

薄层扫描法测定甘露饮中黄芩苷的含量

张 艺 王祥培¹ (重庆 400042 第三军医大学野战外科研究所大坪医院药剂科; ¹ 贵阳中医学院药学院 96 级中药专业)

摘要 目的: 采用单波长薄层扫描法测定甘露饮中黄芩苷的含量。方法: 以聚酰胺薄膜为固定相, 36% 醋酸为流动相, 测定波长 $\lambda_{\max} = 280\text{nm}$, 用反射锯齿扫描测定。结果: 黄芩苷在 $0.368 \sim 1.84\text{mg}$ 范围内呈线性关系, $r = 0.9992$ 。平均回收率为 98.42%, $\text{RSD} = 1.90\%$ 。结论: 该法快速, 简便, 准确, 可作为控制该制剂的质量。

关键词 甘露饮; 黄芩苷; 薄层扫描法

Determination of baicalin in the Ganluying by thin layer chromatography-scanning

Zhang Yi (Zhang Y), Wang Xiangpei (Wang XP)¹ (Department of pharmacy, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, The third Military Medical University, Chongqing 400042)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** The content of baicalin in the Ganluying was determined by single wavelength TLC scanner. **METHODS:** The solid phase was polyamide thin layer, mobile phase was 36% HAC, scanning method was reflection zigzag with CS-910 PC scanner, and the detection wavelength was 280nm. **RESULTS:** The method had a good linearity between $0.368 \sim 1.48\mu\text{g}$ with the correlation coefficient 0.9992. The average recovery was 98.42%, $\text{RSD} = 1.90\%$. **CONCLUSION:** The method was rapid, simple and accurate. It could be used to control the quality of Ganluying.

KEY WORDS GanLuYing, Baicalin, TLC

甘露饮为我院生产的中药制剂, 由黄芩、麦冬、板兰根、菊花、玄参、甘草等 11 味中药经水提醇沉而成, 具有清热解毒、养阴生津之功效, 用于急慢性扁桃体炎, 急慢性咽喉炎。该制剂中的黄芩苷为中药唇形科植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的有效成份。药理研究表明黄芩苷具有抗病原微生物, 抗炎, 抗过敏, 解热等作用^[1]。为控制质量, 本文参考有关文献^[2-6]用薄层扫描法对甘露饮中的有效成份黄芩苷进行了测定, 结果满意。

1 实验材料及仪器

甘露饮 (第三军医大学大坪医院药局, 批号: 000128)。黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所)。聚酰胺薄膜 (浙江省台州市路桥四青生化材料厂, 规格: $20 \times 10\text{cm}$)。CS-9301PC 薄层扫描仪 (日本岛津), DU-650 紫外分光光度仪 (美国贝克曼)。定量点样毛细管 (美国 DRUMMND), 电子分析天平 (意大利), 离心机 (北京医用离心机厂)。所用试剂均为分析纯。

2 定性分析

2.1 甘露饮样品液: 取甘露饮样品液 1mL , 加甲醇 1mL , 摇匀后离心 20min (6000r/min), 取出上清液供点样用。黄芩苷对照品液: 取黄芩苷标准品用甲醇配成 0.256mg/mL 的溶液。甘露饮阴性样品对照液: 取不含黄芩苷的甘露饮 1mL , 加 1mL 甲醇摇匀后离心 20min (6000r/min), 取上清液供点样用。

2.2 薄层分析法: 用定量点样毛细管各取上述三种溶液 $5\mu\text{L}$, 点于同一块聚酰胺薄膜上, 以 36% 醋酸展开 12cm 。取出, 用电吹风吹干, 置紫外灯下观察荧光点并定位。

3 定量分析

3.1 扫描条件: 单波长反射锯齿扫描, 测定波长 $\lambda_{\max} = 280\text{nm}$, 狭缝为: $4 \times 0.4\text{nm}$, 光源为 D_2 灯, 线性参数 $\text{SX} = 3$ 。

3.2 标准曲线的绘制: 精密称取干燥至恒重的黄芩苷对照品分别配成浓度为 0.0736mg/mL , 0.1472mg/mL , 0.2208mg/mL , 0.2944mg/mL , 0.368mg/mL 浓度的标准液。取上述不同浓度的标准液 $5\mu\text{L}$ 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 用 36% 醋酸展开, 上行 12cm , 取出晾干, 定位, 扫描测定, 测得值进行回归分析, 黄芩苷在 $0.368 \sim 1.84\text{mg/mL}$ 范围内呈良好的线性关系, 回归方程: $Y = 16.523 + 1055.260X$ $r = 0.9992$ 。

3.3 精密度及稳定性试验

3.3.1 精密度: 在同一聚酰胺薄膜上点 5 个相同浓度 $2\mu\text{L}$ 标准液, 测定其展开后的斑点峰面积, 其浓度为: 0.8629mg/mL , 0.8458mg/mL , 0.8402mg/mL , 0.8318mg/mL , 0.8196mg/mL , $\text{RSD} = 1.89\%$ 。在不同聚酰胺薄膜上点上相同浓度 $2\mu\text{L}$ 标准液, 测定展开后的斑点峰面积, 其浓度为 0.8412mg/mL , 0.8396mg/mL , 0.8503mg/mL , $\text{RSD} = 1.72\%$ 。

3.3.2 稳定性: 精密吸取 $2\mu\text{L}$ 标准品液点于薄膜上, 展出后每隔 60min 测定斑点峰面积, 持续 4h 面积值基本不变 ($\text{RSD} = 1.31\%$, $n = 5$)。

3.4 样品含量测定: 精密量取甘露饮样品液 10mL , 用 20mL 石油醚 (沸程: $60 \sim 90^\circ\text{C}$) 分 2 次萃取, 弃石油醚层, 分取药液层, 挥去石油醚, 置 50mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 放置, 取上清液为供试液。取黄芩苷对照品加甲醇制成浓度分别为 0.22mg/mL , 0.35mg/mL 的标准溶液。吸取供试品和 0.22mg/mL 的标准液各 $5\mu\text{L}$ 及供试品和 0.35mg/mL 的标准液各 $2\mu\text{L}$ 分别点于同一块聚酰胺薄膜上, 展开, 晾干。固定

于玻璃板上,扫描测定供试品与对照品的峰面积,按外标二点法计算含量结果于表 1、表 2。

表 1 样品 2μl 含量的测定结果(n= 6)

编号	含量 (μg)	平均含量 (μg)	平均浓度 (mg/ml)	RSD (%)
1	0.3827			
2	0.3908			
3	0.3996			
4	0.4356	0.4105	1.025	5.41
5	0.4251			
6	0.4291			

表 2 样品 5μl 含量的测定结果(n= 6)

编号	含量 (μg)	平均含量 (μg)	平均浓度 (mg/ml)	RSD (%)
1	0.9107			
2	0.9063			
3	0.8957			
4	0.9046	0.8872	0.887	3.99
5	0.8894			
6	0.8167			

3.5 加样回收率实验:取同一批样品 3 份,分置 10ml 离心管中,每份 1ml,各加入不同量的黄芩苷对照液,用 2ml 石油醚萃取振荡离心,分取药液层,挥去醚层,取上清液 1ml 置 5ml 容量瓶中,加甲醇定容至刻度。在同一聚酰胺薄膜上,随行标准品交叉点样,展开,除去溶剂后扫描测定,外标法计算

含量,结果回收率为 99.18%,RSD= 1.90%。

3.6 讨论

3.6.1 黄芩苷在可见-紫外分光光度计上显示 λ_{max} = 279nm ± 1,本实验选用 280nm 为测定波长。

3.6.2 用聚酰胺薄膜和硅胶 G₂₅₄对黄芩苷进行展开分析,前者的展开效果优于后者,斑点圆且集中,清晰。

3.6.3 用石油醚萃取样品,以除去脂溶性杂质,然后用甲醇处理,取上清液离心,没有沉淀产生,所以本文直接用石油醚萃取,甲醇处理后的上清液点样,展开扫描时杂质的干扰得到很好的排除。扫描前要完全把溶剂挥发尽。

3.6.4 用 36% 醋酸为展开剂 12cm,其黄芩苷 R_f = 0.4,不用其它多元展开剂系统防止出现溶剂脱混现象。

3.6.5 薄层层析证明供试品中含有黄芩苷,若处方中除去黄芩,则阴性液中无此荧光斑点,在含量测定时排除了其它杂质的干扰。

参考文献

- 1 沈映君. 中药药理学. 北京: 中国中医药出版社, 1997. 3.
- 2 冯淑华, 乔卫. 黄芩及其制剂中黄芩苷含量测定方法. 中草药, 1995, 26(7): 381.
- 3 余世春, 刘信顺, 尹双青, 等. 小柴胡汤口服液黄芩苷含量测定研究. 中草药, 1992, 23(5): 239.
- 4 刘丽娟, 马英丽, 李群, 等. 黄芩苷及其制剂的含量测定研究. 中医药信息, 1992, (4): 45.
- 5 华菊根, 李国忱. 双黄连口服液质量标准研究. 中成药, 1993, 15(6): 11.
- 6 李及, 鲁静. 双黄连口服液中黄芩苷含量测定方法比较. 中国药事, 1998, 12(4): 230