

独特制药技术,必须继承它,努力挖掘其中的精髓,勇于创新,使其的应用科学化、规范化。正是基于此,本实验按《中药饮片注册管理办法》(试行)的有关规定进行了醋延胡索的规范化研究,以期生产出优质

的中药饮片,保证人民群众用药的安全性、有效性。

Reference:

- [1] Gong Q, Zhou D, Wang BJ. Assay of tetrahydropalmatine in Yanhusuo by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学杂志), 2000, 17 (4): 315-317.

RP-HPLC 法测定痒疹颗粒中芍药苷和黄芩苷

王 栋¹, 麻世泽¹, 隋丽华¹, 郭 琰¹, 韩国柱^{2*}, 李 楠³

(1. 大连市皮肤病医院 药剂科, 辽宁 大连 116021; 2. 大连医科大学 药理教研室, 辽宁 大连 116027;

3. 大连理工大学 分析化学教研室, 辽宁 大连 116012)

痒疹颗粒由赤芍、黄芩、金银花、土茯苓等10味中药组成,为我院协定处方,其中赤芍和黄芩分别起到活血化瘀和清热解毒作用,具止痒之功效,在本院皮肤科应用多年,证实对痒疹等疾病有效。为更好地控制产品质量,本实验建立了HPLC同时测定痒疹颗粒中芍药苷和黄芩苷的方法。经方法学考察证实该方法特异性高,回收率和精密度好,测定方法可行,完全满足质控要求。

1 材料

Waters 高效液相色谱仪, Waters1525 型 HPLC 泵, Waters 2487UV 检测器, Breeze 色谱工作站。

痒疹颗粒(大连市皮肤病医院制剂室); 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110736—200320); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 10715—200212); 甲醇为色谱纯, 水为纯化水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Symmetry C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相由 A、B 两种溶液组成, 溶液 A 为水-冰醋酸-三乙胺(100:0.4:0.1), 溶液 B 为甲醇, 采用梯度洗脱方式: 0~10 min, 70%A; 10~28 min, 45%A; 28~30 min, 45%~70%A, 线性梯度; 检测波长: 0~10 min, 232 nm; 10~30 min, 280 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。理论塔板数按芍药苷峰计算应不低于 3 000, 按黄芩苷峰计算应不低于 2 500。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称定芍药苷对照品 5

mg, 黄芩苷对照品 10 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量超声溶解并加至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密吸取上述两种储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 分别置于同一 10 mL 量瓶内, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品系列溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取痒疹颗粒适量, 研细, 精密称定 0.5 g, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声提取 30 min, 冷却, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性样品溶液的制备: 按处方分别制备不含赤芍或黄芩药材的样品颗粒剂, 按供试品溶液的制备方法制成相应的阴性样品溶液, 备用。

2.5 方法特异性: 取对照品溶液、不含黄芩阴性样品溶液、不含赤芍阴性样品溶液和供试品溶液, 在上述色谱条件下进样 20 μL, 记录色谱图(图1)。结果芍药苷和黄芩苷保留时间约为 7.0 和 23.0 min, 不含赤芍阴性样品溶液在芍药苷出峰区间未出现相应色谱峰, 不含黄芩阴性样品溶液在黄芩苷出峰区间亦未出现相应色谱峰, 表明方法特异性较高。

2.6 线性关系: 分别精密吸取上述混合对照品系列溶液 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定。以进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 经线性回归, 得芍药苷回归方程为 $Y = 54\,400X + 10\,900$, $r = 0.999\,2$, 在 0.2~1 μg 呈良好的线性关系; 黄芩苷回归方程为 $Y = 220\,000X - 85\,200$, $r = 0.999\,2$, 在 0.4~2 μg 呈良好的线性关系。

2.7 稳定性试验: 吸取供试品溶液分别于 0、2、4、

收稿日期: 2005-01-20

作者简介: 王 栋(1974—), 男, 辽宁瓦房店人, 主管药师, 硕士, 1998年毕业于沈阳药科大学, 2005年获大连医科大学硕士学位, 主要从事药物制剂及质控研究。Tel: (0411) 84643570

* 通讯作者 韩国柱 Tel: (0411) 84720229 E-mail: hgzhx2236@sina.com.cn

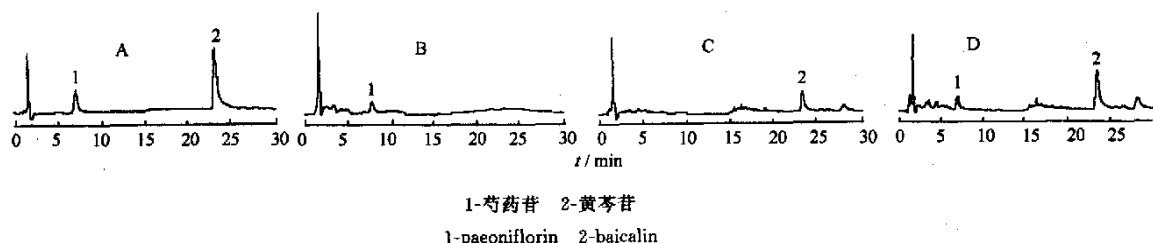


图1 混合对照品(A)、缺黄芩阴性对照(B)、缺赤芍阴性对照(C)和痒疹颗粒(D)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), negative sample without *Radix Scutellariae* (B), negative sample without *Radix Paeoniae Rubra* (C), and Yangzhen Granula (D)

6、8、10 h 进样,测定峰面积,计算得芍药苷和黄芩苷峰面积RSD分别为1.37%和2.09%,表明供试品溶液10 h内稳定。

2.8 精密度试验:取混合对照品系列溶液中低质量浓度(芍药苷0.01 mg/mL,黄芩苷0.02 mg/mL)、中质量浓度(芍药苷0.03 mg/mL,黄芩苷0.06 mg/mL)、高质量浓度(芍药苷0.05 mg/mL,黄芩苷0.1 mg/mL)的3种溶液,照上述色谱条件,精密进样20 μ L,连续重复进样5次,测得芍药苷的RSD分别为0.68%、0.77%、1.16%;黄芩苷的RSD分别为1.01%、1.32%、0.61%。

2.9 重现性试验:取样品,精密称定5份,制备供试品溶液,进样测定计算芍药苷和黄芩苷的质量分数,其RSD分别为3.63%和2.42%。

2.10 加样回收率试验:精密称取已知芍药苷和黄芩苷质量分数的同一批样品5份,每份0.2 g(含芍药苷0.655 mg和黄芩苷1.500 mg),分别置于25 mL量瓶中,分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.131 mg/mL)5 mL,黄芩苷对照品溶液(0.3 mg/mL)5 mL,按供试品溶液的制备方法操作,计算回收率,结果芍药苷的平均回收率为98.22%,RSD为1.32%;黄芩苷的平均回收率为98.46%,RSD为2.00%。

2.11 样品测定:取5个不同批号样品,制备供试品溶液,依法测定,按外标峰面积法计算芍药苷和黄芩苷的质量分数,结果见表1。

表1 痒疹颗粒中芍药苷和黄芩苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of paeoniflorin and baicalin in Yangzhen Granula ($n=3$)

批号	芍药苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	RSD/%	黄芩苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	RSD/%
040920	3.657	2.01	6.427	2.63
031210	2.473	1.93	6.107	2.72
030912	3.437	3.01	7.047	1.78
040830	5.139	2.87	10.408	2.09
041026	4.198	2.29	8.823	2.16

3 讨论

3.1 中药制剂中芍药苷和黄芩苷测定方法虽已有不少文献报道^[1~3],但均为单独一种成分的测定。本研究同时测定制剂中这两种成分,难度较大,故利用波长切换、梯度洗脱等方法以排除干扰。

3.2 流动相的确定:本实验曾选择甲醇-水、甲醇-醋酸水溶液、乙腈-醋酸水溶液系统,结果都不太理想,芍药苷、黄芩苷峰形欠佳,出峰区间都有干扰。而采用本实验色谱条件,即加入扫尾剂三乙胺后,芍药苷和黄芩苷峰形明显改善,且干扰减少。

3.3 梯度洗脱方式的确定:曾采用等度洗脱方式,当甲醇比例为40%以下时,黄芩苷保留时间太长,甚至洗脱不下来,并且严重拖尾。若提高甲醇比例,芍药苷和黄芩苷的保留时间虽缩短,但前后受样品杂质峰干扰,故确定采用梯度洗脱的方式。先采用低比例(30%)甲醇,延长芍药苷出峰时间,待达到基线时(约10 min)再提高甲醇比例至55%,使黄芩苷出峰提前,且排除了杂质峰干扰。

3.4 切换波长的确定:当采用芍药苷的最大吸收波长232 nm为测定波长时,二者都有较大吸收,但由于末端吸收的影响,当改变流动相比比例时,基线发生很大的漂移而无法进行检测;若采用黄芩苷的最大吸收波长280 nm为测定波长时,芍药苷无吸收而检测不到,故采用改变波长的方法,分别用各自的吸收波长进行测定。

References:

- [1] Hua J G, Hu L J. Study on quality standard of sterile Shuanghuanglian Powder for injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1996, 18 (11): 13-15.
- [2] Liu J H, Wang S F. Determination of paeoniflorin content in Wujibaifeng Tablets by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (4): 325.
- [3] Qiu W Z. Determination of baicalin content in Qingxie Pills by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (6): 512-513.