

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 °C, 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 °C. 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 二极管阵列检测器, HPCHEM 化学工作站, GA1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1316A 恒温箱, G1314AVWD 检测器。

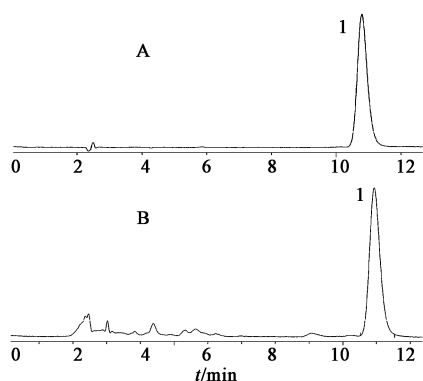
1.2 材料 黄芩药材购自北京燕京药材公司,产地河北,经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 干燥根的饮片;黄芩苷对照品购自中国药品生物制品检定所,批号 110715-200815(含量测定用);甲醇(色谱纯),水为高纯水,其余试剂为分析纯。

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 °C, 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 芩藜颗粒中黄芩苷的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4h的黄芩苷对照品3.06mg,加甲醇制成每1mL含黄芩苷0.0612mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末约0.1g,精密称定,加70%乙醇20mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液置100mL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5μL,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1,3,5,7,9,11μL,注入液相色谱仪,以峰面积积分为纵坐标,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 $Y = 9564.85X - 2221.54$ ($r = 0.9999$),线性范围0.061~0.673μg。

2.4.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液5μL,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0,2,4,6,8,12,24h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24h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 /%
0.0515	3.989	3.80	7.831	101.1	100.7	1.7
0.0485	3.761	3.80	7.512	98.7		
0.0522	4.043	3.80	7.942	102.6		
0.0472	3.662	3.80	7.416	98.8		
0.0499	3.868	3.80	7.755	102.3		
0.0515	3.991	3.80	7.821	100.8		

2.5 样品测定 芩藜颗粒(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5μL,注入液相色谱仪测定,见表2。

表2 3批芩藜颗粒黄芩苷含量测定

批号	黄芩苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			平均值 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
	1	2	3		
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,建立了芩藜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 $L_9(3^4)$,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30,60,90min;加入溶剂量10,20,40mL,确定0.1g供试品加入20mL70%乙醇,加热回流提取60min。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]