RP-HPLC 法测定黄芩中 3 种黄酮

刘 源[1]，邓少伟[2]，原文鹏[3]，马双成[4]

(1. 深圳市第二人民医院，广州 深圳 518035；2. 国家中药品种保护审评委员会，北京 100061；
3. 深圳市人民医院，广州 深圳 518020；4. 中国药品生物制品检定所，北京 100050)

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根，为常用中药，具有清热泄火、解毒、止血、安胎等作用，其中黄酮类化合物为主要有效成分，含量较高的成分有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素[1]。因此，研究制定此 3 种成分含量的药材标准，对提高黄芩的整体质量水平有很大的意义。目前《中华人民共和国药典》2000 年版一部中[2]，仅对黄芩中的黄芩苷进行含量测定。本实验利用 RP-HPLC 梯度洗脱法，建立了同时测定黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素含量的方法，该方法可为黄芩药材质量控制提供科学依据。

1 仪器、试药和材料

Waters 高效液相色谱仪包括：LC—2690 泵，996 二极管阵列检测器，600 自动进样品，Millenium 32 数据处理软件系统(美国)。

甲醇为色谱纯；水为 Milli-Q；四氢呋喃(THF)、磷酸、甲醇和乙醇为分析纯。黄芩样品分别购自深圳市华辉药业公司，经深圳市人民医院中药室主任原文鹏副主任中药师鉴定为黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。

黄芩苷对照品(中国药品生物检定所提供，含量大于 98%)；汉黄芩苷和黄芩素对照品(自制，HPLC 归一化法计算其含量大于 98%)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件：色谱柱为 Lichrospher C_{18} 柱 (250 nnm × 4.6 mm，5 μm)；流动相为：1. CH_3OH，2. H_2O-THF-H_3PO_4 (85 ∶ 12 ∶ 0.3) 梯度洗脱时间程序见表 1；检测波长为 275 nm；体积流量为 1 mL/min；进样量为 10 μL，色谱图见图 1。

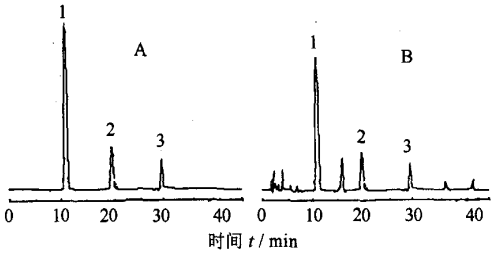
2.2 对照品溶液的制备：取黄芩苷 5 mg，汉黄芩苷 (0.1 mg/mL) 5 mL 和黄芩素 (0.1 mg/mL) 2 mL 置同一 25 mL 容量瓶内，用甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。

2.3 供试品溶液的制备：取黄芩细粉(过 4 号筛) 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加 70% 乙醇 100 mL，称质量，超声处理 30 min，取出，放冷，再称质量，用 70% 乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，弃去初滤液，取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜，即得供试品溶液。

表 1 含量测定梯度洗脱时间程序

Table 1 Gradient elution in quantitative analysis

时间/min	流动相 1/%	流动相 2/%
0	20	80
15	20	80
25	30	70
40	30	70
41	20	80



1-黄芩苷 2-汉黄芩苷 3-黄芩素

1-baicalin 2-wogonoside 3-baicalein

图 1 对照品(A)和黄芩(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substances (A) and *S. baicalensis* samples (B)

2.4 线性关系考察：取 5 个不同浓度的对照品溶液分别进样 10 μL，按上述色谱条件测定峰面积，以对照品进样量 (μg) 为横坐标 (X)，以峰面积值为纵坐标 (Y) 进行线性回归，得回归方程及线性范围分别为：黄芩苷：$Y = 3\ 202\ 474\ X + 794\ 79$，$r = 0.999\ 9$，0.4～2.0 μg；汉黄芩苷：$Y = 3\ 607\ X + 783.5$，$r = 0.999\ 9$，0.4～0.20 μg；黄芩素：$Y = 3\ 122\ X + 688.2$，$r = 0.999\ 9$，0.04～0.20 μg。

2.5 精密度试验：精密吸取对照品溶液 10 μL，连续进样 5 次，按上述色谱条件测定，测得峰面积，3 种成分的 RSD 分别为：黄芩苷 0.94%；汉黄芩苷

收稿日期：2004-11-15

作者简介：刘 源，女，1989 年毕业于北京中医药大学中药学院，获医学学士学位，主管中药师，现在深圳市第二人民医院药学部临床药学室工作，主要研究方向为中药、民族药的鉴定、整理、新制剂、新剂型开发及质量控制、医院药房管理、临床药学等。

1.21%；黄芩素 0.67%。

2.6 稳定性实验：精密吸取对照品溶液 10 μL，分别于 2、4、6、8、10、24 h 进样，按上述色谱条件测定，测得峰面积，3 种成分的 RSD 分别为：黄芩苷 0.74%；汉黄芩苷 1.11%；黄芩素 0.57%。结果表明对照品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验：取同一批样品 5 份，按“2.3”项制备供试品溶液，按上述色谱条件测定，结果平均质量分数为：黄芩苷 10.26%，RSD=1.14% (n=5)；汉黄芩苷 2.77%，RSD=1.34% (n=5)；黄芩素 0.77%，RSD=1.69% (n=5)。

2.8 加样回收率试验：取已测知含量的样品 0.05 g 5 份，精密称定，精密加入各种对照品溶液，照上述方法提取，测定，结果平均回收率为：黄芩苷 100.52%，RSD=1.23% (n=5)；汉黄芩苷 99.58%，RSD=1.99% (n=5)；黄芩素 99.67%，RSD=1.04% (n=5)。

2.9 样品测定：照上述方法提取，测定，结果见表 2。

表 2 5 批黄芩样品含量测定结果 (n=4)

Table 2 Quantitative analysis of five *S. baicalensis* in samples (n=4)

批号	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素
1	12.15	2.77	1.62
2	13.14	2.94	1.47
3	12.88	2.87	1.82
4	10.52	2.58	1.65
5	9.99	2.62	1.19

3 讨论

3.1 《中国药典》2000 版一部黄芩项下规定黄芩苷含量不得低于 9%。本次所测定 5 批黄芩样品中，黄芩苷含量全部高于 9%，同时这 5 批样品中汉黄芩苷的量全部高于 2%，黄芩素的量全部高于 1%。建议《中国药典》增加汉黄芩苷和黄芩素两个质量控制指标。

3.2 本试验方法同时测定 3 种成分，为保证 3 种成分都能提取完全，比较了 70% 乙醇和甲醇超声提取的提取率，根据实验结果，选用 70% 乙醇作溶剂。通过比较不同超声时间 (15、30、45、60 min) 的提取率，结果表明超声 30 min 提取率最高。

3.3 本实验结果为黄芩药材质量标准的修订提供了科学依据。

References:

[1] Gao Z H, Huang K X, Xu H B. Progress on biological activity study of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1998, 33(12): 705-707.

[2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol Ⅰ. 2000.

欢迎订阅 2006 年《西北药学杂志》

《西北药学杂志》是由西安交通大学和陕西省药学会主办、国内外公开发行的综合性药学学术刊物。本刊已连续数年被我国医药学重要检索期刊《中国药学文摘》《中国生物学文摘》《中文科技资料目录—中草药》《中文科技资料目录—医药卫生》《中国医学文摘·内科学》等收录。本刊设有药物分析、中药及天然药物、药理、药剂、药物与临床、药事管理、综述、科研简报、化学、药学人物、不良反应等栏目。《西北药学杂志》已加入中国期刊网，亦被中国学术期刊(光盘版)电子杂志社编入《中国学术期刊过刊全文数据库》，加盟万方数据资源系统数字化期刊群，在国内药学界的声誉与影响逐年扩大。

本刊为双月刊，大 16 开版本，48 页，每单月 10 日出版。国内统一刊号 CN61-1108/R。国际标准连续出版物号 ISSN1004－2407。国内邮发代号 52-106，定价 6.00 元(含邮费)，全年 36.00 元。欢迎广大读者到当地邮局订阅，也可直接汇款到本刊编辑部订阅。国外发行代号 BM6523。

编辑部地址：西安市朱雀大街南段 205 号 西安交通大学(医学校区)《西北药学杂志》编辑部

邮政编码：710061 **电话**：(029)82655134

传真：(029)82655134 **E-mail**：xbyxzz@xjtu.edu.cn