

HPLC 同时测定扶正固本颗粒中黄芩苷和淫羊藿苷

李建伟^{1*}, 海丽娜², 聂磊³, 刘娟³

(1. 长治医学院, 山西 长治 046000; 2. 北京振东光明药物研究院, 北京 100120;
3. 山西振东制药股份有限公司, 山西 长治 047100)

[摘要] 目的: 建立扶正固本颗粒中黄芩苷和淫羊藿苷的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, 以乙腈-0.2% 磷酸溶液梯度洗脱, 色谱柱为日旭 AQ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 270 nm。结果: 黄芩苷在 0.756 ~ 10.08 μg, 淫羊藿苷在 0.299 ~ 39.92 μg 与峰面积呈良好线性关系, 相关系数分别为 1.000 0, 0.999 6; 方法平均回收率分别为 101.40% (RSD 1.41%), 101.02% (RSD 1.08%)。结论: 方法简便、准确、重复性好, 可作为扶正固本颗粒质量控制方法。

[关键词] 扶正固本颗粒; 黄芩苷; 淫羊藿苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0128-03

[doi] 10.11653/syfy2013130128

Simultaneous Determination of Baicalin and Icaritin in Fuzheng Guben Granule by HPLC

LI Jian-wei^{1*}, HAI Li-na², NIE Lei³, LIU Juan³

(1. Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China;

2. Beijing Zhendong Guangming Medicine Research Institution, Beijing 100120, China;

3. Shanxi Zhendong Pharmaceutical Co. Ltd, Changzhi 047100, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a quantitative method for determining the contents of baicalin and icaritin in Fuzheng Guben granule. **Method:** The analysis was performed with a Ultimate AQC₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column and a mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and column temperature was 25 °C. The detection wavelength was set at 270 nm. **Result:** The calibration curve was linear within the range of 0.756-10.08 μg for baicalin ($r = 1.000\ 0$) and 0.299-39.92 μg for icaritin ($r = 0.999\ 6$). The average recoveries of the two contents were 101.40% (RSD 1.41%) and 101.02% (RSD 1.08%) respectively. **Conclusion:** This method is convenient, accurate and reliable, and can be used as quality control methods for Fuzheng Guben granule.

[Key words] Fuzheng Guben granule; baicalin; icaritin; HPLC

扶正固本颗粒由黄芩、淫羊藿、女贞子、何首乌、地黄、茜草、黄精、人参 8 味药组成, 标准收载于国家药品监督管理局药品标准 [WS-5250 (B-0250)-2002], 具有益气养阴、凉血解毒的功效, 用于食管

癌、胃癌气阴两虚兼热毒证患者放、化疗时合并用药。文献研究^[1-3]表明, 黄芩苷和淫羊藿苷具有抗肿瘤、调节免疫力的药理作用。黄芩苷和淫羊藿苷联合化疗药物具有抑制肿瘤细胞增殖, 同时增强化疗药物对 CD3AK 细胞的杀伤敏感性, 逆转肿瘤细胞的免疫逃逸的作用^[4]。黄芩苷和淫羊藿苷作为药效主要成分, 本文建立了扶正固本颗粒中黄芩苷和淫羊藿苷的同时含量测定方法, 可以用于扶正固本颗粒质量的控制和评价。

[收稿日期] 20121031(009)

[通讯作者] * 李建伟, 硕士, 讲师, 从事中药制剂质量控制,
Tel: 13935522309, E-mail: lyy7273@163.com

1 材料

U-3000型高效液相色谱仪(美国戴安公司),KQ-500型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),T-214型1/万分析天平(美国DENVER公司),TB-215D型1/10万分析天平(美国DENVER公司)。

乙腈为色谱纯(美国TEDIA公司),水为自制双蒸水;磷酸、甲醇、醋酸均为分析纯。黄芩苷对照品(批号110715-201117,中国食品药品检定研究院),淫羊藿苷对照品(110737-200415,中国药品生物检定所)。扶正固本颗粒(15g/袋,批号分别为20120301,20120423,20120614),由山西振东开元制药有限公司生产,缺味阴性样品自制。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱日旭AQC₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-体积分数为0.2%的磷酸溶液梯度洗脱,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温25℃,检测波长270 nm,进样量10 μL。

表1 梯度洗脱程序

t/min	乙腈/%	0.2%磷酸/%
0	23	77
45	27	73

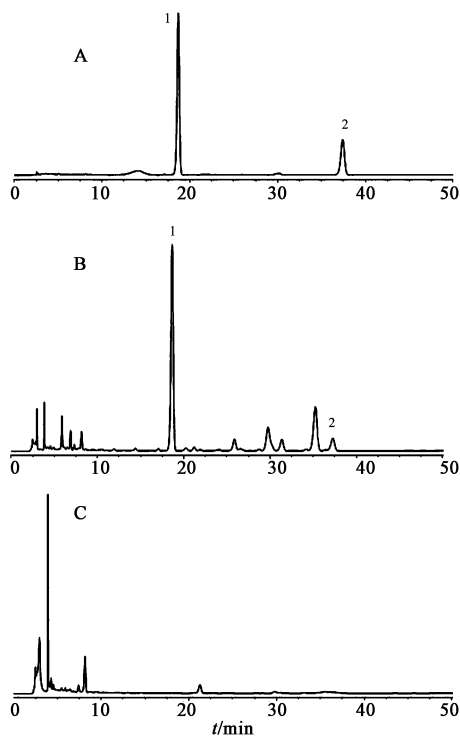
2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品12.6 mg,置于50 mL量瓶中,加入适量甲醇溶解,并定容至刻度,得0.252 g·L⁻¹的黄芩苷对照品溶液精密称取淫羊藿苷对照品9.98 mg,置100 mL量瓶中,加适量甲醇溶解,并定容至刻度,得0.0998 g·L⁻¹的淫羊藿苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品5 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷,用甲醇补足缺失的质量,过滤,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 按照处方组成制备缺失黄芩和淫羊藿的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。

2.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液3,5,10,20,30,40 μL,注入液相色谱仪,分别测定黄芩苷和淫羊藿苷的峰面积。以对照品峰面积为纵坐标(Y),对照品进样量为横坐标(X),黄芩苷和淫羊藿苷的回归方程分别为 $Y = 52.463X + 0.0135$ ($r = 1.0000$), $Y = 0.3779X + 0.6062$ ($r = 0.9996$)。结果表明黄芩苷和淫羊藿苷分别在0.756~10.08,0.299~39.92 μg具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验 吸取同一质量浓度的对照品溶



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性;1. 黄芩苷;2. 淫羊藿苷

图1 扶正固本颗粒 HPLC

液按上述色谱条件,重复进样6次,黄芩苷色谱峰面积RSD 0.31%,淫羊藿苷色谱峰面积RSD 1.06%。

2.7 重复性试验 取批号为20100301样品6份,各5 g,按2.3项下方法操作,平行制备6份样品,进样。测得黄芩苷的平均含量为4.00 mg·g⁻¹,RSD 0.86%;淫羊藿苷的平均含量为0.17 mg·g⁻¹,RSD 1.35%。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,在室温下分别于0,2,4,8,12,24 h按上述色谱条件测定,测得黄芩苷、淫羊藿苷峰面积的RSD分别为1.28%,1.34%,结果表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.9 加样回收率试验 称取6份已知含量的供试品各2.5 g,分别精密加入黄芩苷对照品适量、淫羊藿苷对照品溶液5 mL,按2.3方法处理,记录色谱图,考察回收率。测得二者平均回收率分别为101.40% (RSD 1.41%)和101.02% (RSD 1.08%)。分析结果见表2,3。

2.10 样品含量测定 按上述含量测定方法操作,测定了3批样品,测得黄芩苷的含量分别为4.00,4.12,4.07 mg·g⁻¹;淫羊藿苷的含量分别为0.17,0.16,0.19 mg·g⁻¹。

表 2 黄芩苷加样回收率

取样量 /g	含黄芩苷 的量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
2.540 2	10.160 8	10.13	20.197 6	99.08	101.40	1.41
2.533 7	10.134 8	10.05	20.286 3	101.02		
2.513 8	10.055 2	10.21	20.506 1	102.36		
2.507 4	10.029 6	9.97	20.250 8	102.52		
2.499 6	9.998 4	10.06	20.333 0	102.73		
2.508 6	10.034 4	10.02	20.121 5	100.67		

表 3 淫羊藿苷加样回收率

取样量 /g	原含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
2.540 2	0.431 8	0.50	0.928 8	99.68	101.02	1.08
2.533 7	0.430 7	0.50	0.931 1	100.04		
2.513 8	0.427 3	0.50	0.938 8	101.25		
2.507 4	0.426 3	0.50	0.948 4	102.39		
2.499 6	0.424 9	0.50	0.943 9	102.05		
2.508 6	0.426 4	0.50	0.933 0	100.71		

3 讨论

3.1 色谱条件的选择 选取甲醇-0.5%醋酸^[5]、甲醇-0.1%磷酸^[6]、甲醇-0.2%磷酸^[7]、乙腈-0.5%醋酸^[8]、乙腈-0.1%磷酸^[9,10]、乙腈-0.2%磷酸作为流动相,结果发现采用乙腈-0.2%磷酸作为流动相,各峰型良好,且达到基线分离,阴性无干扰。

对不同洗脱方式进行了考察^[11-12],分别采用乙腈-0.2%磷酸(25:75)等度洗脱,梯度洗脱:0~45 min 乙腈(20%~30%),0.2%磷酸(80%~70%),发现淫羊藿苷与相邻峰可以分离,但是重复性较差,通过调整梯度洗脱比例为0~45 min,乙腈(23%~27%)-0.2%磷酸(77%~73%)可以满足分析要求。

3.2 提取方法的考察 分别考察了回流提取、超声

提取方法及超声提取时间 20,30,40 min,结果发现超声提取和回流提取测得黄芩苷、淫羊藿苷含量并无显著差异,为操作简便,故选取超声提取,且超声 30 min 即可提取完全。

[参考文献]

- [1] 雷芳.黄芩苷药理作用研究进展[J].中国药业杂志,2010,19(15):87.
- [2] 李翠玲,张玲,顾洪涛.淫羊藿苷体内抑瘤作用及其机制[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2007,14(2):137.
- [3] 李婵,王学美.淫羊藿苷药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2008,33(23):2727.
- [4] 唐菁,张玲,顾洪涛,等.淫羊藿苷、黄芩苷联合多柔比星抑制肝癌细胞 APRIL 表达和逆转肿瘤免疫逃逸[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2007,14(6):516.
- [5] 黄忠林,宋九华.HPLC 测定九味羌活丸黄芩苷的含量[J].中国医药指南,2011,23(9):230.
- [6] 胡寿荣.高效液相色谱法测定安胎丸中黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):66.
- [7] 吕士杰,李妍,芦晓晶,等.HPLC 测定芩丹颗粒中黄芩苷、栀子苷和丹皮酚[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):81.
- [8] 姚文冰.HPLC 法同时测定痰热清注射液中木犀草苷和黄芩苷的含量[J].中国药房,2011,22(35):3311.
- [9] 张东方,周美环,袁长季,等.高效液相色谱法测定二仙汤中淫羊藿苷及盐酸小檗碱的含量[J].中国医院药学杂志,2010,30(14):1251.
- [10] 肖佳尚.HPLC 法测定复方益肾胶囊中淫羊藿苷的含量[J].中国医药导报,2011,16(8):68.
- [11] 朱艳容,李媛媛,倪艳,等.扶正固本颗粒的质量标准研究[J].中国药房,2011,22(23):2179.
- [12] 侯志坚,师永清.双波长 HPLC 同时测定防风通圣丸中栀子苷和黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):80.

[责任编辑 顾雪竹]