

· 研究报告 ·

高效液相色谱法测定鼻炎灵胶囊中黄芩苷含量

郭良君, 孙亮, 郑巍, 陆萍, 傅明强, 郭建斌 (解放军98医院, 浙江湖州313000)

[摘要] **目的** 建立高效液相色谱法测定鼻炎灵胶囊中黄芩苷的含量。**方法** 色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.8% 甲酸 (25 : 75), 检测波长 276 nm, 流速 1.0 ml/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μl。**结果** 黄芩苷在 1.25~40 μg/ml 范围内 ($r=0.9999$) 呈良好的线性关系, 精密度实验中 RSD 均小于 2%, 加样回收率在 95%~100% 之间。**结论** 该测定方法简便、准确, 分离效果好, 可用于鼻炎灵胶囊的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 鼻炎灵胶囊; 黄芩苷; 含量测定

[中图分类号] R284

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2017)01-0064-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.015

Determination of baicalin in Biyanling capsule by HPLC

GUO Liangjun, SUN Liang, ZHENG Wei, LU Ping, FU Mingqiang, GUO Jianbin (No. 98 Hospital of PLA, Huzhou 313000, China)

[Abstract] **Objective** To develop a HPLC method for determination of baicalin. **Methods** The separation was carried out on a Waters XBridge C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), the mobile phase was composed of acetonitrile and 0.8% formic acid (25 : 75), the detection wavelength was set at 276 nm, the flow rate was 1.0 ml/min, the column temperature was 30 °C and the injection volume was 10 μl. **Results** The linearity was obtained over 1.25-40 μg/ml ($r=0.9999$) for baicalin. The RSD of precision were less than 2%. The average recovery was between 95% and 100%. **Conclusion** This HPLC method was simple, accuracy and suitable for the quality control of Biyanling capsule.

[Key words] HPLC; Biyanling capsule; baicalin; content determination

鼻炎灵胶囊为本院配制的纯中药胶囊剂, 由鱼腥草、金银花、蔓荆子、黄芩、苍耳子、菊花、辛夷、白芷和甘草九味药材组成, 具有祛风散风、清热解毒、疏散风热、清利头目的功效。主要用于治疗急慢性鼻炎、鼻窦炎。在现行的质量标准中 [NFB-(Z263)-2014], 已成功建立了一套质量控制体系^[1], 其中以检测绿原酸的含量来控制鼻炎灵胶囊的质量。黄芩苷则是黄芩中的主要成分, 主要有抗炎、抗过敏、抗氧化等功效^[2-5], 与鼻炎灵胶囊的功效相符, 是其中的另一有效成分。在鼻炎灵胶囊中, 黄芩苷含量较高, 紫外吸收良好。黄芩苷也是其他中药制剂质量控制中常用的测定成分^[6-8], 《中华人民共和国药典》^[10] 也将黄芩苷作为黄芩的质量控制指标性成分。因此, 可以将黄芩苷作为鼻炎灵胶囊中另一个含量测定成分, 以加强对鼻炎灵胶囊的质量控制。

1 仪器与试剂

Waters e2695 高效液相色谱仪, Waters 2489 双波紫外/可见光检测器, Empower 3 工作站 [沃特世科技(上海)有限公司, 美国]; 756PC 紫外可见光光度计 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); KQ2200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Sartorius BS 124S 型电子天平 [赛多利斯科学仪器(北京)有限公司, 德国]。

黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110715-200514, 纯度 98%); 鼻炎灵胶囊 (本院制剂室自制, 规格为每粒 0.6 g, 每瓶 60 粒); 乙腈为色谱纯 [霍尼韦尔贸易(上海)有限公司]; 水为重蒸去离子水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.8% 甲酸 (25 : 75), 流速 1.0 ml/min, 检测波长 276 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μl。

[作者简介] 郭良君, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 中药制剂开发。Tel: 18967260065; E-mail: glj201088@aliyun.com

[通讯作者] 郭建斌, 硕士, 副教授, 研究方向: 卫生事业管理。Tel: (0572)3269501; E-mail: guojb98@163.com

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 24.6 mg, 置 25 ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得到 1 mg/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取鼻炎灵胶囊 10 粒, 将内容物混匀, 精密称取 0.15 g, 置 100 ml 具塞锥形瓶中, 加 80% 甲醇约 50 ml, 超声 60 min, 冷却至室温, 过滤, 滤液移至 50 ml 棕色容量瓶中, 加 80% 甲醇至刻度, 摇匀。吸取 5 ml 置 10 ml 棕色容量瓶中, 加

水稀释至刻度, 以微孔滤膜(0.22 μm)过滤, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 以相同处方比例, 按鼻炎灵胶囊制备工艺制备不含黄芩苷的阴性样品, 再按照“2.2.2”项下方法制备得到阴性样品溶液。

2.3 系统适用性考察 取供试品溶液及对照品溶液各 10 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样。结果表明, 黄芩苷与其他干扰峰分离良好, 分离度均大于 1.5, 保留时间为 8.6 min, 理论塔板数大于 5 000, 见图 1。

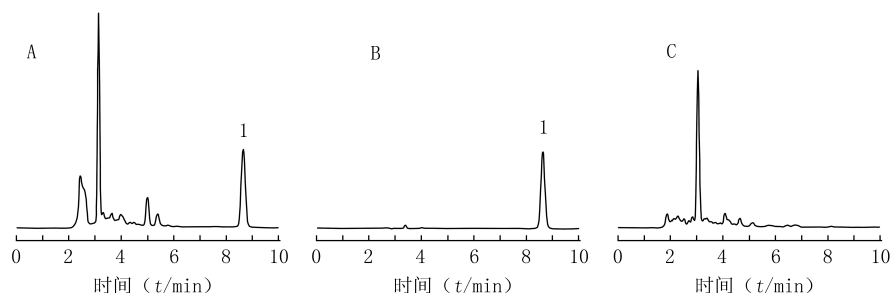


图 1 鼻炎灵胶囊 HPLC 色谱图

A. 供试品溶液; B. 对照品溶液; C. 阴性样品溶液; 1. 黄芩苷

2.4 专属性考察 取供试品溶液、阴性样品溶液及对照品溶液各 10 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样。结果表明, 阴性对照中无其他杂质峰对黄芩苷形成干扰, 见图 1。

2.5 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品储备液 4 ml 和 3 ml 置 10 ml 容量瓶中, 加 100% 甲醇至刻度, 配制成 400 μg/ml 和 300 μg/ml 的对照品溶液。再取上述 2 种对照品溶液各 1 ml 置 10 ml 容量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 配制成 40 μg/ml 和 30 μg/ml 的对照品溶液。再分别取上述对照品溶液各 5 ml 置 10 ml 容量瓶中, 以 50% 甲醇依次对半稀释, 分别配制成 20、15、10、5、2.5、1.25 μg/ml 的对照品溶液。精密吸取上述溶液各 10 μl, 按“2.1”项下色谱方法进样, 测定黄芩苷峰面积值, 以黄芩苷峰面积值(Y)为纵坐标, 黄芩苷浓度(X)为横坐标, 进行线性回归, 绘制标准曲线。结果表明, 黄芩苷在 1.25~40 μg/ml 范围内呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y=33\ 002 X-13\ 287$ ($r=0.999\ 9, n=3$)。

2.6 精密度考察 取 15 μg/ml 的黄芩苷对照品溶液, 重复进样 6 次, 连续 3 d, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录黄芩苷的峰面积, 其日内 RSD 为 0.97%, 日间 RSD 为 1.07%。实验结果表明, 本法精密度较好。

2.7 重复性考察 取同一批号鼻炎灵胶囊样品 6 份(批号: 140427), 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, 其 RSD 为 0.81%, 表明本法重复性较好, 符合含量测定要求, 结果见表 1。

表 1 黄芩苷重复性试验结果($n=6, \omega_B/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

样品批号	黄芩苷含量	平均值	RSD(%)
140427	8.55		
140427	8.46		
140427	8.61	8.56	0.81
140427	8.58		
140427	8.51		
140427	8.65		

2.8 稳定性考察 取同一供试品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录黄芩苷峰面积值, 其 RSD 为 0.90%, 表明黄芩苷在 24 h 内稳定。

2.9 回收率考察 取已知含量的鼻炎灵胶囊内容物 6 份, 精密称定(批号: 140427, 黄芩苷含量为 8.51 mg/g), 分别精密加入黄芩苷对照品储备液 1.2 ml, 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, 按“2.5”项下方法测定黄芩苷含量, 计算回收率, 结果见表 2。

2.10 样品含量测定 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 对 5 批鼻炎灵胶囊进行黄芩苷的含量测定, 结果见表 3。

表2 黄芩苷加样回收率试验结果($n=6$)

加入量 (m/mg)	取样量 (m/g)	原有量 (m/mg)	实测量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1.20	0.150 5	1.279 3	2.423 1	95.32	97.99	2.05
1.20	0.152 4	1.295 4	2.477 9	98.54		
1.20	0.153 6	1.305 6	2.511 2	100.47		
1.20	0.149 7	1.272 5	2.427 8	96.28		
1.20	0.151 8	1.290 3	2.460 4	97.51		
1.20	0.153 2	1.302 2	2.500 2	99.83		

表3 鼻炎灵胶囊中黄芩苷含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	含量($\mu\text{g}/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
130812	8.60 \pm 0.05
131022	7.16 \pm 0.07
131210	9.35 \pm 0.05
140220	8.08 \pm 0.03
140427	8.51 \pm 0.06

3 讨论

对水浴与超声两种常用提取方法进行了考察。分别以甲醇为提取溶剂,提取时间设为30、45、60 min。结果表明,在超声提取中,黄芩苷的提取量随着时间的增加而增加,60 min与其他时间有统计学意义上的差异,因此超声提取以60 min为佳。而水浴提取中,黄芩苷的提取量随着时间的增加先升后降,以45 min为好,60 min时已经有分解下降的趋势。超声提取60 min与水浴提取45 min相比较,差异无统计学意义。超声提取操作简便,有机溶剂损失少,对人员与环境的污染小,可同时提取多份样品,无需额外加热与散热的过程,效率上明显高于水浴提取。综合以上因素,确定超声提取60 min为最佳提取方法。再对甲醇与乙醇两种常用提取溶剂

进行了考察,结果表明,在同等浓度下,甲醇的提取效率要高于乙醇,因此,确定甲醇为提取溶剂。最后对甲醇的浓度进行了对比,考察了50%、80%、100%甲醇的提取效率。结果表明,80%甲醇的提取效率最高。

【参考文献】

- [1] 陆萍,谭兴起,郭良君,等.正交设计优选鼻炎灵胶囊的提取工艺[J].世界中西医结合杂志,2012,7(2):112-114.
- [2] Li BQ, Fu T, Dongyan Y, et al. Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000,276(2):534-538.
- [3] Cao YG, Mao XY, Sun CY, et al. Baicalin attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways[J]. Brain Res Bull, 2011,85(6):396-402.
- [4] 雷芳.黄芩苷药理作用研究进展[J].中国药业,2010,19(15):87-90.
- [5] 邵世峰,刘雪萍,孙婉蓉,等.黄芩苷对结核分枝杆菌抑菌作用的初步研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):763-765.
- [6] 潘永利.黄芩苷对急性肺损伤大鼠的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):238-240.
- [7] 赵亮,王新霞,吕磊,等.HPLC法测定清肝散颗粒中黄芩苷、汉黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素[J].中成药,2014,36(2):313-318.
- [8] 费超,陈然,曹杰,等.HPLC测定芩翘抗感颗粒中黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):63-65.
- [9] 李金玉.复方鱼腥草片中绿原酸、黄芩苷的测定及指纹图谱的建立[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(12):65-69.
- [10] 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,2010:282-283.

[收稿日期] 2015-03-13 [修回日期] 2015-07-12

[责任编辑] 顾文华

(上接第38页)

【参考文献】

- [1] 李国胜,王海燕,杨红娟.孟鲁司特钠片的循证应用[J].山西医药杂志,2016,45(10):1174-1178.
- [2] Kabir-Ud-Din, Al-Ahmadi MD, Naqvi AZ, et al. Conductometric study of antidepressant drug-cationic surfactant mixed micelles in aqueous solution[J]. Colloids Surf B: Biointerfaces, 2008, 64(1):65-69.
- [3] 韩丽梅,王卓,邓英杰,等.用透光率评价分散片混悬性的

方法[J].药物分析杂志,1996,16(6):396-397.

- [4] 赵国玺.表面活性剂物理化学[M].北京:北京大学出版社,1991:190-192.
- [5] Attwood DT. Surfactant Systems Their Chemistry, Pharmacy and Biology[M]. London: Chapman & Hall, 1983:72-117.
- [6] Causon D, Gettins J, Gormally J, et al. Ultrasonic relaxations associated with aggregation in drugs[J]. J Chem Soc Faraday Trans, 1981, 77(1):143-151.

[收稿日期] 2016-07-30 [修回日期] 2016-11-13

[责任编辑] 顾文华