

HPLC法测定黄芩提取物中黄芩苷的含量

杜海燕¹,马 静²,郑 滔¹,杨 华¹,瓮 勃¹

(1. 天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂,天津 300142 2. 天津市中医医药集团有限公司销售分公司,天津 300050)

中图分类号: R972.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)08-0706-02

从唇形科植物黄芩干燥根中提取的黄酮类化合物(天津市药品标准,1990.293),具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎之功效(中国药典,1995)。本文以黄芩苷为定量指标,采用 HPLC法测定黄芩提取物中黄芩苷的含量。

1 材料与方法

1.1 仪器: 日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, SPD-6AV 可见紫外检测器, C-R3A型数据处理机; 日本岛津 UV-2100紫外分光光度仪。

1.2 色谱条件: 色谱柱: ODS-HG-3(id 4.6 mm×75 mm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(5:5:1); 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 280 nm; 进样量: 均为 5 μ L; 感量: 0.16 AUFS; 柱温: 室温。该条件下黄芩苷能得到快速、满意分离。

1.3 药品与试剂: 黄芩苷对照品: 购自中国药品生物制品检定所(供含量测定用),批号: 0715-9707(纯度 99.63%)。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为去离子水。样品: 由天津达仁堂制药厂提供。

1.4 对照品溶液的配制: 配制 50 μ g/mL黄芩苷的 50% 甲醇液。

1.5 样品供试液的配制: 取本品约 14 mg,精密称定,置 100 mL量瓶中,加 50% 甲醇适量,超声处理 30 min,放置,冷却至室温,并稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL,置 10 mL量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m滤膜过滤,即得。

2 结果与分析

2.1 定性分析: 采用薄层色谱法。取本品适量,加甲醇,制成每 1 mL含 0.2 mg 的溶液,作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品,加甲醇制成每 1 mL含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 V I D)试验,吸取上述 2种溶液各 2 μ L,分别点于同一聚酰胺薄膜(5 cm×7 cm)上,以冰醋酸为展开剂,

展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

2.2 线性关系考查: 精密吸取黄芩苷对照品溶液(浓度为 0.05 mg/mL)3, 5, 7, 9, 11 μ L,依次进样分析。经统计学计算得回归方程: $Y = -4465.35 + 247865X$, $r = 0.9999$,黄芩苷在 0.15~0.55 μ g 之间成线性关系。

2.3 精密密度实验: 取对照品重复进样 5次,每次 5 μ L,结果 $RSD = 0.68\%$ ($n = 5$)。

2.4 重复性实验: 取同一批样品,称取 6份,按拟定的方法测定含量,结果为 75.24%, $RSD = 0.59\%$ ($n = 5$)。

2.5 样品测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μ L,进样,分析。结果见表 1。

表 1 黄芩提取物中黄芩苷的含量测定结果 %

批号	黄芩苷含量		平均含量
9908-04-1	79.9	79.87	79.89
9908-05-1	80.23	80.24	80.24
9908-09-1	81.67	81.65	81.66
9908-09-2	78.50	78.51	78.50
9908-09-3	77.22	77.20	77.21

2.6 回收率测定: 取同批黄芩苷含量为 80.23% 的样品,精密称取 5份,依含量测定方法处理,计算回收率,结果为 99.64%, $RSD = 1.05\%$ ($n = 5$)。

2.7 稳定性实验: 将制备好的供试品溶液进行分析,以后每 1 h进样一次,重复 5次,供试品溶液的吸收面积在 5 h 内基本无变化。

3 讨论

3.1 波长的选择: 测定黄芩苷的紫外吸收光谱图,确定出 280 nm 处有最大吸收,故选择 280 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择: 选择甲醇-水-冰醋酸(50:50

收稿日期: 2001-04-11

作者简介: 杜海燕,女,1990年毕业于沈阳药科大学中药系,并获理学学士学位。现在天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂药研所任职,高级工程师。主要从事中药新药的研制及中成药制剂质量标准的制订工作。先后参加了本厂二类、三类、四类新药的研究与开发以及十几个老产品质量标准的制订等工作。在国内公开刊物上发表论文 5篇。

1)为流动相,黄芩苷保留时间为 5 min左右,样品中黄芩苷的分离效果好。

3.3 黄芩提取物的主要活性成分为黄芩苷,我们将原地方标准中的紫外分光光度法测定改为用高效液

相色谱法测定,操作简便、准确,分析快速,相对误差小,重现性好,使原有标准得到提高。该法可作为黄芩提取物的质量控制手段。

HPLC法测定红花中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的含量

刘红亚,黄志芳,罗泽渊

(四川省中药研究所,四川 成都 610041)

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)08-0707-02

红花 *Carthamus tinctorius* L. 为菊科 1年生草本植物红花的干燥花,是一种常用的活血化瘀药,具有活血通络,祛瘀止痛之功效。从红花中分离得到的 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷^[1],经药效学试验证明,具有抑制血小板聚集,对抗去甲肾上腺素引起的血管平滑肌收缩等作用。本文用 RP-HPLC测定了红花中 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的含量。方法简便,快速,灵敏,为控制红花药材的质量,提供了一个良好的方法。

1 仪器和药品

HP 1100型高效液相色谱仪 Chemstation 工作站;对照品 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷由红花中分离提纯得到(自制),HPLC 归一法测定其纯度高于 98%。所用试剂均为色谱纯。

样品红花由本所舒光明教授鉴定。

2 方法

2.1 色谱条件: 色谱柱: phenomenex (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (13.5: 86.5, pH= 2.2);流速: 1.5 mL/min;检测波长: 342 nm,柱温 25℃,见图 1。

2.2 检测波长的选择: 配制 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷的对照品(甲醇)溶液,用岛津 UV2401 型分光光度计进行扫描,在 254, 342 nm 处有最大吸收,选择 342 nm 波长进行含量测定。

2.3 测定方法: 取干燥红花样品粉碎过 40目筛,精密称取 0.3 g,置 10 mL 具塞试管中,准确加入 60% 乙醇 10 mL,超声处理 30 min^[2],离心 (5 000

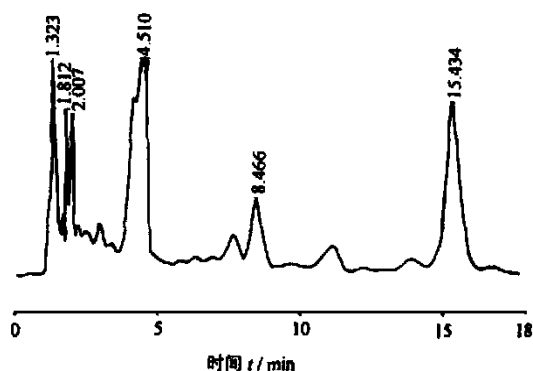


图 1 分离图谱

r/min) 5 min,吸取上清液 10 μL 直接进样,按上述测定条件进行测定,以外标法计算含量。

2.4 线性范围: 精密称取对照品适量,加甲醇配制成 0.1 mg/mL 的溶液。分别吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件,测定峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程: $Y = 1303.9X - 12.14$, $r = 0.9998$ 。说明 6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷在 0.2~1.0 μg 的范围内有良好的线性关系。

2.5 稳定性: 对照品溶液 (0.132 μg/μL) 5 μL 进样,按色谱条件进行分离、测定,每隔一定时间测定 1 次,结果在 24 h 内均稳定, $RSD = 0.70\%$ 。

2.6 精密度试验: 取对照品溶液 (0.132 μg/μL) 5 μL 进样,按色谱条件进行分离、测定,重复操作 5 次, $RSD = 1.62\%$,说明本方法精密度良好。

2.7 重复性试验: 精密称取同批红花药材样品 5 份,每份约 300 mg,按前述供试品溶液制备方法及

收稿日期: 2000-11-19

作者简介: 刘红亚 (1963-),重庆市人,助理研究员。1983年毕业于重庆药剂学校,在四川省中药研究所从事植物化学分析工作,1990年毕业于中国药科大学药学专业。曾参加国家自然科学基金课题——天然甜味剂研究;博士基金课题——决明降脂胶囊的研究;国家“九·五”攻关课题——红花质量标准规范化研究。Tel 028-7853187