

HPLC 法测定强肝片中芍药苷的含量

胡东辉¹, 梁明辉²

(1. 丹东市中医院药剂科, 辽宁丹东 122000; 2. 辽宁天士力医药有限公司, 辽宁沈阳 110001)

[摘要] 目的: 建立强肝片中芍药苷的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法测定芍药苷的含量, 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (30:70), 流速为 1 ml/min, 检测波长为 230 nm。结果: 芍药苷进样量在 0.101 6~0.508 0 μg 范围内线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.5%, RSD 为 1.7% ($n=5$)。结论: 本方法准确、稳定、重现性好, 可作为强肝片中芍药苷的含量测定方法。

[关键词] 强肝片; 芍药苷; HPLC; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-7210(2009)05(c)-050-03

Content determination of paeoniflorin in Qianggan Tablets by HPLC

HU Donghui¹, LIANG Minghui²

(1. Medicament Office, Dandong Hospital of Chinese Medicine, Dandong 122000, China; 2. Liaoning Tianshili Medicine Company, Shenyang 110001, China)

[Abstract] **Objective:** To setup a method of content determination of paeoniflorin in Qianggan Tablets. **Methods:** Paeoniflorin was determined by HPLC, the sample was separated on a Diamonsil C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase consisted of methanol-0.05 mol/L sodium dihydrogenphosphate (30:70) at the flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was set at 230 nm. **Results:** The linear range of paeoniflorin was 0.101 6~0.508 0 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery was 98.5% with a RSD of 1.7% ($n=5$). **Conclusion:** This method is accurate, stable, reproducible, and it can be used to determine the content of paeoniflorin in Qianggan Tablets.

[Key words] Qianggan Tablets; Paeoniflorin; HPLC; Content determination

本制剂由强肝胶囊改剂型制成, 经临床研究表明, 强肝胶囊对慢性乙型肝炎肝硬化^[1-3]、非酒精性脂肪肝^[4-5]、脂肪肝^[6]、酒精性脂肪肝^[7]、肝硬化^[8]均具有较好的治疗作用。在选定的色谱条件下, 供试溶液中的芍药苷与相邻组分分离度良好, 阴性液无干扰。经方法学考察, 本法的重复性、稳定性、精密度、回收率试验均符合有关规定, 因此确立本制剂定量指标为芍药苷, 定量方法为高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC-10AT 液相色谱仪, SPD-10AV 检测器。

1.2 试剂

强肝片 (大连汉方药业, 批号为 031101、031102、031103); 芍药苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 110736-200628); 甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验^[9]

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (30:70), 流速为 1 ml/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 25℃, 理论塔板数按芍药苷色谱峰计算不得低于 4 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量, 加甲醇制成每毫升含 20 μg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下片剂, 研细, 精密称取 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 ml, 称重, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 称重 (补足原重量), 摇匀, 滤过, 再经微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 溶液备用。

2.2.3 阴性对照液的制备 取处方除去芍药以外的其他药材, 按供试品制备方法制成阴性对照液。

2.3 测定法

分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪中, 测定, 即得。

2.4 测定波长的确立

经参考有关文献及绘制紫外图谱, 确定测定波长为 230 nm。紫外图谱测定条件: 溶剂为甲醇, 扫描纸数为 40 nm/cm, 扫描区间为 200~400 nm。

2.5 阴性干扰试验

精密吸取供试品溶液、阴性对照液、对照品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪中, 绘制液相色谱图, 由色谱图可知, 在对照品色谱相应的位置上, 供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰, 阴性对照液在此峰位无吸收, 对本品中芍药苷的含量测定无干扰, 方法专属性良好, 见图 1。

2.6 对照品纯度检查

芍药苷对照品, 由中国药品生物制品检定所提供, 批号为 110736-200628, 为含量测定用, 经液相色谱法归一法测定, 含量符合要求, 见图 1A。

2.7 线性关系考察

精密称取芍药苷对照品 12.70 mg, 置 50 ml 容量瓶中, 加甲醇溶解, 再加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 2.5 ml, 置 25 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成每毫升含 25.40 μg 的溶液, 作为对照品溶液。分别精密吸取 4、8、12、16、20 μl 溶液, 注入液相色谱仪中, 测定色谱峰面积, 测定结果见表 1。以进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 经线性回归, 得回归方程 $Y=1\ 153\ 682X-7\ 769.7$ ($r=0.999\ 9$), 由测定

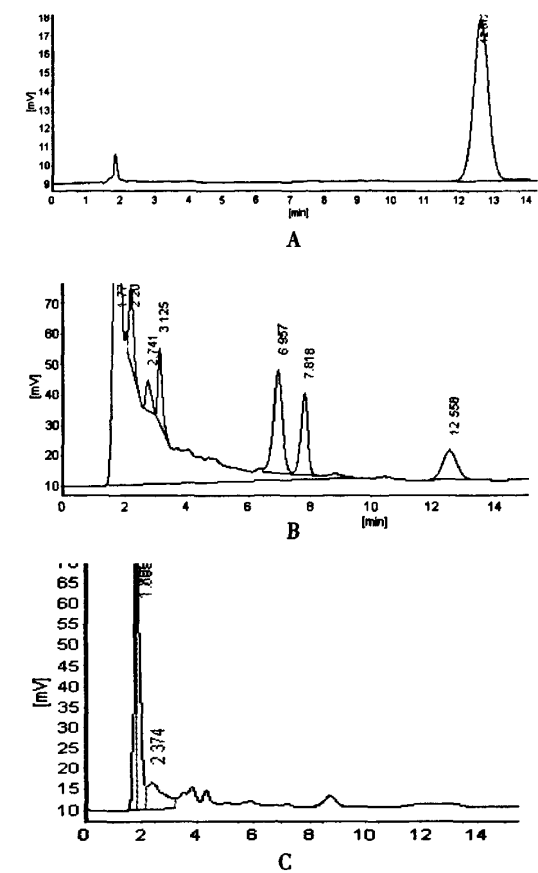


图 1 HPLC 色谱图
(A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.阴性对照液)

Fig.1 HPLC chromatogram
(A.Standard solution; B.Sample solution; C.Negative solution)

结果可知, 芍药苷进样量在 0.101 6~0.508 0 μg 范围内线性关系良好。

表 1 线性范围考察结果
Tab.1 Results of linear range of paeoniflorin

对照品进样量		色谱峰面积
μl	μg	
4	0.101 6	108 928
8	0.203 2	227 061
12	0.304 8	344 633
16	0.406 4	460 424
20	0.508 0	578 317

2.8 稳定性试验

取本品 20 片,研细,取粉末 0.5 g,精密称定,制备供试品溶液,精密取同一供试品溶液 10 μl (批号为 031101),按 0、2、4、6、8、10 h 时间间隔,分别进样分析,测定色谱峰面积,测定结果见表 2。结果提示,供试品溶液制备后 10 h 内测定,色谱峰面积无明显变化,在此时间内,待测组分化学性质稳定。

表 2 稳定性试验结果
Tab.2 Results of stability

时间(h)	峰面积	峰面积平均值	RSD(%)
0	193 630	197 853.5	1.9
2	201 167		
4	196 272		
6	200 187		
8	201 901		
10	193 963		

2.9 精密度试验

取本品 20 片,研细,取粉末 0.5 g,精密称定,制备供试品溶液。分别精密吸取 10 μl ,连续进样 5 次,按前述色谱条件进样分析,测定色谱峰面积,测定结果见表 3。测定结果表明,本试验精密度符合有关规定。

表 3 精密度试验结果
Tab.3 Results of precision

序号	色谱峰面积	峰面积平均值	RSD(%)
1	193 630	197 896.8	1.5
2	199 294		
3	196 597		
4	198 795		
5	201 167		

2.10 重复性试验

取 5 份样品(批号为 031101)各 20 片,研细,取 0.5 g,精密称定,分别按供试品溶液制备方法操作,测定,测定结果见表 4。测定结果表明,本试验重复性符合有关规定。

表 4 重复性试验结果
Tab.4 Results of repetition

序号	样品中含量(mg/片)	平均值	RSD(%)
1	0.362	0.364	1.8
2	0.355		
3	0.370		
4	0.370		
5	0.362		

2.11 回收率试验考察

取本品 5 份(批号为 031101,含量为 0.364 mg/片,装量为 0.40 g/片),每份各 10 片,研细,取粉末 0.5 g,精密称定,精密加入 146.6 $\mu\text{g/ml}$ 对照品溶液 5 ml,按样品测定方法操作,测定,测定结果见表 5。测定结果提示,本方法回收率在 96.0%~100.5%之间,RSD 为 1.7%,符合有关规定。

2.12 含量测定

按前文方法操作,测定 3 批样品中芍药苷的含量,测定结果见表 6。根据测定结果,暂定本品每片含芍药以芍药苷($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$)计不低于 0.35 mg。

3 讨论

强肝片由芍药等十六味中药经提取加工制成,芍药是强肝片中的主药,芍药中芍药苷的差异较大,为保证本制剂的

高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚片的含量

吴卫涛
(河南省安阳市食品药品检验所,河南安阳 455000)

[摘要] 目的:建立对乙酰氨基酚片含量的高效液相色谱测定法。方法:色谱柱为依利特 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为磷酸盐缓冲液(pH4.5)-甲醇(80:20),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 254 nm,柱温为 30℃。结果:对乙酰氨基酚在 0.05~0.30 mg/ml 浓度范围内呈良好线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率为 100.5%($n=5$),RSD 为 1.2%。结论:该方法准确、可靠,与标准法比较,结果较为满意,可用于对乙酰氨基酚片的含量测定。
[关键词] 高效液相色谱法;含量测定;对乙酰氨基酚片
[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1673-7210(2009)05(c)-052-02

Content determination of Paracetamol Tablets by HPLC

WU Weitao
(Anyang Institute for Food and Drug Control, Anyang 455000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for determination of Paracetamol Tablets. **Methods:** Elite C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used with a mobile phase composed of phosphate buffering solution (pH4.5)-methanol(80:20) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 254 nm and the temperature of the column was 30℃. **Results:** The calibration curve of paracetamol was linear in the range of 0.05–0.30 mg/ml, $r=0.999\ 9$, the average recovery rate was 100.5% with a RSD of 1.2%($n=5$). **Conclusion:** This method is accurate, reliable and can be used for the determination of Paracetamol Tablets.
[Key words] HPLC; Content determination; Paracetamol Tablets

对乙酰氨基酚片是目前临床中常用的一种解热镇痛药,《中国药典》2005 版采用紫外分光光度法测定其含量,该方法影响因素较多。本文介绍的高效液相色谱法,采用优化的色谱条件,使对乙酰氨基酚的含量测定操作简便、专属性强、重现性好,可以替代紫外分光光度法。

1 仪器与试药
1.1 仪器
美国 Waters 高效液相色谱仪(包括 2695 型泵、PDA2996 型二极管阵列检测器、全自动进样器、柱温箱);Mettler AE-240 型电子天平;SECOMAM UVIKON XL 型双光束扫描紫外/可

表 5 回收率试验结果
Tab.5 Results of recovery

序号	取样量 (g)	样品含量 (μg)	对照品加 入量(μg)	实测总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.525 4	478	733	1 194	97.7		
2	0.501 6	456	733	1 160	96.0		
3	0.517 3	471	733	1 197	99.0	98.5	1.7
4	0.540 5	492	733	1 229	100.5		
5	0.515 4	469	733	1 195	99.0		

表 6 3 批样品含量测定结果
Tab.6 Results of 3 batches of sample

批号	样品中药物含量的含量(mg/片)		
	1	2	平均值
031101	0.362	0.362	0.360
031102	0.398	0.390	0.390
031103	0.369	0.373	0.370

中,以甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钠(30:70)为流动相,色谱平衡时间应略长,否则不能正常检出。

[参考文献]

[1] 马周旺,杨俊杰,程卫东,等.强肝丸预防四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的实验研究[J].陕西中医,2007,28(11):1561-1563.
[2] 薛桂芹,季风帆.强肝胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化 80 例[J].山东中医杂志,2004,23(7):404-405.
[3] 姜怀纲.苦参素联合强肝胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化 35 例[J].现代中西医结合杂志,2007,16(6):758-759.
[4] 陈泽雄,张诗军,尹丽荣.强肝胶囊治疗非酒精性脂肪肝的临床观察[J].中国中药杂志,2006,31(20):1739-1741.
[5] 邢练军,马赞颂,柳涛,等.强肝胶囊对非酒精性脂肪肝大鼠肝脂质的影响[J].上海中医药杂志,2008,42(12):61-63.
[6] 刘燕玲,王素玲,张力,等.强肝胶囊治疗脂肪性肝病的临床研究[J].河北中医,2007,29(12):1122-1124.
[7] 张显耀.强肝胶囊治疗酒精性肝病 126 例疗效观察[J].浙江中医杂志,2007,42(1):58.
[8] 陆定波.拉米夫定联合强肝胶囊治疗乙型肝炎早期肝硬化 28 例[J].中西医结合肝病杂志,2007,17(4):240-241.
[9] 国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005.

稳定性,对药药片进行含量测定具有重要意义。在检测过程 (收稿日期:2009-02-19)