

HPLC 法测定风痛炎颗粒中黄芩苷

贾淑杰¹, 王露², 王文彤¹

1. 天津市医药科学研究所, 天津 300020

2. 天津海河医院, 天津 300350

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定风痛炎颗粒中黄芩苷的方法。方法 采用 RP-HPLC 法测定黄芩苷的量; 色谱柱为 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 10 μm), 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (50:50:1), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 274 nm, 柱温 40 °C。结果 黄芩苷在 100.60~2 012.00 μg/mL 线性关系良好, 平均回收率为 100.25%, RSD 为 0.360%。结论 本方法简单、准确, 可用于风痛炎颗粒的质量控制。

关键词: RP-HPLC; 黄芩苷; 定量测定; 风痛炎颗粒; 质量控制

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)03-0507-02

Determination of baicalin in Fengtongyan Granule by HPLC

JIA Shu-jie¹, WANG Lu², WANG Wen-tong¹

1. Tianjin Institute of Medical Pharmaceutical Science, Tianjin 300020, China

2. Tianjin Haihe Hospital, Tianjin 300350, China

Key words: RP-HPLC; baicalin; quantitative determination; Fengtongyan Granule; quality control

风痛炎颗粒由黄芩、独活、桂枝、木香等多种中药组成, 具有祛风散寒、利湿通络、解毒消肿等作用^[1], 用于治疗风湿性关节痛和风湿性关节炎等。为了进行质量控制, 根据本处方配伍并结合文献报道^[2-3], 本实验摸索出 RP-HPLC 法的实验条件, 对方法学进行了考察, 同时对制剂中的黄芩苷进行定量测定, 本方法操作简便、结果准确、灵敏度高、专属性强, 为控制风痛炎颗粒质量和临床用药的有效性提供实验依据。

1 仪器与材料

LC-10ATVP、LC-2010AHT 高效液相色谱仪 (日本岛津), AE-240 型电子天平 (上海梅特勒公司), KQ-250B 型超声处理器 (昆山市超声仪器有限公司)。黄芩苷 (批号 110715-200815, 质量分数 95.2%, 中国药品生物制品检定所); 甲醇 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司)、冰醋酸 (分析纯, 天津市化学试剂一厂); 水为去离子水。风痛炎颗粒 (批号 20090313、20090419、20090506, 天津中西医结合津华风湿类疾病医院提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

依利特 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 10 μm), 甲醇-水-冰醋酸 (50:50:1) 为流动相, 检测波长 274 nm, 柱温 40 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL, 理论塔板数不低于 5 000; 在上述条件下风痛炎颗粒中黄芩苷与其他组分达到基线分离, 与相邻杂质峰分离度大于 2.5。在本色谱条件下, 对照品、供试品、阴性样品色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取减压干燥至恒定质量的黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加 50%乙醇制成含黄芩苷 100.60 μg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取风痛炎颗粒, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%乙醇溶液 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方称取除黄芩外

收稿日期: 2011-07-05

作者简介: 贾淑杰 (1964—), 女, 天津市人, 副主任技师, 长期从事药物成分研究及制剂质量标准制定。

Tel: 15522032883 E-mail: 64641001@163.com

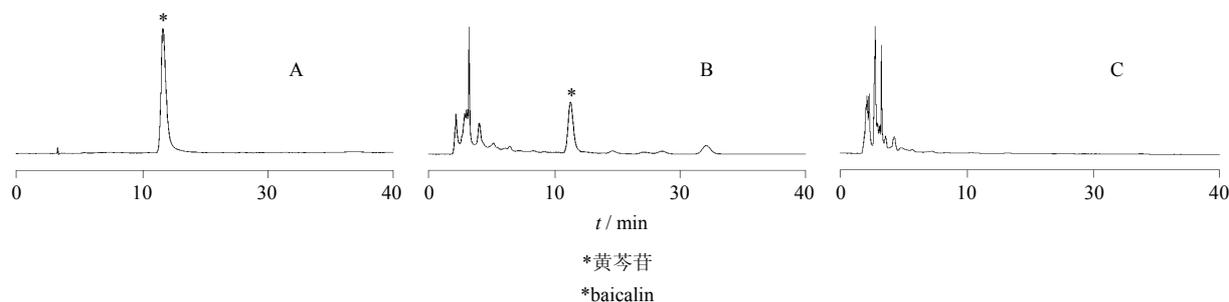


图 1 黄芩苷对照品 (A)、风痛炎颗粒样品 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of baicalin reference substance (A), Fengtongyan Granule (B), and negative sample (C)

各味药材,按“2.3”方法制得阴性样品溶液。

2.3 线性关系考察

分别量取黄芩苷对照品溶液 1、5、10、15、20 μL ,注入液相色谱仪,按“2.1”项色谱条件进样测定,测定峰面积,以黄芩苷进样量 (μg) 为横坐标 (X),峰面积值为纵坐标 (Y) 进行线性回归,得回归方程 $Y=3\ 387.7 X-83\ 401$ ($R=0.999\ 2$),表明黄芩苷在 100.60~2 012.00 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取供试品溶液,按照“2.1”项色谱条件连续进样 6 次,每次 10 μL ,测定黄芩苷峰面积,计算得其峰面积的 RSD 为 0.3%。

2.4.2 稳定性试验 取同一批号 (20090313) 样品,按“2.3”项供试品溶液制备操作,分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,测得峰面积值的 RSD 为 0.37%,结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4.3 重现性试验 取同一批号 (20090313) 样品,按照“2.3”项操作,共 6 份,按“2.1”项色谱条件分析测定,结果黄芩苷质量分数的 RSD 为 1.39%。

2.4.4 加样回收率试验 取同一批号 (20090313) 样品研细,共 6 份,按“2.3”项供试品溶液制备操作,分别精密加入黄芩苷对照品的稀释溶液 (10.06 $\mu\text{g/mL}$) 25 mL,按“2.1”项色谱条件分析,计算回收率,结果平均回收率为 100.25%,RSD 为 0.36%。

2.5 样品测定

取 3 个批号 (20090313、20090419、20090506) 的样品,按照“2.3”项供试品溶液制备操作,按“2.1”项色谱条件测定,结果样品中黄芩苷的质量分数分别为 4.131 9、4.282 4、4.285 4 mg/g ($n=4$)。

3 讨论

3.1 提取方式的确定

同一批号 (20090313) 样品,超声处理与加热回流处理,提取时间均为 30 min,测定样品中黄芩

苷的量,结果显示,两种方法提取测得结果基本一致,故采用相对简便的超声提取方法。

3.2 提取溶剂的确定

同一批号 (20090313) 样品,分别采用 95%、70%、50%乙醇为提取溶剂,进行黄芩苷的测定分析,结果 70%、50%乙醇为提取溶剂黄芩苷测定量较高,考虑节约溶剂,采用 50%乙醇为提取溶剂。

3.3 提取时间的确定

比较了 30、45、60 min 提取时间定量测定结果,表明提取 30、45、60 min 测得样品中黄芩苷的量不随时间延长而有所增加,故提取时间为 30 min。

3.4 提取溶剂量的确定

同一批号 (20090313) 样品,分别精密加入 50%乙醇 25、50、100 mL 进行提取,测定样品中黄芩苷的量。结果显示提取溶剂量为 50 mL 时样品中黄芩苷的量较高,故确定提取溶剂量为 50 mL。

3.5 不同色谱柱的考察

采用了不同批号的 C_{18} 色谱柱对样品定量测定的影响,结果测得黄芩苷的量基本一致,说明该样品分离时选择 C_{18} 柱是可行的。

3.6 流动相的确定

采用了甲醇-水-磷酸与甲醇-水-冰醋酸两种流动相分离,结果显示甲醇-水-冰醋酸分离效果更好。

3.7 仪器对定量测定的影响

分别采用 LC-2010AHT 及 LC-10ATVP 高效液相色谱仪,结果测得黄芩苷的量基本一致。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 赵兰芬,符清海,冯进仪. 不同剂型清开灵中黄芩苷含量测定方法的改进 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 479-482.
- [3] 王惠娟,王力,刘艳新. 牛黄解毒片中黄芩苷的 HPLC 法测定结果的不确定度评定研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1326-1329.