

# HPLC法测定蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷的含量

邹节明<sup>1</sup>,袁伟恩<sup>2</sup>,蒋治良<sup>2\*</sup>,王力生<sup>1</sup>,潘宏程<sup>2\*</sup>

(1. 桂林三金药业股份有限公司,广西 桂林 541004; 2. 广西师范大学 资源与环境学系,广西 桂林 541004)

蛤蚧定喘胶囊是三金集团桂林中药制药厂在传统产品蛤蚧定喘丸的基础上经过改革而研制的新制剂,主要是由蛤蚧、鳖甲、紫苑等中药组成。具有平喘、祛痰、止咳、抗炎、免疫、抑菌和抗过敏等作用。临床用于治疗肺肾两虚、痰热咳嗽气喘具有良好的疗效<sup>[1]</sup>。苦杏仁苷是紫苑的主要有效成分之一,它的含量是评价蛤蚧定喘胶囊质量的一项重要指标。苦杏仁苷含量测定已有二阶导数光谱法、2,4-二硝基苯肼法、紫外吸收光谱法、薄层扫描法、化学发光淬灭法、气相色谱(GC)法、顶空GC微量氰化物法等报道<sup>[2-7]</sup>。本实验建立了一个操作简便、快速、结果准确可靠的测定蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷含量的HPLC方法。

## 1 仪器与试剂

LC-10ATVP高效液相色谱仪及色谱工作站(日本岛津公司);UV-1901双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);SK3200H型超声清洗机(上海科导超声仪器有限公司);BS-110S型电子天平(Sartorius);RF-52C型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇(色谱纯,上海化学试剂公司);苦杏仁苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:820-200002);蛤蚧定喘胶囊由广西桂林三金制药股份有限公司提供;亚沸水(自制)。

## 2 方法与结果

2.1 检测波长的选择:以甲醇配制一定浓度的苦杏仁苷溶液,用紫外分光光度计扫描。苦杏仁苷在215 nm处出现最大吸收。由于甲醇在206 nm处仍有较强吸收,为了减小流动相的紫外吸收对测定结果的影响,确定检测波长为215 nm。

2.2 色谱条件:色谱柱:Shim-Pack VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm)(日本岛津);流动相:甲醇-水(87:13);检测波长:215 nm;流速:1.2 mL/min;温度:25℃。色谱图见图1。在选定的色谱条件下,苦

杏仁苷对照品在0.965 min处有一很好的色谱峰;蛤蚧定喘胶囊中的苦杏仁苷的保留时间为0.965 min,可与样品中其他组份分开,5 min可完成一次测定。

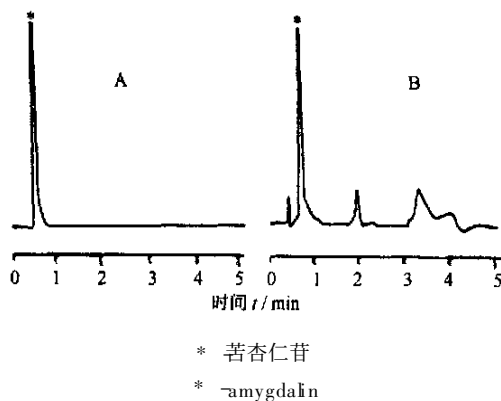


图1 苦杏仁苷对照品(A)和蛤蚧定喘胶囊(B)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of amygdalin reference substance (A) and Gejie Dingchuan Capsule (B)

2.3 工作曲线制备:精密称取苦杏仁苷对照品20.0 mg,以甲醇定容至100.0 mL,得0.2 mg/mL的对照品溶液。准确吸取0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL,再定容到10 mL量瓶中,吸取系列对照品溶液各20 μL,分别注入液相色谱仪,测定。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,结果苦杏仁苷在2.00~32.68 mg/L与峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $Y = 1.62 \times 10^4 X + 2.04$ ,  $r = 0.998$ 。

2.4 供试品溶液制备:准确称蛤蚧定喘胶囊内容物2.05 mg,用甲醇20 mL超声提取45 min。提取液经0.45 μm滤膜滤过,滤液高速(10 000 r/min)离心5 min。准确移取上层清液2 mL,用甲醇配成10 mL溶液,0.45 μm滤膜滤过,即得。

2.5 检出限测定:苦杏仁苷对照溶液浓度为2.00 μg/mL时,目标峰高为基线噪音的3倍,得最低检出限为2.00 mg/mL。

\* 收稿日期:2003-08-12

基金项目:广西自然科学基金资助项目(014403)

作者简介:邹节明(1943-),男,教授,博士生导师,长期从事中药制剂创新研究与产业开发。

\* 通讯作者 E-mail: zljia@gl.gx.cninfo.net

2.6 精密度试验: 取 0.2 mg/mL 的苦杏仁苷对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 计算得其 RSD 为 0.85%。

2.7 稳定性试验: 取苦杏仁苷对照品溶液放置 3 d, 测定, 结果对苦杏仁苷含量无影响。

2.8 重现性试验: 对同一批样品分别称取 5 份, 按照供试品溶液制备方法操作, 测定, 计算得苦杏仁苷的平均含量为 138.1 mg/g, RSD 为 0.85%。

2.9 回收率试验: 精密移取蛤蚧定喘胶囊溶液 1.0, 1.0, 2.0, 3.0, 3.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 分别加入苦杏仁苷对照品溶液 0.5, 0.5, 1.0, 1.0, 2.0 mL, 按供试品溶液制备方法操作, 测定, 结果平均回收率为 101.5%, RSD 为 0.85% ( $n=5$ )。

2.10 样品中苦杏仁苷含量测定: 采用外标法, 取蛤蚧定喘胶囊溶液 10  $\mu$ L 测定, 把峰面积值代入工作曲线方程, 求出苦杏仁苷浓度, 计算, 结果见表 1。

表 1 蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷的含量测定结果 ( $n=5$ )

| Table 1 Amygdalin in Gejie Dingchuan Capsule ( $n=5$ ) |                              |       |
|--------------------------------------------------------|------------------------------|-------|
| 批号                                                     | 苦杏仁苷 / (mg·g <sup>-1</sup> ) | RSD % |
| 1                                                      | 137.2                        | 0.88  |
| 2                                                      | 141.3                        | 0.86  |
| 3                                                      | 140.7                        | 0.91  |
| 4                                                      | 130.5                        | 0.80  |
| 5                                                      | 130.8                        | 0.77  |

### 3 讨论

糖类物质的分离大多采用氨基柱, 以乙腈-水作为流动相进行。但氨基柱使用寿命短, 加之乙腈价格较为昂贵, 很难应用于工业生产过程的例行检测。本实验在反相 C<sub>18</sub> 柱上以甲醇-水体系作为流动相对苦杏仁苷进行分析, 建立了蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷的高效液相色谱分析法, 准确、简单、快速、灵敏度高, 分析成本低, 可以作为蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷含量测定的方法。

### References

[1] Zuo J M, Pan Z J, Li M Z, *et al.* Study on pharmacodynamics and toxicology of Gejie Dingchuan Capsule [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(4): 343.

[2] Chen D C. Determination of amygdalin by thin layer chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981(8): 13-15.

[3] Yin Z H. Derivative spectrum distinguished *Semen Armeniacae Amanrum* and walnut [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1993(10): 23.

[4] Dong L G. Determination of amygdalin by ultra-violet absorption spectrometry [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1983, 5(4): 33-34.

[5] Wang B Q. Determination of amygdalin by fluorescence quenching method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(4): 17-19.

[6] Dong L G. Determination of amygdalin by gas chromatography [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1983, 5(11): 27-28.

[7] Fu Z M. Determination of micro cyanide in *Semen Armeniacae* biscuits by headspace gas chromatography [J]. *Food Sci* (食品科学), 1994(8): 72.

## 不同干燥条件对银杏叶中活性成分含量的影响

何 , 何照范, 张迪清\*  
(贵州大学, 贵州 贵阳 550025)

银杏 *Ginkgo biloba* L. 属裸子植物, 是我国特有的古老树种之一。我国银杏叶产量约占世界总量的 70%。银杏黄酮、银杏萜内酯是银杏叶中主要活性成分。银杏黄酮具有相当强的抗氧化作用, 能清除生物体内过剩的自由基, 阻止体内脂质过氧化; 银杏萜内酯是一种血小板活化因子 (PAT) 拮抗剂, 对脑血栓、心肌梗死有很好的治疗作用。因此, 银杏叶被认为是治疗心脑血管疾病的首选天然药物<sup>[2]</sup>。

银杏酸是银杏叶主要有毒成分之一, 具有较强的不良作用, 它与致过敏、致突变有关。目前, 国际上对银杏提取物及其制剂中银杏酸含量有严格的要

求, 必须控制在 5 mg/kg 以下。白果酸是银杏酸的主要组份之一。因此, 通过对不同干燥方法的研究, 测定不同干燥条件下银杏叶中白果酯、银杏黄酮、萜内酯含量, 从中选择一个既能有效的降低银杏酸中白果酸含量, 减少其不良作用, 又能很好地保持银杏叶中黄酮、萜内酯药用成分的最佳干燥条件, 为获得高质量的银杏叶原料, 生产出高标准的银杏叶提取物、银杏制剂; 同时为我国银杏叶和银杏叶提取物的出口提供高质量产品有着重要意义。

### 1 材料与仪器

银杏经贵州大学园艺系史继孔教授鉴定, 产自

\* 收稿日期: 2003-06-20  
基金项目: 贵州大学校基金资助课题