测定方法。

参考文献:

[1] 中华人民共和国药典.一部[S].北京:化学工业出版社,2000,248-249.

[2] 吴齐贤,张志荣,郭平.高效液相色谱法测定中药复方制剂中黄芩苷的含量[J].华西药学杂志,1994,9(3):142-144.

[3] 郭平,李章万,蒋学华,等.HPLC 测定 12 种中药制剂中黄芩苷含量[J].药物分析杂志,115,15(5):13-16.

[4] 吴昭晖,谭晓梅,罗佳波.高效液相色谱法测定葛根芩连微丸中葛根素的含量[J].中国实验方剂学杂志,1999,12(6):10-12.