

HPLC 测定灯盏花素缓释胶囊含量

徐雪梅¹, 张小平², 姚丹丹², 王如伟² (1.浙江省中医院, 杭州 310009; 2.杭州爱的发-康恩贝中药研发中心有限公司, 杭州 310052)

摘要: 目的 建立灯盏花素缓释胶囊中野黄芩苷的高效液相色谱法(HPLC)含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, C₁₈柱色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL, 流动相: 甲醇-四氢呋喃-0.1%磷酸溶液(14:14:72), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 335 nm。结果 野黄芩苷在 24.45~293.46 μg·mL⁻¹ 范围内, 峰面积与浓度的线性关系良好($r=0.999\ 9$), 野黄芩苷平均回收率为 101.5%, RSD 为 3.616%。结论 该方法简便准确, 重现性好, 可用于灯盏花素缓释胶囊的质量控制。

关键词: 灯盏花素缓释胶囊; 高效液相色谱法; 野黄芩苷; 含量测定

中图分类号: R917.101; R927.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2009)07-0596-03

Determination of Scutellarin Brevisapin Sustained-Release Capsules by HPLC

XU Xuemei¹, ZHANG Xiaoping², YAO Dandan, WANG Ruwei² (1.Zhejiang Traditional Chinese Medicine Hospital, Hangzhou 310009, China; 2.Hangzhou Etypharm-Conba Traditional Chinese Medicine R&D Co.,LTD, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC method of scutellarin in brevisapin sustained-release capsules. **METHODS** C₁₈(4.6 mm ×150 mm, 5 μm) column with temperature of 30 ℃ was used. The mobile phase was the mixed solution of methanol-tetrahydrofuran-0.1% phosphoric acid (14:14:72) with the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. Determination wavelength was 335 nm and the sample injected volume was 10 μL. **RESULTS** A good linearity of scutellarin was in the range of 24.45-293.46 μg·mL⁻¹. The average recovery of scutellarin was 101.5% with RSD=3.616%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, and can be used for the quality control of brevisapin sustained-release capsules.

KEY WORDS: brevisapin sustained-release capsules; HPLC; scutellarin; content determination

灯盏花素缓释胶囊由菊科植物灯盏细辛提取物制成, 主要成分为野黄芩苷和少量的灯盏花素, 具有活血化瘀, 通络止痛的功效, 对大脑有保护作用^[1-2], 用于中风等脑血管疾病的治疗。目前已上市的剂型有片剂、胶囊剂、注射剂等, 品种收载入 2005 年版中国药典、国家医保目录等, 临床应用广泛, 疗效确切, 受到广大医生和患者的肯定。

野黄芩苷为本品的主要成分, 相关标准和文献记载表明, 其含量测定方法起初有紫外分光光度法^[3-5], 目前较普遍的为 HPLC^[6-9], 此外, 还有薄层层析法^[10], 毛细管电泳法^[11]等。本试验采用 HPLC 测定灯盏花素缓释胶囊中的野黄芩苷的含量。

1 仪器与试药

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); MWD 检测器(美国安捷伦公司), Mettler AE240 电子天平(德国梅特勒公司), TL120 超声波清洗器(上海超声波仪器厂)。

供试品灯盏花素缓释胶囊(由浙江中药与天然药物研究院提供, 批号: 050501, 050502, 050503); 对照品野黄芩苷(中国药品生物制品检定所, 批号: 110842-200403, 纯度 97.12%)。甲醇和四氢呋喃为色谱纯; 磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

作者简介: 徐雪梅, 女, 主管药师 Tel: 13355786235 E-mail: meixuexu@163.com

色谱柱为: Agilent Diamonsil C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm)。以甲醇-四氢呋喃-0.1%磷酸溶液(14:14:72)为流动相。检测波长为 335 nm; 柱温 30 ℃, 理论板数按野黄芩苷计应不低于 2 500。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取野黄芩苷对照品 13.72 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并溶解至刻度摇匀; 精密量取 10 mL 至 25 mL 量瓶中, 加 50%甲醇至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 含野黄芩苷 106.6 μg)。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物适量, 混合均匀, 研细, 取适量(约相当于灯盏花素 60 mg), 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 30 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取 2 mL 到 10 mL 量瓶中, 加 50%甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

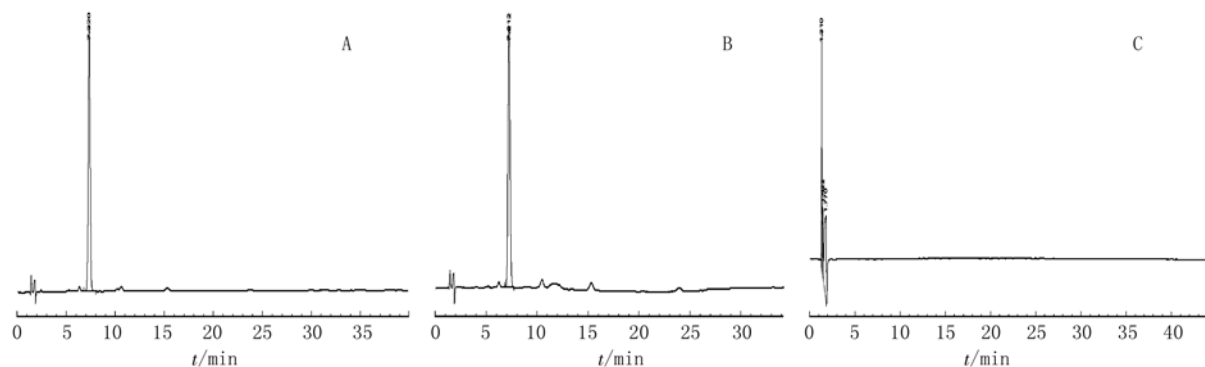


图 1 高效液相色谱图

注: A-对照品; B-供试品; C-空白辅料

Fig 1 HPLC chromatograms

Note: A-reference substance; B-sample; C-blank

2.4 线性试验

精密称取野黄芩苷对照品 12.59 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 50%稀释至刻度, 摇匀即得。分别精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 记录峰面积, 并以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程: $Y=14.921X+12.267$, $r=0.999\ 9$, 表明野黄芩苷在 24.45~293.46 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.5 重复性试验

取灯盏花素缓释胶囊一批样品, 制备 6 份供试品溶液, 按“2.2.3”项下方法测定, 计算含量, 计算结果得平均量 95.40 mg·粒⁻¹, RSD 为 3.23%。

2.6 日间精密度试验

2.2.3 测定方法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法计算, 即得, 本品中每粒胶囊含灯盏花素按野黄芩苷计, 应为 90~120 mg。

2.3 系统适应性试验和空白干扰试验

2.3.1 专属性试验 根据上述色谱条件, 分别测定野黄芩苷对照品和供试品中的野黄芩苷。结果表明, 对照品和供试品的峰形较好, 理论板数均在 2 500 以上, 见图 1。

2.3.2 空白辅料影响试验 按处方配置制剂所用的等比例空白辅料, 按“2.2.2”项下方法制得空白对照溶液, 并按上述方法进行样分析, 记录色谱图, 结果表明在与对照品色谱相应的保留时间处, 空白对照品无色谱峰, 提示制剂所用辅料对含量测定的组分不产生任何影响, 见图 1。

取灯盏花素缓释胶囊一批样品, 在连续 6 d 时间里, 分别每天取样进行野黄芩苷的含量测定, 计算含量, 计算结果得平均量 96.44 mg·粒⁻¹, RSD 为 1.76%。

2.7 回收率试验

采用半量加样法进行回收率试验。取已测定含量的供试品(批号: 050501), 取内容物细粉适量和野黄芩苷对照品, 精密称定, 至量瓶中, 按“2.2.2”项下方法处理。以低浓度(80%)、中浓度(100%)、高浓度(120%)的方法制得 9 份供试品溶液, 分别测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2.8 样品含量测定

根据上述方法学确定的方法和条件, 测定 3 批样品的含量, 结果见表 2。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 The result of recovery test

已知量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
3.91	5.220	9.24	102.11	100.72	3.84
3.68	5.130	9.03	104.29		
3.67	5.360	8.95	98.51		
4.72	5.915	10.35	95.18		
5.17	6.031	11.48	104.63		
5.01	6.274	11.57	104.56		
6.09	7.520	13.88	103.59		
6.24	7.590	13.54	96.18		
6.04	7.480	13.33	97.46		

表 2 样品含量测定(n=5)

Tab 2 Results of sample determination(n=5)

批号	含量测定值/mg·粒 ⁻¹	RSD/%
050501	96.41	0.36
050502	94.53	0.39
050503	96.01	0.36

4 讨论

通过试验表明，本试验所筛选的色谱条件较好地满足了制剂中野黄芩苷含量的测定。但根据文献^[6-9]报道，前期采用过甲醇-水-冰醋酸、甲醇-水-磷酸系统为流动相，结果均不理想，分析可能存在高效液相仪型号和检测器的差异。曾试采用甲醇-0.025%磷酸溶液(32：68)，甲醇-1%磷酸溶液(35：65)等流动相条件。经比较，以甲醇-四氢呋喃-0.1%磷酸溶液(14：14：72)为流动相所得峰形较好，柱效高，与相邻色谱峰分离度较好，且无拖尾现象，故选用此系统。

由于灯盏花素缓释胶囊为该品种的一种新剂型，目前尚未上市，故产品的质量标准的充分研究，将对制剂品种的稳定性和上市后质量监控具有十分重要的意义。本试验建立了 HPLC 测定灯盏花素缓释胶囊中野黄芩苷的含量测定，方法学研究表明

重复性和准确性均较好，可将此法用于灯盏花素缓释胶囊的质量控制。

REFERENCES

[1] WANG J G, CHEN Q, ZENG Y M. Effects of breviscapine parenteral solution on energy metabolism and cerebral edema after cerebral ischemia-reperfusion in gerbils [J]. Chin J Clin Rehabil (中国临床康复), 2005, 9(45): 177-179.

[2] TANG X S, MA Y Z. Protective effects of Breviscapine injection against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J].Chin J Clin Rehabil (中国临床康复), 2005, 9(29): 243-245.

[3] MENG Y B, ZHAO C Y, GAO X Y. Determination of Total Flavone and Scutellarin in difference period of growth Scutellaria baicalensis Stem and Leaf [J]. J Chengde Med Coll (承德医学院学报), 2003,20(3):258-259.

[4] WS 3-B3822-98, The standsrd of Brevisapin for injection[S].

[5] TANG L P, TAN Q G, GONG Y Q, et al. Studies on determination of total flavonoids and similarity of UV-spectrum of erigeron breviscapus from different regions of yunnan province [J]. J Yunnan Coll Tradit Chin Med (云南中医学院学报),2005,28(3):8-10.

[6] LI S C, LI S M, FAN S Y. HPLC Determination of Scutellarin Brevisapin S.barbata [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2003,34(2):183-184.

[7] ZHENG L P, HUANG C Q, MIAO X C, et al. HPLC determination of scutellarin in breviscapus granules [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2005, 25(4): 439-441.

[8] FENG S H, LU P W, ZHANG J. Determination of scutellarin in breviscarpin tablets by HPLC [J]. J Prac Med Pharm (实用医药杂志), 2004, 21(10): 924-925.

[9] LI C Q, TU W Q. Determination of scutellarin in brevisapin tablets by HPLC [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2006, 17(3): 212-213.

[10] LIAGN N X, YU H, ZHANG L J, et al. Determination of scutellarin in individual erigeron breviscapus by TLC [J]. J Yunnan Univ (云南大学学报), 2006, 28(2): 150-152.

[11] RAO Y, WEI H Z, WANG Y M. Analysis and determination of scutellarin in preparation using capillary electrophoresis [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2002, 24(8): 584-586.