

## 高效液相色谱法测定乙肝宁胶囊中芍药苷的含量

李萍<sup>1</sup>, 杨洁<sup>2</sup> (1. 军事医学科学院仪器分析中心, 北京 100850 2. 解放军总医院, 北京 100850)

**摘要** 目的: 建立 HPLC 法测定乙肝宁胶囊中芍药苷含量的高效液相色谱法。方法: 采用高效液相色谱法, ZORBAX RX-SIL 分析柱(150mm×4.6mm, 5 $\mu$ m); 流动相: 正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨水(270:270:20:1.7); 检测波长: 254nm(带宽 2nm) 参比波长: 550nm(带宽 100nm); 流速: 1.0mL/min。结果: 芍药苷的线性关系良好( $r=0.9995$ ), 加样回收率为 97.8%, RSD 为 1.9% ( $n=5$ )。结论: 该方法准确、灵敏度高, 重现性好。

**关键词** 高效液相色谱法; 乙肝宁胶囊; 芍药苷

**中图分类号**: R927.2      **文献标识码**: A      **文章编号**: 1006-0111(2004)04-0226-03

## Determination of paeoniflorin in Yiganning capsule by HPLC

LI Ping<sup>1</sup>, YANG Jie<sup>2</sup> (1. Center of test and instrument, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China; 2. General Hospital of PLA, Beijing 100850, China)

**ABSTRACT Objective:** To develop a method for the determination of paeoniflorin in Yiganning capsule by HPLC has been developed. **Methods:** Chromatographic analysis was carried out on a ZORBAX RX-SIL column (150mm×4.6mm, 5 $\mu$ m) with n-hexane and dichloromethane and methanol and strong ammonia water (270:270:20:1.7, volume ratio) as mobile phase. The detection wavelength was 254nm (band width 2nm) and reference wavelength 550nm (band width 100nm). 1mL of supernatant were injected. **Results:** The linear range was well ( $r=0.9995$ ), the averang recovery of paeoniflorin was 97.8% ( $n=5$ ), and the relative standard deviation was 1.9%. **Conclusion:** This method is accurate, sensible and reproducible.

**KEY WORDS** HPLC; Yiganning capsule; paeoniflorin

乙肝宁胶囊是用于治疗乙型肝炎的中成药, 主要由白芍、生地黄、鳖甲、冬虫夏草、柴胡等中草药组成。具有滋补肝肾、健脾益气、活血解毒等作用, 临床上用于治疗病毒性肝炎, 疗效确切。方中白芍为君药, 芍药苷为其主要有效成分<sup>[1]</sup>。以前采用薄层扫描法作为乙肝宁颗粒芍药苷含量的测定方法, 但发现该方法的重现性不佳。为建立简便准确的定量方法, 采用高效液相色谱法对乙肝宁颗粒中芍药苷的含量进行了测定, 以控制成药的质量, 效果良好, 定量准确, 快速。

### 1 试药

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪: 惠普 HP-1050 四元梯度泵; HP-1050 DAD 检测器; HP 化学工作站(美国惠普公司); HP DeskJet 500Q 打印机。

**1.2 试药** 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0736-9913, 纯度 99.0%); 乙肝宁胶囊(解放军 302 医院, 批号 0212090、030109、030321、030406、030412)。正己烷、甲醇为色谱纯; 二氯甲

烷、浓氨水等其它试剂均为分析纯; 水为亚沸水(自制)。

### 2 实验方法与结果

**2.1 色谱条件** ZORBAX RX-SIL 分析柱(150mm×4.6mm, 5 $\mu$ m); 流动相: 正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨水(270:270:20:1.7); 检测波长: 254nm(带宽 2nm) 参比波长: 550nm(带宽 100nm); 流速: 1.0mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C。

按以上色谱条件得到样品, 对照品, 阴性对照液、分离色谱图, 见图 1。

#### 2.2 方法学考察

**2.2.1 色谱峰纯度检测** 将芍药苷对照品溶液和样品溶液注入高效液相色谱仪, 应用二级管阵列检测器和色谱工作站, 测得样品色谱中芍药苷色谱峰纯度系数大于 995。

**2.2.2 色谱峰光谱一致性检测** 应用二级管阵列检测站和色谱工作站, 对样品中芍药苷色谱峰和对照品中芍药苷色谱峰进行光谱扫描, 结果两者光谱吸收图谱基本一致, 见图 2。

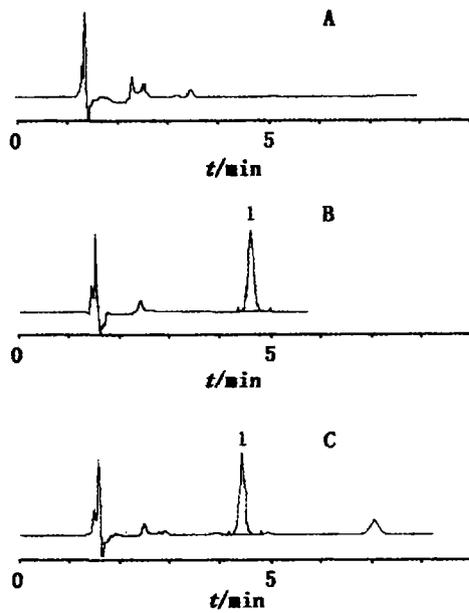


图1 乙肝宁胶囊 HPLC 色谱图

A-芍药苷阴性对照品;B-芍药苷对照品;C-样品

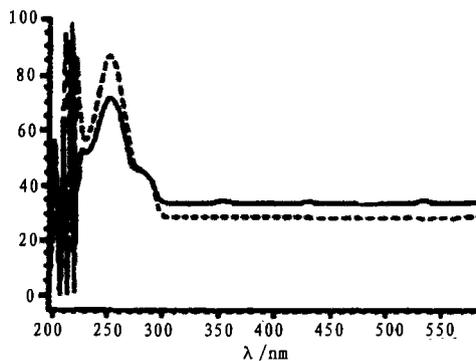


图2 芍药苷色谱峰的光谱吸收图

--- 芍药苷对照品;— 样品中芍药苷

2.2.3 精密度实验 精密吸取芍药苷对照品溶液 10 $\mu$ L,重复进样6次,测量峰面积,结果见表1。

表1 芍药苷对照品溶液的精密度的试验结果

次数	峰面积	$\bar{x}$	RSD(%)
1	1 000		
2	992		
3	998	997	0.6
4	998		
5	990		
6	1 006		

2.2.4 样品溶液稳定性实验 取供试品溶液,分别于配制后0、0.5、1、2、3、5、8 h,依样品测定方法测定,结果表明,供试品溶液基本稳定。见表2。

2.2.5 线性关系分析 精密吸取芍药苷对照品溶液(50 $\mu$ g/mL)0.5、1.0、2.0、3.0、4.0mL 分别置于

10mL 量瓶中,加醋酸乙酯稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取各对照品溶液 10 $\mu$ L,依次注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件,测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,芍药苷进样量( $\mu$ g)为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为: $Y=2\ 168.1X+23.0$ , $r=0.999\ 5$  ( $n=5$ )

表2 供试品溶液稳定性试验结果

时间(h)	峰面积	$\bar{x}$	RSD(%)
0	918		
0.5	929		
1	923		
2	934	924	0.8
3	931		
5	922		
8	913		

结果表明,芍药苷在 0.116 5~0.932 0 $\mu$ g 范围内呈线性关系。

2.2.6 重复性试验 按样品测定方法测定,对同一批样品(批号 030406)重复测定5次,结果见表3。

表3 乙肝宁胶囊中芍药苷重现性试验结果

称样量(g)	芍药苷含量(mg/粒)	平均含量(mg/粒)	RSD(%)
0.465 7	0.533 2		
0.494 8	0.556 6		
0.500 2	0.557 4	0.550 1	2.0
0.499 2	0.557 5		
0.503 7	0.546 0		

2.2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品(批号 030406)0.25g,精确加入芍药苷对照品,按样品溶液的制备方法操作,测定其含量,并计算回收率,测定结果见表4。

表4 乙肝宁胶囊中芍药苷的加样回收率试验结果

称样量(g)	相当芍药苷的量(mg)	加入的芍药苷的量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{x}$ (%)	RSD(%)
0.255 6	0.533 2	0.553 0	1.106 0	98.1		
0.274 1	0.556 6	0.553 0	1.148 6	98.4		
0.241 2	0.557 4	0.553 0	1.065 2	96.4	97.8	1.9
0.239 8	0.557 5	0.553 0	1.058 8	95.8		
0.252 7	0.546 0	0.553 0	1.112 8	100.4		

### 3 样品测定

3.1 样品溶液的制备 取本品20粒,精密称定,取内容物约0.5g,精密称量,置于具塞锥形瓶中,加浓氨水2mL使湿润,精密加入氯仿25mL,密塞,称定重量,室温放置24h,称定重量,用氯仿补足减失的重量,充分振摇,滤过。精密量取滤液10mL,置分液漏斗中,用硫酸溶液(3-100)提取5次,每次

20mL,合并硫酸液,加浓氨水,使成碱性(pH10),用氯仿提取5次,每次20mL,合并氯仿提取液,水浴蒸干。残渣用醋酸乙酯溶解至10mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀,用0.5 $\mu$ m微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

**3.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品,加醋酸乙酯制成50 $\mu$ g/mL的溶液,作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液和样品溶液各10 $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件,以外标法计算含量。

**3.3 样品测定结果** 按样品测定方法测定3批成药样品,结果见表5。

表5 乙肝宁胶囊中芍药苷含量测定结果

批号	芍药苷含量(mg/粒)
021209	0.5527
030109	0.5501
030321	0.5361
030406	0.5575
030412	0.5460

#### 4 讨论

**4.1 乙肝宁胶囊中芍药苷含量的测定方法**曾经采用薄层扫描法<sup>[1]</sup>,但发现采用该方法,对同一批样品的测定结果差异较大,重现性差。参照文献<sup>[2-5]</sup>,建立了测定芍药苷含量的方法。经过对5批乙肝宁胶

囊中芍药苷的含量测定结果表明,该方法简单准确,可以控制产品的质量。

**4.2 对多种流动相进行了筛选试验**<sup>[6,7]</sup>,甲醇-水(60:40);甲醇-水(80:20)、(70:30);正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨水(270:270:20:1.7)等,结果以正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨水(270:270:20:1.7)分离效果最理想,最后选定为本实验流动相。

**4.3 本实验同法测定了白芍的阴性对照品**,结果芍药苷可以基线分离且不受其它组分干扰,分离效果好。

#### 参考文献:

- [1] 赵 曦,梁生旺.乙肝宁胶囊质量标准的研究[J].中国中药杂志,1998,23(9):544.
- [2] 中国药典2000年版[S].一部,2000:78.
- [3] 邵长凤,陈坚天,杨吉田,等.中药止痛胶囊中芍药苷的HPLC含量测定[J].中草药,1999,30(11):822.
- [4] 周新蓓,涂瑶生,刘法锦.高效液相色谱法测定赤芍浓缩颗粒中芍药苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(3):5.
- [5] 王铁军,郭绪林,张京平.高效液相色谱法测定根痛平冲剂中芍药苷的含量[J].中国中药杂志,1997,22(2):99.
- [6] 杨永华,陈燕军.古汉养生精片中芍药苷的含量测定[J].中国中药杂志,1997,22(3):165.
- [7] 刘玉珍,郑 璐,迟 军,等.反相高效液相色谱法测定逍遥冲剂中芍药苷的含量[J].中成药,1999,21(7):339.

收稿日期:2004-03-07

## 高效液相色谱法测定咽舒糖浆中绿原酸的含量

张广春,赵 昕,王旭明,陈 军(中国人民解放军沈阳军区联勤部药品仪器检验所,辽宁 沈阳 110026)

**摘要** 目的:采用高效液相色谱法,建立咽舒糖浆中绿原酸的含量测定方法。方法:采用ODS分析色谱柱(4.6mm $\times$ 250mm,7 $\mu$ m);流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(15:85);流速:1mL/min;检测波长:327nm。结果:HPLC法测定绿原酸可达基线分离,在1.62~21.60 $\mu$ g线性良好,回归方程: $A=2516409C-2979$ , $r=1.0000$ ,5次测定平均加样回收率为100.1%,RSD为0.80%。结论:该法操作简便,结果准确,重现性好,可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词** 咽舒糖浆;高效液相色谱法;绿原酸

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2004)04-0228-03

## Determination of chlorogenic acid in Yanshu Tangjiang by high performance liquid chromatography

ZHANG Guang-chun, ZHAO Xin, WANG Xu-ming, CHEN Jun(Institute for Drug and Instrument Control of Shenyang Military Region, Shenyang 110026, China)

作者简介:张广春(1961-),男,主管药师,理学学士。

Tel:(024)23069575