

文章编号: 1672-2019(2007)02-0131-02

·论著·

HPLC法测定黄芩配方颗粒中黄芩苷的含量*

雷 鹏, 刘 韶, 李新中, 徐平声

(中南大学湘雅医院 药剂科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 目的 建立黄芩配方颗粒中黄芩苷含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法测定黄芩配方颗粒中黄芩苷含量, 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6×250 mm); 流动相: 甲醇-0.05%磷酸 (65:35); 流速: 1 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 280 nm。结果 黄芩苷在 0.215~2.150 μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为 98.30%。结论 该方法简便可行、重复性好, 可作为黄芩配方颗粒质量评价的依据。

关键词: 黄芩配方颗粒; 高效液相色谱法; 黄芩苷

中图分类号: R446

文献标识码: A

Determination of baicalin in dispensing granule of scutellaria baicalensis georgi by HPLC*

LEI Peng, LIU Shao, LI Xin-zhong, XU Ping-sheng

(Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, P.R.China)

Abstract: [Objective] To determine the contents of baicalin in dispensing granule of scutellaria baicalensis georgi. [Methods] HPLC method was used to detect baicalin. Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm) column was used, and the mobile phase was a mixed liquid with MeOH-0.05% H₃PO₄ (65:35). The column temperature was set at 30℃ and the flow rate was 1 mL/min. [Results] A good linearity of baicalin was in the range of 0.215~2.150 μg and the average recycled rate was 98.30%. [Conclusions] The method is rapid, sensitive and accurate. It can be used to control the quality of dispensing granule of scutellaria baicalensis georgi.

Key words: dispensing granule of scutellaria baicalensis georgi; HPLC; baicalin

现代药理学表明,黄芩苷有清热燥湿、抗菌消炎的作用,为其有效成分^[1,2]。黄芩配方颗粒是以黄芩饮片为原料采用现代工艺制成的颗粒,临床供配方用。本实验测定了黄芩配方颗粒中黄芩苷的含量,为控制黄芩配方颗粒的质量提供了科学的依据。现报告如下:

1 仪器与试药

Agilent1100 高效液相色谱仪,包括 G1311A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1315A 二极管阵列检测器 (美国惠普公司)。AG285 分析天平 (METTLER);KS-600D 超声清洗机。黄芩苷对照品 (批号:0715-9909,中国药品生物制品检定所),黄

芩配方颗粒 (三九医药股份有限公司 0401021,广东一方制药有限公司 040108,江阴天江药业有限公司 0212039,四川绿色药业科技发展股份有限公司 021019,自制 20040625)。甲醇 (色谱纯),其他试剂分析纯,流动相用水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温: 30℃; 检测波长: 280 nm; 流速: 1 mL/min; 流动相为甲醇: 0.05%磷酸 (65:35)。理论塔板数按黄芩苷计算应不低于 4 000,在上述色谱条件下,对照品和样品的色谱图,见附图。

收稿日期: 2006-08-04

* 基金项目: 湖南省卫生厅中医药科技基金 (No:202050)

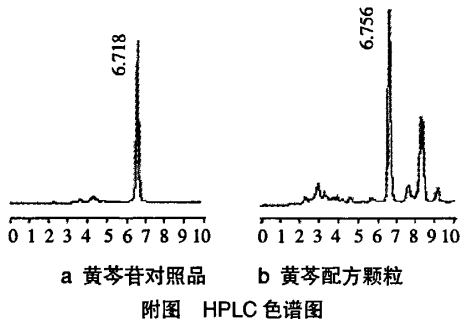
2.2 线性关系的考察

精密称取黄芩苷对照品 21.5 mg,加甲醇定容至 100 mL,作为对照品溶液。将上述对照品溶液制成一系列不同浓度的对照品溶液,进样,以峰面积对进样量作线性回归,得线性范围和回归方程为:

$C=0.3022A-6.7247,r=0.9999$,线性范围 0.215 ~ 2.150 μg 。

2.3 样品溶液的制备

取黄芩配方颗粒按不同厂家分别编号。分别取黄芩配方颗粒,碾成粉末,取粉末相当于原药材 0.3 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 80% 甲醇约 45 mL 超声提取 30 min,放冷,加 80% 甲醇置刻度,摇匀,滤过,取续滤液 10 mL 作为样品溶液。



2.4 精密度试验

吸取对照品溶液 5 μL ,连续进样 5 次,记录色谱图,结果黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.13%。

2.5 重复性试验

取同一批号配方颗粒粉末 5 份,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备并测定,黄芩苷含量为 166.34、167.85、168.61、166.07 和 168.19 mg/包,平均含量为 167.41 mg/包,RSD 为 0.68%。

2.6 稳定性考察

取同一供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12 h 进样,记录色谱图,结果黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.28%。表明供试品溶液在 0~12 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量配方颗粒粉末 5 份,每份约 20.00 mg,精称,分别添加浓度为 215.0 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芩苷对照品溶液 10 mL,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备并测定,计算,平均回收率为 98.30%,表明方法回收率较好,见表 1。

2.8 样品测定

精密吸取对照品溶液与黄芩配方颗粒各 5 μL ,按上述色谱条件测定,并计算本品每包中黄芩

苷的含量,见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

编号	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.432	2.150	4.588	100.28		
2	2.516	2.150	4.612	97.49		
3	2.474	2.150	4.565	97.26	98.30	1.37
4	2.485	2.150	4.578	97.35		
5	2.494	2.150	4.625	99.12		

表 2 黄芩配方颗粒中黄芩苷含量 (n=3)

编号	黄芩苷 (mg/包)
1	385.71
2	118.94
3	246.98
4	167.75
5	534.54

3 讨论

甲醇-磷酸水溶液为分离黄芩苷常用的流动相,通过试验得出用 0.05% 的磷酸水溶液即可有效分离黄芩苷,本法简便可靠,可作为黄芩配方颗粒含量测定的依据。对样品的提取,比较了水浴回流法、超声提取法,发现两者提取效率相似,但后者操作简单,故选择超声提取法对样品进行提取。经测定黄芩配方颗粒中黄芩苷含量,发现不同厂家的黄芩配方颗粒中黄芩苷含量变化较大。目前,各药厂生产的黄芩配方颗粒并无含量测定标准,只标明每袋相当于饮片 10.0 g,但 118.94 mg 和 534.54 mg 之间的差异是不容忽视的,2 号与 5 号样品如此大的含量差异是否会造成临床用药剂量无法把握应予以考虑。

而且,中国药典规定黄芩药材含黄芩苷不得低于 9.00%,转移率以 60.00% 计算,仅 5 号样品符合。分析其中的原因可能是黄芩中黄芩苷等黄酮的含量受产地,采收季节,储存时间等多因素影响,差异很大,以致造成不同厂家生产的黄芩配方颗粒有效成分含量差异显著。因此,有关厂家应对原材料进行质量控制,质量稳定的中药材是生产优质配方颗粒的先决条件;其次,应该采用合理的生产工艺,加强生产过程控制,实施 GMP 管理。只有这样,单味中药配方颗粒的产品质量将更加安全、有效、可控、稳定。

参 考 文 献:

(下转第 137 页)

给家庭和社会带来了极大的经济负担和精神负担。对 RP 患者进行临床确诊、家系调查及遗传方式判定,并进一步进行分子遗传学分析,研究突变位点、突变形式与临床表现的内在关系,有助于为临床遗传学工作者提供有价值的信息,为 RP 的基因诊断、产前诊断和植入前遗传学诊断创造良好的条件,为探求 RP 的防治奠定良好的基础。

参考文献:

- [1] RIVOLTA C, SHARON D, DEANGELIS MM, et al. Retinitis pigmentosa and allied diseases: numerous diseases, genes, and inheritance patterns [J]. Hum Mol Genet, 2002, 11 (10): 1219-1227.
- [2] 王培林.遗传学[M].北京:人民卫生出版社,2000:1060-1061.
- [2] WANG PL. Hereditary Disease[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 1060-1061. Chinese
- [3] 韩德民,王宁利.眼科学新进展[M].北京:人民卫生出版社,2002: 350.
- [3] HAN DM, WANG NL. Recent Advances in Ophthalmology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 350. Chinese
- [4] 石之口,王沙燕,戴勇.视网膜色素变性相关基因研究进展[J].中国生育健康杂志,2003,14(4):251.
- [4] SHI ZL, WANG SY, DAI Y. Advances in Retinitis Pigmentosa Associated Gene Research [J]. Chinese Journal of Reproductive Health, 2003, 14(4): 251. Chinese
- [5] WANG DY, CHAN WM, TAM POS, et al. Gene mutations in retinitis pigmentosa and their clinical implications[J]. Clin Chim Acta, 2005, 351(1-2): 5-16.
- [6] DRYJA TP, LI T. Molecular genetics of retinitis pigmentosa[J]. Hum Mol Genet, 1995, 4(9): 1739-1743.
- [7] RetNet, <http://www.sph.uth.tmc.edu/retnet/>, [2006-03-08].
- [8] YANG ZL, PEACHEY NS, MOSHFEGHI DM, et al. Mutations in the RPGR gene cause X-linked cone dystrophy[J]. Hum Mol Genet, 2002, 11(5): 605-611.
- [9] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 WD.分子克隆试验指南[M].第3版.北京:科学出版社,2002:91-92.
- [9] SAMBROOK J, RUSSELL DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M], 3rd ed. Beijing: Science Publishing House, 2002: 91-92. Chinese
- [10] CAPEANS C, BLANCO MJ, LAREU MV, et al. Linkage analysis in a large Spanish family with X-linked retinitis pigmentosa: phenotype-genotype correlation [J]. Clin Genet, 1998, 54 (1): 26-32.
- [11] MARIA GF, STACEY F, KINGA B, et al. Five novel RPGR mutations in families with X-linked retinitis pigmentosa[J]. Hum Mutat, 2001, 17(2): 151.
- [12] BADER L, BRANDAU O, ACHATZ H, et al. X-linked Retinitis Pigmentosa: RPGR Mutations in Most Families with Definite X Linkage and Clustering of Mutations in a Short Sequence Stretch of Exon ORF15[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44 (4): 1461-1462.
- [13] MEINDL A, DRY K, HERRMANN K, et al. A gene (RPGR) with homology to the RCC1 guanine nucleotide exchange factor is mutated in X-linked retinitis pigmentosa (RP3)[J]. Nat Genet, 1996, 13: 35-42.
- [14] DRIVAS GT, SHIH A, COUTAVAS E, et al. Characterization of four novel ras-like genes expressed in a human teratocarcinoma cell line[J]. Mol Cell Biol, 1990, 10(4): 1793-1798.
- [15] VERVOORT R, LENNON A, BIRD AC, et al. Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa [J]. Nat Genet, 2000, 25(8): 462-466.
- [16] BREUER DK, YASHAR BM, FILIPPOVA E, et al. A comprehensive mutation analysis of RP2 and RPGR in a North American cohort of families with X-linked retinitis pigmentosa[J]. Am J Hum Genet, 2002, 70(6): 1545-1554.
- [17] PUSCH CM, BROGHAMMER M, JURKLIES B, et al. Ten novel ORF15 mutations confirm mutational hot spot in the RPGR gene in European patients with X-linked retinitis pigmentosa[J]. Hum Mutat, 2002, 20(5): 405.
- [18] LIU L, JIN L, LIU M, et al. Identification of two novel mutations (E332X and c1536delC) in the RPGR gene in two Chinese families with X-linked retinitis pigmentosa[J]. Hum Mutat, 2000, 15(6): 584.
- [19] LI Y, DONG B, HU AL, et al. A novel RPGR gene mutation in a Chinese family with X-linked dominant retinitis pigmentosa [J]. Chin J Med Genet, 2005, 22(4): 396-398.

(张蕾 编辑)

(上接第132页)

- [1] 李新中,刘韶,雷鹏,等.薄膜-超声法制备黄芩苷固体脂质体纳米粒的工艺研究[J].中国医学工程,2004,12(5):21.
- [1] LI XZ, LIU S, LEI P, et al. Study on technique of preparing baicalin solid lipid nanoparticles by Filmultrasonic wave dissolving techniques[J]. China Medical Engineering, 2004, 12(5): 21. Chinese
- [2] 侯华新,黎丹戎,邱莉,等.几种天然药物提取物抗氧化活性和对肿瘤细胞杀伤作用的比较研究[J].中国现代医学杂志,1998,8(6): 38.
- [2] HOU HX, LI DR, QIU L, et al. Compared with the anti-oxidative effects of different nature product and their anti-tumor activity [J]. China Journal of Modern Medicine, 1998, 8(6):38. Chinese

(赵梓屹 编辑)