

· 研究报告 ·

高效液相色谱法测定康得灵胶囊中黄芩苷的含量

姜述文¹, 刘洁萍¹, 肖秋生¹, 肖金宝¹, 史春山¹, 孙丹², 姜宗文¹ (1. 解放军208医院461临床部, 吉林长春130021; 2. 空军航空大学门诊部, 吉林长春130022)

[摘要] 目的 建立康得灵胶囊中黄芩苷的HPLC测定方法。方法 色谱柱为Agilent Tc-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温为30℃; 流动相为乙腈-0.5%磷酸溶液(26:74), 流速为1.0 ml/min, 检测波长265 nm。结果 黄芩苷保留时间约为16 min。以峰面积(Y)对进样浓度(X, μg/ml)线性回归, 得回归方程: $Y = 22\,114.67 X - 112\,836.7$, $r = 0.998\,8$, 线性范围5.410~108.2 μg/ml。平均加样回收率为98.78%, RSD为0.74%。结论 本方法操作简便, 测定结果准确可靠, 可用于康得灵胶囊中黄芩苷的含量测定。

[关键词] 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)05-0447-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.05.017

Determination of baicalin in Kangdeling capsule by HPLC

JIANG Shuwen¹, LIU Jieping¹, XIAO Qiusheng¹, XIAO Jinbao¹, SHI Chunshan¹, SUN Dan², JIANG Zongwen¹ (1. Department of 461 Clinic, No. 208 Hospital of PLA, Changchun 130021, China; 2. Clinic of Navigate Air Force University, Changchun 130022, China)

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC quantitative method for the content determination of baicalin in Kangdeling capsule. **Methods** The chromatography column was Agilent Tc-C₁₈-WR (4.6 mm×250 mm, 5 μm), and the column temperature was 30℃. The mobile phase consisted of acetonitrile and 0.5% phosphoric acid (26:74). The flow rate was 1.0 ml/min, and the detection wavelength was 265 nm. **Results** The retention time of baicalin was about 16 min. The calibration equation was $Y = 22\,114.67 X - 112\,836.7$ ($r = 0.998\,8$) with good linearity in the range of 5.410-108.2 μg/ml for baicalin. The average recovery was 98.78% while RSD were 0.74%. **Conclusion** This method is simple, time-saving and accurate which could be used to routine analysis of baicalin in Kangdeling capsule.

[Key words] baicalin; HPLC

康得灵胶囊为空军航空大学非标制剂, 由黄连、黄柏、黄芩、蒲公英、玄参、败酱草等13味药材组成, 具有清热燥湿、泻火解毒之功效。主治肠炎、结肠炎等症。本品所含的黄芩具有清热燥湿、泻火解毒的功能^[1], 用于温热病、痢疾等症, 黄芩中的药理活性成分黄芩苷具有抗炎、抑菌、利尿、解痉等作用^[2]。目前有关黄芩和含黄芩药品的含量测定方法已有较多报道^[3-6]。采用HPLC法测定康得灵胶囊中黄芩苷的含量, 可为控制药品质量, 提高制剂质量标准提供参考和依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-15C 高效液相色谱仪; SPD-15C 检测器; CTO-15C 柱温箱(日本岛津公司); 101A-2E 电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂有限公司); SB-5200DT 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); TG328B 电光分析天平(上海天平仪器厂); SHZ-D(Ⅲ) 循环水式真空泵(河南省予华仪器有限公司)。

1.2 试剂 黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110715-201318); 康得灵胶囊(空军航空大学门诊部, 规格: 0.2 g×50粒, 批号: 140309、140318、140306)。甲醇(Fisher Scientific, 批号: A452-4); 乙腈(Sigma-Aldrich, 批号: 34851-4L); 磷酸(北京北化精细化学品有限责任公司, 批号: 2014625); 水为纯化水。

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(14ZJZ03-2)

[作者简介] 姜述文, 学士, 药师。研究方向: 医院药学和药物分析。Tel: 18088627958; E-mail: jsw_5234768@163.com

[通讯作者] 姜宗文, 硕士, 副主任药师。研究方向: 药剂学和临床药学。Tel: (0431)86946285; E-mail: jzw461@163.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent Te-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温为 30 °C; 流动相为 乙腈-0.5%磷酸(26:74), 流速为 1.0 ml/min; 检测波长 265 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取黄芩苷对照品约 5.0 mg, 置 50 ml 棕色容量瓶中, 用甲醇稀释制成 100 μg/ml 黄芩苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品胶囊内容物 20 g 混匀, 精密称取 3.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 ml, 称定重量, 超声(功率 250 W, 频率 40 Hz)处

理 30 min, 放冷, 称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 除去黄芩, 余按供试品的处方比例, 按“2.2.2”项方法, 制得不含黄芩的阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱图, 见图 1。其中黄芩苷保留时间为 16 min, 理论板数不低于 5 600。结果显示, 阴性对照在与对照品相同的保留时间位置无相应的色谱峰出现, 表明除黄芩外的其他药材对黄芩苷的测定无干扰, 本试验方法专属性良好。

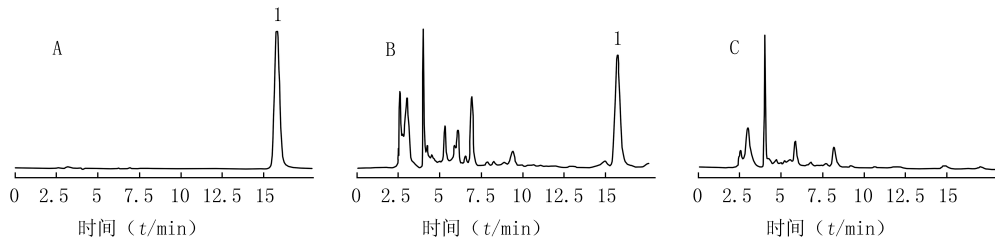


图 1 黄芩苷 HPLC 色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照溶液; 1. 黄芩苷

2.4 线性关系考察 分别精密吸取黄芩苷对照品溶液 0.5、3、5、6、8、10 ml 置于 10 ml 棕色容量瓶中, 加甲醇至刻度, 制成 5.410、32.46、54.10、64.92、86.56、108.2 μg/ml 溶液。以进样浓度对峰面积线性回归, 得回归方程: $Y=22\,114.67X-112\,836.7$, $r=0.9988$ 。结果表明黄芩苷在 5.410 ~ 108.2 μg/ml 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 10 μl, 照“2.1”项下色谱条件, 重复进样 6 次, 测定黄芩苷的色谱峰面积, 计算峰面积的 RSD 值为 2.17%, 结果表明精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品(批号 140318), 按样品制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 依法测定, 计算黄芩苷平均含量为 141.83 μg/g, RSD 为 0.89%。结果表明重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、8 h 进样 10 μl, 测定黄芩苷峰面积。计算得峰面积的 RSD 为 0.87%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称定已知含量的样品约 1.5 g, 共 9 份, 分别加入 0.8、1、1.2 倍量的黄芩

苷对照品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 10 μl 进样, 测定黄芩苷的含量, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收率试验结果 (n=9)

编号	加入供试品量 (m/g)	样品中黄芩苷量 (m/mg)	加入对照品量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.512 2	0.211 7	0.168 0	0.379 1	99.64		
2	1.508 2	0.211 5	0.168 0	0.377 2	98.51		
3	1.500 3	0.210 1	0.168 0	0.376 3	97.98		
4	1.512 1	0.211 7	0.210 0	0.418 1	98.29		
5	1.513 3	0.211 9	0.210 0	0.417 2	97.86	98.78	0.74
6	1.506 9	0.211 0	0.210 0	0.420 1	99.24		
7	1.509 9	0.211 4	0.252 0	0.463 3	99.84		
8	1.502 3	0.210 3	0.252 0	0.460 1	98.57		
9	1.498 6	0.209 8	0.252 0	0.461 4	99.09		

2.9 样品含量测定 取 3 批样品(批号分别为 140306、140309 及 140318), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定黄芩苷的含量。结果显示, 批号 140306、140309、140318 三批样品中黄芩苷含量和 RSD 分别为 0.140 mg/g, RSD=0.69% (n=3); 0.142 mg/g,

RSD=0.87% ($n=3$); 0.140 mg/g, RSD=0.89% ($n=3$)。

3 讨论

色谱条件的选择,通过对吸收光谱的分析,黄芩苷在 265 nm 处有最大吸收,灵敏度高,阴性对照在此处没有吸收,故选择 265 nm 作为黄芩苷的检测波长。

流动相乙腈-0.5%磷酸溶液以 26:74 较合适,在本系统条件下理论塔数大于 5 600,试验时间短,辅料不影响含量测定。

对康得灵胶囊测定的结果表明,不同批号制剂的黄芩苷含量具有一定的差异。本实验采用 HPLC 法对制剂中的黄芩苷含量进行测定,该方法准确、简便、重现性好、灵敏度高,可作为该制剂的质量标准含量测定方法。

(上接第 420 页)

理,且为特定化合物的定量统计,结果不受非环烯醚萜苷类成分的影响,而紫外全波长扫描检测是对于化合物整体进行统计,制备工艺优化前产品含杂质成分相对较多,末端吸收及非环烯醚萜苷类成分的紫外特征吸收较高,干扰主峰吸收值(如图 5 所示),因此其总比值略小于 HPLC 测定结果,符合定量方法性质差异,结果证实本研究所使用定量方法结果可靠。综上所述,本次实验对于环烯醚萜苷制备工艺优化取得良好效果,很大程度上提升了总环烯醚萜苷的纯度。

综上所述,本次制备工艺及产品与前期相比优化效果明显,实验依据科学,各步骤数据完整,易于重复,且操作简单合理,独一味总环烯醚萜苷纯度达到了以有效部位为主要成分的中药注射剂质量要求,且所含主要成分明确。

【参考文献】

[1] 孙辉,蒋舜媛,冯成强,等.独一味 *Lamiophlomisrotata* 野生资源现状与存在的问题[J].中国中药杂志,2012,37(22):3500-3504.
[2] 樊鹏程,马慧萍,景临林,等.反相制备液相色谱同时分离制备独一味中 4 种环烯醚萜苷类化合物[J].中草药,2012,43(4):699-701.
[3] 郑晓霞,代大平.独一味胶囊在骨折治疗中的临床观察[J].现代中医药杂志,2002,(5):86

【参考文献】

[1] 陈玉敏,曹红,路军章,等.HPLC 法测定复方竹叶石膏颗粒中野黄芩苷的含量[J].解放军药学学报,2013,29(4):365-366.
[2] 李永钦,周井炎,徐辉碧.黄芩苷的抗氧化作用[J].华中理工大学学报,1999,27(4):110-112.
[3] 王瑞,李玉娟,毕开顺,等.HP-HPLC 法测定解毒直透汤中连翘苷、绿原酸及黄芩苷的含量[J].中药材,2004,24(4):287-288.
[4] 李守拙,李沈明,范书泽.黄芩茎叶中野黄芩苷含量测定[J].中国医药杂志,2008,6(5):40-41.
[5] 舒德忠,郑小敏,胜明智.高效液相色谱法测定消炎止咳糖浆中黄芩苷的含量[J].中国药师,2008,11(8):947-948.
[6] 薛黎明,秦雪梅,张丽增.不同产地黄芩药材的黄芩苷含量测定及指纹图谱研究[J].中成药,2008,30(1):10-13.

【收稿日期】 2014-12-31 【修回日期】 2015-09-28

【本文编辑】 顾文华

[4] 王美华.独一味片治疗药物流产后出血过多和腹痛 120 例[J].湖南中医杂志,2006,22(1):40.
[5] 倪春芳,刘清.盐酸吗啡缓释片联合奇正消痛贴治疗晚期癌性疼痛的临床研究[J].河北医药杂志,2013,35(16):2470-2471.
[6] 叶飞,杨洪彬,徐永旭,等.独一味胶囊治疗类风湿性关节炎 69 例的临床研究[J].世界中医药,2007,2(6):339-340.
[7] 贾正平.从藏药独一味中提取总环烯醚萜苷的方法及其用途[P].中国.200410011679.0.2005-08-31.
[8] Li MX,Shang XF,Zhang RX,et al.Antinociceptive and anti-inflammatory activities of iridoid glycosides extract of *Lamiophlomisrotata* (Benth.) Kudo[J].Fitoterapia,2010,81(3):167-172.
[9] Li MX,Zhang RX,Jia ZP,et al.Isolation and identification of hemostatic ingredients from *Lamiophlomisrotata* (Benth.) Kudo[J].Phytother Res,2009,23(6):816-822.
[10] Li MX,Jia ZP,HuZD,et al.Experimental study on the hemostatic activity of the Tibetan Medicinal Herb *Lamiophlomisrotata*[J].Phytother Res,2008,22(6):759-65.
[11] 张凤,孙连娜,陈万生.独一味的化学成分及药理作用[J].药学实践杂志,2008,26(3):169-171.
[12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2010 年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:245.
[13] 陶锐,李茂星,张泉龙,等.HPLC 结合 PDA、MS 分离制备独一味中 9 种环烯醚萜苷[J].中药材,2014,37(3):439-442.
[14] 徐任生.天然产物化学[M].2 版.上海:科学出版社,2004:184.

【收稿日期】 2015-11-02 【修回日期】 2016-05-17

【本文编辑】 顾文华