

高效液相色谱法测定艾复康胶囊中黄芩苷的含量

范 斌¹, 刘 泓², 孙 健^{1*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700; 2. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立中药艾复康胶囊中黄芩苷含量的测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 0.4% 磷酸-甲醇(58:42) 为流动相, 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C。结果: 黄芩苷线性方程为 $Y = 2.78 \times 10^3 X - 4.13$, 在 0.096 8- 0.484 μg 范围内具有良好的线性关系($r = 0.999 7$), 平均回收率为 99.7%, RSD 为 3.0%。结论: 该法准确、可靠、重复性好, 可用于艾复康胶囊中黄芩苷含量的测定。

[关键词] 高效液相色谱法; 艾复康胶囊; 黄芩苷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)12-0004-03

[收稿日期] 2008-07-24

[通讯作者] * 孙健, Tel: (010) 64014411- 3327; Email: sunjiankw@163.com

Determination of Baicalin in Aifukang Capsule by RP-HPLC

FAN Bin¹, LIU Hong², SUN Jian^{1*}

(1. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[**Abstract**] **Objective:** To develop a RP-HPLC method for determination of baicalin in Aifukang capsule. **Methods:** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with 4% phosphoric acid-methanol (58:42) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min and detection wavelength was set at 280 nm. **Results:** Within the range of 0.096 8~0.484 μg, baicalin showed a good linear relationship between the injection amounts and peak areas ($Y = 2.78 \times 10^3 X - 4.13$, $r = 0.999 7$). The average recovery rate of baicalin was 99.7%, RSD 3.0%. **Conclusion:** This method is specific, accurate, and repeatable. The method can be used for controlling the quality of Aifukang capsule.

[**Key words**] RP-HPLC; Aifukang capsule; baicalin; assay

艾复康胶囊是由黄芩、当归、冰片等 13 味中药组成,具有清热解毒、活血通络的功效,用于艾滋病发病初期全身症状,如乏力、低热、盗汗等以及局部症状,如带状疱疹、单纯性疱疹、痒疹、反复发作性口腔溃疡、疗肿、皮肤溃烂等证。黄芩清热解毒,为本方君药之首,主要活性成分黄芩苷具有抑制艾滋病毒的作用,这与制剂功能主治的内容是一致的,笔者参考有关文献^[1]研究并建立了高效液相色谱法测定艾复康胶囊中黄芩苷的含量。本方法简便、灵敏,结果准确可靠。

1 仪器与试剂

美国 Agilent1100 高效液相色谱仪, Chemstation 色谱工作站。艾复康胶囊(兰州和盛堂制药有限公司生产加工 批号 20051115、20051116、20051117), 黄芩苷(批号:07159506 中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 乙醇为分析纯(北京化学试剂公司), 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.4% 磷酸-甲醇(58:42); 流速: 1.0 mL·min⁻¹ 柱温: 35 °C; 检测波长 280 nm, 理论板数按黄芩苷计应不低于 4 000, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 取干燥至恒重的黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含黄芩苷 0.048 4 mg 溶液, 摇匀, 即得。

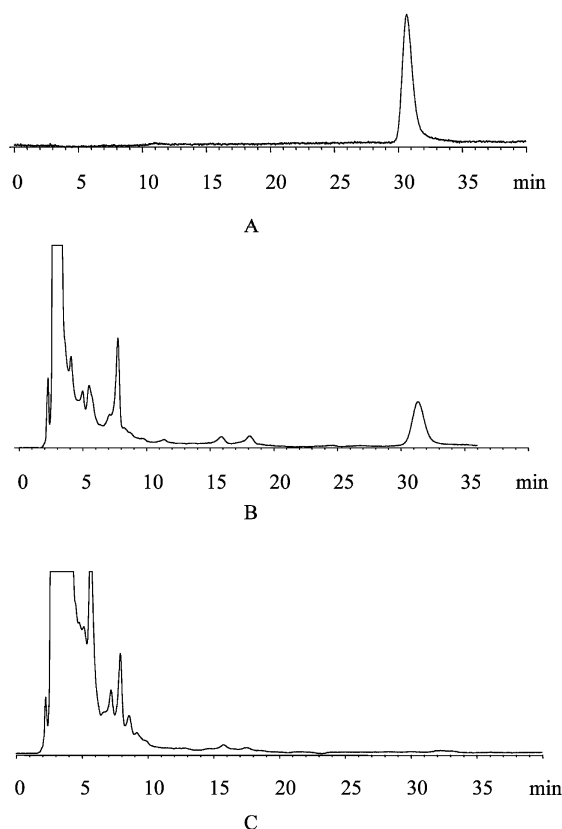


图 1 艾复康胶囊中黄芩甲苷的 HPLC 图谱

A. 黄芩甲苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

2.3 供试品溶液的制备 取胶囊内容物 1 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入 70% 的乙醇 50 mL, 称重, 加热回流 3 h, 放至室温, 用 70% 的乙醇补足减失的重量, 精密吸取上清液 1 mL, 置 10 mL 量瓶

中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 空白溶液的制备是按处方中药味的比例,自配不含黄芩的群药,按其工艺制成缺黄芩空白制剂,再按供试品溶液制备方法制备并测定,结果空白溶液在与对照品相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰。

2.5 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品溶液 2.4 6.8 10 μL(0.048 4 mg·mL⁻¹),注入液相色谱仪中,测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,以对照品峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 2.78 \times 10^3 X - 4.13$, $r = 0.9997$,结果表明,黄芩苷进样量在 0.096 8~ 0.484 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(20051115) 20 μL,在所确定的 HPLC 条件下,连续进样 6 次,求得黄芩苷的峰面积相对标准偏差 RSD= 1.0%。结果表明仪器的精密度较好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液(20051115) 20 μL,分别于 0 2 4 6 24 h 依次进样,测得黄芩苷成分的峰面积相对标准偏差 RSD= 0.8%,试验结果表明,供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品(20051115)按上述方法制成 6 份供试品溶液,在所确定的 HPLC 条件下进行测定黄芩苷,平均含量 3.512 1 mg·g⁻¹,相对标准偏差 RSD= 0.7%,表明方法重复性良好。

2.9 加样回收率 采用加样回收法,称取 6 份已知含量同一批号(20051115,黄芩苷 3.512 1 mg·g⁻¹)样品各 0.5 g,精密称定。分别加入黄芩苷对照品 1.64 mg, 1.45 mg, 1.70 mg, 1.41 mg, 1.86 mg, 1.65 mg,按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。试验结果表明:本方法回收率较好,准确度较高。

表 1 黄芩苷回收率试验

样品量(g)	样品中含 量(mg)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
0.501	1.761	1.640	3.347	96.7	99.7	3.0
0.542	1.904	1.450	3.369	101.0		
0.518	1.818	1.700	3.553	102.0		
0.517	1.817	1.410	3.184	96.9		
0.526	1.849	1.860	3.777	103.7		
0.553	1.941	1.650	3.553	97.7		

2.10 样品测定 取 3 批供试品,按 2.3 制备样品供试液,按 2.1 色谱条件,分别进样对照品和供试品溶液,按外标法计算样品中黄芩苷含量,结果供试品中黄芩苷含量分别为 3.432 5, 3.383 8, 3.512 1 mg/粒。

3 讨论

3.1 供试品溶液提取溶剂的考察 参考中国药典 2005 年版一部黄芩项下“含量测定”,提取溶剂考察了甲醇、60%、70%、80% 3 个浓度的乙醇的提取效果,结果 3 个浓度的乙醇的提取效果没有明显差异,分别为 3.188 7 mg·g⁻¹、3.148 9 mg·g⁻¹、3.128 6 mg·g⁻¹。都明显高于甲醇的 2.301 1 mg·g⁻¹。考虑到 60% 的乙醇会带入更多的杂质,因此选用 70% 的乙醇作为提取溶剂。

3.2 色谱分析条件的选择 考察了 0.2% 磷酸水溶液-甲醇及 0.4% 磷酸水溶液-甲醇两个流动相系统对分离效果的影响。结果发现 0.2% 磷酸-甲醇(58:42, 59:41, 60:40) 3 种不同比例的流动相系统都有杂峰干扰目标峰的测定,而 0.4% 磷酸-甲醇作为流动相可以得到很好的分离效果,因此选择该流动相系统。

以 0.4% 磷酸-甲醇作为流动相,选择了不同比例,分离效果都很好,但分析时间有所不同。结果见表 2。

表 2 流动相比比例选择表

流动相比比例	保留时间(min)	分析时间(min)
58:42	30	35
56:44	25	56
54:46	20	60
53:47	18	60

由表 2 可以看出,改变流动相比比例后,虽然保留时间提前了,分离效果是相同的,但需要延长总分析时间才能将柱上的保留成分洗脱下来,进行后续样品分析。综合分离情况,最终选择 0.4% 磷酸-甲醇(58:42)为流动相,分离效果较好,理论塔板数也较高。

本胶囊为中药复方制剂,所含成分复杂、相互干扰大,试验采用 HPLC 法检测艾复康胶囊中黄芩苷的含量,结果稳定、可靠、专属性好,可作为该制剂的质量控制的方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005. 211.